

## Бағда Сағынайқызы Жұмақанованың

6D110400 – Фармация мамандығы бойынша философия докторы (PhD)

дәрежесін алу үшін жазылған

### «*Thymus L.* өсімдігінің кейбір түрлерінің фитохимиялық талдауы және жаңа фитосубстанция алу» тақырыбындағы диссертациялық жұмысына АҢДАТПА

**Жұмыстың жалпы сипаттамасы.** Диссертациялық жұмыс *Thymus marschallianus* Willd. және *Thymus seravschanicus* Klokov L. дәрілік өсімдік шикізаттарының (ДӨШ) фитохимиялық құрамын салыстырмалы түрде зерттеуге және фармакопоялық сападағы өсімдік фармацевтикалық субстанциясын алуға арналған.

#### **Зерттеу тақырыбының өзектілігі.**

Қазіргі уақытта отандық фармацевтикалық индустрия үшін басты мақсаттардың бірі импортты алмастыру болып табылады. Фармацевтикалық өндірісті дамытудың 2020-2025 жылдарға арналған Кешенді жоспары шеңберінде Қазақстан Республикасында өсетін өсімдіктер негізінде дәрілік препараттар өндірісін ұйымдастыруға басты назар аударылады. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының (ДДҰ) мәліметтері бойынша, әлем халқының шамамен 80%-ы өсімдік тектес препараттарды қолданады. Бұл тенденция адам ағзасына жағымсыз әсерлердің төмендігімен, осындай препараттармен ұзақ мерзімді терапия процесінде физиологиялық тәуелділіктің болмауымен және экономикалық қол жетімділікпен түсіндіріледі.

Фармацевтикалық өнеркәсіпті дамыту бағыттарының мақсаттары мен міндеттерін іске асыру үшін фармакологиялық белсенді заттардың көзі ретінде отандық табиғи шикізатты ұтымды пайдалану бойынша кешенді зерттеулер жүргізу қажет. Осыған байланысты біздің еліміздің аумағында өсетін перспективалы өсімдік фармацевтикалық субстанциясы ретінде *Lamiaceae* тұқымдасының *Thymus L.* туысына жататын өсімдіктердің кейбір түрлерінің химиялық құрамын зерттеу қызығушылық тудырады.

Қазақстан флорасында жебірдің 27 түрі ұсынылған және олардың екеуі: *Thymus vulgaris L.* және *Thymus serpyllum L.* Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопоясына қақырық түсіретін, микробқа қарсы, анальгетикалық әсер ететін дәрілік өсімдік құралы ретінде кіреді. Оннан астам дәрілік препараттар құрамына *Thymus vulgaris L.* және *Thymus serpyllum L.* сығындылары кіреді. Сонымен қатар, жебір сығындылары жалпы күшейтетін, қабынуға қарсы, седативті құрал ретінде қолданылатын диеталық қоспалар номенклатурасында да бар.

Медицина мен фармацияда қолдану ықтималдығын ескере отырып, биологиялық белсенді заттардың әлеуетті көздері ретінде *Thymus L.* туысы өсімдіктерін зерттеу маңызды болып табылады. Маршалл жебірі (*Thymus marschallianus* Willd) және Зеравшан жебірі (*Thymus seravschanicus* Klokov L) туралы ақпараттың жетіспеушілігі оларды биологиялық белсенді қосылыстардың көзі ретінде дәрілік өсімдіктердің номенклатурасын одан әрі зерттеуге және кеңейтуге көптеген мүмкіндіктер бар екендігін көрсетеді. Осы

түрлердің әлеуетін ашу үшін олардың химиялық құрамын анықтау және зерттеу, оның ішінде эфир майлары мен басқа да биологиялық белсенді қосылыстарды талдау, сондай-ақ фармакологиялық белсенділік профилін зерттеу өзекті болып табылады.

**Ғылыми жұмыстың мақсаты:** *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* шикізаттарын салыстырмалы фитохимиялық зерттеу және олардың негізінде фармакопоялық сападағы өсімдік фармацевтикалық субстанциясын алу.

**Мақсатқа жету үшін келесі міндеттер қойылды:**

1. *Thymus* L. туысына жататын *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* ДӨШ-ның сәйкестендіру параметрлері мен фитохимиялық құрамын салыстырмалы аспектіде зерттеу;

2. *Th. marschallianus* Willd. және *Th. seravschanicus* Klokov L. дәрілік өсімдік шикізаттарының фармацевтика-технологиялық параметрлерін анықтау және стандарттау;

3. *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* экстракттарын алудың технологиясын әзірлеу және технологиялық процесті валидациялау;

4. *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* экстракттарының қауіпсіздігі мен фармакологиялық белсенділік профилін зерттеу;

5. Өсімдік фармацевтикалық субстанциясын алудың техникалық-экономикалық негіздемесін жасау.

**Зерттеу нысандары:** *Th. marschallianus* Willd. және *Th. seravschanicus* Klokov L., *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* экстракттары.

**Зерттеу әдістері:** фармакопоялық және фармакопоялық емес әдістер: физикалық, физика-химиялық, фармацевтика-технологиялық, биологиялық және статистикалық.

**Жұмыстың ғылыми жаңалығы:**

Алғаш рет:

- *Th. marschallianus* Willd. және *Th. seravschanicus* Klokov L. шикізаттарын идентификациялауға мүмкіндік беретін морфологиялық және анатомиялық диагностикалық белгілері салыстырмалы түрде анықталды;

- зерттеуге алынған екі жебір түрлерінің сулы-спиртті экстракттарының химиялық құрамын заманауи физика-химиялық әдістерімен (ОФ-ЖЭСХ/ФД, ЖЭСХ/ИЭН-ККВ-МС/МС және ГХ-МС) зерттеу жүргізілді. *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* сулы-спиртті экстракттарына салыстырмалы фитохимиялық зерттеулер жүргізілді. RP-HPLC/PDA және HPLC/ESI-QTOF-MS әдістері екі экстракттардың құрамында кейбір айырмашылықтар бар екенін көрсетті. HPLC/ESI-QTOF-MS әдісімен *Th. marschallianus* экстрактысының құрамында – 21, ал *Th. seravschanicus* - 15 қосылыстар идентификацияланды. *Th. marschallianus* сулы-спиртті экстрактысының құрамында 11 флавоноид анықталып, оның 9-ы флавон және 2 флаванон топтарына жататындығы дәлелденді. Флавоноид арасында лютеолин және олардың гликозидтері, лютеолин-7-О-рутинозидтер, лютеолин-7-О-глюкозидтер, лютеолин-7-О-глюкуронидтер, лютеолин-7-О-дипентозидтер және лютеолин-7-О-(6"-3-гидрокси-3-метилглютарил)-глюкозидтері, апигенин

және олардың гликозидтері, апигенин-7-*O*-глюкозидтер, апигенин-7-*O*-глюкуронидтер және апигенин-7-*O*-рамноглюкуронидтер, сондай-ақ диосметин глюкуронидтер идентификацияланды. Флавонондар арасында эриодиктиол мен нарингениннің болуы анықталды. Сулы-спиртті экстракттысы *Th. seravschanicus* құрамында сегіз флавоноид қосылыстары анықталды, олардың алтауы флавонондар: лютеолин-7-*O*-рутинозид, лютеолин-7-*O*-глюкозид, лютеолин-7-*O*-глюкуронид, лютеолин-7-*O* - (6" - 3-гидрокси-3-метил-глутарил)-глюкозид, апигенин-7-*O*-глюкуронид және диосметин глюкуронид. Флавонондар тобынан эриодиктиол мен нарингенин қосылыстары анықталды. *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* экстракттарының құрамындағы полифенолды қосылыстарды сандық анықтау ОФ-ЖЭСХ/ФД әдісімен жүргізілді. *Th. marschallianus* фенол қышқылдарының арасында протокатех қышқылының ( $2,08 \pm 0,01$  мг/г құрғақ сығынды) басым екендігі анықталды, *Th. seravschanicus*-та розмарин ( $3,33 \pm 0,01$  мг/г құрғақ сығынды) және протокатех қышқылдары ( $3,06 \pm 0,01$  мг/г құрғақ сығынды) доминанттық көрсетті. *Th. seravschanicus* құрамында *Th. marschallianus*-қа қарағанда флавоноидтардың мөлшерінің едәуір жоғары екендігі анықталды. Жалпы, *Th. seravschanicus* құрамындағы қосылыстардың көпшілігінің мөлшері *Th. marschallianus*-қа қарағанда үш есе жоғары болды. Полифенолдардың жалпы мөлшері (ТРС) галл қышқылына (GAE) қайта есептеу арқылы көрсетілді, бұл көрсеткіш *Th. seravschanicus*-та ( $228,83 \pm 39,44$  мг GAE/г) *Th. marschallianus*-пен ( $186,01 \pm 16,11$  мг GAE/г) салыстырғанда біршама жоғары болды;

- зерттеуге алынған жебір экстракттары гексан фракцияларының ұшпа қосылыстарына ГХ-МС әдісімен талдау жүргізілді, нәтижесінде *Th. marschallianus* құрамында – 14 және *Th. seravschanicus* құрамында - 15 қосылыстар анықталды. Екі түр де екі монотерпенді спирттер: тимол және карвакролдың болуымен сипатталды. *Th. marschallianus* ұшпа фракциясы бірнеше сесквитерпеноидтардың ( $\beta$ -бисаболен, спатуленол, виридифлорол) және эвгенолдың (фенилпропаноидтар) болуымен ерекшеленді. *Th. seravschanicus* ұшпа фракциялары негізінен монотерпеноидтардан тұрды. Аталған тимол мен карвакролдан басқа, *p*-цимол, лимонен, карвон және тимохинонның болуы расталды. Екі экстракттың да гексан фракциялары май қышқылдары мен олардың эфирлерінің болуымен сипатталды. *Th. marschallianus* ұшпа фракциясында гексадекан, линол, линолен қышқылдары және олардың этил эфирлері табылды. *Th. seravschanicus* ұшпа фракциясында май қышқылдарының барлық метил эфирлері анықталды;

- фармакологиялық белсенділіктің профилі зерттелді, зерттелген екі түрдің де қауіпсіз екендігі және биологиялық белсенділіктің белгілі бір деңгейі бар екендігі анықталды. Екі экстрактта DPPH-ны жою белсенділігі бойынша ұқсас антиоксиданттық қасиеттерді көрсетті: EC50 *Th. marschallianus* үшін -  $24,23 \pm 0,29$  г/мл және *Th. seravschanicus* үшін -  $21,47 \pm 1,63$  г/мл көрсетті. Зерттеуге алынған екі экстракттың АП (антиоксиданттық белсенділік индексі): *Th. marschallianus* үшін -  $2,45 \pm 0,03$  және *Th. seravschanicus* -  $2,78 \pm 0,21$  көрсетті. *Th. seravschanicus* сулы-спиртті экстрактысының (МИК=0,625-10

мг/мл) грам-оң және грам-теріс бактериялардың стандартты штамдарына сезімталдығы *Th. marschallianus*-қа (МИК = 2,5-10 мг/мл) қарағанда жоғары болды. Айта кету керек, *Th. seravschanicus* сулы-спиртті экстракты *Helicobacter pylori* АТСС 43504 (МИК = 0,625 мг/мл) штамына қарсы жоғары белсенділікті көрсетті, *Th. marschallianus* үшін микроорганизмнің осы түріне МИК көрсеткіші 2,5 мг/мл-ді құрады. Екі экстрактта *Candida* туысына жататын ашытқы саңырауқұлақтарының стандартты штамдарына қарсы бірдей белсенділік (МИК = 5 мг/мл) көрсететіні анықталды, сонымен бірге экстракттардың фунгицидтік белсенділігі МФК/МИК 2 - 4 аралығында болды;

- «Fitoleum» ЖШС (Есік қ., Қазақстан Республикасы) отандық фармацевтикалық компаниясында тәжірибелік-өнеркәсіптік масштабта биологиялық белсенді заттарды максималды шығыммен бөліп алуға мүмкіндік беретін *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* экстракттарын алудың оңтайлы тәсілдері таңдалды;

- фармакопоялық сападағы өсімдік фармацевтикалық субстанциялары алынды және техникалық-экономикалық негіздеме жүргізілді.

#### **Қорғауға шығарылатын негізгі қағидалар:**

Салыстырмалы аспектіде *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* дәрілік өсімдік шикізаттарын кешенді фармакогностикалық зерттеу нәтижелері;

*Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* негізінде ББЗ-дың максималды шығыммен өсімдік фармацевтикалық субстанцияларын алудың оңтайлы технологиясын тәжірибелік негіздеу нәтижелері;

Салыстырмалы аспектіде *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* экстракттарының химиялық құрамын зерттеу нәтижелері;

*Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* сулы-спиртті экстракттарының қауіпсіздігі мен фармакологиялық белсенділік профилін зерттеу нәтижелері.

Технологияны трансферлеу, *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* экстракттарының тәжірибелік-өнеркәсіптік өндірісін валидациялық бағалау;

*Th. seravschanicus* фитосубстанциясын өндірудің техникалық-экономикалық негіздемесі.

#### **Практикалық маңыздылығы, күтілетін нәтижелер:**

Қазақстан Республикасының Денсаулық сақтау саласында медицина практикасына енгізу үшін жебірдің фармакопоялық түрлерін кеңейту.

«Fitoleum» ЖШС (Есік қ., Қазақстан Республикасы) фармацевтикалық компаниясында тәжірибелік-өнеркәсіптік серияларға шикізаттарды жинау және дайындау бойынша технологиялық нұсқаулықтар әзірленді және енгізілді, өндірілді (21.05.2018 жылғы «Маршалл жебірі шөбі» нормативтік құжаты және 21.05.2018 жылғы «Зеравшан жебірі шөбі» нормативтік құжаты);

«Fitoleum» ЖШС отандық фармацевтикалық компаниясында тәжірибелік-өнеркәсіптік жағдайда биологиялық белсенді заттарды максималды шығыммен бөліп алуға мүмкіндік беретін *Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* -тан өсімдік фармацевтикалық субстанциясын алу тәсілі әзірленді (Енгізу актісі, 08.10.2018 ж.);

*Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* -тен өсімдік фармацевтикалық субстанцияларын алуға және өндіруге арналған технологиялық регламенттер әзірленді және бекітілді, «Fitoleum» ЖШС (Есік қ., Қазақстан Республикасы), өндірістің технологиялық процесінің валидациясы жүргізілді (М және Н қосымшалары);

*Helicobacter pylori* грам-теріс бактерияларына қатысты белсенділігі бар экстракт алу тәсілі әзірленді, жүргізілген зерттеулердің басымдығы ҚР пайдалы модельдерінің 04.02.2022 жылғы мемлекеттік тізілімінде тіркелген № 6830 «Жебір экстрактын алу тәсілі» пайдалы модельге патентімен (П қосымшасы) және 21.12.2023 жылғы №41427 авторлық куәлігімен (Р қосымшасы) қорғалған;

*Th. marschallianus* және *Th. seravschanicus* сулы-спиртті экстракттарының бактерияға, ашытқы саңырауқұлақтарға қарсы және антиоксиданттық белсенділігін зерттеу нәтижелері Люблин қ. медицина университетінің (Польша) фармацевтикалық микробиология кафедрасының ғылыми-білім беру процесіне, ДӨШ-нің осы түрлерін фармакогностикалық зерттеу нәтижелері С.Ж. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ Фармация мектебінің фармацевтикалық және токсикологиялық химия, фармакогнозия және ботаника кафедрасының оқу процесіне енгізілді (Енгізу актілері, С және Т қосымшалары).

**Автордың жеке үлесі.** Диссертациялық жұмысты орындау барысында зерттеудің барлық нәтижелерін автор өз бетінше алды, бұл ізденушінің фармацевтикалық өндіріс технологиясы саласындағы ғылымға қосқан жеке үлесін көрсетеді.

Диссертациялық жұмыста тұжырымдалған нәтижелердің, қорғауға шығарылатын зерттеудің негізгі нәтижелері, қорытындылардың дұрыстығы эксперименттік материалдың ауқымды көлемімен негізделген, заманауи сертификатталған жабдықтар мен валидацияланған әдістерді пайдалана отырып, зертханалық және өндірістік жағдайларда жүргізілген өз зерттеулерінің нәтижелерімен, сондай-ақ әдеби деректермен салыстырумен толық расталған.

#### **Жұмысты апробациялау:**

Диссертациялық жұмыстың негізгі ережелері «Фармация және стоматологияның басымдықтары: теориядан практикаға» Халықаралық VII ғылыми-практикалық конференциясы (Алматы қ., Қазақстан, 2018 ж.); «Косметологиялық практикадағы безеу ауруын және терінің басқа да проблемаларын түзетудің заманауи әдістері» Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы (Харьков қ., Украина, 2019 ж.); «Қазіргі ғылым. Ғылыми зерттеулерді басқару және стандарттар» Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы (Прага қ., Чехия, 2020 ж.) материалдарында баяндалған және жарияланған.

#### **Жарияланымдар туралы мәліметтер:**

Зерттеу нәтижелері бойынша 9 ғылыми жұмыс жарияланды, оның ішінде: Scopus және Web of Science Core Collection дерекқорына кіретін халықаралық рецензияланатын ғылыми журналдағы мақала – 1; ҚР Білім және ғылым

министрлігінің Білім және ғылым саласындағы сапаны қамтамасыз ету Комитеті ұсынған журналдардағы мақалалар - 4; Халықаралық ғылыми-практикалық конференциялардағы тезистер мен мақалалар (Украина, Қырғызстан, Қазақстан) – 4; пайдалы модельге патент – 1, фармакологиялық профилін белгілеуге авторлық куәлік - 1.

**Зерттеу міндеттерінің ғылыми бағдарламалар жоспарымен байланысы.** Диссертациялық жұмыс «Фармацевтика және медицина өнеркәсібін дамыту жөніндегі 2020-2025 жылдарға арналған кешенді жоспарын» іске асыру бағыты бойынша және С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университетінің «Қазақстанның этнофармацевтикалық флорасын зерттеу» (10.07.2015 ж. №0115РК0245) инициативалық жобасы аясында орындалды.

#### **Диссертацияның көлемі мен құрылымы**

Диссертациялық жұмыс компьютерде басылған мәтіннің 150 бетінде көрсетілген, 44 кесте, 48 сурет, 163 дереккөзді қамтитын әдебиеттер тізімі, сондай-ақ 18 қосымшалардан тұрады. Жұмыс кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, зерттеу материалдары мен әдістеріне арналған бөлімнен, өз зерттеулерінің үш бөлімінен, тұжырымдар мен қорытындыдан тұрады.