

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc. 04/30.12.2019. Far.32.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

ШОМАҚСУДОВА МАРҲАБОХОН ОДИЛХОН ҚИЗИ

**ЭКМА ЗАФАРОН (*CROCUS SATIVUS L.*) ХОМАШЁСИ ВА ҚУРУК
ЭКСТРАКТИНИ СТАНДАРТЛАШ**

15.00.02 – фармацевтик кимё ва фармакогнозия

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

Тошкент-2024

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

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

Шомақсудова Марҳабохон Одилхон қизи

Экма зафарон (*Crocus sativus* L.) хомашёси ва қуруқ экстрактини стандартлаш5

Шомақсудова Марҳабохон Одилхон қизи

Стандартизация сырья и сухого экстракта шафрана посевного (*Crocus sativus* L.)21

Shomaksudova Markhabokhon Odilkhon qizi

Standardization of raw materials and dry extract of saffron *Crocus sativus* L.)39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

Last of published works43

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc. 04/30.12.2019. Far.32.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

ШОМАҚСУДОВА МАРҲАБОХОН ОДИЛХОН ҚИЗИ

**ЭКМА ЗАФАРОН (*CROCUS SATIVUS L.*) ХОМАШЁСИ ВА ҚУРУК
ЭКСТРАКТИНИ СТАНДАРТЛАШ**

15.00.02 – фармацевтик кимё ва фармакогнозия

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

Тошкент-2024

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Олий таълим, фан ва инновациялар вазирлиги хузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2023.1.PhD/Far103 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 порталига (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар: **Тўлаганов Абдуқодир Абдурахманович**
фармацевтика фанлари доктори, профессор

Расмий оппонент: **Юлдашев Закиржан Абидович**
фармацевтика фанлари доктори, профессор

Абдулладжанова Нодира Гуломжановна
кимё фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот: **Мирзо-Улугбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети**

Диссертация химояси Тошкент фармацевтика институти хузуридаги DSc.04/30.12.2019.Far.32.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2024 йил «3» октябрь соат 15⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100015, Тошкент ш., Миробод тумани, Ойбек кўчаси, 45-уй. Тел.: (99871) 256-37-38, факс: (99871) 256-45-04, e-mail: www.info@pharmi.uz).

Диссертация билан Тошкент фармацевтика институти Ахборот ресурс марказида танишиш мумкин (58 рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100015, Тошкент ш., Миробод тумани, Ойбек кўчаси, 45-уй. Тел.: (99871) 256-37-38.

Диссертация автореферати 2024 йил «10» сентябрь куни тарқатилди.
(2024 йил «10» сентябрь даги 58 рақамли реестр баённомаси)



[Handwritten signatures in blue ink]

К.С. Ризаев
Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш раиси, т.ф.д

Ё.С. Кариева
Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш котиби, фарм.ф.д., профессор

Ф.Ф. Урманова
Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш қошидаги Илмий семинар раиси, фарм.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Бутун жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилотининг маълумотларига кўра, ҳар йили 100 млн.дан ортиқ инсонлар атрофдаги стресс, қон айланишининг бузилишли туфайли марказий нерв тизимининг шикастланишларидан жабр чекадилар. Шу муносабат билан ноотроп хусусиятга эга дори воситалар ассортиментини кенгайтириш, уларни таҳлил қилишнинг замонавий усулларини ишлаб чиқиш, фармакотерапевтик изланишлар натижаларига асосан самарадорлигини исботлаш борасидаги тадқиқотларни амалга ошириш муҳим аҳамият касб этади.

Ҳозирги кунда жаҳонда халқ табобатида кенг қўлланилиб келаётган доривор ўсимликларнинг замонавий тиббиёт амалиётига татбиқ этиш мақсадида уларнинг фитокимёвий, фармакогностик таҳлил қилиш, асосий биологик фаол моддаларни ажратиб олиш, уларнинг фармакологик хусусиятларини исботлаш бўйича илмий тадқиқотларга олиб борилмоқда. Бу борада, ноотроп ва ялиғланишга қарши таъсирга эга маҳаллий ўсимлик хомашёларининг кимёвий таркибини аниқлаш, таъсир этувчи моддаларни замонавий усулларда идентификациялаш, стандартлаш ишларини амалга ошириш ҳамда тегишли меъёрий ҳужжатларни ишлаб чиқишга алоҳида эътибор берилмоқда.

Республикамиз фармацевтика соҳасида дунё миқёсида кенг қўлланиладиган доривор ўсимликларни маданийлаштириш ва плантацияларини директив ҳужжатлар асосида ташкил қилиш, улар асосида юқори терапевтик фаолиққа эга сақланиш даврида турғун бўлган дори хомашёлари билан таъминлаш бўйича муайян натижаларга эришилмоқда. Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегиясининг 22-мақсадида «Фармацевтика саноати маҳсулотлари ишлаб чиқариш ҳажмини 3 баравар кўпайтириш ва маҳаллий бозорни таъминлаш даражасини 80 фоизга етказиш»¹ каби муҳим вазифалар белгиланган. Бу борада заъфаран (шафран) плантацияларини барпо этиш, олинган хомашёни сифат ва миқдор кўрсаткичларини белгилаш, турғунлигини ва юқори терапевтик таъсирини таъминлаш, безарарлигини исботлаш, маҳаллий фармацевтика саноатини унга бўлган эҳтиёжини таъминлаш, экспортбop дори воситаларини ишлаб чиқишни йўлга қўйиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 21 январдаги ПФ-55-сон «2022-2026 йилларда республиканинг фармацевтика тармоғини янада жадал ривожлантиришга оид қўшимча чора-тадбирлари тўғрисида»ги фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2020 йил 26 ноябрдаги ПҚ-4901-сон «Доривор ўсимликларни етиштириш ва қайта ишлаш, уларни уруғчилигини йўлга қўйишни ривожлантириш бўйича илмий тадқиқотлар кўламини кенгайтиришга оид чора-тадбирлар тўғрисида»ги, 2020 йил

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги «2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисида»ги ПФ-60-сон Фармони

10 апрелдаги ПҚ-4670-сон «Ёввойи ҳолда ўсувчи доривор ўсимликларни муҳофаза қилиш, маданий ҳолда етиштириш, қайта ишлаш ва мавжуд ресурслардан оқилона фойдаланиш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарорлари, Вазирлар Маҳкамасининг 2017 йил 21 августдаги 1-421-сон «Республикамизда зафарон (шафран) плантацияларини барпо этиш, фармацевтика саноати эҳтиёжларини таъминлаш ва экспортбоп доривор ўсимликларни кўпайтиришни ташкил этиш 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. Республикамизда доривор ўсимлик хомашёсидан дори воситаларини ишлаб чиқиш, сифат назоратини амалга ошириб ҳамда таркибидаги биологик фаол моддаларни микдорини аниқлаш ва фармакологик фаоллигини ўрганиш бўйича Х.Х. Холматов, Р.Л.Хазанович, Т.П. Пулатова, Х.У. Алиев, У.М. Азизов, В.Н. Сыров, Ш.Ш.Сагдуллаев, Ф.Ф. Урманова, Б.Й. Тухтаев, Х.М. Комилов, Н.Ж.Абдуллаев каби олимларининг илмий тадқиқотлари муҳим аҳамиятга эга.

Доривор ўсимликлар хомашёси асосида олинган препаратлар таркибидаги биологик фаол моддаларни ўрганиш, уларни стандартлаш, терапевтик фаоллигини аниқлаш бўйича дунё миқёсида бир катор олимлар, жумладан, N.V. Dau, V.N. Thang, J.P. Dzoyem, M.I. Lupak, M.R. Khokla, G.Y. Nachkova, G.I. Adoga, C.Y. Hsu, Seo Sh, Lee Sh, P.H. Cha, M.Y. Kim, Min do S, K.Y. Choi, A.K.M. Moyeenul Huq, J.A. Jamal, J. Stanlas, И.А. Самылина, П.Г. Мизина, Г.Я. Шварц, У.Ф. Гашимов, Х.Ф. Бабаев, С.И. Гасанова, П.А. Шукүрова, О.В. Евдокимов, А.Н. Александров, А.Н. Кузьменко, А.Н. Сливкин, Л.М. Горилловский, А.Т. Терешина, А.С. Чистякова, В.Г. Бабаскин, Ю.Г. Пшуков кабиларнинг илмий изланишлари аҳамиятлидир.

Мазкур диссертация иши Ўзбекистоннинг турли хил ҳудудларида маданийлаштирилган экма зафарон ўсимлиги хомашёси ва ундан олинган қуруқ экстракт таркибидаги биологик фаол моддаларни микдорини аниқлаб, Эронда етиштирилгани билан солиштириб ўрганиш бўйича биринчи илмий тадқиқот ҳисобланади.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Тошкент фармацевтика институтининг «Фармацевтик ва токсикологик таҳлил усулларини такомиллаштириш» мавзусидаги илмий-тадқиқот ишлари режаси ва ПЗ-20170919120-сон «*Crocus sativus* L. – экма

зафарон ўсимлигини дори воситаларини олиш учун хомашё сифатида ўрганиш» номли амалий лойиҳа доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади. Экма зафарон хомашёси ва ундан олинган куруқ экстрактни таркибидаги макро- ва микро элементлар, аминокислоталар, ҳамда бошқа биологик фаол моддаларнинг сифатини, миқдорини замонавий физик-кимёвий усуллар билан аниқлаб, стандартлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари қуйидагилардан иборат:

адабиётларда келтирилган маълумотларни таҳлил қилиб, ноотроп таъсирга эга препаратларни маҳаллий хомашё асосида олиш ва стандартлаш мақсадга мувофиқ эканлигини асослаш;

экма зафарон – *Crocus sativus* L. гул туганаклари таркибидаги биологик фаол моддаларни идентификация қилиш ва миқдорини аниқлашнинг замонавий таҳлил услубларини ишлаб чиқиш;

экма зафарон – *Crocus sativus* L. хомашёсини стандартлаш услубларини ишлаб чиқиш;

экма зафарон – *Crocus sativus* L. хомашёси учун вақтинчалик фармакопоя мақоласини ишлаб чиқиш ва уни тиббиётда қўллашга рухсат олиш учун ЎзР ССВ ҳузуридаги «Фармацевтика маҳсулотлари хавфсизлиги Маркази» давлат муассасасига тақдим этиш ва тасдиқлаш;

экма зафарон – *Crocus sativus* L. хомашёси асосида куруқ экстракт олиш ва экстрактнинг асосий таъсир этувчи моддалари сифатини назорат қилиш услубларини ишлаб чиқиш;

экма зафарон – *Crocus sativus* L. хомашёси асосида олинган куруқ экстракт таркибидаги биологик фаол моддаларни идентификация қилиш ва миқдорини аниқлашнинг замонавий таҳлил услубларини ишлаб чиқиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида Ўзбекистонда етиштирилган экма зафарон (*Crocus sativus* L.) ўсимлигининг хомашёси ва унинг асосида олинган куруқ экстракт ва Эронда етиштирилган экма зафарон хомашёси олинган.

Тадқиқотнинг предмети Ўзбекистонда маданийлаштирилган экма зафарон (*Crocus sativus* L.) хомашёси ва унинг асосида олинган куруқ экстрактни стандартлаш ҳамда тегишли меъёрий ҳужжатларни тайёрлаб, тиббиёт амалиётига татбиқ этишдан иборат.

Тадқиқот усуллари. Тадқиқотни олиб боришда замонавий физик-кимёвий таҳлил усуллари, жумладан, юпка қатламли хроматография (ЮКХ), юқори самарали суюқлик хроматографияси (ЮССХ), газ суюқлик хроматографияси (ГСХ), газ хромато-масс спектрометрия (ГХ-МС), фармокологик ва микробиологик усуллар ҳамда замонавий компьютер дастурларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор Ўзбекистон Республикасида маданийлаштирилган экма зафарон – *Crocus sativus* L. гул тугунаклари хомашёсини стандартлаш ва сифатини назорат қилиш услублари ишлаб чиқилган;

элма зафарон - *Crocus sativus* L. хомашёси таркибидаги биологик фаол моддалардан флавоноидлар, аминокислоталар, макро- ва микроэлементлар, эфир мойларининг миқдори аниқланган ҳамда тиббиёт амалиётига татбиқ этиш мақсадида ноотроп таъсири аниқланган;

илк бор элма зафарон гул тугунаклари асосида олинган куруқ экстракт таркибидаги асосий таъсир этувчи моддаларни идентификация қилиш учун сифат ва миқдорий таҳлил усуллари ишлаб чиқилган;

хомашё ва куруқ экстракт таркибидаги асосий таъсир этувчи моддаларнинг миқдорини аниқлашнинг (флавоноидлар ва аминокислоталар - юқори самарали суюқлик хроматографияси, эфир мойлари – газ-суюқлик хроматографияси, макро- ва микроэлементлар – масс-спектрометрия) замонавий усуллари ишлаб чиқилган.

Тадқиқотнинг амалий натижаси куйидагилардан иборат:

элма зафарон – *Crocus sativus* L. гул тугунакларининг ноотроп таъсири, ушбу хомашёдан олинган куруқ экстрактнинг яллиғланишга қарши таъсири ҳамда уларнинг хавфсизлиги клиник олди тадқиқотлар натижасида исботланган;

элма зафарон хомашёсининг сақланиш шароитлари табиий усулда аниқланган ва яроқлилиқ муддатлари асосланган;

«Элма зафарон гул тугунаклари» хомашёсига тиббиётда қўллаш ва ишлаб чиқаришга рухсат олиш мақсадида меъёрий ҳужжатлар ишлаб чиқилган ва тасдиқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Олинган натижаларнинг ишончлилиқ даражаси замонавий математик статистик таҳлил усуллар, физик-кимёвий, клиник олди фармакологик текширувлар асосида тасдиқланган. Ишлаб чиқилган таҳлил усуллари корхона лаборатория шароитларида апробациядан ўтганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти Ўзбекистонда маданийлаштирилган элма зафарон – *Crocus sativus* L. гули тугунаклари ва унинг асосида олинган куруқ экстракт таркибидаги флавоноидлар, аминокислоталар, микро- ва макроэлементлар ҳамда эфир мойлари аниқланиб, «ўсимлик хомашёси - ундан олинган дори воситаси» қаторида унификацияланган стандартлаш усуллари ишлаб чиқилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти «Элма зафарон гул тугунаклари» хомашёси учун ЎзР ФА «Ўсимлик моддалари кимёси институти» билан ҳамкорликда вақтинча фармакопея мақоласи ишлаб чиқилганлиги ҳамда «Фармацевтика маҳсулотлари хавфсизлиги Маркази» Давлат муассасаси томонидан тасдиқланиб, тиббиёт амалиётига татбиқ этилганлиги билан изоҳланади, ушбу ҳужжатнинг тасдиқланганлиги республикамизда маданийлаштирилган ўсимликдан дори препаратларини ишлаб чиқишга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Экма зафарон (*Crocus sativus* L.) хомашёси ва куруқ экстрактини стандартлаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«Экма зафарон гул тугунаклари» хомашёсига вақтинча фармакопеея мақоласи ЎзР ССВ «Фармацевтика маҳсулотлари хавфсизлиги маркази» Давлат муассасаси томонидан тасдиқланган (ВФМ 42 Уз-4854-2022) ва тиббиётда қўллашга рухсат этилган (гувоҳнома, № DV/M 04044/02/22). Ушбу меъёрий ҳужжатни тасдиқланиши юқори самарали ноотроп таъсирга эга хомашёлар ассортиментини кенгайтириш имконини берган;

ўтказилган клиник олди синовлар натижасида экма зафарон гули тугунакларининг специфик фармакологик фаоллиги ҳамда ўткир заҳарли эмаслиги исботланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2018 йил 15 октябрдаги 8н-3/280-сон хати). Натижада ишончли ноотроп фаолликга эга доривор ўсимлик хомашёси кўринишидаги дори воситаси шаклида ишлаб чиқариш имконини берган;

ўтказилган клиник олди синовлар натижасида экма зафарон куруқ экстрактининг специфик фармакологик фаоллиги ҳамда ўткир заҳарли эмаслиги исботланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2018 йил 15 октябрдаги 8н-3/280-сон хати). Натижада ишончли яллиғланишга қарши фаолликга эга безарар дори воситаларни ишлаб чиқариш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Ушбу тадқиқот натижалари 6 та халқаро ва 2 та республика илмий-амалий анжуманларда муҳокамадан ўтган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 17 та илмий иш, жумладан, Ўзбекистон Республикаси Олий таълим, фан ва инновациялар вазирлиги ҳузуридаги ОАК нинг фалсафа доктори (PhD) диссертацияларини асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 9 та илмий мақола (5 та республика ва 4 та хорижий журналларда) чоп этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертация ҳажми 116 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида тадқиқотнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, муаммонинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларга мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий қилиниши, нашр этилган илмий ишлар ва диссертация тузилиши юзасидан маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «*Ўсимликлардан олинган дори воситаларининг бугунги кундаги ҳолати ва сифатини таъминлаш муаммолари*» деб номланган биринчи бобида адабиётларда келтирилган маълумотлар таҳлили

келтирилган бўлиб, бунда доривор ўсимлик хомашёси ва улар асосида олинган дори воситаларини ва биологик фаол кўшимчаларни стандартлашда халқаро фармакопея талаблари, доривор ўсимликларни стандартлашни ўзига хослиги ва замонавий усуллар ҳақида маълумотлар ҳамда элма зафарон – *Crocus sativus* L. ўсимлигининг биологик фаол моддалари ҳақида қисқача маълумот келтирилган. Шунингдек, элма зафароннинг таснифи ва замонавий тиббиётда қўлланилиши, ноотроп дори воситаларининг Ўзбекистон Республикаси фармацевтика бозорида тутган ўрни ҳақидаги маълумотлар берилган.

Диссертация ишининг «*Илмий тадқиқотда қўлланилган материаллар ва усуллар*» деб номланган иккинчи бобида тадқиқот материаллари, объекти, доривор ўсимлик асосида қуруқ экстракт олиш усули илмий асосланиб берилган.

Диссертациянинг «*Элма зафарон - Crocus sativus* L. гул туганаклари ва у асосида олинган қуруқ экстрактнинг кимёвий таркибини ўрганиши» деб номланувчи учинчи бобида элма зафарон хомашёси таркибидаги биологик фаол моддаларни замонавий физик-кимёвий таҳлил усулларида ўрганилиш давомида олинган натижалар баён қилинган.

Элма зафарон хомашёси таркибидаги биологик фаол моддаларни газ-хромато-масс спектроскопия усули билан аниқлаш. Тадқиқот учун ГОСТ 21722-84 талабларига жавоб берадиган биологик фаол моддаларни сақлаш иқлим шароитига боғлиқлигини ўрганиш учун Ўзбекистоннинг турли ҳудудларида етиштирилган хомашё намунаси ва унга таққослаб ўрганиш учун Эрон давлатидан келтирилган элма зафарон хомашёси ишлатилган.

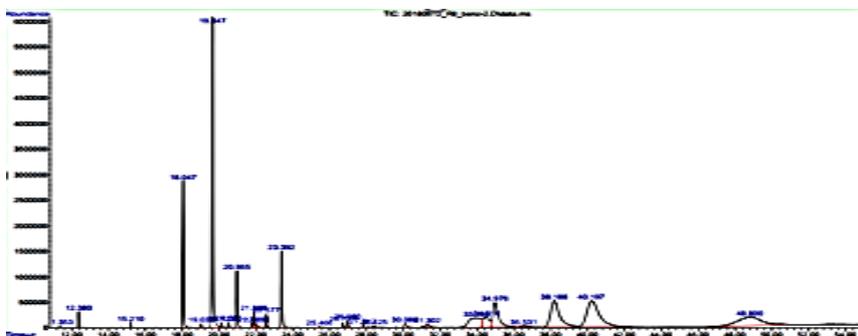
Тадқиқот учун намуна Элма зафарон хомашёси хона ҳароратида гексан ва бензол билан алоҳида (2 г, 1:6 нисбатда (эритувчининг оғирлиги-ҳажми) уч маротаба кетма-кет экстракция қилиб олинди ва Agilent HP-INNOWax кварц капилляр колонкада (30м x 250µм x 0.25µм) Agilent 5975C inert MSD/7890A GC хромато-масс спектрометрида таҳлил қилинди. Кирилган намунанинг ҳажми 1,0мл (гексан, бензол), кўзгалувчан фазанинг оқим тезлиги 1,1 мл/дақ. Инжектордаги ҳарорат 220°C. EI-MS спектрлари m/z10-550 а.с.м. диапазон оралиғида олинган. Биологик фаол моддаларни ажратишни (идентификация) (Wiley Registry of Mass Spectral Data -9th ED.NIST Mass Spektral Library, 2011) электрон кутубхонани ушланиш индекси (RI) бирикмаларни n-алкан(C₉-C₂₈) ушланиш вақтига таққослаб ўрганилди.

Олинган натижалар доривор ўсимликлар таркибида сақлаши мумкин бўлган биологик фаол моддаларни таркибий қисмларини таркиби бўйича тартибга соладиган стандартлар билан таққосланди. Ўрганилган экстрактлардан олинган хроматограммаларнинг декодланиши асосий компонентларнинг таркиби учун тегишли стандартларга мувофиқлигини кўрсатди (1-расм; 1 ва 2-жадвал).

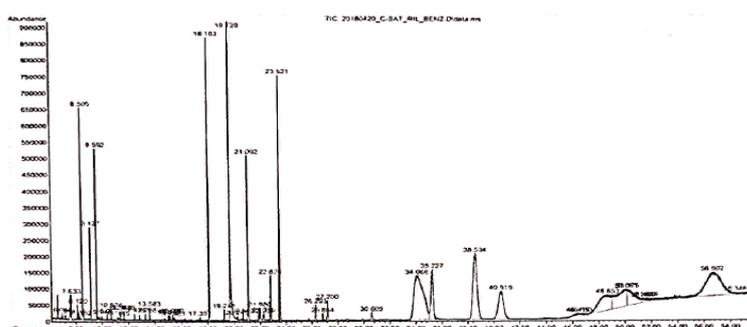
Экспериментал тадқиқотлар натижалари шуни кўрсатдики, Ўзбекистон ва Эронда етиштирилган элма зафарон хомашёси ҳамма кўрсаткичлари билан

сифат стандарти талабига жавоб беради.

Тадқиқотларимиз натижаси шуни кўрсатдики, хомашёнинг гексан экстрактида кўп миқдорда 2,6,6-триметил-1,3-циклогексадиен-1-карбалдегид (23,40%), бензол экстрактида 10,56% дибутилфталат мавжуд бўлиб, бу республикада етиштирилган зафароннинг кимёвий таркиби халқаро стандарт талабларига жавоб беришини исботлайди.



1-расм. Экма зафарон хомашёсини бензолли экстрактини ГХ-МС хроматограммаси



2-расм. Экма зафарон хомашёсини гексанли экстрактини ГХ-МС хроматограммаси

1-жадвал

Экма зафарон хомашёсини бензолли экстрактининг биологик фаол моддалари

№	Бирикмалар	RI	RT	Майдон,%
1	n-ундекан	1107	3,484	10,30
2	гептанал	1173	4,776	4,65
3	n-додекан	1201	5,329	7,25
4	мезитилен	1265	6,799	1,07
5	n- тридекан	1305	7,752	2,03
6	трет-бутилбензол	1341	8,803	0,39
7	1,3-диметил-5-этилбезоат	1348	9,012	0,51
8	Гептил 2-бромпропонат	1377	9,885	2,91
9	n-тетрадекан	1399	10,549	6,78
10	тетрагидроизохинолин	1491	13,181	0,36
11	n-пентадекан	1499	13,439	1,36
12	изофорон	1554	15,112	5,04

13	n-гексадекан	1597	16,397	6,54
14	сафранал	1605	16,636	11,22
15	p-крезол	1681	18,819	3,39
16	азулен	1687	18,991	1,65
17	n-гептадекан	1696	19,274	1,34
18	β -метилнафтаден	1791	21,955	1,51
19	n-октадекан	1799	22,207	1,48
20	α -метилнафтаден	1809	22,828	0,68
21	1,6-диметилнафтаден	1841	24,820	0,56
22	Гептан кислота	1848	25,263	0,53
23	2,7-диметилнафтаден	1855	25,699	0,45
24	Эндо-3-(метиламино)-2-борнанола	1989	34,092	13,73
25	Цинерин 11	2014	35,697	3,08
26	3,4-дигидро-6,7-дигидрокси-1(2H)-нафтаденон	2138	43,457	2,36
				91,17

2-жадвал

Экма зафарон хомашёсини гексанли экстрактини биологик фаол моддалари

№	Бирикмалар	RI	RT	Майдон%
1	n-ундекан	1107	3,484	7,08
2	p-ксилола	1131	3,952	0,41
3	5-метилендекан	1149	4,308	0,20
4	изододекан	1157	4,462	0,41
5	оксалат кислотаси	1166	4,634	0,16
6	m-ксилола	1169	4,702	0,15
7	n-додекан	1201	5,323	5,71
8	1-этил-2-метилбензоат	1210	5,538	0,40
9	1,2,4-триметилбензоат	1228	5,950	0,18
10	мезитилен	1245	6,331	0,11
11	m-цимол	1255	6,571	0,18
12	1,2,3-триметилбензоат	1265	6,799	0,87
13	1-метил-2-пропилбензоат	1290	7,370	0,67
14	бутилбензоат	1300	7,604	0,18
15	n-тридекан	1305	7,739	2,24
16	1,2-диметил-3-этилбензоат	1311	7,918	2,24
17	2-этил-p-ксилола	1335	8,637	0,18
18	1-этил-2,4-диметилбензоат	1340	8,797	0,34
19	1,3-диметил-5-этилбензоат	1347	9,006	0,46
20	транс-1-метил-2-инданолом	1378	9,922	0,30
21	n-тетрадекан	1399	10,543	5,62
22	изодурол	1409	10,820	0,43
23	транс-7-тетрадекан	1437	11,644	0,13
24	дурол	1458	12,246	0,48
25	тетралин	1491	13,181	0,39
26	n-пентадекан	1499	13,427	1,44
27	изофорон	1555	15,130	4,89
28	6-метилтетралин	1589	16,169	0,13

29	n-гексадекан	1597	16,390	4,77
30	сафранал	1607	16,686	26,33
31	цис-7-гексадекан	1636	17,522	1,12
32	4-оксиизофорон	1652	17,983	0,92
33	аллоцимин	1681	18,831	1,58
34	азулен	1687	19,004	1,29
35	n-гептадекан	1696	19,256	0,68
36	2,2,6-триметилциклогексан-1,4-дион	1734	20,356	1,39
37	β -метилнафтаген	1791	21,967	0,93
38	n-октадекан	1800	22,262	2,42
39	α -метилнафтаген	1810	22,840	0,44
40	2-гексил-1-деканол	1819	23,406	1,67
41	1,5-диметилнафтаген	1841	24,839	0,30
42	2,3-диметилнафтаген	1856	25,724	0,35
43	2,2,5,6-тетраметил-2,3-дигидропуран-4-тион	1925	30,090	0,38
44	1-метокси-5-цикло[2,2,0]гексо-2-ен-6-он	1992	34,271	5,03
45	1,2-диметил-7-фенил-2-пирролин[3,2-с]пиридин	2007	35,218	0,31
46	5-изопронил-2-метилциклопент-1-корбоксияльдегид	2019	36,023	7,48
47	1,6-диметилгепта-1,3,5-триен	2120	42,319	2,15
48	2,3-диметил-2-циклопропен-1-он	2142	43,697	0,78
				94,28

Экма зафарон хомашёси таркибидаги макро- ва микроэлементларни аниқлаш ISP MS NEXION-2000 (Perkin Elmer АҚШ) қурилмасида индуктив аргон плазмаси билан масс-спектрометр (Германия) асбобида “SemiQuant” режимида “Тест.М” ёрдамида олиб борилди. Олинган маълумотлар 3-жадвалда келтирилган.

3-жадвал

Экма зафарон ўсимлиги гул тугунаклари нинг макро ва микроэлементлар миқдори

№	Ўсимлик таркибидаги элементлар	Миқдори (мг/г)	№	Ўсимлик таркибидаги элементлар	Миқдори (мг/г)
1	Li	0,012	13	Mn	0,587
2	B	0,682	14	Fe	65,171
3	Na	23,481	15	Co	0,032
4	Mg	75,773	16	Ni	0,045
5	Al	10,053	17	Cu	0,239
6	Si	480,329	18	Zn	1,073
7	P	370,114	19	Rb	0,061
8	S	229,831	20	Sr	0,105
9	K	748,287	21	Ba	0,073
11	V	0,037	22	Hg	0,030
12	Cr	1.786	23	Pb	0,076

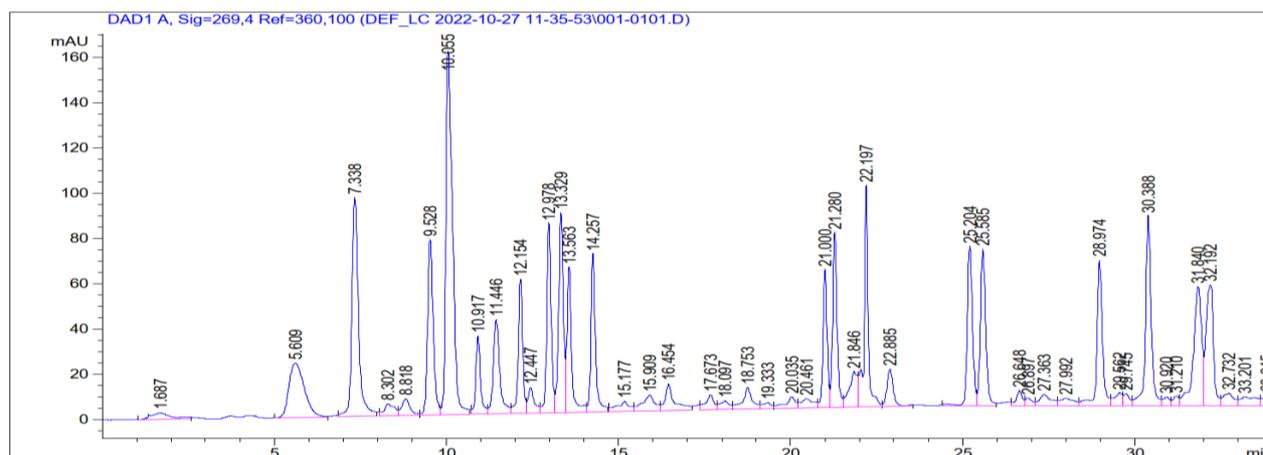
Жадвалда келтирилган натижалардан кўриниб турибдики, ўсимлик маҳсулоти таркибида 23 та элемент аниқланган. Ҳасил қилинган *Crocus sativus* L. ўсимлиги гул туганаклари таркибида ҳаёт учун керакли элементлар, рух (1,073 мкг/г), темир (65,171 мкг/г), натрий (23,481 мкг/г), магний (75,773 мкг/г), калий (748,287 мкг/г), кальций (1527,212 мкг/г), хром (1,786 мкг/г), бўлиши хомашёни биологик аҳамиятини янада оширади.

Экма зафарон хомашёси таркибидаги аминокислоталар Steven A, Kohen Daviel методи бўйича фенилтиокарбамил ҳосилалари кўринишида аминокислоталар стандартлар намуналари билан солиштирилиб аниқланди. Аминокислоталар ҳосилаларини идентификация қилиш ЮССХ усули бўйича амалга оширилди.

Таҳлилларда 75x4.6 мм Discovery HS C18 колонкали Agilent Technologies 1200 хроматографидан фойдаланилди.

Кўзгалувчи фаза «А»- 0,14М CH₃COONa + 0,05% ТЭА (триэтиламин), рН 6,4. Кўзгалувчи фаза «В» - ЮССХ учун қўлланиладиган ацетонитрил.

ЮССХ ни олиб бориш шароитлари: колонка ҳарорати - 25°C; тўлқин узунлиги - 269 нм; оқим тезлиги-1,2 мл/дак; киритиш ҳажми-5 мкл.



3-расм. Аминокислоталарни стандарт намуналарини хроматограммаси

4-жадвал

***Crocus sativus* L. ўсимлиги хомашёси таркибида аниқланган аминокислоталар миқдори.**

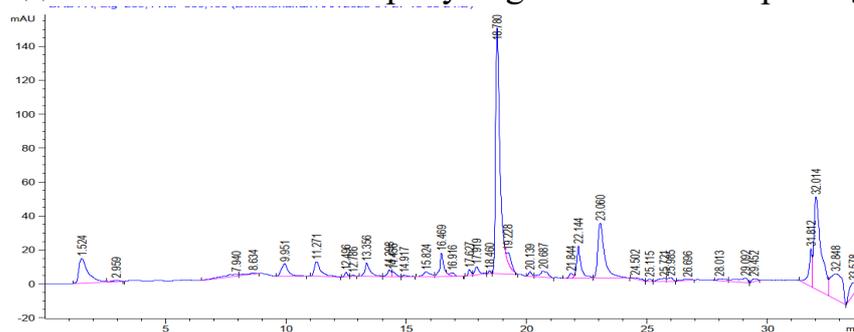
Алмашинмайдиган аминокислоталар		
Аминокислоталар	Ушланиш вақтлари, дақиқада	Концентрацияси, мг/г
Изолейцин	25,0	1,419956
Лейцин	25,3	1,068996
Триптофан	29,6	1,111631
Фенилаланин	30,07	1,602467
Лизин HCl	31,37	0,787783
Валин	22,4	1,429123
Метионин	23,8	1,215824
Треонин	14,36	1,013514
Ийгинди Σ		9,649294

Алмашинадиган аминокислоталар		
Аспарагин кислота	4,62	0,430934
Глутамин кислота	6,29	0,697983
Серин	9,74	0,740963
Глицин	10,7	0,677594
Аспарагин	10,7	0,722892
Глутамин	11,54	1,251014
Цистеин	12,61	2,757732
Аргинин	14,75	0,928588
Аланин	15,84	0,332815
Пролин	16,23	0,346611
Тирозин	21,01	2,072204
Гистидин	28,7	1,080395
Йиғинди Σ		12,039725
Жами аминокислоталар йиғинди Σ		21,689019

4-жадвалдан хулоса қилиш мумкинки, *Crocus sativus L.* ўсимлиги гул тугунаклари таркибида аминокислоталарнинг турлари бўйича миқдори жиҳатдан қуйидагича кетма-кетликдаги келади.

Алмашинмайдиган аминокислоталар: $liz > fen > lys > izoly > met > val > tre > leu$.

Алмашинадиган аминокислоталар: $cys > glu > ala > ser > pro > gly > asp$.



4-расм. *Crocus sativus L.* ўсимлиги гул тугунаклари таркибидаги аминокислоталари хроматограммалари

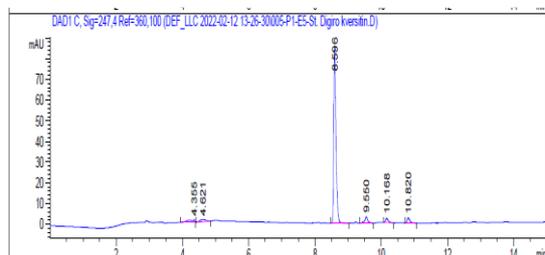
5-жадвал

Экма зафарон хомашёси асосида қуруқ экстракт олиш

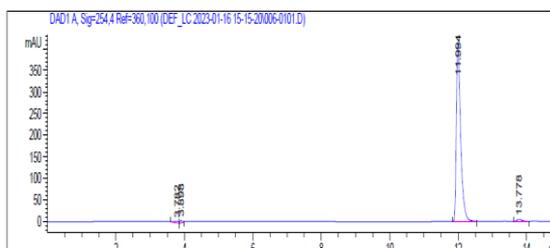
№	Махсулот номи	Экстракт %	Олинган масса, %
1	Экма зафарон (<i>C. sativus L.</i>) ўсимлиги гул тугунаклари	40% этил спирт	52,55
2	Экма зафарон (<i>C. sativus L.</i>) ўсимлиги гул тугунаклари	60% этил спирт	64,67

Экма зафарон гул тугунаклари асосида олинган қуруқ экстракт таркибидаги флавоноидларни ЮССХ усулида аниқлаш. ЮССХ УБ-детекторли “Agilent-1200” хроматографда, хроматографик колонка Agilent C18 5 мкм, 4.6x250 мм, градиент режимда амалга оширилди. Кўзгалувчи фаза сифатида 0,1% ортофосфат кислота ва ацетонитрил (70:30) нисбатдаги

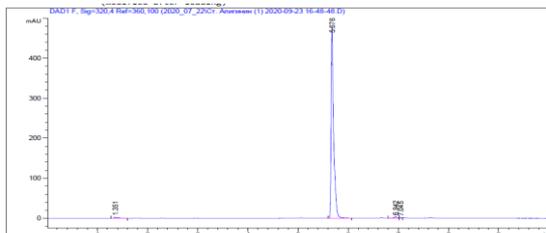
аралашмасидан фойдаланилди. Элюентнинг ҳажмли оқим тезлиги 1,0 мл/мин, АОК қилинган намунанинг ҳажми 10 мкл. Ишлаб чиқилган усулда дигидрокверцетин, лютеолин, кверцетин, рутин, цинарозид, салидрозид каби флавоноидларни стандарт намуналари билан солиштириб текширилди ва қониқарли натижалар олинди. Флавоноидларни стандарт намуналарини хроматограммаси 6-10 расмларда кўрсатилган.



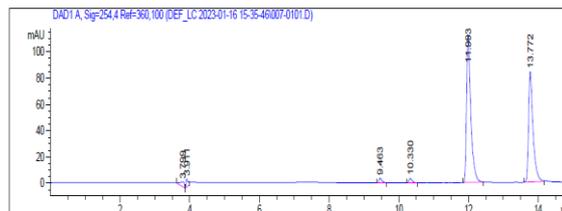
5-расм. Дигидрокверцетин флавоноиди стандарт намуна эритмаси хроматограммаси



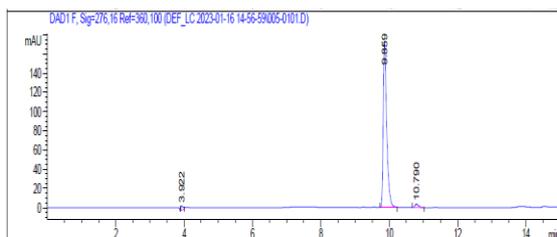
6-расм. Лютеолин флавоноиди стандарт намуна эритмаси хроматограммаси



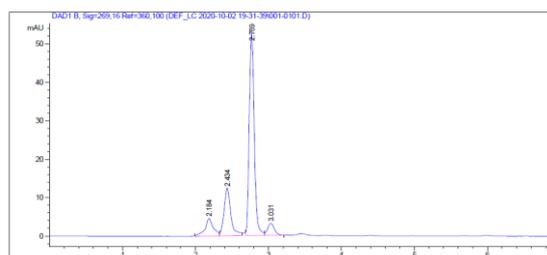
7-расм. Кверцетин флавоноиди стандарт намуна эритмаси хроматограммаси



8-расм. Рутин флавоноиди стандарт намуна эритмаси хроматограммаси

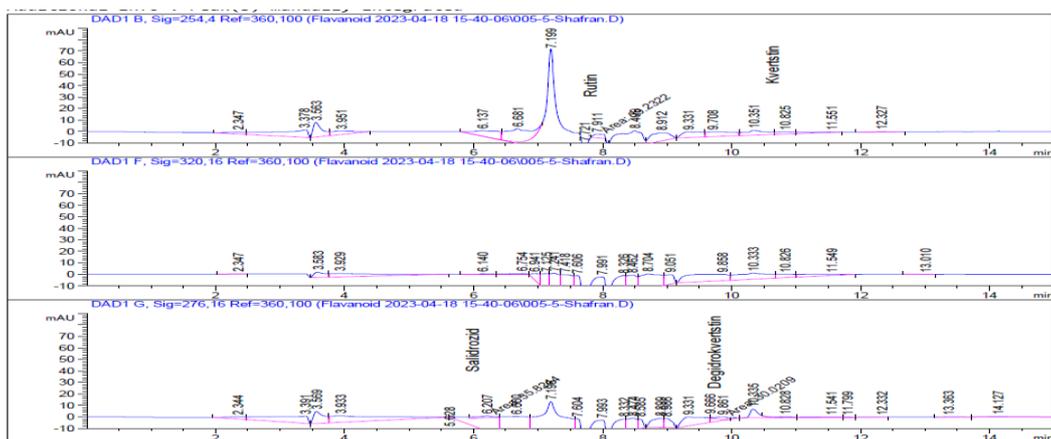


9-расм. Апигинин флавоноиди стандарт намуна эритмаси хроматограммаси



10-расм. Цинарозид флавоноиди стандарт намуна эритмаси хроматограммаси

Экма зафарон қуруқ экстракти таркибидаги флавоноидларни миқдорини аниқлаш учун қуруқ экстрактни филтрлаб, ундан аниқ намуна олиб микрошприц ёрдамида хроматограф инжекторига юборилди. Олинган натижа 11-расмда кўрсатилган. Қуруқ экстрактни хроматограммасини стандарт намуналарни хроматограммаси билан солиштирилганда стандарт намуналарни хроматографик чўққиларига тенг хроматографик чўққилар кўрилди.

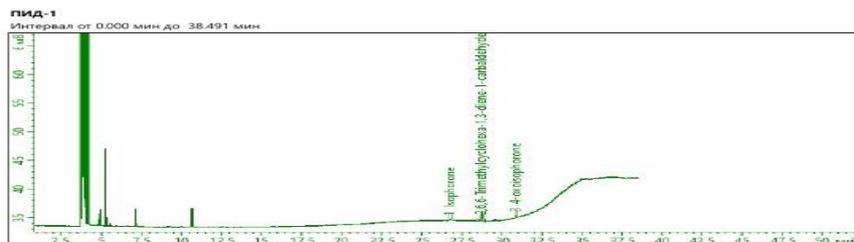


11-расм. Экма зафарон хомашёсидан олинган курук экстракт хроматограммасы

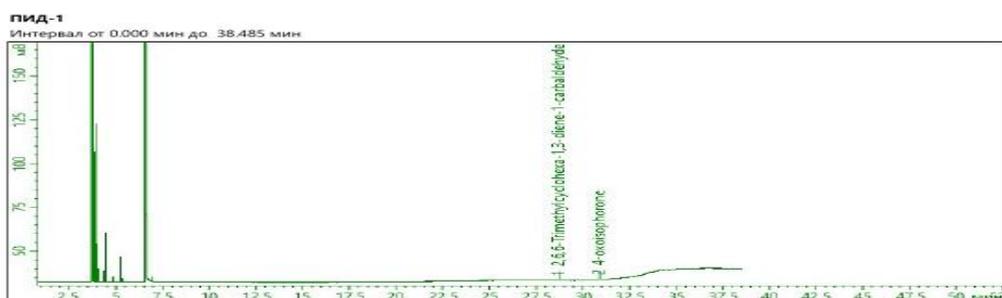
Экма зафарон ўсимлиги асосида олинган курук экстракт таркибида дигидрокверцетин (22,6 мг/г), лютеолин (5,8 мг/г), кверцетин (18,75 мг/г), рутин (19,6 мг/г), цинарозид (2,75 мг/г) ва салидрозид (3,3 мг/г) флавоноидларни миқдори сезиларли даражада кўплиги аниқланди. *Crocus sativus* L.-экма зафарон хомашёсидан олинган курук экстракт таркибидаги эфир мойларини ГСХ усулида аниқлаш. Адабиётлар шарҳида экма зафарон хомашёси таркибида флавоноидлардан ташқари эфир мойлари учраши кўрсатилганлиги сабабли экма зафарон хомашёсидан олинган курук экстракт таркибидан эфир мойларини миқдорини аниқлашни газ суюклик хроматография усули ишлаб чиқилди. Чунки эфир мойлари учувчан, юқори ҳароратда парчаланмайди. Курук экстракт таркибидан эфир мойларини аниқлашда 40% ва 60%ли курук экстракт эритмалари гексан ва ацетонитрилда экстракция қилиб олинган. Олинган натижалар 12 ва 13-расмда келтирилган.



12-расм. Курук экстракт таркибида учраши мумкин бўлган эфир мойларини стандарт намуналарини хроматограммасы



13-расм. Экма зафарон курук экстрактининг гексанли эритмасини хроматограммасы.



14-расм. Элма зафарон курук экстрактини ацетонитрилли эритмасини хроматограммаси

Олинган маълумотлардан кўриниб турибдики, зафарон ўсимлигининг гексан экстрактида барча учта асосий компонент кузатилади: ушланиш вақти 26,766 дақиқа бўлган изофрон, 2,6,6-триметилциклогекса-1,3-диен-1-карбальдегид, ушланиш вақти 28,751 дақиқа ва 4-охоизофрон 30,875 дақ. Изофроннинг миқдорий таркиби 0,76 мг/мл, 2,6,6-учметилциклогекса-1,3-диен-1-карбалдегид 5,71 мг/мл ва 4-охоизофрон 0,68 мг/мл.

14-расмда келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики, зафарон ўсимлиги хомашёси ацетонитрил экстрактида иккита асосий компонент кузатилган: 2,6,6-учметилциклогекса-1,3-диен-1-карбальдегид. 28,745 дақиқали чўкки ва ушланиш вақти 30,877 дақ. 4-охоизофрон. 2,6,6-триметилциклогекса-1,3-диен-1-карбалдегиднинг миқдорий таркиби 0,44 мг / мл ва 4-охоизофрон 0,42 мг / мл ни ташкил қилади. Олинган натижалар шуни кўрсатдики, элма зафарон курук экстракти таркибидан эфир мойларини аниқлашда эритувчи сифатида гександан фойдаланиш самаралироқ.

Диссертациянинг «Элма зафарон – *Crocus sativus* L. ўсимлигининг гул туганаклари ва курук экстрактини стандартлаш» деб номланган тўртинчи бобда элма зафарон хомашёсининг сифат кўрсаткичлари, микробиологик тозалиги, спецификацияси ҳамда ноотроп таъсирини ўрганиш натижалари келтирилган.

6-жадвал

**Элма зафарон гул туганаклари
СПЕЦИФИКАЦИЯ**

Кўрсаткичлар	Усуллар	Меъёрлар
1	2	3
Тавсиф	Визуал равишда	ВФМ га мувофиқ
Микроскопик	Ўз Р ДФ Микроскоп ик таҳлил	ВФМ га мувофиқ
Сифат реакциялар: - кроцин	Кимёвий реакциялар	Тозаланган сув билан икки марта суюлтирилгандан сўнг, тўйинган сариқ ранг доимий равишда сақланади.

<p>Сон кўрсаткичлари:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Эфир мойлари - Намлик - Умумий кул - 10% хлорид кислота эритмасида эримайдиган кул - 3 см дан узун бўлган гулбандлари қолдиқлари билан барг, поя, тўпгуллар - Қорайган ва қорамтир тусга кирган тўпгуллар - Органик ёт моддалар (бошқа заҳарли бўлмаган ўсимликларнинг қисмлари ва бошқа турдаги зафарон тўпгуллари) - Минерал ёт моддалар (тупроқ, қум, майда тошлар) 	Ўз Р ДФ	<p>0,5 % дан кам бўлмаган</p> <p>12 % дан кўп бўлмаган</p> <p>7% дан кам бўлмаган</p> <p>1,5% дан кам бўлмаган</p> <p>9 % дан кам бўлмаган</p> <p>5 % дан кам бўлмаган</p> <p>3 % дан кам бўлмаган</p> <p>0,5 % дан кам бўлмаган</p>
Микробиологик тозалик	Ўз Р ДФ	<p>1 г хомашёда аэроб бактерияларнинг умумий сони 107 дан кўп, замбуруғларнинг умумий сони 105 тадан кўп ва Escherichia coli. сони 102 тадан кўп бўлмаслиги керак.</p> <p>1 г хомашёда аэроб бактерияларнинг умумий сони 105 дан кўп, замбуруғларнинг умумий сони 104 дан ошмаслиги керак;</p> <p>10 г хомашёда Salmonella нинг йўқлиги; энтеробактериялар ва бошқа грам манфий бактериялар сони 103 тадан кўп бўлмаган (ангро қадоқлаш учун)</p>
<p>Микдорий таҳлил:</p> <ul style="list-style-type: none"> - эфир мойлари 	Хромато-масс спектрометрия	0,5% дан кам бўлмаган
Қадоқлаш	ВФМ га мувофиқ	
Ёрликлаш	ВФМ га мувофиқ	
Транспортда ташиш	ДСт 14192-96, ДСт 17768-90 ва ЎзР ДФ га мувофиқ	
Сақлаш шароитлари	Қурук жойда, ёруғликдан ҳимояланган, 25°C дан юқори бўлмаган ҳароратда («ангро» маҳсулотини қадоқлаш учун)	
Яроқлилиқ муддати	18 ой	

б-жадвалда келтирилган тадқиқот натижалари шуни кўрсатадики, элма зафарон хомашёси сифатига қўйилган барча талабларга тўлиқ жавоб беради.

Олинган маълумотларга асосланиб, ЎзР ФА Ўсимлик моддалари кимёси институти мутахассислари билан ҳамкорликда ВФМ ишлаб чиқилиб, ЎзР ССВ хузуридаги «Фармацевтика маҳсулотлари хавфсизлиги Маркази» давлат муассасасига томонидан тасдиқланган.

ХУЛОСАЛАР

1. Элма зафарон – *Crocus sativus* L. ватани, тарқалиши, кўпайтирилиши, қадимги олимлар томонидан аниқланган унинг шифобахш хусусиятлари, озиқ-овқат саноатида қўлланилиши, маданийлаштирилиши ҳамда фармокогностик тавсифига оид маълумотлар таҳлил қилиниб, Ўзбекистонда маданийлаштирилган ўсимлик ҳамда унинг асосидаги дори воситаларни стандартлаш долзарблиги белгиланди.

2. Кимёвий ва физик-кимёвий усуллар ёрдамида элма зафарон ва унинг асосида олинган қуруқ экстракт таркибидаги биологик фаол моддалар идентификация қилинди, жумладан флавоноидлар, аминокислоталар, микро ва макроэлементлар ҳамда эфир мойлари миқдори самарали замонавий таҳлил усуллари, хусусан ГХ, ГХ-МС, ЮССХ, ЮССХ-МС ёрдамида исботланди.

3. Элма зафарон – *Crocus sativus* L. хомашёсини стандартлаш учун сифат кўрсаткичларини ишончли мезонлари ишлаб чиқилди. Хомашё таркибидаги эфир мойлари миқдори хромато-масс-спектрометрия усулида аниқланиб, меъёрий ҳужжатларда унинг миқдори 0,5% дан кам бўлмаслиги белгиланди.

4. Элма зафарон – *Crocus sativus* L. хомашёси асосида олинган қуруқ экстрактни сифатини баҳолаш учун инструментал таҳлил усуллари ишлаб чиқилди. Асосий биологик фаол модда сифатида флавоноидлар белгиланди, уларнинг миқдорий таҳлили юқори самарали суюқлик хроматографияси усулида олиб борилди ва 0,8 % кам бўлмаслиги тақлиф этилди.

5. «Элма зафарон гул тугунаклари» хомашёси учун турғунлиги табиий усулда аниқланди ва яроқлилик муддати 1,5 йилга тенг деб белгиланди.

6. «Элма зафарон гул тугунаклари» хомашёси учун вақтинча фармакопоя мақоласи Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги хузуридаги «Фармацевтика маҳсулотлари хавфсизлиги Маркази» Давлат муассасаси томонидан тасдиқланди ва тиббиёт амалиётида фойдаланишга ва ишлаб чиқаришга руҳсат этилди.

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

ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

ШОМАКСУДОВА МАРХАБОХОН ОДИЛХОН ҚИЗИ

**СТАНДАРТИЗАЦИЯ СЫРЬЯ И СУХОГО ЭКСТРАКТА ШАФРАНА
ПОСЕВНОГО (*CROCUS SATIVUS L.*)**

15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия

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

Ташкент-2024

Тема докторской диссертации (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером B2023.1.PhD/Far103.

Диссертация выполнена в Ташкентском фармацевтическом институте.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.pharmi.uz) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель: Тўлаганов Абдуқодир Абдурахманович
доктор фармацевтических наук, профессор

Официальный оппонент: Юлдашев Закиржан Абидович
доктор фармацевтических наук, профессор
Абдулладжанова Нодира Гуломжановна
доктор химических наук, профессор

Ведущая организация: Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека

Защита диссертации состоится «3» октября 2024 года в 15⁰⁰ 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.: (+99871) 256-37-38, факс: (+99871) 256-45-04, e-mail: info@pharmi.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентского фармацевтического института (регистрационный номер 58). Адрес: 100015, г. Ташкент, Мирабадский район, ул. Айбека, 45. Тел.: (+99871) 256-37-38.

Автореферат диссертации разослан «10» сентября 2024 года.
(Реестр протокола рассылки № 58 от «10» сентября 2024 года).




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


Ф.Ф. Урманова
Председатель научного семинара при
научном совете по присуждению ученых
степеней, д.ф.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно более 100 миллионов человек страдают от поражения центральной нервной системы из-за стресса, нарушения кровообращения. В связи с этим важно расширять ассортимент препаратов с ноотропными свойствами, разрабатывать современные методы их анализа и проводить исследования по доказательству их эффективности на основе результатов фармакотерапевтических исследований.

В настоящее время для применения широко используемых лекарственных растений в современной медицинской практике проводятся научные исследования по их фитохимическому и фармакогностическому анализу, выделению основных биологически активных веществ и доказательству их фармакологических свойств. В связи с этим особое внимание уделяется определению химического состава местного растительного сырья, обладающего ноотропным и противовоспалительным действием, идентификации действующих веществ современными методами, осуществлению работ по стандартизации, разработке соответствующих нормативных документов.

В области фармацевтики нашей республики достигаются определенные результаты по культивированию и организации на основании директивных документов плантаций лекарственных растений, широко используемых в мире, и на их основе обеспечению стабильным лекарственным сырьем с высокой терапевтической активностью. В 22-й цели Стратегии развития Нового Узбекистана определены такие важные задачи как «Увеличение объема производства продукции фармацевтической промышленности в три раза и доведение уровня обеспечения внутреннего рынка отечественными лекарственными средствами до 80 процентов»¹. В связи с этим важно создать плантации шафрана, определить качественные и количественные показатели получаемого сырья, обеспечить его стабильность и высокий терапевтический эффект, доказать его безопасность, обеспечить потребность в нем местной фармацевтической промышленности, наладить разработку лекарственных средств на экспорт.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан № УП-55 от 21 января 2022 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2022-2026 годах», постановлениями Президента Республики Узбекистан № ПП-4901 от 26 ноября 2020 г. «О мерах по расширению масштаба научных исследований о выращивании и переработке лекарственных растений, развитию налаживания их семеноводства», № ПП-4670 от 10 апреля 2020 г. «О мерах по охране, культурному выращиванию, переработке дикорастущих лекарственных растений и рациональному использованию имеющихся

¹ Указ Президента Республики Узбекистан от 28 января 2022 г. № УП-60 «О Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы».

ресурсов», Постановлением Кабинета Министров Республики Узбекистан от 21 августа 2017 г. №ПКМ-1-421 «О мерах по созданию плантаций шафрана в республике для обеспечения нужд фармацевтической промышленности и организации воспроизводства экспортируемых лекарственных растений» и другими нормативно-правовыми актами, относящимися к данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Данное научное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики VI. «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. В нашей республике важное значение имеют научные исследования по разработке лекарственных средств из лекарственного растительного сырья, контролю качества, определению количества биологически активных веществ и изучению их фармакологической активности таких ученых, как Х.Х.Холматов, Р.Л.Хазанович, Т.П.Пулатова, Х.У.Алиев, У.М.Азизов, В.Н.Сыров, Ш.Ш.Сагдуллаев, Ф.Ф.Урманова, Б.Й.Тухтаев, Х.М.Комилов, Н.Ж.Абдуллаев.

В мировом масштабе важное значение имеют научные исследования по изучению биологически активных веществ, содержащихся в препаратах, полученных на основе сырья лекарственных растений, их стандартизации и определению их биологической активности ряда ученых, в том числе N.V.Dau, V.N. Thang, J.P.Dzoyem, Lupak MI, Khokla MR, Hachkova G.Y., Adoga G.I., Hsu C.Y., Seo Sh, Lee Sh, Cha PH, Kim MY, Min do S, Choi K.Y., Olaru O.T., A.K.M.Moyeenul Huq, Jamina Azdina Jamal, Jonson Stanlas, Самылиной И.А., П.Г.Мизиной, Шварца Г.Я., У.Ф.Гашимова, Х.Ф.Бабаева, С.И.Гасановой, П.А.Шукюровой, О.В.Евдокимова, А.Н.Александрова, А.Н.Кузьменко, А.Н.Сливкина, Л.М.Гориловкого, А.Т.Терешинной, А.С.Чистяковой, Бабаскина В.Г., Ю.Г.Пшукова.

Данная диссертационная работа считается первым научным исследованием по определению количества биологически активных веществ в растительном сырье шафрана посевного, культивированном в различных регионах Узбекистана, и в полученном из него сухом экстракте, в сравнении с растительным сырьем шафрана посевного, выращенным в Иране.

Связь темы диссертации с научно-исследовательской работой вуза, в котором выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ Ташкентского фармацевтического института на тему «Совершенствование метода фармацевтического и токсикологического анализа» и практическим проектом № ПЗ-20170919120 «Изучение растения шафрана посевного – *Crocus sativus L.* как сырья для получения лекарственных средств».

Цель исследования заключается в определении и стандартизации качества и количества макро- и микроэлементов, аминокислот и других биологически активных веществ в сырье шафрана и полученном из него сухом экстракте современными физико-химическими методами.

Задачи исследования заключаются в следующем:

проанализировав представленные в литературе данные, обоснование целесообразности получения и стандартизации препаратов с ноотропным действием на основе местного сырья;

разработка современных методов исследования для идентификации и количественного определения биологически активных веществ, содержащихся в сырье *Crocus sativus L.*;

разработка методов стандартизации сырья шафрана посевного – *Crocus sativus L.*;

разработка временной фармакопейной статьи на сырье шафрана посевного – *Crocus sativus L.* и представление её в Государственное учреждение «Центр безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан для получения разрешения на применение в медицине и утверждение;

разработка технологии получения сухого экстракта на основе сырья шафрана посевного – *Crocus sativus L.* и контроля качества основных действующих веществ экстракта;

разработка современных методов исследования для идентификации и количественного определения биологически активных веществ в сухом экстракте, полученном на основе сырья шафрана посевного – *Crocus sativus L.*

В качестве **объекта исследования** взято растительное сырье шафрана посевного (*Crocus sativus L.*), выращенного в Узбекистане, и сухой экстракт, полученный на его основе, а также растительное сырье шафрана посевного, выращенного в Иране.

Предметом исследования является определение стандартов качества сырья шафрана посевного (*Crocus sativus L.*) и сухого экстракта, полученного на его основе с использованием современных физико-химических методов с высокой чувствительностью, их стандартизация и внедрение в практику.

Методы исследования. При проведении исследования использовались современные методы физико-химического анализа, в том числе тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газожидкостная хроматография (ГЖХ), газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС), фармакологические и микробиологические методы, а также современные компьютерные программы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые в Республике Узбекистан разработаны методы стандартизации и контроля качества рылец цветков шафрана посевного – *Crocus sativus L.*;

в биологически активных веществах сырья шафрана посевного – *Crocus sativus L.* определено количество флавоноидов, аминокислот, макро- и микроэлементов, эфирных масел и изучено его ноотропное действие с целью применения в медицинской практике;

впервые разработаны методы качественного и количественного определения для идентификации основных действующих веществ в сухом экстракте, полученном на основе сырья шафрана посевного;

разработаны современные методы количественного определения основных действующих веществ (флавоноидов и аминокислот - высокоэффективная жидкостная хроматография, эфирных масел - газожидкостная хроматография, макро- и микроэлементов - масс-спектрометрия) в сырье и сухом экстракте.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

в результате доклинических исследований доказаны ноотропное действие сырья шафрана посевного, противовоспалительное действие сухого экстракта, полученного из этого сырья, и их безопасность;

определены условия хранения сырья шафрана посевного естественным способом и обоснованы сроки годности;

с целью получения разрешения на использование и производство сырья «Цветочные рыльца шафрана посевного» в медицине разработаны и утверждены нормативные документы.

Достоверность результатов исследования. Степень достоверности полученных результатов подтверждена на основе современных методов математико-статистического анализа, физико-химических, доклинических фармакологических исследований. Разработанные аналитические методы подтверждаются тем, что они апробированы в лабораторных условиях предприятия.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследований заключается в том, что определены флавоноиды, аминокислоты, микро- и макроэлементы и эфирные масла, содержащиеся в цветочных рыльцах шафрана посевного - *Crocus sativus L.*, культивируемом в Узбекистане, и его сухом экстракте, а также разработаны унифицированные методы стандартизации наряду с «растительное сырьё – лекарственное средство, полученное из него».

Практическая значимость результатов исследования объясняется тем, что совместно с Институтом химии растительных веществ АН РУз разработана временная фармакопейная статья на сырьё «Цветочные рыльца шафрана посевного» и утверждена в Государственном учреждении «Центр безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан и внедрена для применения в медицинскую практику. Утверждение данного документа служит для разработки лекарственных препаратов из растений, культивируемых в нашей республике.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных научных результатов по стандартизации сырья и сухого экстракта шафрана посевного (*Crocus sativus L.*):

утверждена временная фармакопейная статья на сырьё «Цветочные рыльца шафрана посевного» Государственным учреждением «Центр

безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан (ВФС 42 Уз-4854-2022) и получено разрешение на применение в медицине (удостоверение № DV/M 04044/02/22). Утверждение данного нормативного документа позволило расширить ассортимент сырья с высокоэффективным ноотропным действием;

в результате проведенных доклинических испытаний доказана специфическая фармакологическая активность и отсутствие острой токсичности цветочных рылец шафрана посевного (письмо Министерства здравоохранения № 8н-3/280 от 15 октября 2018 г.). В результате удалось получить лекарственное средство в виде лекарственного растительного сырья с надежной ноотропной активностью;

в результате проведенных доклинических испытаний доказана специфическая фармакологическая активность и отсутствие острой токсичности сухого экстракта шафрана посевного (письмо Министерства здравоохранения № 8н-3/280 от 15 октября 2018 г.). В результате удалось получить безвредные лекарственные средства с надежной противовоспалительной активностью.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования обсуждались на бти международных и 2х республиканских научно-практических конференциях.

Публикация результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 9 статей в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора философии (PhD) (5 научных статей опубликованы в республиканских журналах и 4 статьи в зарубежных журналах).

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 116 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обосновывается актуальность и востребованность исследования, описываются цель и задачи, объект и предметы исследования, указано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, описаны научная новизна и практические результаты исследования, внедрены результаты исследования в практику, приведены сведения об опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации *«Современное состояние лекарственных средств растительного происхождения и проблемы обеспечения их качества»* описан анализ данных, представленных в литературе, включающий требования международной фармакопеи по стандартизации лекарственного растительного сырья и полученных на его основе

лекарственных средств и биологически активных добавок, сведения о специфике и современных методах стандартизации лекарственных растений, а также дана краткая характеристика биологически активных веществ растения шафрана посевного - *Crocus sativus L.* Также даны сведения о классификации шафрана посевного и его использовании в современной медицине, роли ноотропных лекарственных средств на фармацевтическом рынке Республики Узбекистан.

Во второй главе диссертации под названием «*Описание использованного сырья и методов исследования*» приведены материалы и объект исследования, научно обоснован способ получения сухого экстракта из лекарственного растения.

В третьей главе диссертации «*Изучение химического состава рылец цветков шафрана посевного – Crocus sativus L. и полученного на его основе сухого экстракта*» изложены результаты, полученные при изучении биологически активных веществ в сырье шафрана посевного с использованием современных физико-химических методов анализа.

Определение биологически активных веществ в сырье шафрана посевного методом газовой хромато-масс-спектрологии. Для исследования зависимости содержания биологически активных веществ, соответствующих требованиям ГОСТ 21722-84, от климатических условий использовали образцы сырья, выращенных в разных регионах Узбекистана, и для сравнительного исследования использовали сырьё шафрана посевного, выращенного в Иране.

Образцом для исследования служило сырье шафрана посевного, экстрагированное при комнатной температуре гексаном и бензолом по отдельности (по 2 г, соотношение 1:6 (вес-объем растворителя)) три раза подряд и концентрированное в кварцевой капиллярной колонке Agilent HP-INNOWax. (30 м x 0,25 мм x 0.25 мкм) анализировали на хромато-масс-спектрометре Agilent 5975C inert MSD/ 7890A GC. Объем вносимой пробы – 1,0 мл (гексан, бензол), скорость потока подвижной фазы – 1,1 мл/мин. Температура в инжекторе 220°C. Спектры ЭУ-МС взяты в интервале диапазона m/z10-550 а.с.м. Выделение (идентификация) биологически активных веществ (Wiley Registry of Mass Spectral Data -9th ED.NIST Mass Spektral Library, 2011) изучали путем сравнения соединений индекса удерживания электронной библиотеки (RI) со временем удерживания n-алкана (C₉-C₂₈).

Полученные результаты сравнивались со стандартами, регламентирующими компоненты биологически активных веществ, которые могут содержаться в лекарственных растениях. Расшифровка хроматограмм, полученных из изученных экстрактов, показала соответствие соответствующим стандартам по составу основных компонентов (рис. 2; табл. 1 и 2).

Результаты экспериментальных исследований показали, что сырье шафрана посевного, выращенного в Узбекистане и Иране, по всем

показателям соответствует требованиям стандарта качества.

Результаты наших исследований показали, что гексановый экстракт сырья содержит большое количество 2,6,6-триметил-1,3-циклогексадиен-1-карбальдегида (23,40%), а бензольный экстракт - 10,56% дибутилфталата, это доказывает, что химический состав шафрана, выращенного в республике, соответствует требованиям международного стандарта.

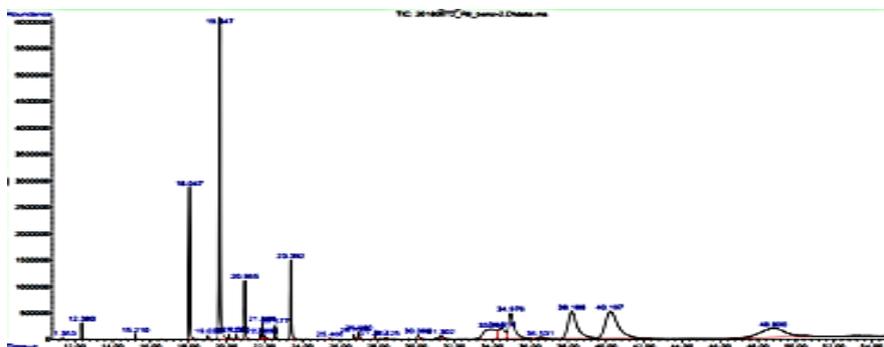


Рисунок 1. ГХ-МС хроматограмма бензольного экстракта сырья шафрана посевного

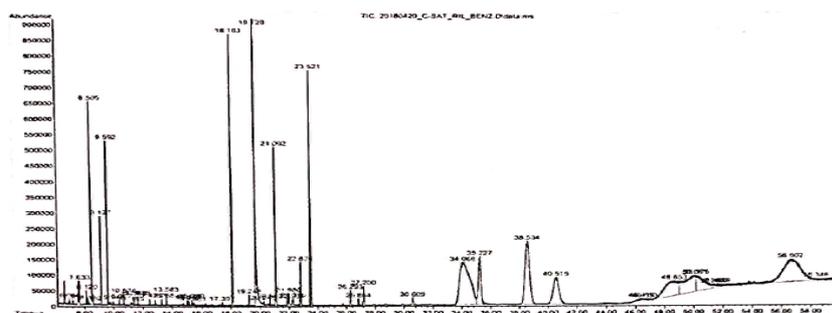


Рисунок 2. ГХ-МС хроматограмма гексанового экстракта сырья шафрана посевного

Таблица 1

Биологически активные вещества бензольного экстракта сырья шафрана посевного

№	Соединения	RI	RT	Площадь %
1	n-ундекан	1107	3,484	10,30
2	гептанал	1173	4,776	4,65
3	n-додекан	1201	5,329	7,25
4	мезитилен	1265	6,799	1,07
5	n- тридекан	1305	7,752	2,03
6	трет-бутилбензол	1341	8,803	0,39
7	1,3-диметил-5-этилбеноат	1348	9,012	0,51
8	Гептил 2-бромпропонат	1377	9,885	2,91
9	n-тетрадекан	1399	10,549	6,78
10	тетрагидроизохинолин	1491	13,181	0,36
11	n-пентадекан	1499	13,439	1,36
12	изофорон	1554	15,112	5,04

13	n-гексадекан	1597	16,397	6,54
14	сафранал	1605	16,636	11,22
15	p-крезол	1681	18,819	3,39
16	азулен	1687	18,991	1,65
17	n-гептадекан	1696	19,274	1,34
18	β -метилнафтален	1791	21,955	1,51
19	n-октадекан	1799	22,207	1,48
20	α -метилнафтален	1809	22,828	0,68
21	1,6-диметилнафтален	1841	24,820	0,56
22	Гептановая кислота	1848	25,263	0,53
23	2,7-диметилнафтален	1855	25,699	0,45
24	Эндо-3-(метиламино)-2-борнано́л	1989	34,092	13,73
25	Цинерин 11	2014	35,697	3,08
26	3,4-дигидро-6,7-дигидрокси-1(2H)-нафталенон	2138	43,457	2,36
				91,17

Таблица 2

**Биологически активные вещества гексанового экстракта сырья
шафрана посевного**

№	Соединения	RI	RT	Площадь %
1	n-ундекан	1107	3,484	7,08
2	p-ксилол	1131	3,952	0,41
3	5-метилендекан	1149	4,308	0,20
4	изододекан	1157	4,462	0,41
5	оксала́тная кислота	1166	4,634	0,16
6	m-ксилол	1169	4,702	0,15
7	n-додекан	1201	5,323	5,71
8	1-этил-2-метилбензоат	1210	5,538	0,40
9	1,2,4-триметилбензоат	1228	5,950	0,18
10	мезитилен	1245	6,331	0,11
11	m-цимол	1255	6,571	0,18
12	1,2,3-триметилбензоат	1265	6,799	0,87
13	1-метил-2-пропилбензоат	1290	7,370	0,67
14	бутилбензоат	1300	7,604	0,18
15	n-тридекан	1305	7,739	2,24
16	1,2-диметил-3-этилбензоат	1311	7,918	2,24
17	2-этил-p-ксилол	1335	8,637	0,18
18	1-этил-2,4-диметилбензоат	1340	8,797	0,34
19	1,3-диметил-5-этилбензоат	1347	9,006	0,46
20	транс-1-метил-2-инданоло́м	1378	9,922	0,30
21	n-тетрадекан	1399	10,543	5,62
22	изодурол	1409	10,820	0,43
23	транс-7-тетрадекан	1437	11,644	0,13

24	дурол	1458	12,246	0,48
25	тетралин	1491	13,181	0,39
26	n-пентадекан	1499	13,427	1,44
27	изофорон	1555	15,130	4,89
28	б-метилтетралин	1589	16,169	0,13
29	n-гексадекан	1597	16,390	4,77
30	сафранал	1607	16,686	26,33
31	цис-7-гексадекан	1636	17,522	1,12
32	4-оксиизофорон	1652	17,983	0,92
33	аллоцимин	1681	18,831	1,58
34	азулен	1687	19,004	1,29
35	n-гептадекан	1696	19,256	0,68
36	2,2,6-триметилциклогексан-1,4-дион	1734	20,356	1,39
37	β-метилнафтаден	1791	21,967	0,93
38	n-октадекан	1800	22,262	2,42
39	α-метилнафтаден	1810	22,840	0,44
40	2-гексил-1-деканол	1819	23,406	1,67
41	1,5-диметилнафтаден	1841	24,839	0,30
42	2,3-диметилнафтаден	1856	25,724	0,35
43	2,2,5,6-тетраметил-2,3-дигидропуран-4-тион	1925	30,090	0,38
44	1-метокси-5-цикло[2,2,0]гексо-2-ен-6-он	1992	34,271	5,03
45	1,2-диметил-7-фенил-2-пирролин[3,2-с]пиридин	2007	35,218	0,31
46	5-изопропенил-2-метилциклопент-1-корбоксияльдегид	2019	36,023	7,48
47	1,6-диметилгепта-1,3,5-триен	2120	42,319	2,15
48	2,3-диметил-2-циклопропен-1-он	2142	43,697	0,78
				94,28

Определение макро- и микроэлементов в сырье шафрана проводили с помощью «Тест.М» в режиме «SemiQuant» на приборе ISP MS NEXION-2000 (Perkin Elmer США) с индуктивной аргоновой плазмой и масс-спектрометром (Германия).

ИСП MS (масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой) 7500 - мощность плазмы 1200 Вт, время интегрирования 0,1 сек. Калибровку устройства и количественную оценку проводили на основе многоэлементного калибровочного стандарта компании «Agilent Technologies», состоящего из 23 элементов. Полученные данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

Количество макро- и микроэлементов в цветочных рыльцах шафрана посевного

№	Элементы в составе растения	Количество (мкг/г)	№	Элементы в составе растения	Количество (мкг/г)
---	-----------------------------	--------------------	---	-----------------------------	--------------------

1	Li	0,012	13	Mn	0,587
2	B	0,682	14	Fe	65,171
3	Na	23,481	15	Co	0,032
4	Mg	75,773	16	Ni	0,045
5	Al	10,053	17	Cu	0,239
6	Si	480,329	18	Zn	1,073
7	P	370,114	19	Rb	0,061
8	S	229,831	20	Sr	0,105
9	K	748,287	21	Ba	0,073
11	V	0,037	22	Hg	0,030
12	Cr	1.786	23	Pb	0,076

Как видно из результатов, представленных в таблице, в составе растительной продукции выявлено 23 элемента. Цветочные рыльца изучаемого растения *Crocus sativus L.* содержат необходимые для жизни элементы: цинк (1073 мкг/г), железо (65171 мкг/г), натрий (23481 мкг/г), магний (75773 мкг/г), калий (748 287 мкг/г), кальций (1 527 212 мкг/г), хром (1 786 мкг/г), присутствие которых еще больше повышает биологическую значимость сырья.

Аминокислоты в сырье шафрана посевного определяли в виде фенилтиокарбамильных производных по методу Steven A, Kohen Daviel, сравнивая аминокислоты со стандартными образцами. Идентификацию производных аминокислот проводили по методу ВЭЖХ.

В исследованиях использовали хроматограф Agilent Technologies 1200 с колонкой Discovery HS C18 размером 75x4,6 мм.

Подвижная фаза «А» - 0,14М CN_3SOONa + 0,05 % ТЭА (триэтиламин), рН 6,4. Подвижная фаза «В» представляет собой ацетонитрил, используемый для ВЭЖХ.

Условия проведения ВЭЖХ: температура колонки - 25°C; длина волны – 269 нм; скорость потока - 1,2 мл/мин; объем ввода – 5 мкл.

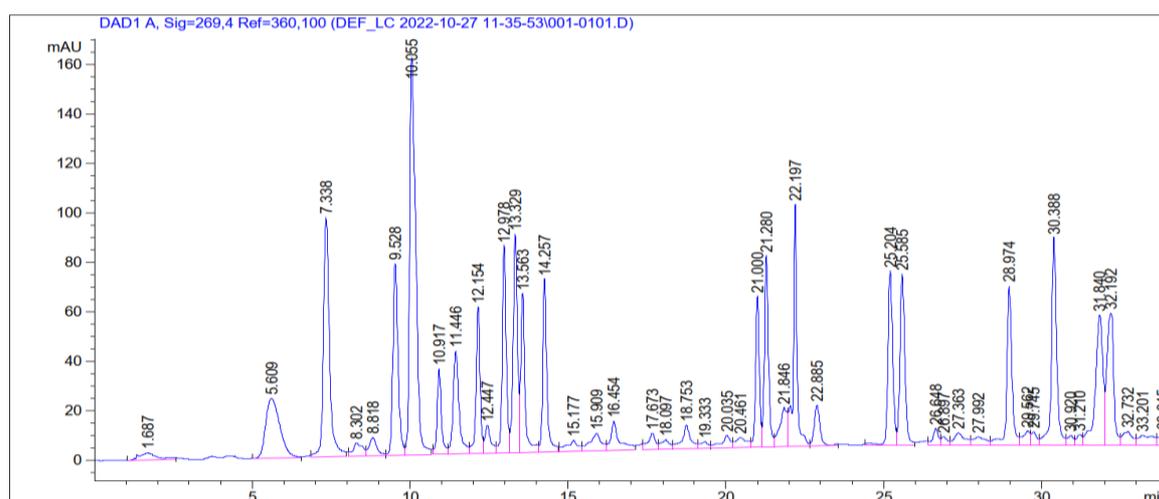


Рисунок 3. Хроматограмма стандартных образцов аминокислот

Количество аминокислот, определенных в составе сырья *Crocus sativus L.*

Незаменимые аминокислоты		
Аминокислоты	Время удержания, мин.	Концентрация, мг/г
Изолейцин	25,0	1,419956
Лейцин	25,3	1,068996
Триптофан	29,6	1,111631
Фенилаланин	30,07	1,602467
Лизин HCl	31,37	0,787783
Валин	22,4	1,429123
Метионин	23,8	1,215824
Треонин	14,36	1,013514
Йиғинди Σ		9,649294
Заменимые аминокислоты		
Аспарагин кислота	4,62	0,430934
Глутамин кислота	6,29	0,697983
Серин	9,74	0,740963
Глицин	10,7	0,677594
Аспарагин	10,7	0,722892
Глутамин	11,54	1,251014
Цистеин	12,61	2,757732
Аргинин	14,75	0,928588
Аланин	15,84	0,332815
Пролин	16,23	0,346611
Тирозин	21,01	2,072204
Гистидин	28,7	1,080395
Сумма Σ		12,039725
Сумма всех аминокислот Σ		21,689019

Из таблицы 4 можно сделать вывод, что виды аминокислот в составе рылец *Crocus sativus L.* с точки зрения количества расположены в следующей последовательности.

Незаменимые аминокислоты: liz > fen > lys > izoly > met > val > tre > ley.

Заменимые аминокислоты: cys > glu > ala > ser > pro > gly > asp.

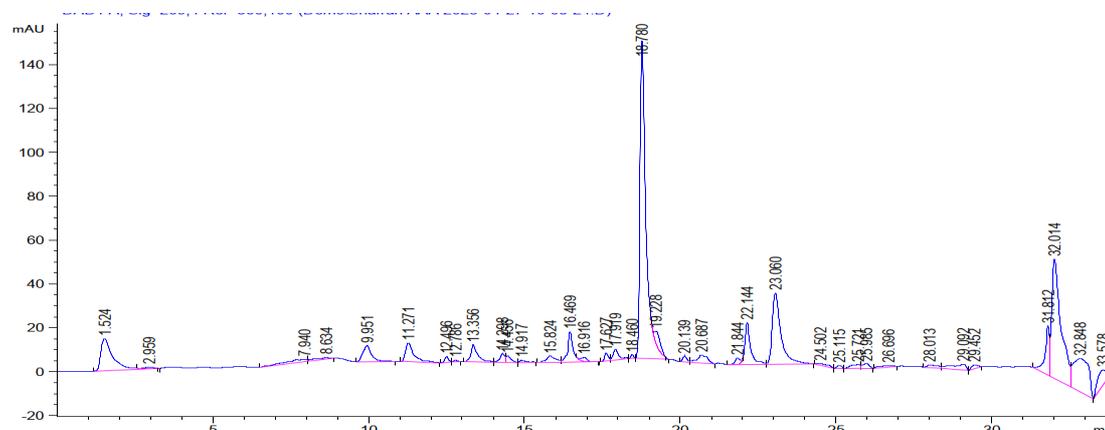


Рисунок 4. Хроматограммы аминокислот цветочных рылец растения *Crocus sativus L.*

Получение сухого экстракта на основе сырья шафрана посевного

№	Название продукта	Экстракт %	Полученная масса, %
1	Цветочные рыльца шафрана посевного (<i>C. sativus L.</i>)	40% этиловый спирт	52,56
2	Цветочные рыльца шафрана посевного (<i>C. sativus L.</i>)	60% этиловый спирт	64,67

Определение флавоноидов в сухом экстракте, полученном на основе цветочных рылец шафрана посевного, методом ВЭЖХ. Элюирование проводили в градиентном режиме, используя в качестве подвижной фазы смесь 0,1% ортофосфорной кислоты и ацетонитрила (70:30). Объемная скорость потока элюента составляла 1,0 мл/мин, объем вводимой пробы – 10 мкл. В разработанном методе флавоноиды, такие как дигидрокверцетин, лютеолин, кверцетин, рутин, цинарозид, салидрозид, сравнивались со стандартными образцами и были получены удовлетворительные результаты. Хроматограммы стандартных образцов флавоноидов показаны на рисунках 5-10.

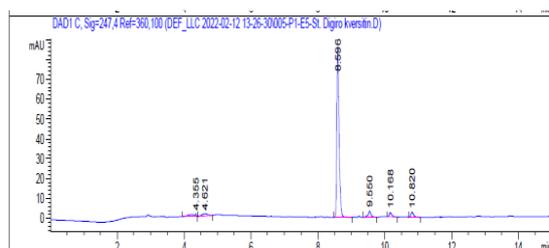


Рисунок 5. Хроматограмма РСО флавоноида дигидрокверцетина

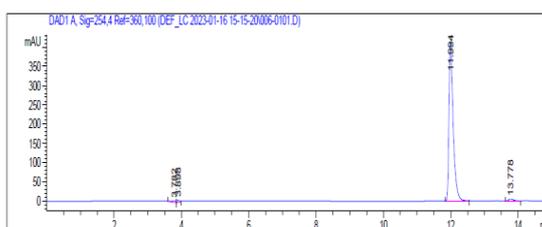


Рисунок 6. Хроматограмма РСО флавоноида лютеолина

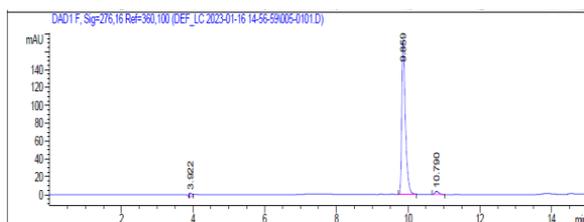


Рисунок 7. Хроматограмма РСО флавоноида кверцетина

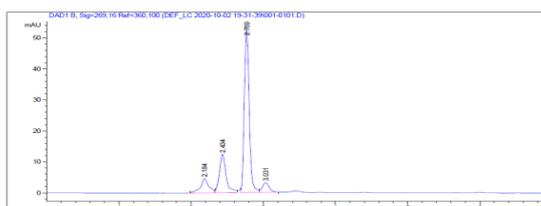


Рисунок 8. Хроматограмма РСО флавоноида рутина

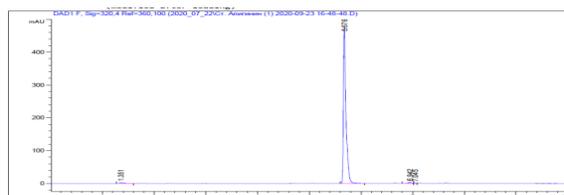


Рисунок 9. Хроматограмма РСО флавоноида апагинина

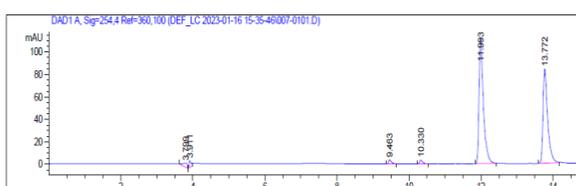


Рисунок 10. Хроматограмма РСО флавоноида цинарозид

Для определения количества флавоноидов в сухом экстракте шафрана посевного сухой экстракт фильтровали, из него отбирали точную пробу и с помощью микрошприца направляли в инжектор хроматографа. Полученный результат показан на рисунке 11. При сравнении хроматограммы сухого экстракта с хроматограммой стандартных образцов наблюдались хроматографические пики, равные хроматографическим пикам стандартных образцов.

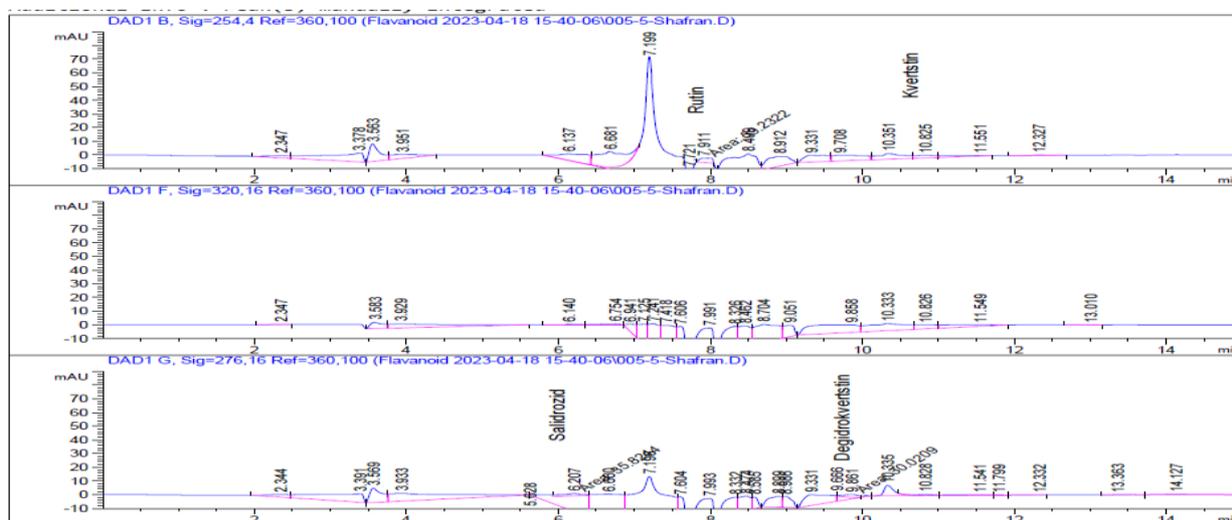


Рисунок 11. Хроматограмма сухого экстракта сырья шафрана посевного

Установлено, что содержание флавоноидов дигидрокверцетина (22,6 мг/г), лютеолина (5,8 мг/г), кверцетина (18,75 мг/г), рутина (19,6 мг/г), серерозида (2,75 мг/г) и салидрозида (3,3 мг/г) существенно выше в сухом экстракте, полученном на основе шафрана посевного.

Определение эфирных масел в сухом экстракте, полученном методом ГЖХ из сырья шафрана посевного - Crocus sativus L. В обзоре литературы показано, что в сырье шафрана посевного помимо флавоноидов присутствуют эфирные масла, поэтому был разработан метод газожидкостной хроматографии для определения количества эфирных масел в сухом экстракте, полученном из сырья шафрана посевного, так как эфирные масла летучи и не разлагаются при высоких температурах. При определении эфирных масел из сухого экстракта экстрагировали 40% и 60% растворы сухого экстракта в гексане и ацетонитриле. Хроматограммы гексанового раствора представлены на рисунке 13.

Полученные данные показывают, что в гексановом экстракте растения шафрана обнаружены все основные компоненты это: изофорон со временем удерживания 26,766 мин, 2,6,6- триметилциклогекса-1,3-диен-1-карбальдегид со временем удерживания на колонке 28,751 мин и 4-охофорона со временем удерживания 30,875 мин. Количественное содержание изофорона 0,76мг/мл, 2,6,6- триметилциклогекса-1,3-диен-1-карбальдегид – 5,71мг/мл и 4-охофорона – 0,68мг/мл.



Рисунок 12. Хроматограмма стандартных образцов эфирных масел, содержащихся в сухом экстракте

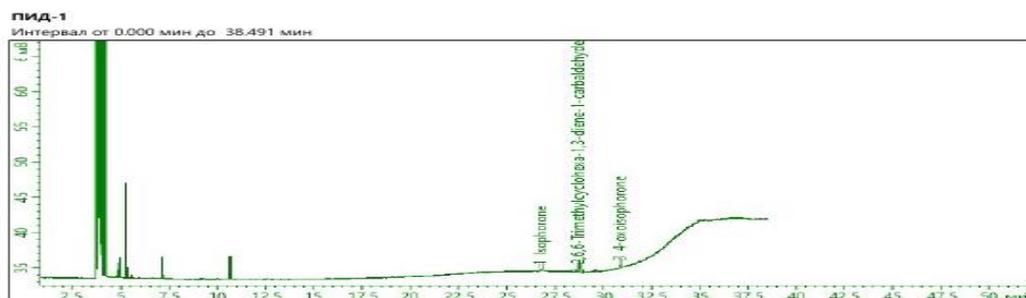


Рисунок 13. Хроматограмма гексанового раствора сухого экстракта шафрана посевного

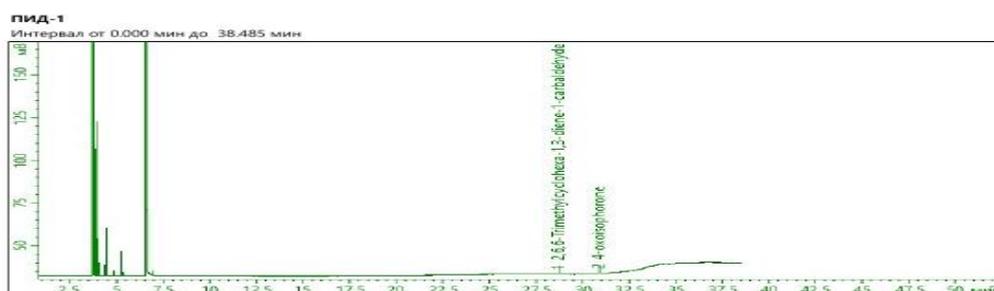


Рисунок 14. Хроматограмма ацетонитрилового раствора сухого экстракта шафрана посевного

Как видно из данных, представленных на рисунке 14, в ацетонитриловом экстракте сырья растения шафрана наблюдались две основные компоненты это: 2,6,6- триметилциклогекса-1,3-диен-1-карбальдегид со временем удерживания на колонке 28,745 мин и 4-охофорона со временем удерживания 30,877 мин. Количественное содержание 2,6,6- триметилциклогекса-1,3-диен-1- карбальдегид – 0,44 мг/мл и 4-охофорона – 0,42 мг/мл. Полученные результаты показали, что использование гексана в качестве растворителя более эффективно при определении эфирных масел из сухого экстракта шафрана посевного.

Четвертая глава под названием «Стандартизация цветочных рылец и сухого экстракта растения шафрана посевного - *Crocus sativus L.*» содержит результаты изучения показателей качества, микробиологической чистоты, технических характеристик и ноотропного действия сырья шафрана посевного.

Цветочные рыльца шафрана посевного
СПЕЦИФИКАЦИЯ

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	Визуально	В соответствии с ВФС
Микроскопия	ГФ РУз Микроскопический	В соответствии с ВФС
Качественные реакции: - кроцин	Химические реакции	После двойного разведения очищенной водой стойко выдерживается насыщенный желтый цвет
Числовые показатели: - Эфирные масла - Влажность - Золы общей - Золы, нерастворимой в 10%-ном растворе хлористоводородной кислоты - Листьев, стеблей, корзинок с остатками цветоносов длиннее 3 см - Корзинок, почерневших и побуревших - Органической примеси (части других неядовитых растений и корзинки других видов шафрана) - Минеральной примеси (земли, песка, камешков)	ГФ РУз	не менее 0,5 % не более 12 % не более 7% не более 1,5% не более 9 % не более 5 % не более 3 % не более 0,5 %
Микробиологическая чистота	ГФ РУз	В 1 г сырья допускается наличие не более 10^7 общего числа аэробных бактерий и не более 10^5 общего числа грибов, и не более 10^2 Escherichia coli. В 1 г сырья допускается наличие не более 10^5 общего числа аэробных бактерий, не более 10^4 общего числа грибов; отсутствие Salmonellae в 10 г сырья; не более 10^3 энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий (для «ангро» упаковки)
Количественное определение: - эфирные масла	Хромато-масс спектрометрия	Не менее 0,5%
Упаковка	В соответствии ВФС	

Маркировка	В соответствии ВФС
Транспортирование	В соответствии ГОСТ 14192-96, ГОСТ 17768-90 и ГФ РУз
Хранение	В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25 °С (для «ангро» упаковки продукта)
Срок годности	18 месяцев

Результаты исследования показывают, что сырье шафрана посевного полностью соответствует всем требованиям, предъявляемым к его качеству.

На основании полученной информации совместно со специалистами Института химии растительных веществ АН РУз была разработана ВФС и утверждена Государственным учреждением «Центр безопасности фармацевтической продукции» при МЗ РУз.

ВЫВОДЫ

1. Проанализированы данные о родине, распространении, размножении, целебных свойствах шафрана посевного *Crocus sativus L.*, использовании его в пищевой промышленности, культивировании и фармакогностическом описании, а также установлена актуальность стандартизации культивированного в Узбекистане растения и лекарственных средств на его основе.

2. С помощью химических и физико-химических методов определены биологически активные вещества в составе шафрана посевного и его сухого экстракта, в том числе количество флавоноидов, аминокислот, микро- и макроэлементов, эфирных масел проверено с помощью эффективных современных методов анализа, в частности ГХ, ГХ-МС, ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС.

3. Разработаны достоверные критерии показателей качества для стандартизации сырья шафрана посевного - *Crocus sativus L.* Количество эфирного масла в сырье определяли методом хромато-масс-спектрометрии, при этом в нормативных документах установлено, что его количество не должно быть менее 0,5%.

4. Разработаны методы инструментального анализа для оценки качества сухого экстракта, полученного на основе сырья шафрана посевного - *Crocus sativus L.* В качестве основного биологически активного вещества определены флавоноиды, проведен их количественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и высказано предположение, что 0,8% не должен быть меньше.

5. Стабильность сырья «Цветочные рыльца шафрана посевного» определена естественным способом и определен срок годности - 1,5 года.

6. Временная фармакопейная статья на сырье «Цветочные рыльца шафрана посевного» утверждена Государственным учреждением «Центр безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан и получено разрешение на использование в медицинской практике и производство.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC
DEGREE OF DOCTOR OF SCIENCE 04/30.12.2019.FAR.32.01
AT THE TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE**

TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE

SHOMAKSUDOVA MARKHABOKHON ODILKHON QIZI

**STANDARDIZATION OF RAW MATERIALS AND DRY EXTRACT
OF SAFFRON CROCUS (*CROCUS SATIVUS L.*)**

15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy

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

Tashkent – 2024

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission under the Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan with registration number of B2023.1.PhD/Far103.

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.ziynet.uz.

Scientific supervisor: **Tulaganov Abduqodir Abdurakhmanovich**
Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

Official opponents: **Yuldashev Zakirzhan Abidovich**
Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor
Abdulladzhanova Nodira Gulomzhanovna
Doctor of Chemical Sciences, Professor

Leading organization: **National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek**

Defense will take place on “3” october 2024 at 1500 at the meeting of the Scientific Council DSc.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 (№58). Address: 100015, Tashkent city, Mirabad district, Aibek st. 45. Tel.: ((+99871) 256-37-38.

Abstract of the dissertation is distributed on “10” september 2024.
(Protocol at the register № 58 dated «10» september 2024).



K.S. Rizaev
Chairman of scientific council on conferment of scientific degrees, D.M.Sc.

Yo.S. Karieva
Scientific Secretary of the Scientific Council for Awarding Academic Degrees, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

F.F. Urmanova
Chairman of scientific seminar under scientific council on conferment of scientific degrees, D.Pharm.Sc., Professor

INTRODUCTION

(abstract of doctor of philosophy dissertation (PhD))

The aim of the study is to determine and standardize the quality and quantity of macro- and microelements, amino acids and other biologically active substances in saffron raw materials and the dry extract obtained from it using modern physicochemical methods.

The object of the study is the plant material of cultivated saffron (*Crocus sativus L.*), grown in Uzbekistan, and the dry extract obtained on its basis, as well as the plant material of saffron grown in Iran.

The scientific novelty of the study is as follows:

for the first time in the Republic of Uzbekistan, methods for standardization and quality control of raw materials of cultivated saffron flower stigmas – *Crocus sativus L.* have been developed;

the amount of flavonoids, amino acids, macro- and microelements, essential oils in the biologically active substances of cultivated saffron flower stigmas – *Crocus sativus L.* has been determined and its nootropic effect has been studied for the purpose of using it in medical practice;

for the first time, methods for qualitative and quantitative determination have been developed to identify the main active substances in the dry extract obtained from cultivated saffron flower stigmas;

modern methods for quantitative determination of the main active substances (flavonoids and amino acids – high-performance liquid chromatography, essential oils – gas-liquid chromatography, macro- and microelements – mass spectrometry) in raw materials and dry extract have been developed.

Implementation of research results. Based on the obtained scientific results on the standardization of raw materials and dry extract of cultivated saffron (*Crocus sativus L.*):

the temporary pharmacopoeial article on the raw material "Flower stigmas of cultivated saffron" was approved by the State Institution "The Center for Pharmaceutical Products Safety" under the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan (temporary pharmacopoeial monograph 42 Uz-4854-2022) and permission for use in medicine was received (certificate No. DV / M 04044/02/22). The approval of this regulatory document made it possible to expand the range of raw materials with a highly effective nootropic effect;

as a result of the conducted preclinical trials, the specific pharmacological activity and the absence of acute toxicity of the flower stigmas of cultivated saffron were proven (letter of the Ministry of Health No. 8n-3/280 dated October 15, 2018). As a result, it was possible to obtain a medicinal product in the form of medicinal plant raw materials with reliable nootropic activity;

as a result of the conducted preclinical trials, the specific pharmacological activity and absence of acute toxicity of the dry extract of cultivated saffron were proven (letter of the Ministry of Health No. 8n-3/280 dated October 15, 2018). As

a result, it was possible to obtain harmless drugs with reliable anti-inflammatory activity.

The structure and the volume of dissertation. The structure of the dissertation consists of an introduction, four chapters, conclusions, a list of used literature and appendices. The volume of the dissertation is 116 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I част, I part)

1. Шомаксудова М.О., Тулаганов А.А., Назирова Я.К., Нишанбаев С.З. Разработка методов анализа биологически активных веществ в растительном сырье шафрана посевного (*Crocus sativus* L.) с помощью хромато-масс-спектрометрии //Фармацевтический журнал.- 2020.- №2.-С. 37-43 (15.00.00., №2).
2. Шомаксудова М.О., Мирзаев Ю.Р., Тулаганов А.А. Изучение ноотропного действия лекарственного растения Шафрана посевного //Фармацевтический вестник Узбекистана.-2021.- № 1.-С.-68-71 (15.00.00., №4).
3. Shomaksudova M.O., Tulaganov A.A., Mustafaev U.G. Creating a method for determining the amount of amino acids in the sown saffron plant - *Crocus sativus* L. // Asian Journal of Multidimensional Research.-2021.-Vol. 10, Issue 8.-P.113-116 (ISSN: 2278-4853; SJIF=7,7; Crossref).
4. Шомаксудова М.О., Тулаганов А.А., Ишимов У.Ж. Определение количества микроэлементов в сырье лекарственного растения Шафрана посевного (*Crocus sativus* L.) //Universum: медицина и фармакология.- 2022.-№ 2(85).- С-19-21 (ISSN: 2278-4853; SJIF=7,7; Crossref).
5. Shomaksudova M.O., Madatova N.A. The analysis of the assortment of nootropic drugs registered in the Republic of Uzbekistan // International journal of Current Science Research and Review.- 2023.- Vol. –P.3552-3555 (ISSN: 2581-8341; SJIF=6,8; Crossref).
6. Шомаксудова М.О., Тўлаганов А.А., Туляганов Б.С. Исследование острой токсичности сухого экстракта Шафрана *Crocus sativus* L., интродуцированного в Узбекистане //Инфекция, иммунитет и фармакология. -2023.-№ 5.-С.151-156 (15.00.00., №6).
7. Shomaksudova M.O., To'laganov A.A., Matchanov A.D. Quantative determination of biologically compounds from dry extract of saffron (*Crocus sativus* L.) by Gas chromatography // American Journal Of Biomedical Science & Pharmaceutical Innovation.-2024.- Vol.1.-P.113-117 (ISSN: 2771-2753; SJIF=7,7; Crossref).
8. Шомаксудова М.О., Тўлаганов А.А., Ишимов У.Ж. Экма зафарон *Crocus sativus* L. ўсимлиги хомашёсидан олинган куруқ экстракт таркибидаги макро- ва микроэлементларни ва биологик фаол моддаларни аниқлаш //Farmatsiya.-2024.- №1.-Б.23-26 (15.00.00; 31.03.2023 й.; 335).
9. Шомаксудова М.О., Тўлаганов А.А., Миракилова Д.Б. Шафран - как источник биологически активных веществ //Farmatsiya.-2024.-№2. –С.75-80 (15.00.00; 31.03.2023 й.; 335).

II бўлим (II част, II part)

10. Шомаксудова М.О. Шафран ўсимлигининг тиббиётдаги аҳамияти // «Фармацевтика соҳасининг бугунги ҳолати: муаммолар ва истиқболлар» халқаро илмий-амалий анжумани материаллари тўплами.- Тошкент.- 2021.-Б. 234-235.
11. Шомаксудова М.О., Тулаганов А.А. Определение количества микроэлементов в лекарственном растительном сырье Шафрана (*Crocus sativus* L.) // Материалы II международной научно-практической конференции «Современная фармация: новые подходы в образовании и актуальные исследования», приуроченной к 20-летию факультета Фармации.- Нур-Султан.- 2022.-С.-165-166.
12. Шомаксудова М.О. Состав и полезные свойства растения Шафрана культивированного в Узбекистане // Материалы II международной научно-практической конференции «Современная фармация: новые подходы в образовании и актуальные исследования», приуроченной к 20-летию факультета Фармации. -Нур-Султан.- 2022.- С.-167-169.
13. Shomaksudova M.O., Tulaganov A.A. Creating a method for determining the amount of amino acids in the sown saffron plant- *Crocus sativus* L. //Abstract book of the 1st Republican scientific and practical conference with international participation «Current issues and trends in the development of the modern pharmaceutical industry ».- Tashkent- 2023.-P.-84-85.
14. Шомаксудова М.О., Тулаганов А.А., Ишимов У.Ж. Ўзбекистонда етиштирилган элма зафарон – *Crocus sativus* L. хомашёсидан олинган курук экстракт таркибидаги биофаол моддаларни ўрганиш // «Фармацевтика соҳасининг бугунги ҳолати: муаммолар ва истиқболлар» IV халқаро илмий-амалий анжумани материаллари тўплами.- Тошкент.- 2023.-Б.198-199.
15. Шомаксудова М.О., Мадатова Н.А. Ноотроп дори воситаларининг ассортименти таҳлили // «Абу Али ибн Сино ва замонавий фармацевтикада инновациялар» мавзусидаги VI халқаро илмий амалий анжуман тўплами.-Тошкент. - 2023.-Б.352-353.
16. Шомаксудова М.О., Тулаганов Б.С., Тулаганов А.А. Противовоспалительное изучение сухого экстракта // Материалы VI международной научно-практической конференции на тему «Абу Али ибн Сино и инновации в современной фармацевтике».- Ташкент.- 2024.- Б.401.
17. Шомаксудова М.О., Тулаганов А.А. Зафарон – биологик фаол моддалар манбаси сифатида // «Фармацевтикада сифат: муаммолар ва истиқболлар» Республика илмий амалий анжуман тўплами.- Тошкент. - 2024.-С.95-96.

Автореферат «Фармацевтика» журнали таҳририятида таҳрирдан ўтказилиб,
ўзбек, рус ва инглиз тилларидаги матнлар ўзаро мувофиқлаштирилди.

Босмахона лицензияси:



9338

Бичими: 84x60 ¹/₁₆. «Times New Roman» гарнитураси.

Рақамли босма усулда босилди.

Шартли босма табағи: 2,75. Адади 100 дона. Буюртма № 39/24.

Гувоҳнома № 851684.

«Тирографф» МЧЖ босмахонасида чоп этилган.

Босмахона манзили: 100011, Тошкент ш., Беруний кўчаси, 83-уй.