

**ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.Far.32.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

ЮНУСХОДЖАЕВА НОДИРА АБДУЛХАМИТОВНА

**НАСТОЙКА ВА ЭКСТРАКТЛАРНИ СИФАТИНИ ТАЪМИНЛАШ ВА
СТАНДАРТЛАШДАГИ МЕТОДОЛОГИК ЁНДАШУВНИ
ТАКОМИЛЛАШТИРИШ**

15.00.02- фармацевтик кимё ва фармакогнозия

**ФАРМАЦЕВТИКА ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент -2019

Фан доктори диссертацияси (DSc) автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)

Contents of the abstract of doctoral dissertation (DSc)

Юнусходжаева Нодира Абдулхамитовна

Настойка ва экстрактларни сифатини таъминлаш ва стандартлашдаги методологик ёндашувни такомиллаштириш.....3

Юнусходжаева Нодира Абдулхамитовна

Совершенствование методологических подходов к обеспечению качества и стандартизации настоек и экстрактов.....29

Yunuskhodjaeva Nodira Abdulhamitovna

Improvement of methodological approaches to quality provision and standartization of tinctures and extracts.....55

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works59

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.Far.32.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

ЮНУСХОДЖАЕВА НОДИРА АБДУЛХАМИТОВНА

НАСТОЙКА ВА ЭКСТРАКТЛАРНИ СИФАТИНИ ТАЪМИНЛАШ ВА
СТАНДАРТЛАШДАГИ МЕТОДОЛОГИК ЁНДАШУВНИ
ТАКОМИЛЛАШТИРИШ

15.00.02- фармацевтик кимё ва фармакогнозия

ФАРМАЦЕВТИКА ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Тошкент -2019

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2018.1.DSc/Far18 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Тошкент фармацевтика институтида бажарилган.

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

| | |
|----------------------------|---|
| Илмий маслаҳатчи: | Абдуллабекова Вилоятхон Нуруллабековна фармацевтика фанлари доктори, профессор |
| Расмий оппонентлар: | Дўсматов Азиз Файзаматович фармацевтика фанлари доктори, доцент Тўлаганов Абдуқодир Абдурахмонович фармацевтика фанлари доктори, профессор Абдулладжонова Нодира Ғуломжоновна кимё фанлари доктори, профессор |
| Етакчи ташкилот: | А.Султонов номли Ўзбекистон кимё-фармацевтика илмий-тадқиқот институти |

Диссертация ҳимояси Тошкент фармацевтика институти ҳузуридаги DSc.27.06.2017.Far.32.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2019 йил «___» _____ соат ___ 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: pharmi@pharmi.uz).

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

Диссертация автореферати 2019 йил «___» _____ куни тарқатилди.
(2019 йил «___» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси).

И.И. Алимджанов

Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш раиси, т.ф.д., профессор

Ё.С.Кариева

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

Ф.Ф.Урманова

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

КИРИШ (фан доктори (DSc) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда доривор ўсимликлардан фойдаланиб, турли касалликларни олдини олиш ва даволашга катта эътибор қаратилмоқда. Бутунжаҳон соғлиқни сақлаш ташкилоти (БЖССТ) маълумотларига кўра, дунё аҳолисининг тахминан 80% ўсимлик асосида олинган дори воситаларидан фойдаланади. BBC Research тадқиқоти натижаларига асосан келгуси йилларда фитопрепаратларнинг жаҳон бозорида йилига 6,6% га ўсиши ва 2020 йилга келиб унинг ҳажми 35,4 миллиард долларга етиши кутилмоқда. Ривожланган хорижий давлатлар жумладан, Европа Иттифоқи мамлакатларидаги дори воситалари умумий ҳажмининг 10% ни, Япония ва Жанубий-Шарқий Осиё давлатларида эса 40% ни¹ ўсимликлар асосидаги препаратлар ташкил этаётгани катта аҳамиятга эга.

Дунёда маҳаллий ўсимлик хомашёлари асосида гемостатик ва қандли диабет касалликларини даволаш учун юқори самарадорликка эга дори воситаларини олиш ва уларни стандартлаша: биологик фаол моддаларини аниқлаш, дори воситасини сифатини баҳолаш ва валидацияланган замонавий миқдорий таҳлил усулларини ишлаб чиқиш; объектив баҳоловчи меъёрларни белгилаб бериш ҳамда тиббиётга татбиқ этиш учун меъерий ҳужжатларини етакчи халқаро фармакопеялар билан уйғунлашган, миллий стандартларни тузиш ва тасдиқлаш зарур.

Республикада фармацевтика саноати учун доривор ўсимлик хом ашёсидан фойдаланган ҳолда гален препаратлар ишлаб чиқиш бўйича маълум даражада илмий ва амалий натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг тўртинчи бобида «фармацевтика саноатини ривожлантириш, аҳоли ва даволаш муассасаларини сифатли, ҳавфсиз ва арзон дори-дармон воситалари билан таъминлаш»² юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу борада, жумладан фармацевтик шартларига мос келувчи маҳаллий хом ашё асосида янги фитопрепаратлар ишлаб чиқиш бўйича илмий тадқиқотлар олиб бориш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 10 апрелдаги ПФ-5707-сонли «2019 - 2021 йилларда республиканинг фармацевтика тармоғини янада жадал ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги, 2019 йил 6 майдаги ПҚ-4310-сонли «Тиббиёт ва фармацевтика таълими ва илм-фани тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги ва 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика тармоғини жадал ривожлантириш бўйича кўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги Қарорлари, Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2015 йил 20 апрелдаги 32-сон «Доривор ўсимликлар асосидаги дори воситаларини ва биологик фаол

¹ Н.Г. Оленина, Н.С. Михеева, Н.М. Крутикова. Особенности экспертизы «польза/риск» лекарственных растительных препаратов: анализ регистрационных досье. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018 (8) С.84-91.

²Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги ПФ-4947-сон Фармони

қўшимчаларни (БФҚ) маҳаллий корхоналарда ишлаб чиқаришни ривожлантиришнинг чора-тадбирлари» тўғрисидаги баёни, шунингдек мазкур соҳада қабул қилинган бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларнинг ижроси юзасидан ушбу диссертация иши 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.

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий тадқиқотлар шарҳи³. Ўсимлик хом ашёлари асосида дори воситаларини ишлаб чиқиш ва стандартлашга йўналтирилган илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари жумладан, Institute of Pharmaceutical Science (Ҳиндистон Республикаси), Yonsei University, Seoul, (Корея), Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing ва Huazhong University of Science and Technology (ХХР), Community Health Sciences, University of London, Cranmer Terrac (Буюк Британия); Institute of Pharmaceutical Sciences the University of Mississippi (АҚШ), Faculty of Pharmaceutical Sciences the University of Tokushima (Япония), Волгоград давлат тиббиёт университети», Пятигорск давлат фармацевтика академияси, Самара давлат тиббиёт университети, И.М. Сеченов номидаги Биринчи Москва тиббиёт университети (Россия Федерацияси), Харьков миллий фармацевтика университетида (Украина) олиб борилмоқда.

Ўсимлик хом ашёси асосида дори воситаларни ишлаб чиқиш, терапевтик биологик фаол бирикмаларини аниқлаш, улар асосида сифатни назорат қилиш усуллари ишлаб чиқиш ва стандартлашга оид олиб борилган тадқиқотлар натижасида қатор куйидаги илмий натижалар олинган: *Polygonum aviculare* L. ўсимлигида флавоноидлар таркиби аниқланган (Yonsei University, Кореяда); *Urtica dioica* L.нинг ўсимлик хом ашёси ва препаратининг кимёвий таркиби, стандартланиши ва қўлланилиши аниқланган (Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва, Россия Федерацияси); *Galega officinalis* L. экстракти таркибидаги алкалоидсиз фракциясининг қандли диабет касалигидаги таъсири аниқланган (Украина миллий университети); *Vaccinium myrtillus* L. таркибидаги флавоноидлардан кверцетин-3-О-ксилозид идентификацияланган ва дифференциал спектрофотометрия микдорий таҳлил усули ишлаб чиқилган (Москва, Россия Федерацияси).

Дунёда доривор ўсимлик хомашёлари асосида олинган дори воситалари хусусан настойка ва экстрактлар бўйича қатор, жумладан куйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: таъсир этувчи моддаларини

³Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи www.elsevar.com/locate/jethpharm асосида шакллантирилган

аниқлаш, замонавий таҳлил усуллари ишлаб чиқиш, фармакопёвий сифат кўрсаткичларини аниқлаш ва стандартлаш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Таркибида таъсир этувчи моддалар сақлаган ўсимлик хомашёларидан олинган настойка ва экстрактларни сифат ва миқдорий таҳлил усуллари ишлаб чиқиш ва улар асосида янги дори воситаларни олиш устида хорижий ва маҳаллий олимлар томонидан тадқиқот ишлари олиб борилган.

Дунё миқёсида олиб борилаётган қон тўхтатиш ва яллиғланишга қарши таъсирли дори воситаларни ишлаб чиқиш, биофаол моддаларини ўрганиш ва стандартлаш бўйича, N.V. Dau, V.N. Thang, J.P. Dzoyem, Lupak MI, Khokhla MR, Nachkova G.Y., Luka C.D., 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, Jamia Azdina Jamal, Johnson Stanslas каби хорижлик олимлар, шунингдек рус олимлари О.В Евдокимова, В.А. Куркин, А.И. Сливкин, А.С. Чистякова, Л.М.Гориловкого, А.А.Полунина, В.Н. Крупина, А.Т.Терешина, В.А. Смирнова, А.М. Куянцева, Ю.Г. Пшуков, Л.Р. Сулейманова, О.В. Тринеева, Е.Ф. Сафонова, А. Балогазян, О.Е. Правдивцева, А.Д. Орехова, И.В. Шилова, Т.К. Рязанова илмий тадқиқотларини таъкидлаш лозим.

Ўсимлик хомашёси асосида яллиғланишга қарши, гемостатик ва қандли диабетга қарши дори воситаларини ишлаб чиқиш, фармакологик фаоллигини ўрганиш бўйича Х.Х. Холматов, Т.П. Пўлатова, Х.У.Алиев, А.Я. Ибрагимов, Х.М.Комилов, Ф.Ф.Урманова, С.Н.Аминов, У.М. Азизов, А.Қ. Саидвалиев, Қ.А. Убайдуллаев ва В.Н. Абдуллабековалар илмий тадқиқот ишларини олиб борганлар.

Мазкур диссертация иши доривор ўсимликлар аччиқ торон, қуш торон ва икки уйли газанда хомашёлари асосида яллиғланиш ва қон тўхтатишга қарши «Гемостат» суюқ экстракти, «Қуш торон» настойкаси, «Аччиқ торон» суюқ экстракти ва қандли диабет касаллигини даволаш учун қўлланадиган «Фито диабетол» настойка дори воситаларини ишлаб чиқиш ва стандартлаш бўйича биринчи илмий тадқиқот ҳисобланади. Шунингдек, маҳаллий фармацевтика корхоналари томонидан ишлаб чиқарилаётган баъзи настойка ва экстрактлар, жумладан жағ-жағ суюқ экстракти учун илк бор замонавий таҳлил усули ишлаб чиқилган, тирноқгул ва аччиқ қалампир настойкалари учун эса таҳлил усуллари такомиллаштирилган.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги.

Диссертация тадқиқоти Тошкент фармацевтика институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг «Маҳаллий доривор ўсимликлар ва координацион бирикмалар асосида оригинал дори воситаларини ишлаб чиқиш ва тиббиёт амалиётига татбиқ этиш» мавзусидаги илмий-тадқиқот ишлари режаси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади доривор ўсимлик хомашёлари асосида олинган янги ва бугунги кунда ишлаб чиқарилаётган дори воситаларининг сифатини назорат қилиш ва стандартлаш учун илмий асосланган замонавий таҳлил

усулларини ишлаб чиқишдан иборат.

Тадқиқот вазифалари:

Ўсимлик дори воситаларининг сифатини баҳолаш бўйича хориж ва миллий меъёрий ҳужжатларнинг талаблари даражасини ўрганиш, уларнинг сифатини баҳолаш усулларининг ривожланиш тенденцияларини аниқлаш ҳамда ахборот-таҳлилий тадқиқотлар асосида ҳозирги талаблар даражасига мувофиқ услубий тизимли ёндашувни таклиф қилиш;

Ўсимлик дори воситаларининг сифатини баҳолашда тизимли ёндашувдан фойдаланиб сифатни назорат қилишнинг янги усулларини ишлаб чиқиш, мавжуд таҳлил услубларни такомиллаштириш ва фармацевтика маҳсулотларининг сифат стандартларининг таркибига киритиш;

аччик торон, куш торон, икки уйли газанда ўсимликларининг маҳаллий хомашёлари асосида ялиғланиш ва қон тўхтатувчи таъсирга эга бўлган «Гемостат» суюқ экстракти дори воситасини олиш ва унинг сифатини баҳолаш усулларини ишлаб чиқиш;

оддий черника ва доривор галега ўсимликлари асосида «Фито диабетол» настойкасини олиш ва сифатини назорат қилиш услубларини ишлаб чиқиш;

куш торон настойкаси ва аччик торон суюқ экстрактининг сифатини баҳолашнинг замонавий таҳлил усулларини ишлаб чиқиш;

маҳаллий фармацевтика корхоналари томонидан ишлаб чиқарилаётган баъзи настойка ва экстрактлар учун инструментал таҳлил усулларини ишлаб чиқиш ва миллий стандартлар таркибига киритиш;

маҳаллий ишлаб чиқарилаётган настойка ва экстрактларни таркибидаги этил ва пропил спиртлари, оғир металларни аниқлашнинг замонавий таҳлил усулларини ишлаб чиқиш ва Ўзбекистон фармакопеяси таркибига киритиш учун таклиф бериш;

олинган янги дори воситаларининг тиббий-биологик хусусиятларини ўрганиш;

тадқиқ этилаётган дори препаратлари учун дунёнинг етакчи фармакопеялари талаблари асосида уйғунлашган корхона фармакопея мақолалари лойihalарини ишлаб чиқиш ва уларни тиббиётда қўллашга рухсат олиш учун ЎЗР Соғлиқни сақлаш вазирлиги “Дори воситалари тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартизацияси Давлат Маркази” ДУК га такдим этиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида аччик торон, куш торон, икки уйли газанда ўсимликларининг маҳаллий хомашёлари асосида «Гемостат» суюқ экстракти, «Куш торон» настойкаси, «Аччик торон» суюқ экстракти ва оддий черника ҳамда доривор галега ўсимликлари асосида олинган «Фито диабетол» настойкасидан фойдаланилган. Маҳаллий ишлаб чиқарилаётган баъзи настойка ва экстрактлардан эса тирноқгул, женьшень, аччик қалампир ва валериана настойкалари ҳамда жағ-жағ суюқ экстракти олинган.

Тадқиқотнинг предмети доривор ўсимликлар асосида сифатли дори воситаларини олиш, биофаол моддаларини аниқлаш, фармакологик нуқтаи

назардан баҳолаш ҳамда тиббиёт амалиётига жорий этиш, шунингдек, маҳаллий ишлаб чиқарилаётган баъзи настойка ва экстрактларнинг сифатини баҳолаш усуллари ишлаб чиқиш ҳамда ишлаб чиқилган таҳлил усуллари фармацевтика корхоналарининг назорат-таҳлил лабораториялари амалиётига татбиқ этишдан иборат.

Тадқиқотнинг усуллари. Диссертацияда технологик, физик-кимёвий, фармакопейвий ва замонавий инструментал таҳлил усуллари ҳамда компьютер дастурларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор маҳаллий аччиқ торон, қуш торон, икки уйли газанда ўсимликларининг хомашёсидан «Гемостат» қон тўхтатувчи суюқ экстракти олинган;

«Гемостат» суюқ экстрактининг биофаол моддаларидан флавоноидлар, аминокислоталар, витамин К₁, макро-, микроэлемент таркиби ҳамда тиббиётга татбиқ этиш мақсадида фармакологик фаоллиги аниқланган;

илк бор оддий черника ва доривор галега ўсимликлари хомашёси асосида «Фито диабетол» БФҚ настойкаси олинган, захарсизлиги ва биологик самарадорлиги исботланган;

тиббиётда қўлланилаётган жағ-жағ суюқ экстракти учун илк бор спектрофотометрия ва ЮССХ усулларидан фойдаланган ҳолда миқдорий таҳлил услуби ишлаб чиқилган;

қуш торон настойкаси ва аччиқ торон суюқ экстракти учун замонавий таҳлил усуллари ишлаб чиқилган;

янги олинган ва маҳаллий фармацевтика саноати томонидан ишлаб чиқарилаётган тирноқгул, валериана, женьшень ва аччиқ қалампир настойкалари ҳамда жағ-жағ суюқ экстракти учун этил ва пропил спиртлари, оғир металллар ва макро-, микроэлемент миқдорини аниқлашнинг замонавий усуллари ишлаб чиқилган ҳамда этил ва пропил спиртлари учун ГСХ, оғир металллар аниқлашнинг ААС усулидан фойдаланиш имкони мавжудлиги аниқланган;

янги олинган дори препаратлар турғунлигини табиий усулда аниқлаш йўли билан сақланиш муддатлари белгиланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

«Гемостат» ва «Аччиқ торон» суюқ экстрактлари, «Қуш торон» ва «Фито диабетол» настойкалари олинган ва стандартланган;

«Гемостат» ва «Аччиқ торон» суюқ экстрактлари, «Қуш торон» настойкасининг фармакологик фаоллиги, шунингдек «Фито диабетол» настойкасининг захарсизлиги ва биосамарадорлиги аниқланган;

«Гемостат» суюқ экстракти, «Фито диабетол» настойкаси дори воситаларини сифат ва миқдорий таҳлил усуллари ишлаб чиқилган;

«Гемостат» суюқ экстракти ва «Фито диабетол» настойка дори воситалари учун меъёрий ҳужжатлар (фармакопея мақолалари) ишлаб чиқилган;

«Гемостат» суюқ экстракти ва календула настойкаси учун саноат

регламенти ишлаб чиқилган;

Жағ-жағ суюқ экстракти учун янги, аччиқ қалампир ва валериана настойкалари учун такомиллаштирилган микродорий таҳлил усуллари ишлаб чиқилган;

Тадқиқот натижаларининг ишончилиги. Олинган натижаларнинг ишончилилик даражаси замонавий математик статистик таҳлил усуллар, физик-кимёвий, фармакологик текширувлар асосида тасдиқланган. Ўтказилган тадқиқотлар тажриба саноат ишлаб чиқариш жараёнида апробациядан ўтганлиги билан тасдиқланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларини илмий аҳамияти янги дори воситаларининг терапевтик самарадорлиги бўйича хорижий аналогларидан кам бўлмаган, маҳаллий хом ашёлар асосида олинган гемостатик, яллиғланишга қарши ва гипоглекемик маҳаллий препаратлар ассортиментини кенгайтирувчи ҳамда тадқиқ этилаётган дори препаратлари учун дунёнинг ривожланган етакчи фармакопеллари талаблари асосида уйғунлашган корхона фармакопел мақолалари лойиҳаларини ишлаб чиқилиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти олинган маълумотлар асосида «Гемостат» суюқ экстракти ва «Фито диабетол» настойкаси дори препаратлари ишлаб чиқилди ва иқтисодий жиҳатдан устун бўлган, безарар, самарали дори воситалари сифатида тиббиёт амалиётига тавсия қилиниб, саноатда ишлаб чиқаришга татбиқ этилганлиги ва аҳоли эҳтиёжини қондириши билан изоҳланади. Маҳаллий фармацевтика саноати томонидан ишлаб чиқарилаётган тирноқгул, валериана, женьшень ва аччиқ қалампир настойкалари, ҳамда жағ-жағ суюқ экстракти учун замонавий инструментал усуллари ишлаб чиқилди ва бу усуллар назорат аналитик лабораториялари амалиётида таҳлил қилишга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Настойка ва экстрактларни сифатини таъминлаш ва стандартлашдаги методологик ёндошувни такомиллаштириш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«Қуш торон» настойкаси ва «Гемостат» суюқ экстракти Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги «Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш давлат маркази» ДУК томонидан тиббиётда қўллашга рухсат этилган (ФМ 42 Уз-1249-2016; КФМ 42 Уз-22477731-3757-2019). Натижада олинган дори воситалари гемостатик препарат сифатида самарали даволаш имконини берган;

«Фито диабетол» биологик фаол қўшимча учун Техникавий шартлар (Ts15005859-02:2016) тасдиқланган. Уни ишлаб чиқариш бўйича Технологик йўриқнома Ўзбекистон Республикаси Давлат санитария-эпидемиология назорати маркази томонидан тасдиқланган (ТИ 15005859-02:2016). Натижада «АКТASH» хусусий фармацевтик ишлаб чиқариш корхонасида «Фито диабетол» настойка шаклида биологик фаол қўшимча ишлаб чиқариш имконини берган;

«Тирноқгул настойкаси» (КФМ 42Уз-22477731-3096-2017), «Женьшень настойкаси» (КФМ 42Уз-22477731-3296-2018), «Аччиқ қалампир настойкаси» (КФМ 42Уз-22477731-3209-2017) учун халқаро фармакопоялар билан уйғунлашган ҳолда этил ва пропи́л спиртлари ҳамда оғир металлларни аниқлашнинг замонавий таҳлил усуллари ишлаб чиқилган ва меъёрий ҳужжатларига киритилган. Натижада ушбу дори воситалари сифатини замонавий усулларда аниқлаш имконини берган;

«Тирноқгул» настойкаси дори препаратлари учун саноат ишлаб чиқариш регламенти тасдиқланган (42 Уз-03837-22477731-2808-2018). «Гемостат» суюқ экстракти (140-сонли буйруқ, 16.10.2019 й.) ва «Фито диабетол» настойкаси БФҚларни (Ts15005859-02:2016) «ZIYO NUR FARM» ва «АКТАШ» ХК базаларида серияли ишлаб чиқариш йўлга қўйилган. Натижада «Гемостат» суюқ экстракти ва «Фито диабетол» настойкасини тайёрлаш технологиялари ўзлаштирилиб, дори препаратларини ишлаб чиқариш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 12 та халқаро ва 16 та республика илмий-амалий анжуманларда муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 42 та илмий иш, жумладан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 14 та мақола (11 та республика ва 3 та хорижий журналларда) чоп этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, адабиётлар шарҳи, бешта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертация ҳажми 200 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида олиб борилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарури асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожлаништиришнинг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

«Ўсимликлар асосидаги дори воситаларининг бугунги кундаги ҳолати ва сифатини таъминлаш муаммолари» деб номланган биринчи бобда дори воситаларини ишлаб чиқаришнинг ҳозирги кундаги ҳолати ва соҳани ривожлантириш истиқболлари, ривожланган давлатлар фармакопояларида настойка ва экстрактлар сифатига қўйилган талаблар ва уларнинг таҳлили, фармацевтик ишлаб чиқариш корхоналарида ўсимлик хом ашёсидан олинган дори воситалари сифатини назорат қилиш ва стандартлаш, аччиқ торон, куш торон, икки уйли газанда, оддий черника, доривор галега

Ўсимликларини кимёвий таркиби, фармацевтик ишлаб чиқариш корхоналарида таҳлил усулларини аттестациядан ўтказиш ҳақидаги умумий маълумотлар баён этилган.

Диссертациянинг иккинчи боби «Хомашё ва таҳлил усуллари» деб номланган бўлиб, унда тадқиқот материаллари, объектлари, асбоб – усуқуналар, фойдаланилган реактивлар, стандарт моддалар, эритмаларнинг тайёрланиши, тадқиқот усуллари ва дизайни келтирилган.

«Доривор ўсимликларнинг янги препаратларини ишлаб чиқиш ва стандартлаш юзасидан тадқиқотлар ва уларни тиббиёт амалиётида қўлланилишини асослаш» деб номланган учинчи бобда доривор ўсимликлар асосида янги препаратларини ишлаб чиқиш, уларни кимёвий таркибини ўрганишга бағишланган. Бунда витамин К₁ (фитоменадион) ни «Аччиқ торон» суёқ экстракти, «Қуш торон» настойкаси, ва «Гемостат» суёқ экстракти таркибида аниқлашнинг илк бор ЮҚХ усули ва ЮССХ усули таклиф этилган. Олинган янги препаратларнинг сифатини назорат қилиш учун кимёвий, хроматографик ва спектрофотометрия усуллари ишлаб чиқилган.

Флавоноидларни ЮҚХ усулида идентификациялашнинг энг мўътадил тизимлари танланган: аччиқ торон суёқ экстракти учун этилацетат-хлороформ-метанол (8:1:1), қуш торон настойкаси учун хлороформ-метанол (4:1), «Гемостат» суёқ экстракти учун толуол-этил спирти (3:2) ва фитодиабетол настойкаси учун бутанол-сирка кислота-сув (4:5:1) танлаб олинган. Бу препаратларнинг миқдорий таҳлили учун спектрофотометрия ва ЮССХ усуллари ишлаб чиқилган.

Аччиқ торон ва гемостат суёқ экстрактлари ҳамда қуш торон настойкаси таркибидаги флавоноидлар йиғиндисини миқдорини аниқлашнинг спектрофотометрия услуби ишлаб чиқилган. Олинган натижалар қуйидаги 1-жадвалда келтирилган.

1-жадвал

Тадқиқ этилган намуналар таркибидаги флавоноидлар йиғиндисининг миқдорини аниқлаш натижалари ва услубнинг метрологик тавсифи (n=5; P=95%; (p,f)=2,78)

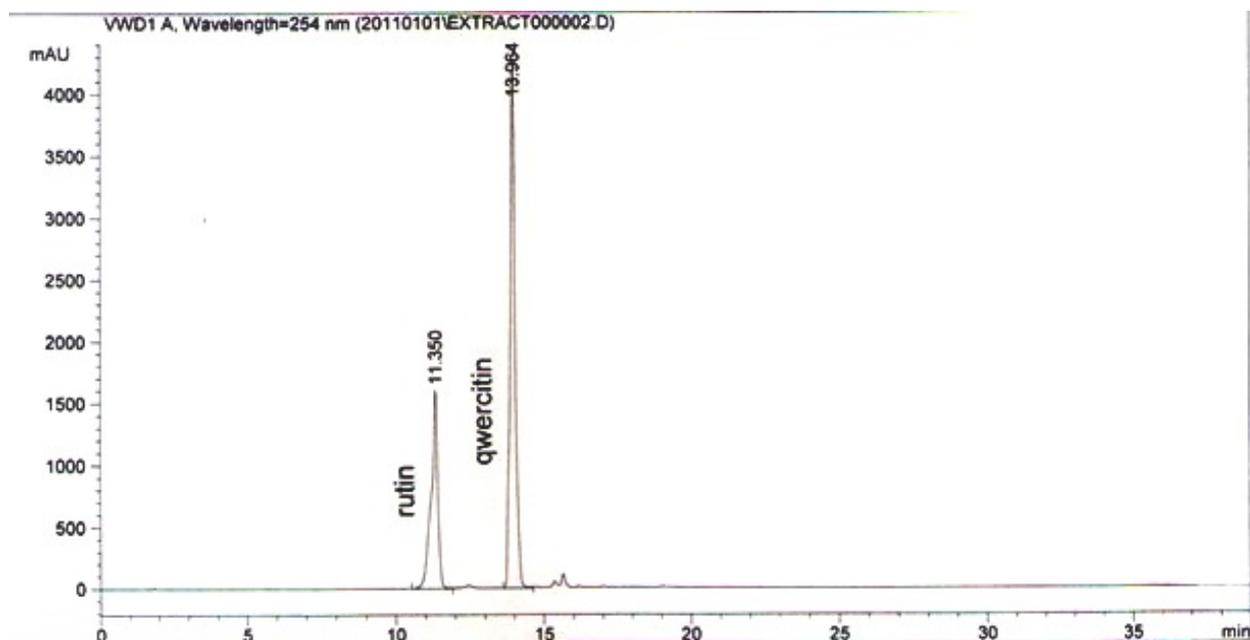
| $X_i, \%$ | $\bar{X}, \%$ | F | S^2 | S | $\Delta \bar{X}$ | $\bar{\varepsilon}, \%$ |
|---|---------------|---|----------|---------|------------------|-------------------------|
| «Аччиқ торон» суёқ экстракти кверцетинга нисбатан | 0,252 | 4 | 0,000026 | 0,00517 | 0,0016 | 2,54 |
| «Қуш торон» настойкаси авикуляринга нисбатан | 0,106 | 4 | 0,000001 | 0,00114 | 0,0014 | 1,33 |
| «Гемостат» суёқ экстракти рутинга нисбатан | 0,71 | 4 | 0,00020 | 0,0141 | 0,00632 | 2,47 |

Аччиқ торон суюқ экстрактида флавоноидлар йиғиндисиде кверцетинга нисбатан 0,25%, қуш торон настойкасида авикуляринга нисбатан 0,1% ва «Гемостат» суюқ экстрактида 0,7% дан кам бўлмаслиги кераклиги белгиланди.

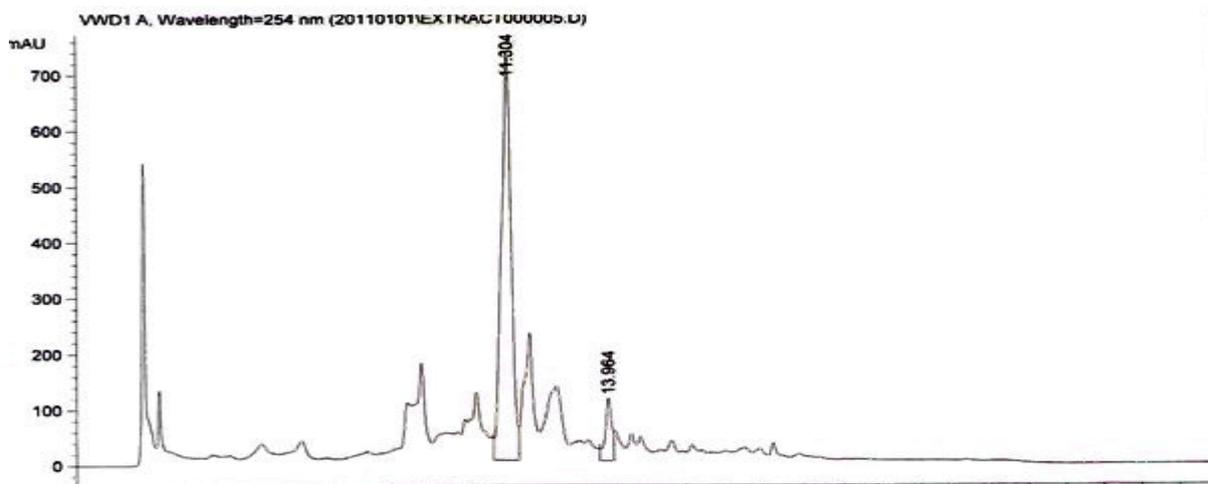
Флавоноидлар миқдорини аниқлашнинг ЮССХ таҳлил усулларини ишлаб чиқиши. Тадқиқот объектларининг сифатини назорат этишда анъанавий СФ таҳлил усули билан бир қаторда ҳозирги кунда дори воситаларининг бир вақтнинг ўзида чинлиги, тозаллиги ва миқдорини аниқлаш имконини берувчи босқичма-босқич сифат назоратини олиб бориш учун ахборот, экспрессивлиги ва ишончлилиги нуқтаи назаридан кенг қўлланилиб келаётган ЮССХ усулидан фойдаланиб муқобил усул сифатида миқдорий таҳлил усуллари ишлаб чиқилган.

Хроматографиялаш “Chemstation 09.03.a” дастури, изократик насос ва спектрофотометрик детектор билан таъминланган «Agilent Technologies» (АҚШ) фирмасининг “Agilent 1200 series” русумидаги суюқлик хроматографида амалга оширилган. Заррачалар катталиги 5 мкм бўлган Eclipse C-18 сорбенти билан тўлдирилган 4,6×150 мм катталиқдаги Zorbax устунида, детектирлаш рутин ва кверцетинга хос λ_{\max} 357 и 370 нм тўлқин узунлиқларида, мос равишда, олиб борилди. Элюент тезлиги - 1 мл/мин, юбориладиган намуна хажми- 10 мкл. Хроматографиялаш ҳарорати- 35°C. Қўзғалувчан фаза- 0,3% фосфор кислотаси ва метанол аралашмаси. Таҳлил вақти -30 мин.

«Гемостат» суюқ экстрактини ЮССХ усулида аниқлаш натижалари қуйидаги 1 ва 2-расмларда келтирилган.



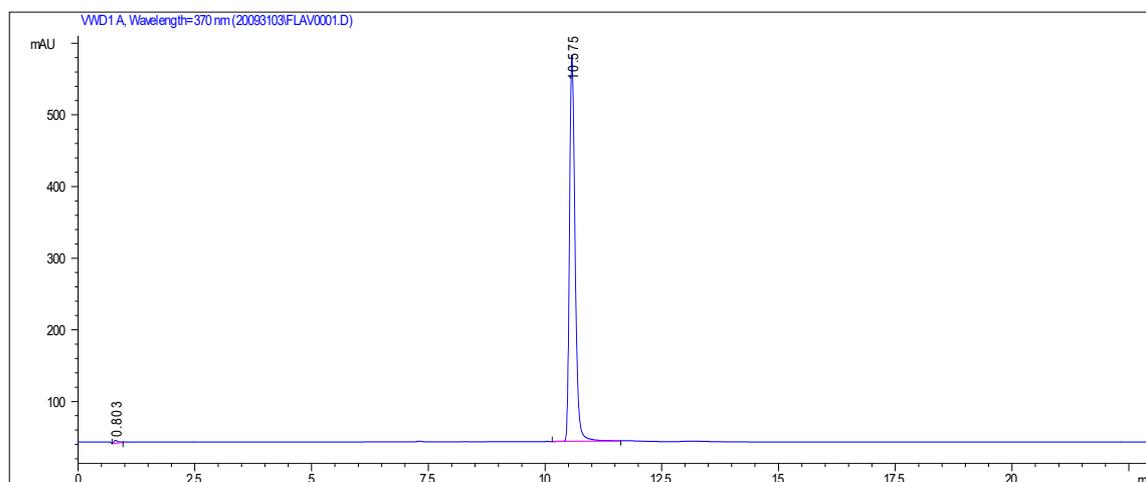
1 -расм. Рутин ва кверцетин ИСН модель эритмалари хроматограммаси



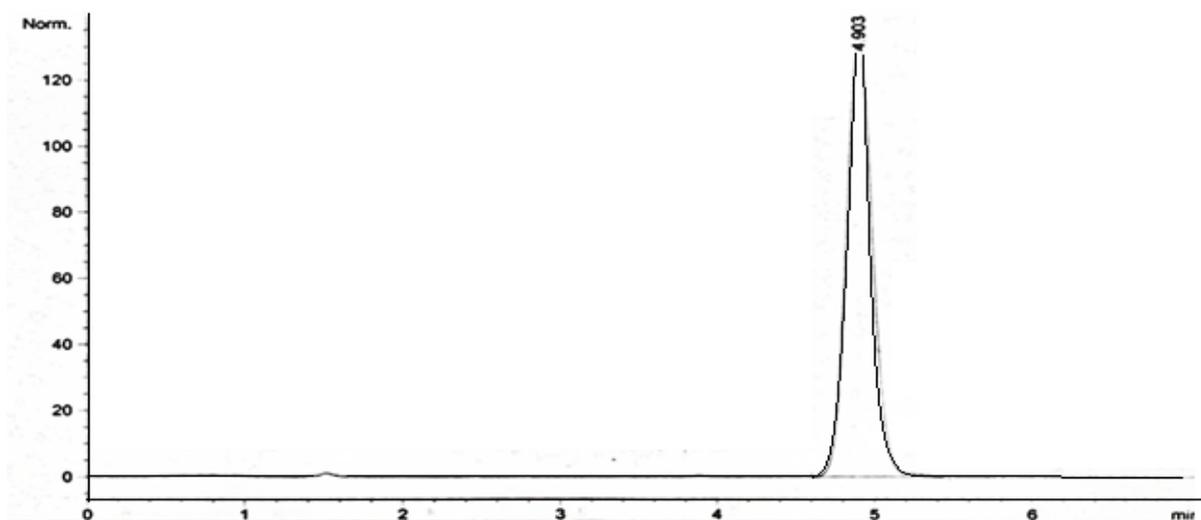
2-расм. «Гемостат» суюқ экстрактивнинг хроматограммаси

Олиб борилган тадқиқотлар асосида ЮССХ усули ёрдамида илк бор тажриба намунасида рутин ва кверцетиннинг сифат ва миқдорини аниқлашнинг кенг қамровли методологияси ишлаб чиқилган. Натижалар 2-жадвалда келтирилган.

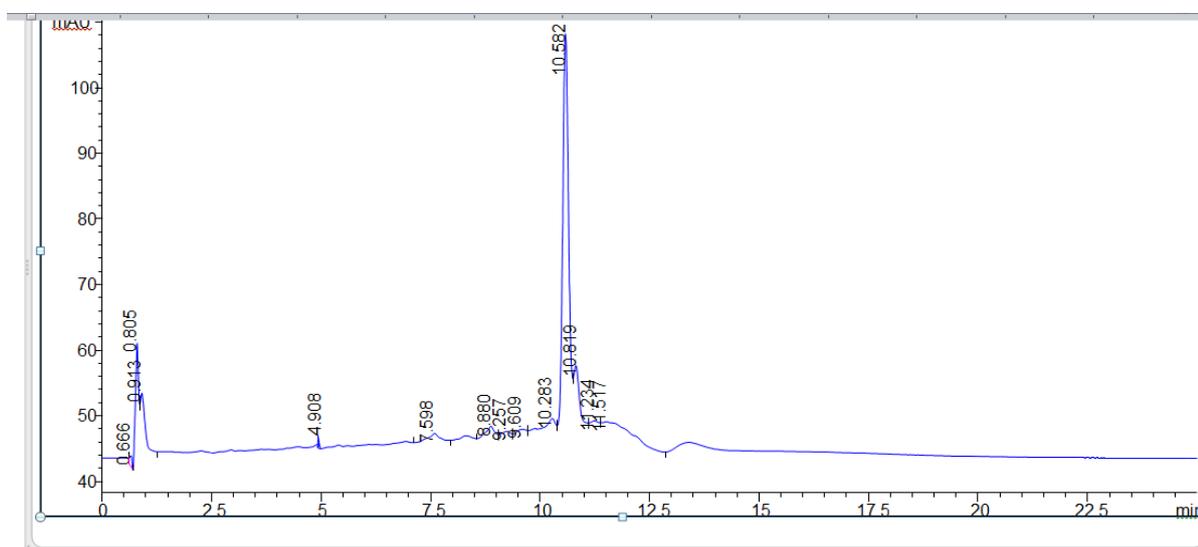
Қуш торон настойкаси учун ЮССХ усули ишлаб чиқилди. Хроматографиялаш “Chemstation 09.03.a” дастур, изократик насос ва спектрофотометрик детектор билан таъминланган «Agilent Technologies» (АҚШ) фирмасининг “Agilent 1100 series” русумидаги суюқлик хроматографида амалга оширилди. Заррачалар катталиги 3,5 мкм бўлган SB-CN сорбенти билан тўлдирилган 3,0×150 мм катталикдаги Zorbax устунида амалга оширилди, детектирлаш рутин ва кверцетинга хос λ_{\max} 357 и 370 нм тўлқин узунликларида, мос равишда, олиб борилди. Элюент тезлиги - 1 мл/мин, киритилаётган намуна ҳажми- 20 мкл. Ҳарорат- 40⁰С, қўзғалувчан фаза - ортофосфор кислотаси билан рН=2,5 га етказилган 0,025М NaH₂PO₄ эритмаси (А каналдан) ва ацетонитрил (В каналдан) аралашмаси. Таҳлил вақти -30 мин.



3-расм. Кверцетин ИСНнинг танланган шароитдаги хроматограммаси



4-расм. Рутин ИСНнинг танланган шароитдаги хроматограммаси

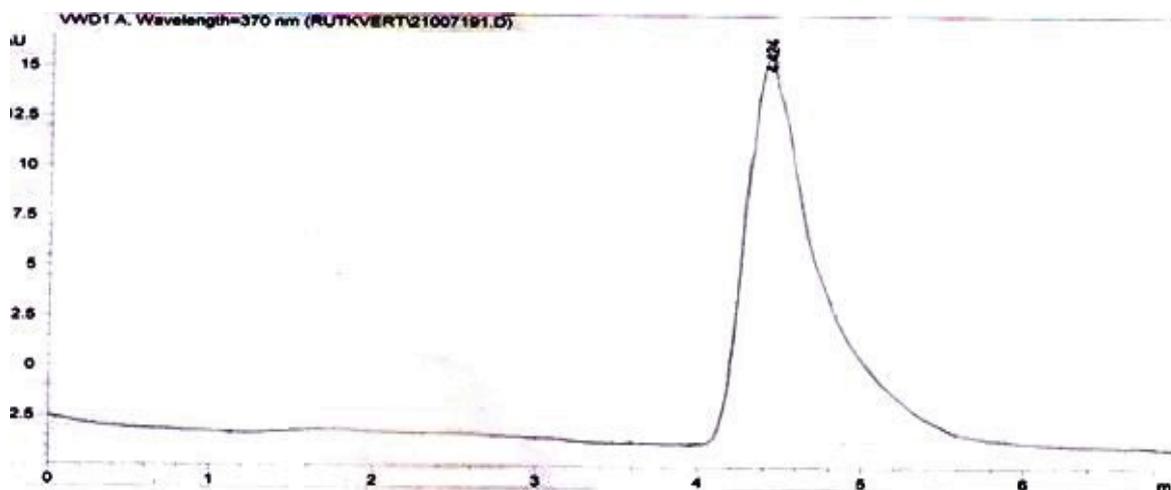


5-расм. Қуш торон настойкасининг хроматограммаси

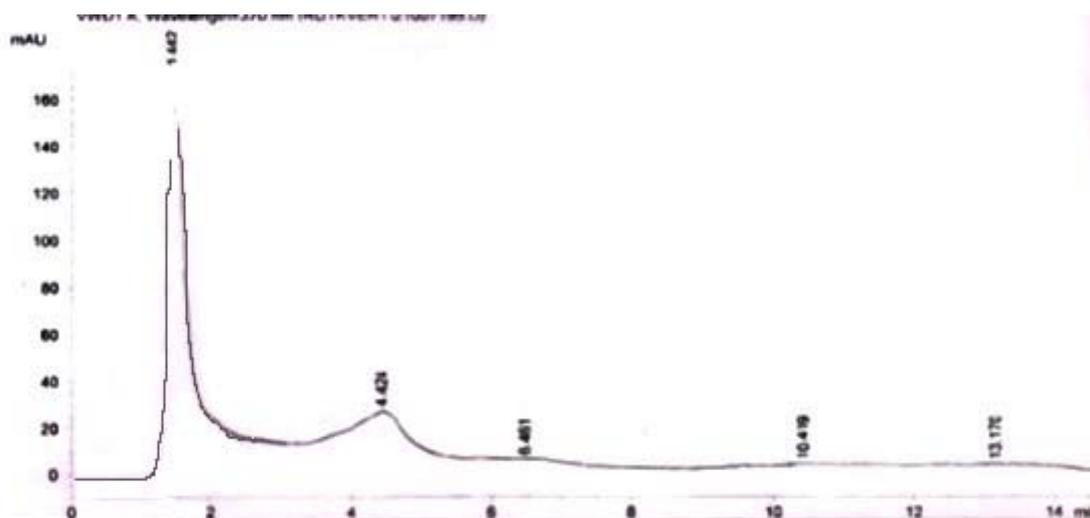
3, 4 ва 5 -расмларда келтирилган хроматограмманинг қиёсий таҳлилига кўра 4,00 ва 10,58 мин ушланишга эга чўққи юзалари мос равишда рутин ва кверцетин моддаларига тўғри келишини кўрсатди.

«Фито диабетол» настойкаси учун ЮССХ усули. Тажрибалар “Agilent 1200 series” русумли ЮСС хроматографида олиб борилди. Хроматографик таҳлиллар “Chemstation A.09.03” дастури ёрдамида компьютер орқали бошқарилди. Бунда тажриба қуйидаги шароитда олиб борилди: хроматографик колонка заррачалар ўлчами 5 мкм бўлган Zorbax Eclipse C18 Nucleosil сорбенти билан тўлдирилаган, ўлчами 250 х4,6 мм, ички диаметри - 5µм; кўзгалувчан фаза: 0,3% ортофосфор кислотасининг эритмаси ва метанол (40:60) аралашмаси; кўзгалувчи фаза сарфи 1,0 мл/дақ; детектор УБ-спектрофотометр; таҳлил учун намуна ҳажми 20 мкл; детекторлаш тўлқин узунлиги 370 нм; таҳлил давомийлиги 20 дақ; ҳарорат - 40⁰ С.

Олинган хроматограммалар таҳлил қилинганда 4,40 мин ушланиш вақтида рутин чиқиши аниқланди ва у текшириладиган «Фито диабетол» настойкасининг хроматограммасидаги ушланиш вақтига мос келди.



6-расм. Рутин ИСН нинг танланган шароитдаги хроматограммаси



7-расм. «Фито диабетол» настойкаси хроматограммаси

Шундай қилиб, 2-жадвалда келтирилган маълумотларга кўра ЮССХ усули ёрдамида илк бор қуш торон, фитодиабетол настойкалари ва гемостат суюқ экстрактининг тажриба намуналарида рутин ва кверцетин моддаларининг идентификация ва миқдорини аниқлашнинг замонавий таҳлил услублари ишлаб чиқилди. Бунда гемостат суюқ экстрактида рутин 0,72%, кверцетин 0,034%, қуш торон настойка таркибида 0,015 % рутин ва 0,0230% кверцетин, фитодиабетол настойкаси таркибидаги рутин миқдори ўртача 0,05% ни ташкил этди. Олинган таҳлил натижаларнинг статистик тавсифига кўра усулнинг ўртача нисбий хатолиги $\pm 2,97\%$ дан ошмади.

**Янги ишлаб чиқилган препаратлар таркибидаги флавоноидларни
аниқлаш натижалари ва усулнинг метрологик тавсифи
(n=5; P=95%; t(p,f)=2,78)**

| Модда номи | X _i , % | \bar{X} , % | f | S ² | S | \bar{X} | $\bar{\varepsilon}$, % |
|----------------------------|--|---------------|-----------|----------------|---------|-----------|-------------------------|
| «Гемостат» суюқ экстракти | | | | | | | |
| Рутин | 0,731 0,726 0,720 0,725 0,740 | 0,728 | 4 | 0,00005 | 0,0075 | 0,0094 | 1,29 |
| Кверцетин | 0,035 0,034 0,034 0,035 0,035 | 0,034 | 4 | 0,0000003 | 0,00054 | 0,00068 | 1,96 |
| «Куш торон» настойкаси | | | | | | | |
| Рутин | 0,0150 0,0150 0,0145 0,0145 0,0142 | 0,015 | 4 | 0,00000012 | 0,00035 | 6,65 | 2,97 |
| Кверцетин | 0,0230 0,0230 0,0230 0,0220 0,0220 | 0,023 | 4 | 0,00000021 | 0,00046 | 5,6 | 2,5 |
| «Фито диабетол» настойкаси | | | | | | | |
| Рутин | 0,0513 0,0510 0,0498 0,0489 0,0500 | 0,050 | 0,0000009 | 0,00096 | 0,00043 | 5,35 | 2,39 |

Ишлаб чиқилган янги дори воситаларни стандартлаш. Олинган янги дори препаратлари Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг «Дори воситаларини хавфсизлиги тўғрисида»ги умумий техник регламентини тасдиқлаш тўғрисидаги 2016 й. 27 октябрдаги 365-сон Қарорида келтирилган талаблар асосида қуйидаги сифат кўрсаткичлари бўйича меъёрлари ишлаб чиқилди: тасвирланиши, чинлиги, қуруқ қолдиқ, оғир металлларни миқдори, зичлиги, спирт концентрацияси, миқдорий таҳлил, микробиологик тозаллиги ва сақланиш муддати. Натижалар 3-жадвалда келтирилди.

«Гемостат» экстрактивнинг сифат кўрсаткичлари ва меъёрлари

| № | Кўрсаткичлари | Усул | Меъёрлари |
|----|---|---|--|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | Тасвирланиши | Визуал | Яшил-кўнғир рангли суюқлик, хушбўй хид ва аччиқ - буриштирувчи маъзага эга |
| 2 | Чинлиги: флавоноидлар кверцетин витамин К ₁ | Кимёвий усул темир (III) хлориднинг 5 % ли эритмаси кўшилади. ЮҚХ «Силуфол» (15x15 см) пластинка система толуол: этил спирти (96%) (3:2) эртувчилар аралашмаси ЮҚХ «Silufol UV 254» (15×15см) эртувчилар аралашмаси (эфир-бензол (2:8)) УБ-нур ($\lambda=360$ нм) остида кўрилади. | Реакция натижасида тўқ яшил ранг ҳосил бўлади. иккита доғ ҳосил бўлиши керак (R_f (рутин ва кверцетин) 0,44 ва 0,54 Бинафша фонда оқ рангли доғ ($R_f = 0,43$) бўлиши керак |
| 3 | Оғир металлар | XI ДФ | 0,01% дан ошмаслиги керак |
| 4 | Зичлиги | XI ДФ | 0,909 г/см ³ дан 0,909 г/см ³ гача |
| 5 | Спирт концентрацияси | XI ДФ ва ГСХ усули | 65 % кам бўлмаслиги керак |
| 6 | Қуруқ қолдиқ | XI ДФ | 1,5 % дан кам бўлмаслиги керак |
| 7 | Микробиологик тозаллиги | ЗБ категория | XI ДФ ва ўзгариш №2 |
| 8 | Микдорий таҳлил: Рутин Кверцетин | камида 0,72 % камида 0,035 % | ЮССХ ва УБ спектрофотометрия |
| 9 | Қадоқланиши | Тармоқ стандарти | 25 мл хажмли эритмада $\pm 5\%$, 50 мл эса $\pm 3\%$ |
| 10 | Ёрлиқланиши | КФМ талаби бўйича | |
| 11 | Транспортировка | ГОСТ 17768-90Е | |
| 12 | Сақланиши | Ёруғликдан ҳимояланган холда, 10°C - 15° С дан юқори бўлмаган ҳароратда 2 йил | |

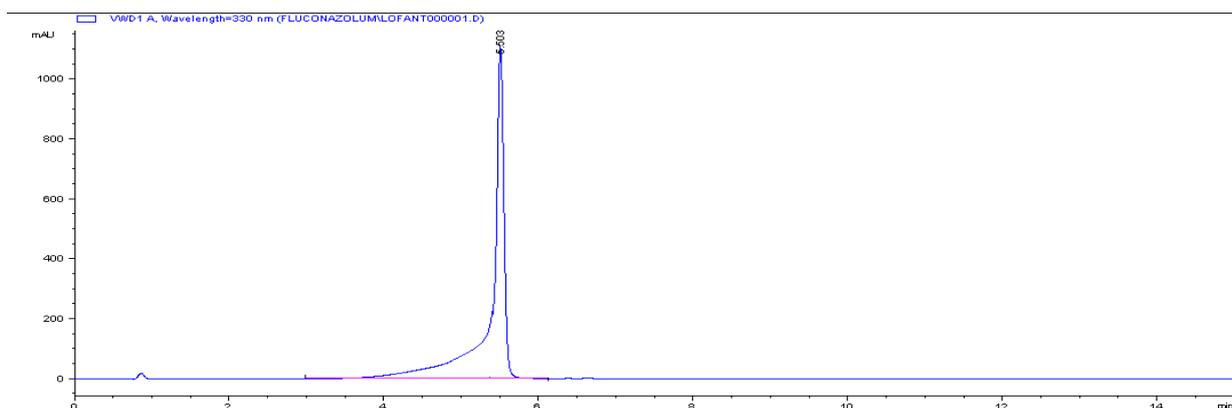
Диссертациянинг тўртинчи боби «Баъзи настойка ва экстрактларнинг сифат кўрсаткичларини аниқлаш усулларини ишлаб чиқиш ва мавжудларини такомиллаштириш» деб номланган. Хозирда маҳаллий фармацевтик ишлаб чиқарувчилар томонидан ишлаб чиқарилаётган настойка ва экстрактларнинг чинлиги асосан кимёвий усуллар ёрдамида таҳлил қилинмоқда. Мазкур маҳсулотларни жаҳон бозорига чиқариш учун ва объектив баҳолаш учун кимёвий усуллар билан биргаликда замонавий таҳлил усулларидан фойдаланиш талаб этилмоқда. Таҳлиллар шуни кўрсатдики, ривожланган давлатлар фармакопояларининг аксариятида бундай фармацевтик препаратларнинг сифати инструментал таҳлил усуллари ёрдамида баҳоланмоқда. Шу сабабали фармацевтика саноатида ишлаб чиқарилаётган баъзи фитопрепаратлар чинлигини аниқлаш усулларини такомиллаштириш юзасидан изланишлар олиб борилди ва уларнинг натижалари ушбу бобда келтирилди.

Бунинг учун мазкур препаратлар учун хос бўлган мавжуд анъанавий кимёвий сифат реакциялари билан бир қаторда турли таҳлил усуллардан жумладан, ультрабинафша соҳадаги (УБ-спектри) тавсифи, хроматографик таҳлил усулларидан фойдаланилди. Жағ-жағ суюқ экстракти, аччик қалампир, тирноқгул, валериана ва женьшень настойкаларини чинлигини аниқлаш учун ЮҚХ ва ЮССХ усуллари таклиф этилди.

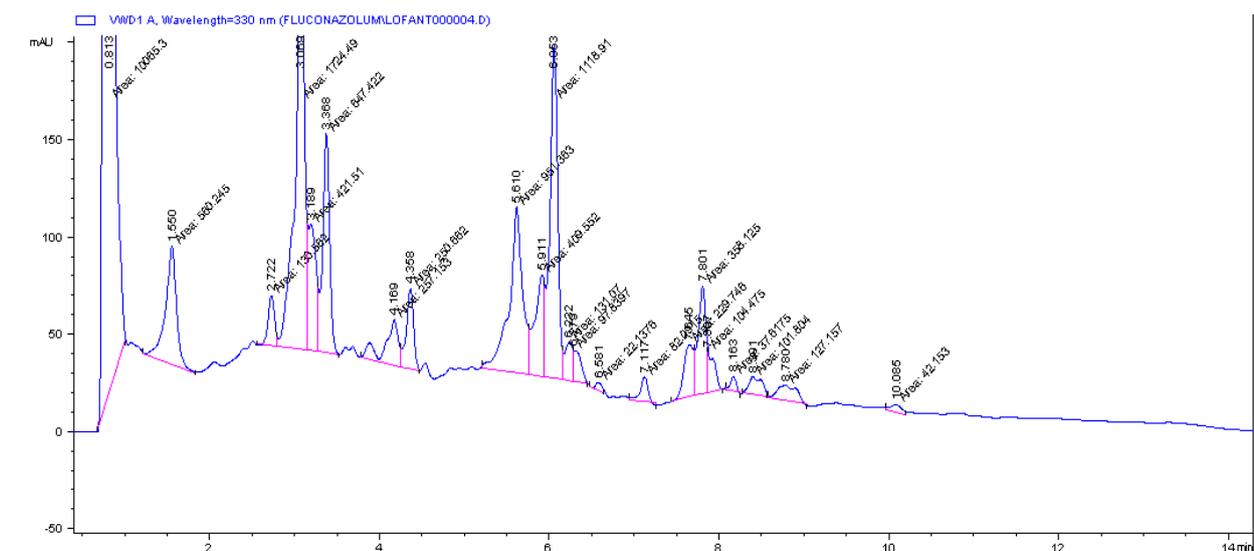
Бугунги кунда жағ-жағ суюқ экстрактининг меъёрий ҳужжатида миқдорини аниқлаш усули мавжуд эмас. Шунинг учун суюқ экстракт таркибидаги флавоноидларни аниқлашнинг спектрофотометрия усули ишлаб чиқилди. Рутинга нисбатан флавоноидлар йиғиндиси аниқланди. Олинган натижалар 4-жадвалда келтирилган.

Кейинги изланишларимиз жағ-жағ суюқ экстракти таркибидаги флавоноидлар миқдорини аниқлашнинг ЮССХ усулини ишлаб чиқишга қаратилди. Хроматографиялаш “Chemstation A.09.03” дастурли компьютер орқали бошқариладиган, изократик насос ва спектрофотометрик детекторли “Agilent 1200 series” русумли юқори самарали суюқлик хроматографида олиб борилди. Хроматографик колонка ўлчами 250 x4,6 мм, ички диаметри эса 5мм ва у заррачалар ўлчами 5 мкм бўлган Zorbax Eclipse C18 Nucleosil сорбент билан тўлдирилаган. Ҳаракатчан фаза ортофосфор кислотасининг 0,5% ли эритмаси ва метанол, қўзғалувчи фаза сарфи 1,0 мл/дақ; таҳлил учун намуна ҳажми 20 мкл; детекторлаш тўлқин узунлиги 330 нм; хроматографиялаш харорати 35⁰С, таҳлил давомийлиги 20 мин.

Жағ-жағ суюқ экстракти ва рутин ИСН хроматограммаси ушланиш вақти (6,5 мин.) бўйича идентификация қилинди. Миқдорий таҳлил натижалари ва ишлаб чиқилган ЮССХ усулининг метрологик тавсифи қуйидаги 4-жадвалда келтирилди.



8.-расм. Рутин ишчи стандарт намуна эритмасининг хроматограммаси



9-расм. Жағ-жағ суюқ экстрактининг хроматограммаси

4-жадвал

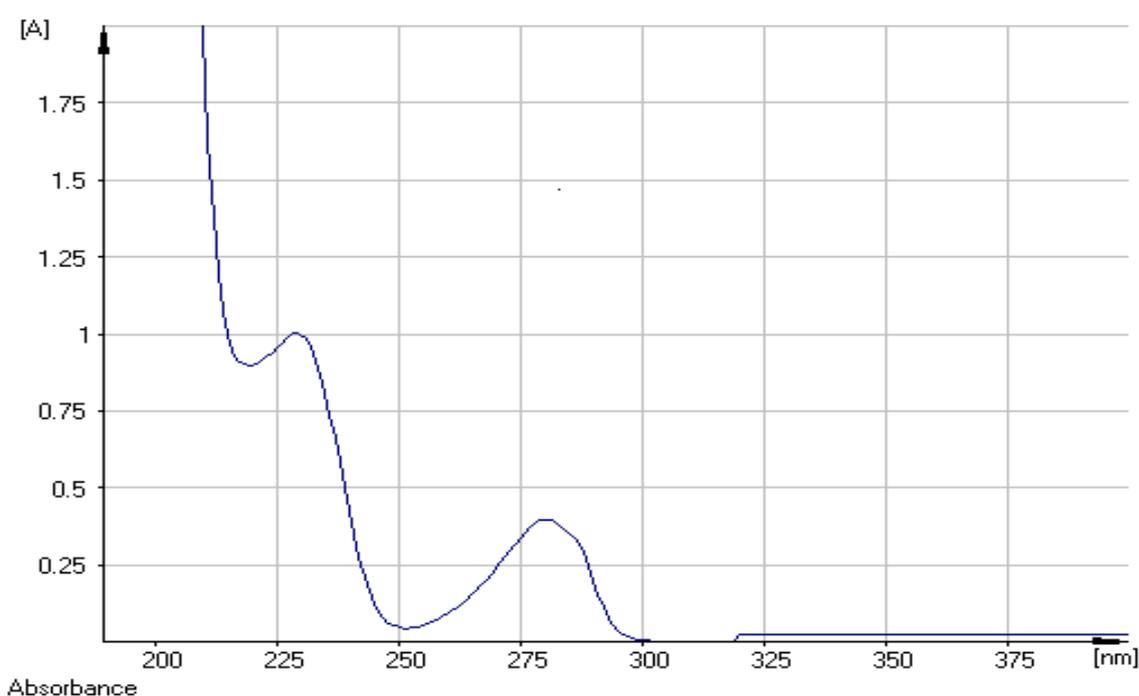
Жағ-жағ суюқ экстракти таркибидаги рутин миқдорини аниқлаш натижалари ва услубнинг метрологик тавсифи (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78)

| $X_i, \%$ | $\bar{X}, \%$ | f | S^2 | S | S_x | $\bar{\varepsilon}, \%$ |
|--|---------------|---|---------|--------|--------|-------------------------|
| Спектрофотометрия усули | | | | | | |
| $X_1=1,50$ $X_2=1,52$ $X_3=1,52$ $X_4=1,52$ $X_5=1,53$ | 1,51 | 4 | 0,00012 | 0,0109 | 0,0048 | 0,89 |
| ЮССХ усули | | | | | | |
| $X_1=1,30$ $X_2=1,32$ $X_3=1,32$ $X_4=1,34$ $X_5=1,34$ | 1,32 | 4 | 0,00028 | 0,016 | 0,0074 | 1,57 |

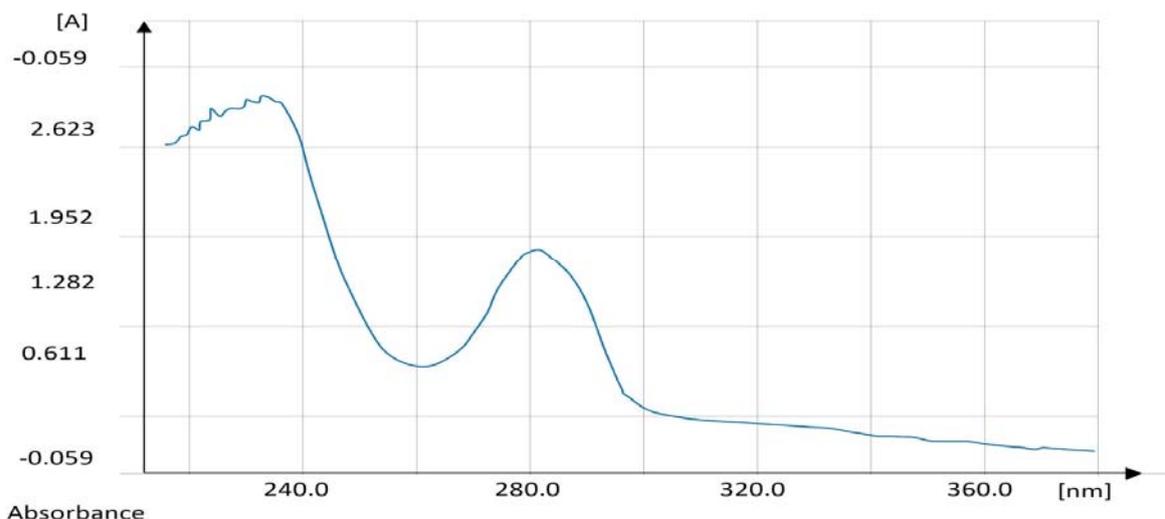
4 -жадвалда келтирилган маълумотларга кўра илк бор жағ-жағ суяқ экстрактини миқдорини аниқлашнинг спектрофотометрия ва ЮССХ усули ишлаб чиқилди.

Аччиқ қалампир настойкаси таркибидаги капсаициноидлар йиғиндисини аниқлаш усулини такомиллаштириш. Маҳаллий қитиқловчи ва оғриқ қолдирувчи дори воситаларидан бири бу аччиқ қалампир настойкаси ҳисобланади. Адабиётлардаги маълумотларга кўра унинг биологик фаол бирикмаси алкалоид капсаицин (70% гача) эканлиги аниқланган. Кўп жиҳатдан ушбу препаратнинг стандартлаштириш масаласи очиқ қолмоқда. Бугунги кунда мазкур препарат учун КФМ 42 Уз-23325453-2607-2014 мавжуд. Унда келтирилган миқдорий таҳлил усули кўп босқичли жараёндан иборат. Маҳаллий ишлаб чиқарилаётган аччиқ қалампир настойкаси меъерий хужжатини ривожланган мамлакатлар фармакопеялари билан уйғунлаштириш мақсадида, миллий қонунчилик талаблари асосида миллий монографияни ишлаб чиқиш учун, мазкур препаратнинг сифатини назорат қилишни миқдорий таҳлилинини такомиллаштириш бўйича тадқиқотлар олиб борилди. Бунинг учун настойка қўшимча бирикмаларда ажратилди ва кейинчалик спектрофотометрия усулидан фойдаланиш имконияти ўрганилди. Таҳлил натижалари капсаицин ишчи стандарт намунаси (ИСН) асосида олинган солиштирма ютиш кўрсаткичи бўйича ҳисобланди.

Эритманинг оптик зичлиги спектрофотометрда 280 нм тўлқин узунлигида аниқланади. Олиб борилган изланиш натижалари қуйидаги 10, 11-расмлар ва 5-жадвалда келтирилди.



10-расм. Капсаицин УВ-спектри



11-расм. Аччиқ қалампир настойкасининг УВ-спектри

5-жадвал

Аччиқ қалампир настойкасидаги капсаицинни миқдорий таҳлил натижалари

| Намуна серияси | Олинган настойка хажми, мл | Оптик зичлик | Аниқланган миқдори | | Статистик натижалари |
|----------------|----------------------------|--------------|--------------------|-------|---|
| | | | г | % | |
| 020816 | 0,50 | 0,402 | 0,00208 | 0,217 | R=0,012, X _{ўр} =0,2132, S ² =0.00002570, S=0.006104, S _x =0.002267 P=95, T=2,78; E=6,610; E _{ўр} =2,95 |
| 030816 | 0,50 | 0,392 | 0,00211 | 0,211 | |
| 030916 | 0,50 | 0,410 | 0,00220 | 0,220 | |
| 031016 | 0,50 | 0,390 | 0,00210 | 0,210 | |
| 041116 | 0,50 | 0,386 | 0,00208 | 0,208 | |
| 020816 | 1,00 | 0,790 | 0,00210 | 0,210 | R=0.016, X _{ўр} =0.2141, S ² =0.00003726, S=0.006104, S _x =0.002158 P=95; T=2,37; E=6,72; E _{ўр} =2,37 |
| 030816 | 1,00 | 0,783 | 0,00201 | 0,208 | |
| 030916 | 1,00 | 0,810 | 0,00216 | 0,216 | |
| 031016 | 1,00 | 0,802 | 0,00213 | 0,213 | |
| 041116 | 1,00 | 0,820 | 0,00219 | 0,219 | |
| 020816 | 1,00 | 0,830 | 0,00221 | 0,221 | |
| 030816 | 1,00 | 0,828 | 0,002201 | 0,221 | |
| 030916 | 1,00 | 0,772 | 0,00205 | 0,205 | |

Ушбу усул маҳаллий ишлаб чиқарувчилар томонидан ишлаб чиқарилаётган аччиқ қалампир настойкасининг бир неча серияларида синаб кўрилди. Олиб борилган тадқиқотлар натижалари аччиқ қалампир настойкаси намуналари таркибида капсаициноидлар миқдори капсаицинга нисбатан ўртача 0,21% ни ва усулнинг статистик тавсифи бўйича нисбий хатолик ўртача 2,37 % ни ташкил қилди.

Бешинчи боб «Экстракт ва настойкалар учун ишлаб чиқилган миқдорий таҳлил усуллари валидацияси»га бағишланган. Фармацевтика ишлаб чиқариш саноатига қўйилаётган замонавий талабларга мувофиқ дори-дармонлар сифатини баҳолашда валидацияланган (яроқлилиги аниқланган)

таҳлил усулларидадан фойдаланиш лозим. Аналитик усуллари валидациялаш–бу усулнинг белгиланган вазифани ечишга тўлақонли яроқли эканлигини тажрибалар асосида исботлаш демакдир.

Таҳлил усуллар валидацияси янги дори воситалари учун ишлаб чиқилган таҳлил усуллари нафақат фармацевтика саноатининг назорат-таҳлил лабораториялари амалиётига татбиқ этиш жараёнида, балки таҳлил усуллари шартлари ўзгартирилганда ҳам амалга оширилади.

Валидациянинг амалий аҳамияти шундан иборатки, янги таҳлил усуллари ишлаб чиқиш жараёнида уларнинг камчиликларини ўз вақтида аниқлаш ва усулни дастлабки босқичларда сезиларли даражада яхшилаш имконияти мавжуд бўлади. Таклиф этилаётган флавоноидлар миқдорини аниқлашнинг таҳлил усуллари валидациялаш жараёни препаратларнинг намуналарида тегишли тартибда амалга оширилди. Натижалар 6-жадвалда келтирилган.

6-жадвал

«Гемостат», аччиқ торон ва жағ-жағ суюқ экстрактлари учун ишлаб чиқилган спектрофотометрия усулининг валидация натижалари

| Валидацион кўрсаткичлар | Мақбуллик мезонлари | Натижалар | | |
|-------------------------|---|---|--|--|
| | | «Гемостат» суюқ экстракти | Аччиқ торон суюқ экстракти | Жағ-жағ суюқ экстракти |
| Хусусийлиги | Намунани тайёрлаш учун фойдаланиладиган реактивлар ва эритувчилар, плацебо таркиби натижага таъсир қилмайди | мутаносиб | мутаносиб | мутаносиб |
| Чизиқлилиги | Корреляция коэффициенти $\geq 0,99$ | 0,9999 | 0,9912 | 0,9999 |
| Такрорийлиги | Вариация коэффициенти $\leq 1,5\%$ (n ≤ 6 , серия 2); | ВК=0,54 | ВК=0,93 | ВК=1,03 |
| Оралиқ қайтарувчанлиги | Вариация коэффициенти: $\leq 1,5\%$ (n ≤ 6 , серия 2); | 1-аналитик ВК = 0,55 % 2 –аналитик ВК=1,19 % | 1-аналитик ВК = 0,93% 2 –аналитик ВК=0,0078 | 1-аналитик ВК = 1,03% 2 –аналитик ВК=1,89 % |
| Тўғрилиги | Четланиш омили: ўртача қиймат 97,5 – 102,5% Вариация коэффициенти: $\leq 2,0\%$ Ишонччилик чегараси (ИЧ) 100% | ўртача қиймат: 99,73% вариация коэффициенти: 0,546 $\leq 2,0\%$ ИЧ: 100% | ўртача қиймат: 99,85% вариация коэффициенти: $\leq 2,0\%$ ИЧ: 100% | ўртача қиймат: 99,25% вариация коэффициенти: $\leq 2,0\%$ ИЧ: 100% |

Олтинчи боб «Экстракт ва настойкалар таркибидаги «спирт миқдори» ва «оғир металллар» кўрсаткичларини аниқлашнинг замонавий усулларини ишлаб чиқиш»га бағишланган.

Ривожланган давлатларнинг меъёрий ҳужжатларини (фармакопеялар) ўрганиш суюқ экстракт ва настойкалар сифатига қўйилган талабларнинг орасида ўхшашлик ва фарқ борлигини кўрсатди, масалан, метанол ва 2-пропанолни аниқлаш кўрсаткичи фақатгина Европа ва Белоруссия фармакопеяларида келтирилган. Уларнинг миқдори дори препарати таркибида 0,05 ва 0,06% дан ошмаслиги керак. Шунингдек, ДФ XI нашрида этанол миқдорини аниқлашнинг хайдаш орқали ва зичлик бўйича, хорижий фармакопеяларда эса замонавий газ-суюқлик хроматография (ГСХ) усулида аниқлаш тавсия этилган.

Бугунги кунда маҳаллий фармацевтика ишлаб чиқарувчи корхоналарда настойка ва суюқ экстрактлар таркибидаги этил спирти асосан ДФ XI нашрида келтирилган усул, зичлик бўйича аниқланмоқда. Ушбу усул этил спиртини аниқлашга имкон берсада, этил спирти таркибидаги ёт моддаларни аниқлаш имконини бермайди.

Маълумки, этил спирти таркибида изопропанол ёт модда сифатида сақланиши мумкин. Ушбу модда захарлилиги бўйича 3-синф гуруҳига мансуб бўлиб, унинг миқдори 0,5% дан ошмаслиги лозим. Изопропанолнинг миқдори бугунги кун талабига кўра аниқланиши ва унинг чегараси меъёрий ҳужжатларда келтирилган бўлиши шарт. Бундай ёт бирикмаларни валидацияланган усуллар ёрдамида аниқлаш мумкин, кўпинча инструментал усуллар сарасига кирган газ суюқлик хроматография усулидан фойдаланилади.

Шундай қилиб, ўрганилаётган намуналар таркибидаги этил спирти ва изопропанолни аниқлаш учун ГСХ усули таклиф этилди. Хроматографиялаш «Кристалл люкс - 4000М» русумдаги газ хроматографида олиб борилди; хроматографиялаш устуни DB-624 Capillary 30,0m x 250 μ m x 1,40 μ m nominal, детектор - аланга-ионизацион (FID); детектор ҳарорати - 260 $^{\circ}$ C, ҳаво ва водороднинг тезлиги – 420 мл/мин ва 40 мл/мин, мос равишда, қўзғалувчан фаза: гелий (He) - 0,5 мл/мин, буғлатгич ҳарорати-170 $^{\circ}$ C, иситгич ҳарорати 40 $^{\circ}$ C дан 110 $^{\circ}$ C гача, минутига 5 $^{\circ}$ C; таҳлил давомийлиги 14 мин, инжектор ҳарорати -150 $^{\circ}$ C; инъекция 2 μ l, split ratio 60:1. Таҳлил натижаларининг ишончилиги хроматографик тизимнинг яроқлилигини аниқлаш орқали текшириб кўрилди: - этил ва изопропил спиртлари чўққиларининг ажралиши (R) (2,0 кам эмас) бўйича; - этил спирти ва изопропил спиртлари чўққиларининг асимметрия коэффиценти (T) бўйича (1,5 дан ошмаслиги керак); - нисбий стандарт четланиш (RSD) бўйича (2,0% дан ошмаслиги керак). Тадқиқот объектларининг хроматограммаларидаги этил ва изопропил спиртларининг идентификацияси стандарт намуналарининг ушланиш вақтларига таққослаш орқали олиб борилди. Таҳлил натижалари 7-жадвалда келтирилган.

Настойка ва суюқ экстрактлар таркибидаги этил ва изопропил спиртини аниқлаш натижалари

| № | Намунанинг номи | Ишлаб чиқарувчи корхона номи | Махсулот серияси | Этил спирти миқдори, % | Изопропил спирти миқдори, % |
|---|----------------------------|------------------------------|------------------|------------------------|-----------------------------|
| 1 | «Гемостат» суюқ экстракти | «ZIYO NUR FARM» ХК | 030418 | 65,1 | - |
| 2 | Аччиқ торон настойкаси | - | - | 70 | 0,0223 |
| 3 | Куш торон настойкаси | - | - | 69,4 | 0,0123 |
| 4 | Женшень настойкаси | “Radiks” ИЧК | 021217 | 69,8 | 0,0284 |
| 5 | Тирнокгул настойкаси | «ZIYO NUR FARM» ХК | 040817 | 69,7 | 0,0091 |
| 6 | Аччиқ қалампир настойкаси | “Radiks” ИИЧК | 020816 | 94,0 | 0,0153 |
| 7 | Валериана настойкаси | «ZIYO NUR FARM» ХК | 02122016 | 69,4 | 0,044 |
| 8 | Жағ-жағ суюқ экстракти | “Галеника” | 040517 | 65,5 | - |
| 9 | «Фито диабетол» настойкаси | “AKTASH” ХК | 030219 | 66,1 | - |

Олиб борилган тадқиқотлар асосида маҳаллий фармацевтика ишлаб чиқарувчилари томонидан ишлаб чиқарилаётган настойка ва суюқ экстрактлар учун таркибидаги этил спирти ва изопропил спиртини аниқлашнинг замонавий ГСХ услуги учун таҳлилнинг оптимал шароитлари танланди ва мазкур танланган шароитлар илк бор саноат миқёсида ишлаб чиқарилаётган намуналарда текшириб кўрилиб ижобий натижаларга эришилди. Таклиф этилаётган таҳлил услуги фармацевтик махсулотнинг сифатини кафолатлашга имкон яратади.

Настойка ва экстрактлар таркибидаги оғир металлларни аниқлаш. Атом абсорбцион спектроскопия (ААС) усули ёрдамида настойка ва суюқ экстрактлар таркибидаги оғир металллар ёт аралашмалари аниқланди. Таҳлилларни олиб боришда эмиссион спектрларни қўзғатиш учун манба сифатида алангадан фойдаланилди: ацетилен-ҳаво ёки пропан-бутан-ҳаво аралашмалари. Алангали фотометрия усулидан асосан дори воситалари таркибидаги энг кам миқдордаги натрий, калий, литий ва барийни аниқлашда фойдаланилди. Алангадаги атомизацияли ААС усули ёрдамида, кўпинча магний, рух, кўрғошин, никель, мис, темир, барий, кальций, кумуш, натрий, шунингдек платина, стронций аниқланади. Дори воситалари таркибидаги симобни аниқлашда совуқ буғ усулидан фойдаланилади. ААС усули ифлосланишнинг йўқлиги, тўлиқ автоматлаштирилганлиги, симоб ва бошқа элементларни (As, Se ва б.) ppm даражада аниқлаши, фойдаланишга қулай, таҳлил аниқлиги – СКО 2% дан кам, кам вақт (3 та таҳлилга 1 мин. кам

вақт кетади) ва оз миқдорда (1 та элемент учун 8 мл) намуна сарфланишига имкон беради. Синовлар «Analytic Yena» (Германия) фирмасининг ZEENIT-650 русумдаги графитли иситгичида қуйидаги 8-жадвалда келтирилган шароитда олиб борилди.

8-жадвал

Атом адсорбцион спектроскопия усулида таҳлил шароити

| Аниқлаш шароити | Элементлар | | | | | |
|-----------------------------------|---------------------|----------------|-------------------------------|----------------|---------------|-------------------------------|
| | Zn | Cu | As | Pb | Cd | Hg |
| курутиш жараёни, °C; вақт, сек | 3 90– 110, 50 | 90– 110, 50 | 300, 25 | 90– 110, 10 | 90–110, 50 | 150, 30 |
| Пиролиз, °C; вақт, сек | 650, 10 | 850, 10 | графит буғларни ўтказиш | 950, 10 | 300, 60 | графит буғларни ўтказиш |
| Атомизация, °C; вақт, сек | 1800, 3 | 2000, 4 | 2050, 5 | 1500, 4 | 800, 3 | 800, 5 |

Оғир металлларни ААС усулида аниқлаш натижалари қуйидаги 9-жадвалда келтирилди.

9-жадвал

Текширилаётган намуналар таркибидаги оғир металллар миқдори (мкг/л)

| № | Намуналар | Zn | Cu | As | Pb | Cd | Hg |
|---|-------------------------------|--------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------|
| 1 | Қуш торон настойкаси | 0,0025 | 0,0003 | <0,005 | <0,005 | <0,005 | <0,005 |
| 2 | Аччиқ торон суяқ экстракти | 0,0013 | 0,005 | <0,005 | <0,005 | <0,005 | <0,001 |
| 3 | Тирноқгул настойкаси | 0,36 | 0,20 | аниқлан- мади | 0,01 | аниқ- ланмади | <0,001 |
| 4 | Женшень настойкаси | 0,023 | 0,075 | 0,010 | аниқлан- мади | аниқ- ланмади | <0,001 |
| 5 | Аччиқ қалампир настойкаси | 0,012 | 0,047 | аниқлан- мади | аниқ- ланмади | аниқ- ланмади | <0,001 |
| 6 | «Гемостат» суяқ экстракти | 6,6 | 0,357 | 0,033 | 0,102 | аниқ- ланмади | <0,051 |
| 7 | Жағ-жағ суяқ экстракти | 3,5 | аниқ- ланмади | 0,033 | аниқ- ланмади | аниқ- ланмади | <0,001 |
| 8 | «Фито диабетол» настойкаси | 0,072 | 0,037 | аниқлан- мади | 0,100 | аниқ- ланмади | <0,001 |

Оғир металлларни аниқлаш билан бир вақтда текширилувчи намуналар таркибидаги бошқа макро-, микроэлементларни (МЭ) аниқлаш бўйича ҳам тажрибалар ўтказилди.

Тадқиқот объектлари таркибидаги МЭ ни аниқлаш Peri Pump перистальтик насос, масс детектор ва олинган маълумотларга ишлов берувчи маҳсус «Chemstation» программаси билан таъминланган ICP-MS (масс - спектрометр индукцион – плазма билан боғланган) АТ 7500а русумли масс

спектрометрда ускунасида қуйидаги шароитларда олиб борилди: плазма қуввати -1200 Вт; плазма ҳарорати -7000⁰С, газ ташувчи– аргон; интегрирлаш вақти - 0,1 сек; перисталтик насоснинг айланиш тезлиги - 0,1 об/сек, намуна ҳажми -1 мл.

Стандарт сифатида «Agilent Technology» фирмасининг мультиэлементли (27 компонентдан иборат, ҳар бирининг миқдори 10,0 мг/л.) стандарт эритмасидан фойдаланилди.

Олиб борилган тадқиқот натижалари ўрганилаётган фармацевтик маҳсулотларни макро-, микроэлементларга бойлигини кўрсатди. Аниқланган МЭ ичида нисбатан энг кўп миқдорни ҳаёт учун зарур бўлган калий, натрий, фосфор, кальций ва магний ташкил этиши маълум бўлди. Тирноқгул настойкасида - К (180,0), Са (2,200), Na (26,0), Р (7,8), Mg (3,1), Zn (0,36), аччиқ қалампир настойкасида - Na (19,0), К (18,0), Са (0,97), женьшень настойкасида - К (54,0), Са (1,4), Na (19,0), «Гемостат» суюқ экстрактида - Mg (120,0), Са (82,0), Na (53,0) ва «Фито диабетол» настойкасида - Mg (11,0), К (74,0), Са (23,0), Na (19,0) (мг/мл) мавжудлиги аниқланди.

ХУЛОСАЛАР

1. Маҳаллий ва хорижий меъёрий ҳужжатлар, шунингдек ўсимлик дори воситалари бўйича илмий нашрларнинг ахборот-таҳлилий изланишлари асосида ўсимлик маҳсулотларини излаш ва уларнинг сифатини баҳолаш усуллари такомиллаштирилиб, ўсимлик маҳсулотининг сифатини тавсифловчи меъёрларни ўрнатишга асосланган ягона услубий ва унификациялашган ёндашув таклиф этилди.

2. Илк бор маҳаллий куш торон, аччиқ торон, доривор газанда, доривор галега ва оддий черника хом ашёлари асосида «Куш торон» настойкаси, «Гемостат» суюқ экстракти, «Фито диабетол» настойкаси олинди, фармакологик фаоллиги ва сақланиш муддатлари ўрганилиб, улар қон тўхтатувчи, яллиғланишга қарши ва қандли диабетга восита сифатида ЎзР ССВ «Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш давлат маркази» ДУК томонидан тиббиёт амалиётида қўллашга руҳсат этилди.

3. Олинган янги препаратларнинг кимёвий таркибини объектив баҳолаш имконини берувчи замонавий спектрофотометрик (СФ), юпқа қатлам (ЮҚХ) ва юқори самарали суюқлик хроматография (ЮССХ) усуллари ишлаб чиқилиб, дори воситаларининг сифат стандартлари таркибига киритилди ва ЎзР ССВ «Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш давлат маркази» ДУК томонидан тасдиқланди.

4. Тадқиқот объектлари таркибидаги флавоноидлар миқдорини аниқлашнинг муқобил ЮССХ усули ишлаб чиқилди ва оптимал шароитлари аниқланди. Бунда «Гемостат» суюқ экстракти таркибида рутин 0,72 %, кверцетин 0,035%, «Куш торон» настойкасида рутин 0,015 % ва кверцетин 0,023%, «Фито диабетол» настойкасида рутин миқдори ўртача 0,05%,

ташкил этиши маълум бўлди. Ишлаб чиқилган усулларнинг хатолиги 3% дан ошмади. Олинган натижалар асосида препаратлар учун миқдорий меъёрлар белгиланди.

5. Илк бор маҳаллий фармацевтика корхоналари томонидан ишлаб чиқарилаётган жағ-жағ суюқ экстракти флавоноидларини аниқлашнинг ЮҚХ, СФ ва ЮССХ усуллари ишлаб чиқилди, тирноқгул, женьшень, валериана ва аччиқ қалампир настойкалари таркибидаги биофаол моддалари бўйича ЮҚХ, СФ, ЮССХ таҳлил усуллари такомиллаштирилди ва меъёрий ҳужжатлар (корхона фармакопея мақолалари) таркибига тавсия қилинди.

6. Янги олинган «Фито диабетол» ва қуш торон настойкалари, аччиқ торон ва «Гемостат» суюқ экстрактлари ҳамда маҳаллий фармацевтика корхоналари томонидан ишлаб чиқарилаётган баъзи дори воситалари, жумладан жағ-жағ суюқ экстракти ва женьшень, тирноқгул, аччиқ қалампир, валериана настойкалари таркибидаги этил ва изопропил спиртларини аниқлашнинг замонавий ГСХ услуби учун таҳлилнинг оптимал шароитлари танланди ва мазкур танланган шароитлар илк бор саноат миқёсида ишлаб чиқарилаётган намуналарда синовдан ўтказилди ва ижобий натижалар олинди. Мазкур усул бугунги кунда ишлаб чиқилаётган ЎзР Фармакопеяси таркибига настойкалар ва суюқ экстрактларнинг этил ва изопропил спиртларини аниқлашнинг умумий фармакопея усули сифатида киритилди.

7. Миллий ёндошувларни GMP талабларига мувофиқлаштирилишини ҳисобга олган ҳолда ишлаб чиқилган аналитик усуллар қуйидаги валидацион кўрсаткичлар: хусусийлик, чизиқлиқлик, тўғрилиқ ва прецизионлик бўйича валидация (яроқлилигини аниқлаш) қилинди. Ушбу мезонлардан фойдаланиб биринчи марта тадқиқ қилинаётган препаратлар учун «идентификация» ва «миқдорий таҳлил» бўлимлари таклиф қилинди.

8. Тадқиқот объектлари бўлган настойка ва экстрактлар таркибидаги оғир металлларни индивидуал аниқлаш, миқдорини меъёрлашга имкон берадиган селектив, турли токсик даражадаги элементларни ажратиб бера оладиган, кўп вақт ва меҳнат талаб этмайдиган ААС усулининг оптимал шароитлари аниқланди. Мазкур усул республикада ишлаб чиқарилаётган ўсимлик дори воситалари таркибидаги оғир металллар миқдорини аниқлашнинг тезкор усули сифатида ЎзР Фармакопеяси таркибига киритишга тавсия этилди.

9. Илмий изланиш натижалари тўртта меъёрий ҳужжатлар таркибига киритилган ва ҳозирда улардан маҳаллий фармацевтика ишлаб чиқариш корхоналарининг назорат таҳлил лабораториялари амалиётида фойдаланилмоқда («Қуш торон» настойкаси (ФМ 42 Уз-1249-2016), «Гемостат» суюқ экстракти (КФМ 42 Уз-22477731-3757-2019)), шунингдек настойка шаклидаги «Фито диабетол» биологик фаол қўшимча учун Техник шартлар (Ts15005859-07:2016) ҳамда тирноқгул настойкаси учун технологик регламент ишлаб чиқилган (42 Уз-03837-22477731-2808-2018).

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSC.27.06.2017.FAR.32.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ТАШКЕНТСКОМ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ИНСТИТУТЕ**

ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

ЮНУСХОДЖАЕВА НОДИРА АБДУЛХАМИТОВНА

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К
ОБЕСПЕЧЕНИЮ КАЧЕСТВА И СТАНДАРТИЗАЦИИ НАСТОЕК И
ЭКСТРАКТОВ**

15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ (DSc) ДИССЕРТАЦИИ ПО
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент – 2019

Тема диссертации доктора наук (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2018.1.DSc/Far18.

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 консультант: **Абдуллабекова Вилоят Нуруллабековна**
доктор фармацевтических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Дусматов Азиз Файзаматович**
доктор фармацевтических наук, профессор
Тулаганов Абдукадир Абдурахманович
доктор фармацевтических наук
Абдулладжанова Нодира Гулямжановна
доктор химических наук, профессор

Ведущая организация: **Узбекский химико-фармацевтический научно-исследовательский институт им. А.Султанова**

Защита диссертации состоится «__» _____ 2019 г. в __ часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017.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: pharmi@pharmi.uz).

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

Автореферат диссертации разослан «__» _____ 2019 года
(реестр протокола рассылки № __ от «__» _____ 2019 г.).

И.И. Алимджанов
Председатель Научного совета по присуждению ученых степеней, д.м.н., профессор

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.фарм.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора наук (DSc))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В мире большое внимание уделяется профилактике и лечению различных заболеваний с помощью лекарственных растений. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), около 80% населения мира использует препараты на основе растений. По результатам исследования BBC Research ожидается, что в ближайшие годы рынок фитопрепаратов будет расти на 6,6% в год, а к 2020 году его объем достигнет 35,4 млрд долларов. Большое значение имеет тот факт, что 10% от общего объема лекарственных средств в развитых зарубежных странах, в том числе в странах Европейского Союза; в Японии и Юго-Восточной Азии препараты растительного происхождения¹ составляют 40%.

Лечение гемостатических и диабетических заболеваний высокоэффективными лекарственными средствами на основе местного растительного сырья является актуальной задачей. Для этого необходимо разработать и стандартизировать лекарственное средство, изучить биологически активные вещества, провести оценку качества лекарственного средства и разработать валидированные современные методы количественного анализа; установить стандарты оценки объекта, а также разработать нормативные документы лекарственного средства в соответствии с ведущими международными фармакопеями, разработать и утвердить национальные стандарты.

Фармацевтической промышленностью Республики достигнуты определённые научные и практические результаты по разработке галеновых препаратов на основе лекарственного растительного сырья. В четвертой главе стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены важные задачи «по развитию фармацевтической промышленности, обеспечению населения и лечебных учреждений качественными, безопасными и доступными лекарственными средствами»². В связи с этим актуально проведение научных исследований по разработке новых фитопрепаратов на основе местного сырья, в том числе соответствующих фармацевтическим условиям.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит решению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан № УП-5707 от 10 апреля 2019 года «О дальнейших мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2019-2021 годах», Постановлениями Президента Республики Узбекистан ПП-4310 от 6 мая 2019 года «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки», ПП-3532 от 14 февраля 2018 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической

¹ Н.Г. Оленина, Н.С. Михеева, Н.М. Крутикова. Особенности экспертизы «польза/риск» лекарственных растительных препаратов: анализ регистрационных досье. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018 (8) С.84-91.

Указ Президента Республики Узбекистан № УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

отрасли», протоколом Кабинета Министров Республики Узбекистан №32 от 20 апреля 2015 года «О мерах по развитию производства лекарственных средств и биологически активных добавок (БАД) на основе лекарственных растений на местных предприятиях» а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

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

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации ². Научные исследования, направленные на создание препаратов на основе субстанций, полученных из растительного сырья осуществляются в ведущих научных центрах и высших образовательных учреждениях мира, в том числе, Institute of Pharmaceutical Science (Индия), Yonsei University, Seoul, (Корея), Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing в Huazhong University of Science and Technology (ХХР), Community Health Sciences, University of London, Cranmer Terrac (Буюк Британия); Institute of Pharmaceutical Sciences the University of Mississippi (США), Faculty of Pharmaceutical Sciences the University of Tokushima (Япония), Волгоградский государственный медицинский университет», Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Самарский государственный медицинский университет, Первый Московский медицинский университет имени И.М. Сеченова (Российская Федерация), Национальном фармацевтическом университете Украины.

В результате исследований по разработке и стандартизации лекарственных средств на основе растительного сырья, по определению биологически активных соединений, а также разработке методов контроля качества: изучен флавоноидный состав растения *Polygonum aviculare L.* (Yonsei University, Корея); сырья *Urtica dioica L.* и препаратов на его основе определен химический состав и разработаны методы стандартизации, применение в медицинской практике (Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва, Российская Федерация); определен эффект применения при сахарном диабете безалкалоидной фракции экстракта *Galega officinalis L.* (Национальный университет Украины); в *Vaccinium myrtillus L.* идентифицированы флавоноиды кверцетин-3-О-ксилозид, а также разработан метод количественного определения методом дифференциальной спектрофотометрии (Москва, Российская Федерация).

В мире проводится ряд исследований по разработке и стандартизации лекарственных средств на основе сырья лекарственных растений, в том числе настоек и экстрактов, по следующим приоритетным направлениям: определение действующих веществ, разработка современных методов

²Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации оформлен на основании данных www.elsevier.com/locate/jethpharm источников

анализа, определение фармакопейных показателей качества и стандартизация.

Степень изученности проблемы. Зарубежными и отечественными учеными проведены научные исследования по разработке качественных и количественных методов анализа настоек и экстрактов из растительного сырья, а также получены новые лекарственные препараты на их основе.

Необходимо отметить научные работы, проводимых в глобальном масштабе по разработке кровоостанавливающих и противовоспалительных препаратов, изучению и стандартизации биологически активных веществ: N.V. Dau, V.N. Thang, J.P. Dzoym, Lupak MI, Khokhla MR, Nachkova G.Y., Luka C.D., 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, Jamia Azdina Jamal, Johnson Stanslas, О.В Евдокимовой, В.А. Куркина, А.И. Сливкина, А.С. Чистяковой, Л.М.Гориловкого, А.А.Полуниной, В.Н. Крупиной, А.Т.Терешинной, В.А. Смирновой, А.М. Куянцевой, Ю.Г. Пшукова, Л.Р. Сулеймановой, О.В. Тринеевой, Е.Ф. Сафоновой, А. Балогазяна, О.Е. Правдивцевой, А.Д. Ореховой, И.В. Шиловой, Т.К. Рязановой.

Х.Х. Халматов, Т.П. Пўлатова, Х.У.Алиев, А.Я. Ибрагимов, Х.М.Комилов, Ф.Ф.Урманова, С.Н.Аминов, У.М. Азизов, А.Қ. Саидвалиев, Қ.А. Убайдуллаев и В.Н. Абдуллабекова провели научные исследования по разработке и изучению фармакологической активности противовоспалительных, кровоостанавливающих и антидиабетических препаратов.

В данной диссертационной работе на основе лекарственного растительного сырья горца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной нами разработаны противовоспалительные и кровоостанавливающие средства- жидкий экстракт «Гемостат», настойка «Горца птичьего», жидкий экстракт «Горца перечного» и настойка «Фито диабета», применяемая при лечении сахарного диабета. А также впервые разработаны для некоторых настоек и экстрактов современные методы анализа в том числе для жидкого экстракта пастушьей сумки, усовершенствованы методы контроля качества настоек календулы и стручкового перца, производимых местными производителями.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами, высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация.

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ Ташкентского фармацевтического института «Разработка оригинальных лекарственных средств на основе местных лекарственных растений и координационных соединений и их применение в медицинской практике».

Целью исследования является разработка научно обоснованных современных методов анализа для контроля качества и стандартизации новых и выпускаемых в настоящее время лекарственных средств, полученных на основе растительного сырья.

Задачи исследования:

изучить уровень требований зарубежных и отечественных нормативных документов по оценке качества фитопрепаратов, выявить тенденции развития методов оценки их качества, а также предложить методологический системный подход к стандартизации в соответствии с современным уровнем требований на основе информационно-аналитических исследований;

разработать новые методы контроля качества с использованием системного подхода оценке качества фитопрепаратов, совершенствованию существующих методов анализа, а также включения в состав стандартов качества фармацевтической продукции;

получить и разработать методы оценки качества жидкого экстракта «Гемостат» на основе местного растительного сырья гоца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной;

получить и разработать методы оценки качества настойки «Фито диабетол», на основе черники и галеги лекарственной;

разработать современные методы анализа качества настойки горца птичьего и жидкого экстракта горца птичьего;

разработать инструментальные методы анализа некоторых настоек и экстрактов, производимых местными фармацевтическими предприятиями и внедрить их в национальные стандарты;

разработать современные методы анализа определения этиловых спиртов, тяжелых металлов в составе настоек и экстрактов местного производства и внести предложение о включении их в фармакопею Узбекистана;

изучить лечебные и биологические свойства полученных новых лекарственных средств;

разработать проекты фармакопейных статей предприятия, адаптированных на основе требований ведущих фармакопей мира к лекарственным препаратам и представить их в ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств и медицинской техники» Министерства здравоохранения РУз для получения разрешения на их применение в медицинской практике.

Объектом исследования служили жидкий экстракт «Гемостат», настойка горца птичьего, жидкий экстракт горца перечного полученные на основе местного сырья горца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной, а также настойка «Фито диабетол» на основе растений черники и галеги лекарственной. Из местных производимых препаратов были выбраны некоторые настойки и экстракты, как настойка календулы, женьшень, стручковый перец, валериана и жидкий экстракт пастушьей сумки.

Предметом исследования было получение качественных лекарственных препаратов на основе лекарственных растений, определение биологически активных веществ, оценка с фармакологической точки зрения, внедрение в медицинскую практику, разработка методов оценки качества некоторых отечественных настоек и экстрактов, а также применение

разработанных методов анализа в практике контрольно-аналитических лабораторий фармацевтических предприятий.

Методы исследования. В диссертации использованы технологические, физико-химические, фармацевтические и современные инструментальные методы анализа и компьютерные программы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые получен жидкий экстракт «Гемостат» на основе местного сырья горца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной;

в жидком экстракте «Гемостат» определены биологически активные вещества - флавоноиды, аминокислоты, витамин К₁, макро-, микроэлементный состав, изучена также его фармакологическая активность в целях внедрения в медицинскую практику;

впервые получен БАД, настойка «Фито диабетол» на основе сырья черники обыкновенной и галеги лекарственной, доказана безвредность и биологическая эффективность;

впервые разработаны методы количественного анализа с использованием спектрофотометрии и ВЭЖХ для жидкого экстракта пастушьей сумки используемой в медицине;

разработаны современные методы анализа настойки горца птичьего и жидкого экстракта горца перечного;

разработаны современные методы определения количественного содержания этилового и пропилового спиртов, тяжелых металлов, макро-, микроэлементов для новых полученных и производимых местными фармацевтическими производителями настоек валерианы, женьшеня и стручкового перца, а также в жидком экстракте пастушьей сумки, предложены возможные методы ГЖХ для определения этилового, пропилового спирта и методы ААС для тяжелых металлов;

для препаратов полученных впервые установлены сроки хранения и стабильность способом естественного метода.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

разработаны и стандартизованы жидкие экстракты «Гемостат», «Горца перечного» и настойка «Фито диабетол»;

определена фармакологическая активность жидких экстрактов «Гемостат», «Горца перечного» и настойки «Горца птичьего», а также изучена безвредность и биологическая эффективность настойки «Фито диабетол»;

разработаны методы качественного и количественного анализа жидкого экстракта «Гемостат» и настойки «Фито диабетол»;

разработаны нормативные документы на жидкий экстракт «Гемостат» и настойки «Фито диабетол» (фармакопейные статьи) ;

разработан промышленный регламент производства на жидкого экстракта «Гемостат» и на настойки календулы;

разработан новый метод количественного определения для жидкого экстракта пастушьей сумки, а также усовершенствованы методы

количественного анализа для настоек стручкового перца и валерианы.

Достоверность результатов исследования. Степень достоверности полученных результатов подтверждена использованием современных методов математико-статистического анализа, физико-химических, фармакологических исследований. Проведенное исследование подтверждается тем, что эксперимент прошел апробацию в процессе промышленного производства

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость определяется разработкой новых лекарственных средств гемостатического, противовоспалительного и гипогликемического действия терапевтическая эффективность которых не уступает зарубежным аналогам. Для них разработаны и утверждены фармакопейные статьи предприятия, требования к контролю качества гармонизированны с международными стандартами.

Практическая значимость результатов исследования состоит в том что разработанные жидкий экстракт «Гемостат» и настойка «Фито диабетол» являющиеся экономически совершенными, безвредными, эффективные средствами, рекомендованные к применению в медицинской практике а также в производство. Разработаны современные методы инструментального анализа настоек календулы, валерианы, женьшеня и стручкового перца, а также жидкого экстракта пастушьей сумки производимых местными фармацевтическими предприятиями, эти методы будут служить для контроля качества в контролируемых аналитических лабораториях.

Внедрение результатов исследования. На основании научных результатов по совершенствованию методологических подходов к обеспечению качества и стандартизации настоек и экстрактов: получено разрешение Государственное унитарное предприятия (ГУП) «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники» Министерства здравоохранения Республики Узбекистан на производство и применение в медицинской практике настойки горца птичьего и жидкого экстракта «Гемостат» (ФС 42 Уз-1249-2016; ФСП 42 Уз-22477731-3757-2019). В результате получена возможность использования полученных препаратов в качестве эффективных гемостатиков;

утверждены Технические условия (ТУ15005859-02:2016) на биологически активную добавку «Фито диабетол», Технологическая инструкция (ТИ 15005859-02:2016) по производству утверждена государственным центром санитарно-эпидемиологического контроля Республики Узбекистан. В результате освоено производство БАД «Фито диабетол» на ЧП «АКТАШ»;

разработаны и включены в проект ФСП современные методы определения этилового, пропилового спирта, тяжелых металлов для следующих лекарственных средств: «Настойка календулы» (ФСП 42Уз-22477731-3096-2017), «Настойка женьшеня» (ФСП 42Уз-22477731-3296-2018), «Настойка перца стручкового» (ФСП 42Уз-22477731-3209-2017).

Приведенные методы анализа, гармонизированы с международными стандартами;

утверждены производственные регламенты на производства лекарств настойки «календулы» (42 Уз-03837-22477731-2808-2018). Организовано серийное производство жидкого экстракта «Гемостат» (Приказ № 140, 16.10.2019 г.) и настойки «Фито диабетол» БАД (Ts15005859-02:2016) на базах ЧП «ZIYO NUR FARM» и «AKTASH». В результате были освоены технологии приготовления жидкого экстракта «Гемостат» и настойки «Фито диабетол», что позволило производить лекарственные препараты.

Апробация результатов исследования. Результаты настоящего исследования обсуждены на 12 международных и 16 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликованы 42 научные работы, из них 14 научных статей в научных изданиях, основных научных результатов на соискание ученой степени доктора наук (DSc), рекомендованных ВАК Республики Узбекистан (11 статей опубликовано в республиканских и 3 статьи зарубежных журналах).

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, обзора литературы, пяти глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 200 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обосновывается актуальность и значимость проводимых исследований, описываются цель и задачи исследования, объект и предмет исследования, указано соответствие исследования приоритетным развития науки и технологий республики, изложены научная новизна и практические результаты исследования, раскрыто научное и практическое значение полученных результатов.

В первой главе **«Современное состояние проблемы обеспечения качества лекарственных средств растительного происхождения»** рассмотрены современное состояние и перспективы развития отрасли, требования к качеству настоек и экстрактов в фармакопеях развитых стран, их сравнительный анализ, контроль качества и стандартизация лекарственных средств, полученных из растительного сырья на фармацевтических предприятиях а также материалы по изучению химического состава горца перечного, горца птичьего, крапивы двудомной, черники обыкновенной и галеги лекарственной. Приведены общие сведения об аттестации методов анализа на фармацевтических предприятиях.

Вторая глава диссертации названная **«Сырье и методы анализа»**, включает исследовательские материалы, объекты, оборудование, используемые реагенты, стандартные вещества, приготовление растворов, методы исследования и проектирования.

Третья глава **«Исследования по разработке и стандартизации новых**

лекарственных препаратов растительного происхождения, обоснование их применения в медицинской практике» посвящена разработке новых лекарственных растительных препаратов, изучению их химического состава.

Впервые были рекомендованы методы ТСХ и ВЭЖХ для определения витамина К₁ (фитоменадиона) в жидких экстрактах горца перечного и «Гемостат», а также в настойке горца птичьего. Для контроля качества полученных новых препаратов разработаны химические, хроматографические и спектрофотометрические методы.

Определены наиболее оптимальные системы растворителей для идентификации флавоноидов методом ТСХ: для жидкого экстракта горца перечного этилацетат-хлороформ-метанол (8:1:1), для настойки горца птичьего хлороформ-метанол (4: 1), для жидкого экстракта «Гемостат» толуол-этиловый спирт (96%) (3:2) и для настойки «Фито диабетолола» бутанол-уксусная кислота-вода (4:5:1). Для количественного анализа этих препаратов разработаны методы спектрофотометрии и ВЭЖХ.

Разработан спектрофотометрический метод определения суммы флавоноидов в настойке горца птичьего, жидких экстрактов горца перечного и «Гемостат». Полученные результаты представлены в таблице -1.

Таблица 1

Результаты количественного определения суммы флавоноидов в образцах и метрологическая характеристика методики (n=5; P=95%; (p,f)=2,78)

| $X_i, \%$ | $\bar{X}, \%$ | F | S^2 | S | $\Delta \bar{X}$ | $\bar{\varepsilon}, \%$ |
|--|---------------|---|----------|---------|------------------|-------------------------|
| В жидком экстракте горца перечного по отношению кверцетина | 0,252 | 4 | 0,000026 | 0,00517 | 0,0016 | 2,54 |
| В настойки горца птичьего по отношению к авикулярину | 0,106 | 4 | 0,000001 | 0,00114 | 0,0014 | 1,33 |
| В жидком экстракте Гемостат по отношению к рутину | 0,71 | 4 | 0,00020 | 0,0141 | 0,00632 | 2,47 |

Установлено, что сумма флавоноидов в жидком экстракте горца перечного должна быть не менее 0,25%, в экстракте горца птичьего- 0,1% в жидком экстракте «Гемостат» -0,7%.

Разработка методов количественного определения флавоноидов методом ВЭЖХ.

В дополнение к традиционному спектрофотометрическому методу анализа при контроле качества исследуемых объектов были разработаны альтернативные методы количественного анализа с использованием ВЭЖХ, которая в настоящее время широко используется для осуществления поэтапного контроля качества, что позволяет одновременно проводить анализы подлинности, чистоты и количественного определения.

Хроматографирование проводили на жидкостном хроматографе фирмы Agilent Technologies (США) марки “Agilent 1200 series” с программным обеспечением “Chemstation 09.03.a”, изократическим насосом, спектрофотометрическим детектором. Разделение проводили на колонке размером 4,6×150 мм заполненной, сорбентом Zorbax Eclipse C-18 с величиной частиц 5 мкм. Подвижная фаза 0,3% фосфорная кислота и метанол. Детектирование проводили при длинах волны 357 и 370 нм, которые являются характерным λ_{\max} рутина и кверцетина, соответственно. Скорость потока элюента составил 1 мл/мин, объем вводимой пробы - 10 мкл. Температура хроматографирования - 35⁰С. Продолжительность анализа составляла 30 мин. Результаты проведенных исследований представлены на рисунках 1 и 2.

На основе проведенных исследований впервые разработана с использованием метода ВЭЖХ широкоспектрная методика качественного и количественного определения рутина и кверцетина в экспериментальном образце.

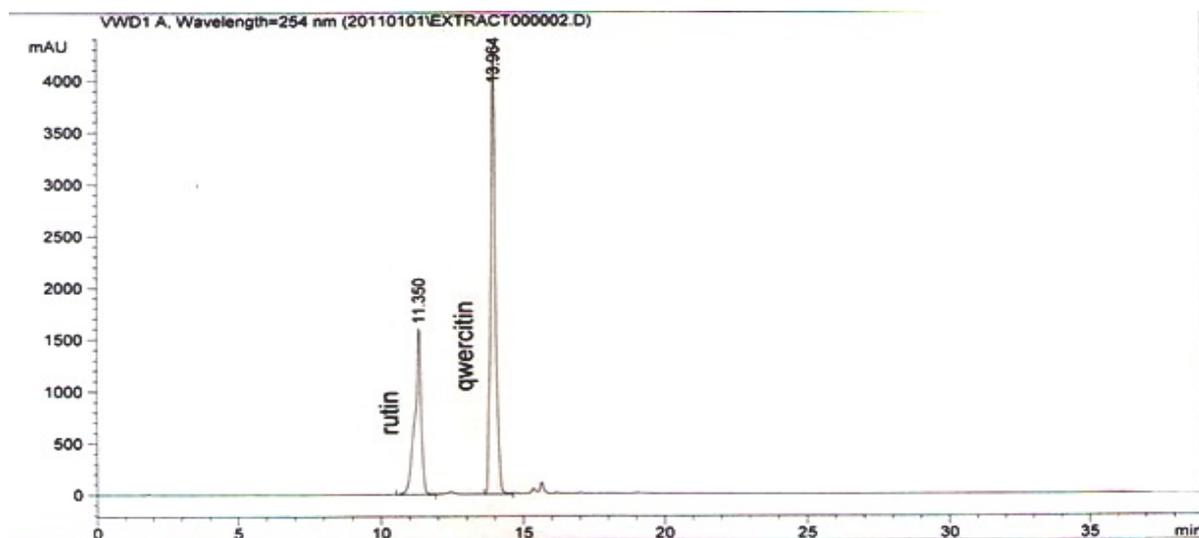


Рис.1. Хроматограмма раствора РСО модели рутина и кверцетина

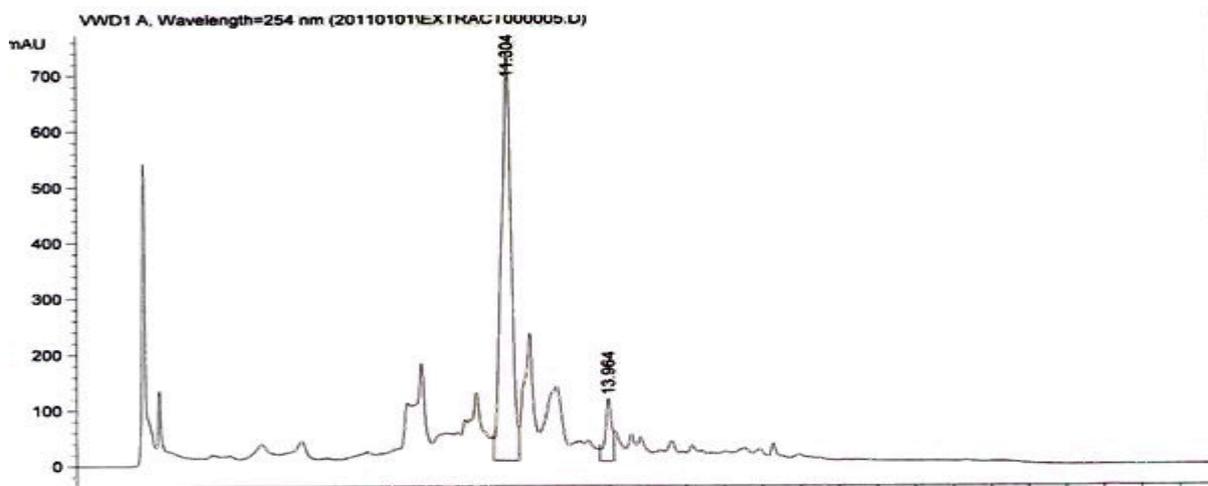


Рис.2. Хроматограмма настойки «Гемостат» при выбранных условиях

Разработка метода ВЭЖХ для настойки «Горца птичьего»

Хроматографирование проводили на жидкостном хроматографе фирмы Agilent Technologies (США) марки “Agilent 1200 series” с программным обеспечением “Chemstation 09.03.a”, изократическим насосом, спектрофотометрическим детектором. Разделение проводили на колонке Zorbax размером 3,0×150 мм заполненной, сорбентом SB-CN с величиной частиц 3,5 мкм. Подвижная фаза 0,3% фосфорная кислота и метанол. Детектирование проводили при длинах волны 357 и 370 нм, которые являются характерным λ_{\max} рутина и кверцетина, соответственно. Скорость потока элюента составил 1 мл/мин, объем вводимой пробы - 20 мкл. Температура хроматографирования - 40⁰С. Подвижная фаза - ортофосфорная кислота, доводимая до рН=2,5 смесью растворов 0,025М NaH₂PO₄ (А канал) и ацетонитрилом (В канал). Продолжительность анализа составляла 30 мин. Результаты проведенных исследований представлены на рисунках 1 и 2.

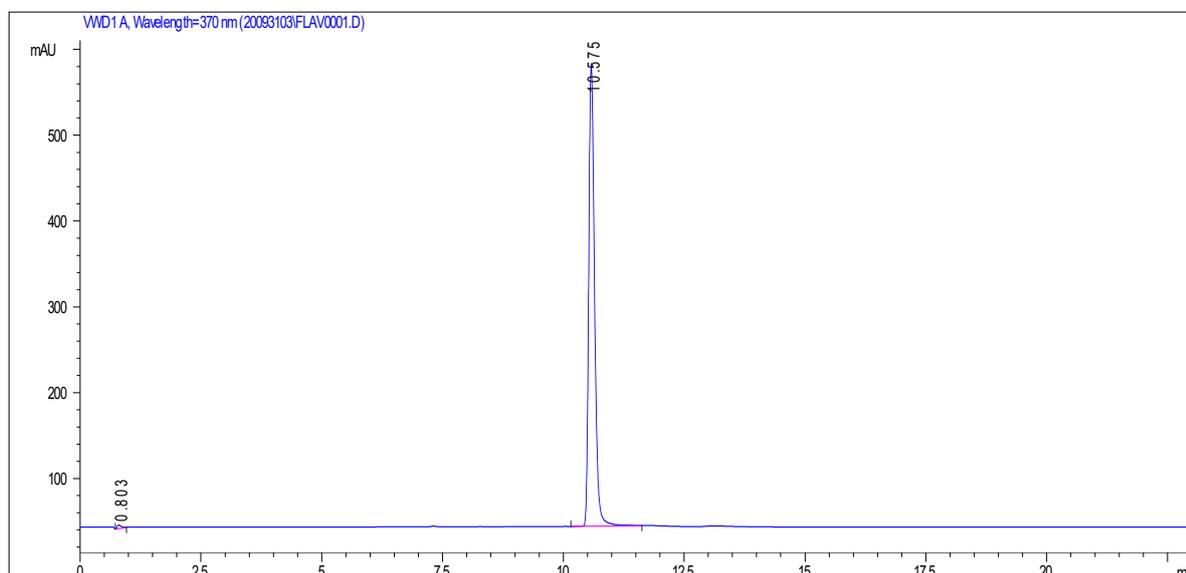


Рис.3. Хроматограмма кверцетина РСО при выбранных условиях

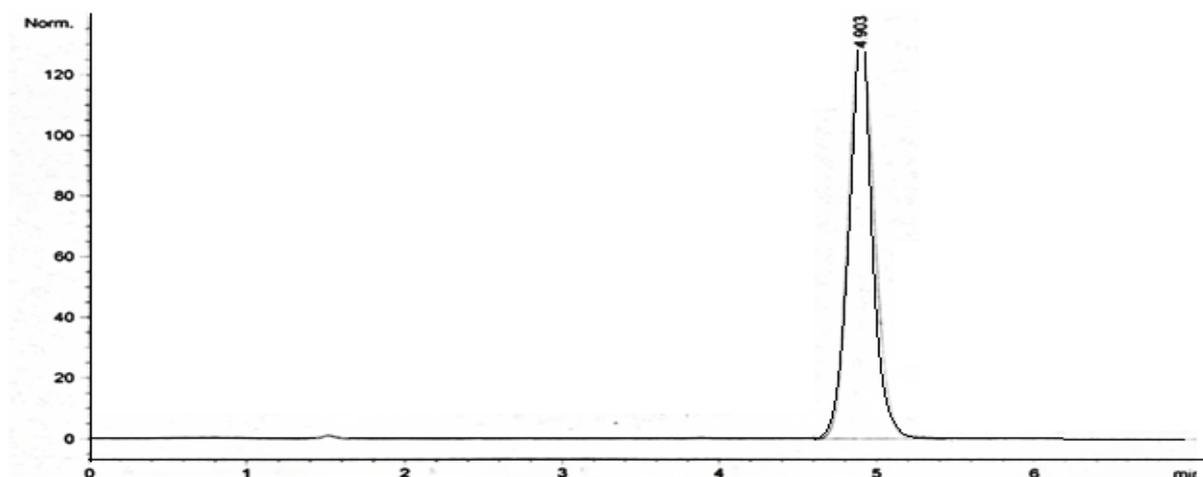


Рис.4. Хроматограмма рутина при выбранных условиях

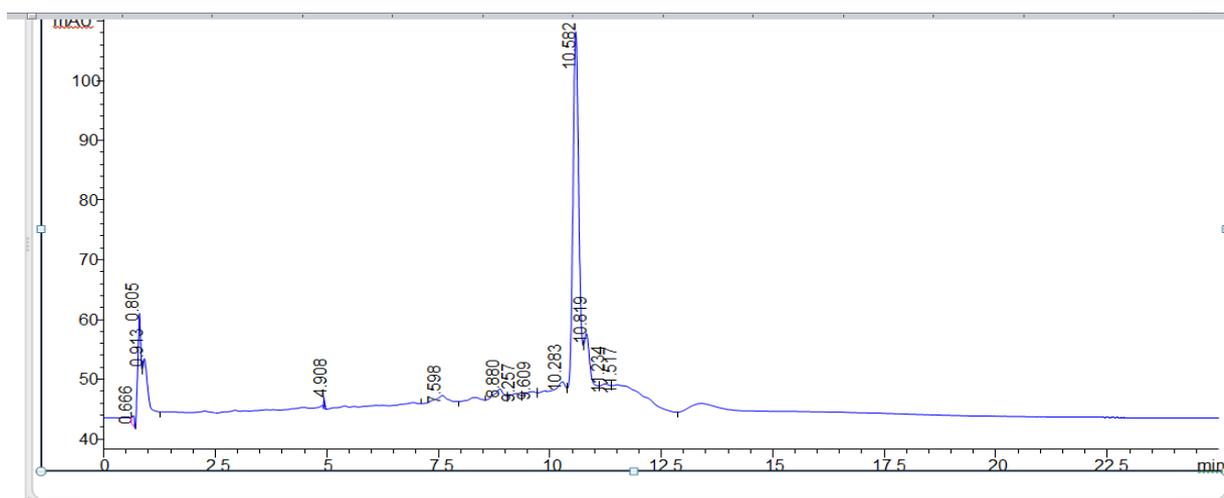


Рис.5. Хроматограмма настойки «Горца птичьего»

На рисунках 3, 4 и 5 приведены хроматограммы, время удерживания чего составило 4,00 и 10,58 мин, который показал, что высота пиков соответствует рутину и кверцетину соответственно.

ВЭЖХ метод для настойки «Фито диабетол». Хроматографирование проводили на жидкостном хроматографе фирмы Agilent Technologies (США) марки “Agilent 1200 series” с программным обеспечением “Chemstation 09.03.a”, изократическим насосом, спектрофотометрическим детектором. Разделение проводили на колонке размером 4,6×250 мм, внутренним диаметром 5мм, заполненной, сорбентом Zorbax Eclipse C-18 Nucleosil с величиной частиц 5 мкм. Подвижная фаза 0,3% ортофосфорная кислота и метанол в соотношении 40:60. Детектирование проводили при длинах волны 370 нм, скорость потока элюента составил 1 мл/мин, объем вводимой пробы - 10 мкл. Температура хроматографирования - 40⁰С. Продолжительность анализа составляла 20 мин. Результаты проведенных исследований представлены на рисунках 6 и 7.

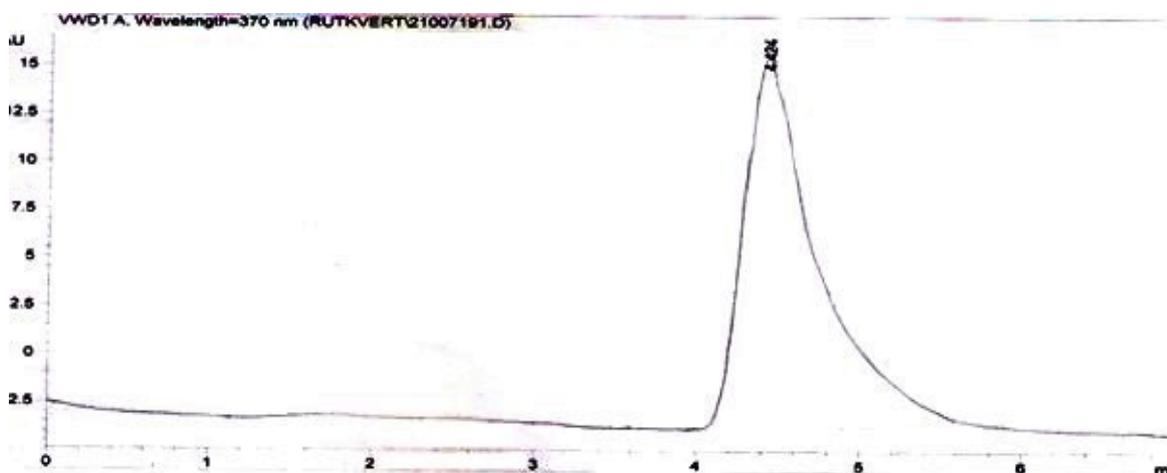


Рис.6. Хроматограмма PCO рутин

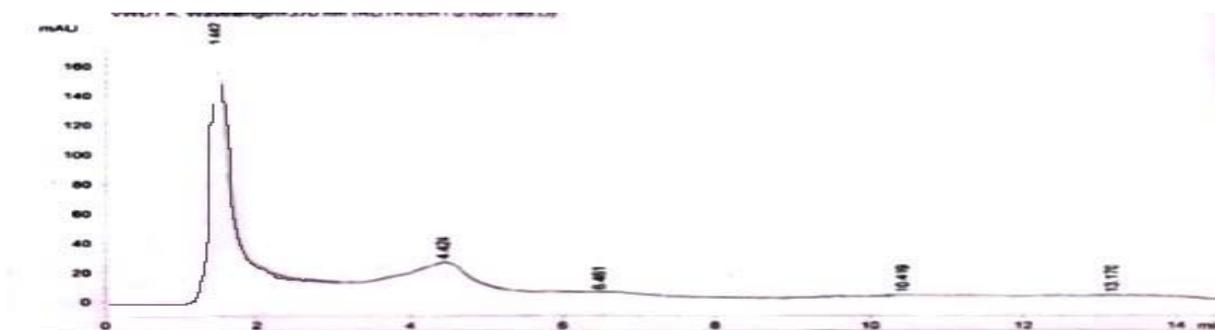


Рис.7. Хроматограмма настойки «Фито диабетол»

Анализ полученных хроматограмм показал, что время удерживания 4,40 мин соответствует рутину, такое же значение было получено при анализе настойки.

Таблица 2

Результаты содержания флавоноидов и метрологическая характеристика метода для новых разработанных препаратов (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78)

| Название вещества | X _i , % | \bar{X} , % | f | S ² | S | \bar{X} | $\bar{\varepsilon}$, % |
|----------------------------|--|---------------|-----------|----------------|---------|-----------|-------------------------|
| Жидкий экстракт «Гемостат» | | | | | | | |
| Рутин | 0,731 0,726 0,720 0,725 0,740 | 0,728 | 4 | 0,00005 | 0,0075 | 0,0094 | 1,29 |
| Кверцетин | 0,035 0,034 0,034 0,035 0,035 | 0,034 | 4 | 0,0000003 | 0,00054 | 0,00068 | 1,96 |
| Настойка «Горца птичьего» | | | | | | | |
| Рутин | 0,0150 0,0150 0,0145 0,0145 0,0142 | 0,015 | 4 | 0,00000012 | 0,00035 | 6,65 | 2,97 |
| Кверцетин | 0,0230 0,0230 0,0230 0,0220 0,0220 | 0,023 | 4 | 0,00000021 | 0,00046 | 5,6 | 2,5 |
| Настойка «Фито диабетол» | | | | | | | |
| Рутин | 0,0513 0,0510 0,0498 0,0489 0,0500 | 0,050 | 0,0000009 | 0,00096 | 0,00043 | 5,35 | 2,39 |

Таким образом, на основании данных, представленных в таблице 2, впервые с использованием метода ВЭЖХ были разработаны современные методики анализа для идентификации и количественного определения рутина и кверцетина в экспериментальных образцах в настойках горца птичьего, «Фито диабетол» и жидкого экстракта «Гемостат».

Содержание рутина в жидком экстракте «Гемостат» составило 0,72%, кверцетина 0,034%, в настойке горца птичьего рутина- 0,015% и кверцетина 0,0230%, в настойке «Фито диабетол» рутина 0,05%. Статистическая характеристика полученных результатов показала, что средняя относительная ошибка метода не превышает $\pm 2,97\%$.

Стандартизация разработанных лекарственных средств. В полученных новых лекарственных препаратах в соответствии с требованиями постановления Кабинета Министров Республики Узбекистан № 365 от 27 октября 2016 года об утверждении общего технического регламента «О безопасности лекарственных средств», утверждены нормы по следующим показателям качества: описание, подлинность, сухой остаток, определение тяжелых металлов, определение плотности, определение концентрации спирта, количественное определение, микробиологическая чистота и хранение. Результаты приведены в таблице 3.

Таблица 3

Нормы и показатели качества экстракта «Гемостат»

| № | Показатели | Метод | Стандарты |
|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | Описание | Визуально | Жидкость зелено-коричневого цвета, приятного запаха, имеет горький вяжущий вкус |
| 2 | Подлинность: - флавоноиды - кверцетин - витамин К ₁ | Химический метод Добавляется 5% раствор железа хлорида закисного (III) ТСХ Пластика «Силуфол» (15x15 см) Система растворителей толуол- этиловый спирт (96%) (3:2) ТСХ «Silufol UV 254» (15x15см) система растворителей (эфир-бензол (2:8)) Наблюдение в УФ–свете ($\lambda=360$ нм). | Наблюдается темно-зеленое окрашивание. Должно проявиться два пятна с (Rf 0,44 (рутин) 0,54 (кверцетин) Белое пятно в фиолетовом фоне (Rf = 0,43.) |
| 3 | Тяжелые металлы | ГФ XI | Не более 0,01% |
| 4 | Плотность | ГФ XI | От 0,9091 г/см ³ до 0,9097 г/см ³ |
| 5 | Концентрация спирта | ГФ XI и метод ГЖХ | Не менее 65 % |

| | | | |
|----|---|---|---------------------------------------|
| 6 | Сухой остаток | ГФ XI | Не менее 1,5 % |
| 7 | Микробиологическая чистота | Категория ЗБ | ГФ XI и изменение №2 |
| 8 | Количественное определение: рутин кверцетин | Не менее 0,72 % Не менее 0,035 % | ВЭЖХ и УФ - спектрофотометрия |
| 9 | Упаковка | Отраслевой стандарт | Объем флакона 25 мл +5%, 50 мл ±3% |
| 10 | Маркировка | По требованию ФСП | |
| 11 | Транспортировка | ГОСТ 17768-90Е | |
| 12 | Хранение | В защищенном от света месте, при температуре от 10°С до 15° С. 2 года | |

Четвертая глава диссертации называется «**Разработка и усовершенствование методик определения показателей качества некоторых настоек и экстрактов**». До сих пор основная масса настоек и экстрактов, производимых местными фармацевтическими предприятиями, анализируется в основном химическими методами. Для того, чтобы вывести эти продукты на мировой рынок и объективно оценить, необходимо использовать современные методы анализа в сочетании с химическими методами. Анализ показал, что в подавляющем большинстве фармакопей развитых стран качество таких фармацевтических препаратов оценивается с помощью инструментальных методов анализа. По этой причине были проведены исследования по совершенствованию методов определения подлинности некоторых фитопрепаратов, производимых фармацевтической промышленностью, результаты которых представлены в настоящей главе.

Для этого, помимо существующих традиционных химических качественных реакций, характерных для этих препаратов, использовались различные методы анализа, ультрафиолетовая область (УФ-спектр), а также хроматографические методы анализа для экстракта пастушьей сумки, настоек горца перечного, календулы, валерианы, женьшеня методами ТСХ и ВЭЖХ.

На сегодняшний день в нормативном документе на жидкий экстракт пастушьей сумки нет метода количественного определения. В этой связи нами разработана спектрофотометрическая методика определения флавоноидов в жидком экстракте. Содержание суммы флавоноидов определяли в пересчете на рутин. Полученные результаты приведены в таблице 4.

Наше следующее исследование было направлено на разработку методики ВЭЖХ для количественного определения флавоноидов в экстракте пастушьей сумки. Хроматографирование проводили на жидкостном хроматографе фирмы Agilent Technologies (США) марки “Agilent 1200 series” с программным обеспечением “Chemstation 09.03.a”, изократическим насосом, спектрофотометрическим детектором. Разделение проводили на колонке размером 250×4,6 мм, с внутренним диаметром 5мм, заполненной,

Метрологическая характеристика результатов количественного определения рутина в жидком экстракте пастушьей сумки (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78)

| $X_i, \%$ | $\bar{X}, \%$ | F | S^2 | S | S_x | $\bar{\varepsilon}, \%$ |
|--|---------------|---|---------|--------|--------|-------------------------|
| Спектрофотометрический метод | | | | | | |
| X ₁ =1,50 X ₂ =1,52 X ₃ =1,52 X ₄ =1,52 X ₅ =1,53 | 1,51 | 4 | 0,00012 | 0,0109 | 0,0048 | 0,89 |
| ВЭЖХ метод | | | | | | |
| X ₁ =1,30 X ₂ =1,32 X ₃ =1,32 X ₄ =1,34 X ₅ =1,34 | 1,324 | 4 | 0,00028 | 0,016 | 0,0074 | 1,57 |

В соответствии с данными, представленными в таблице 4, впервые были разработаны методы спектрофотометрии и ВЭЖХ в жидком экстракте пастушьей сумки.

Усовершенствование методов определения суммы капсаициноидов в настойке стручкового перца. Одним из местно раздражающих и обезболивающих препаратов является настойка стручкового перца. По литературным данным его биологически активным соединением является алкалоид капсаицин (до 70%). Вопрос стандартизации этого препарата оставался открытым. На сегодняшний день для этого препарата действует ФСП 42 УЗ-23325453-2607-2014. Приведенный в нем метод количественного анализа представляет собой многоступенчатый процесс.

С целью гармонизации нормативной документации на настойку перца стручкового местного производства с фармакопеями развитых стран были проведены исследования по совершенствованию методики количественного анализа при контроле качества этого препарата с последующей разработки национальной монографии по требованиям национального законодательства. Для этого настойка разделялась дополнительных соединениях, затем изучали возможность использования метода спектрофотометрии. Результаты анализа рассчитывались по сравнительному индексу поглощения, полученному на основе рабочего стандартного образца капсаицина (PCO).

Оптическая плотность раствора определяли на спектрофотометре при 280 нм. Результаты проведенных исследований приведены на рисунках 10, 11 и в таблице 5.

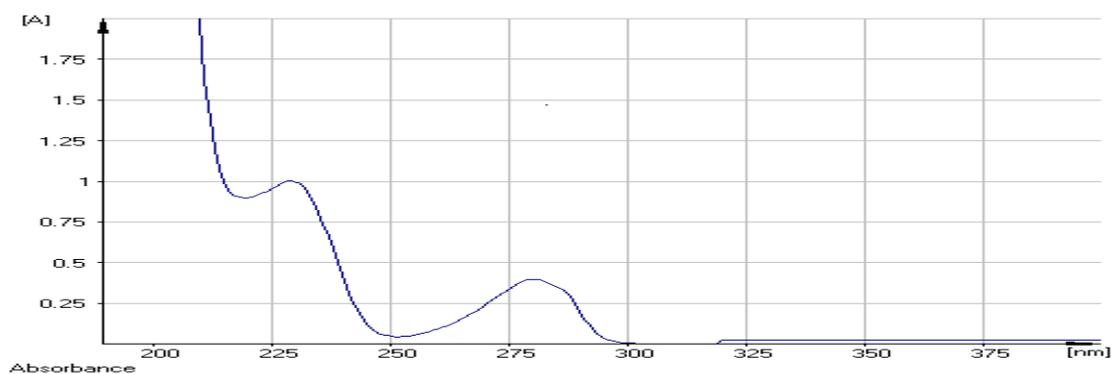


Рис.10. УФ-спектр капсаицина

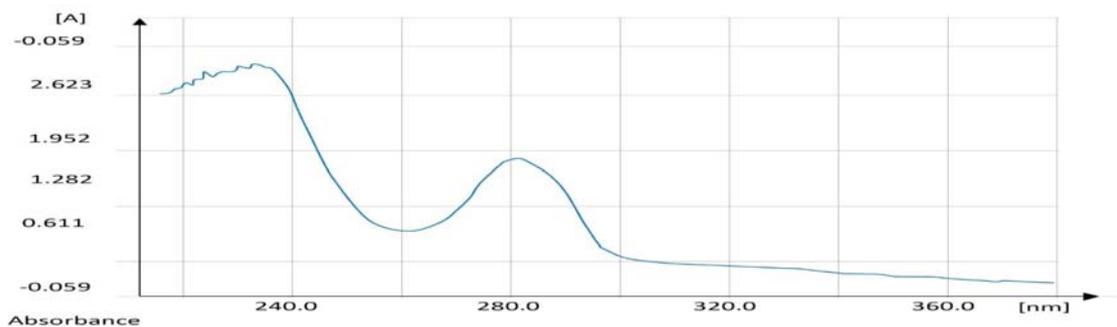


Рис.11. УФ-спектр настойки перца стручкового

Таблица 5

Результаты количественного определения капсаицина в настойке перца стручкового

| Серия образца | Объем полученной настойки, мл | Оптическая плотность | Определено | | Статистические результаты |
|---------------|-------------------------------|----------------------|------------|-------|---|
| | | | г | % | |
| 020816 | 0,50 | 0,402 | 0,00208 | 0,217 | R=0,012, X _{ср} =0,2132, S ² =0.00002570, S=0.006104, S _x =0.002267 P=95, T=2,78; E=6,610; E _{ср} =2,95 |
| 030816 | 0,50 | 0,392 | 0,00211 | 0,211 | |
| 030916 | 0,50 | 0,410 | 0,00220 | 0,220 | |
| 031016 | 0,50 | 0,390 | 0,00210 | 0,210 | |
| 041116 | 0,50 | 0,386 | 0,00208 | 0,208 | |
| 020816 | 1,00 | 0,790 | 0,00210 | 0,210 | R=0.016, X _{ср} =0.2141, S ² =0.00003726, S=0.006104, S _x =0.002158 P=95; T=2,37; E=6,72; E _{ср} =2,37 |
| 030816 | 1,00 | 0,783 | 0,00201 | 0,208 | |
| 030916 | 1,00 | 0,810 | 0,00216 | 0,216 | |
| 031016 | 1,00 | 0,802 | 0,00213 | 0,213 | |
| 041116 | 1,00 | 0,820 | 0,00219 | 0,219 | |
| 020816 | 1,00 | 0,830 | 0,00221 | 0,221 | |
| 030816 | 1,00 | 0,828 | 0,002201 | 0,221 | |
| 030916 | 1,00 | 0,772 | 0,00205 | 0,205 | |

Этот метод был опробован на нескольких различных сериях настойки стручкового перца, выпускаемой отечественными производителями. Результаты проведенных исследований показали, что в составе образцов настойки стручкового перца количество капсаициноидов составляет в среднем 0,21% по сравнению с капсаицином, а относительная погрешность статистического описания метода составляет в среднем 2,37%.

Глава пятая посвящена «**Валидации методов количественного анализа, разработанных для экстрактов и настоек**». В соответствии с современными требованиями, предъявляемыми к фармацевтической промышленности, необходимо использовать валидированные (определяемые пригодностью) методы анализа при оценке качества лекарственных средств. Валидация аналитических методов означает доказательство на основе экспериментов, что данный метод полностью пригоден для решения поставленной задачи. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6

Результаты валидации спектрофотометрического метода разработанные для жидких экстрактов гемостат, горец перечный и пастушей сумки

| Валидационные показатели | Квалификационные критерии | Результаты | | |
|----------------------------|---|---|--|--|
| | | жидкий экстракт «Гемостат» | жидкий экстракт горца перечного | жидкий экстракт пастушьей сумки |
| Специфичность | Реактивы и растворители, состав плацебо не влияют на результат | В соответствии | В соответствии | В соответствии |
| Линейность | Коэффициент корреляции $\geq 0,99$ | 0,9999 | 0,9912 | 0,9999 |
| Повторимость | Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \leq 6$, серия 2); | КВ=0,54 | КВ=0,93 | КВ=1,03 |
| Промежуточная повторимость | Коэффициента вариации: $\leq 1,5\%$ ($n \leq 6$, серия 2); | 1 аналитик ВК = 0,55 % 2 аналитик КВ=1,19 % | 1 аналитик ВК = 0,93% 2 аналитик КВ=0,0078 | 1 аналитик ВК = 1,03% 2 аналитик КВ=1,89 % |
| Правильность | Фактор отклонения : среднее значение 97,5 – 102,5% Коэффициент вариации: $\leq 2,0\%$. Доверительный диапазон (ДД) 100% | Среднее значение: 99,73% коэффициент вариации: 0,546 $\leq 2,0\%$. ДД: 100% | Среднее значение: 99,85% коэффициент вариации: $\leq 2,0\%$. ДД: 100% | Среднее значение: 99,25% коэффициент вариации: $\leq 2,0\%$. ДД: 100% |

Валидация аналитических методов осуществляется не только в процессе применения новых аналитических методов, разработанных для новых лекарственных средств в практике контрольно-аналитических лабораторий фармацевтической промышленности, но и при изменении условий применения методов анализа.

Практическая значимость валидации заключается в том, что в процессе разработки новых методов анализа появляется возможность своевременного выявления их недостатки и существенного усовершенствования метода на начальных этапах. Процесс валидации методов анализа для определения предлагаемого количества флавоноидов осуществлялся в соответствующем порядке в образцах препаратов.

Глава шестая посвящена **«Разработке современных методов определения показателей содержания спирта и тяжелых металлов в экстрактах и настойках».**

Изучение нормативных документов (фармакопей) развитых стран показало, что существует сходство и различие между требованиями к качеству жидких экстрактов и настоек, например, показатель обнаружения метанола и 2-пропанола приводится только в Европейской и Белорусской фармакопеях. Их количество не должно превышать 0,05 и 0,06% в составе лекарственного препарата. ГФ XI рекомендуется определять количество этанола методом дистилляции и по плотности, а в зарубежных фармакопеях предлагается метод современной газожидкостной хроматографии (ГЖХ).

На сегодняшний день на отечественных фармацевтических предприятиях этиловый спирт в составе настоек и жидких экстрактов определяется в основном по плотности, метод представлен в ГФ XI. Этот метод хотя и позволяет определить этиловый спирт, однако, не дает возможности определять различные посторонние вещества, содержащиеся в этиловом спирте.

Как известно, в виде посторонней примеси в этиловом спирте может содержаться изопропанол. По токсичности это вещество относится к группе 3 класса, количество которого не должно превышать 0,5%. По действующим требованиям количество изопропанола должно быть определено и его предельное значение должно быть указано в нормативных документах. Для обнаружения посторонних соединений используются различные методы, чаще всего применяют инструментальные методы, например, метод газовой хроматографии.

Для определения этилового спирта и изопропанола в изучаемых образцах нами предложен метод ГЖХ. Хроматографирование проводилось на хроматографе марки “Кристалл люкс-4000М”; колонка хроматографирования DB-624 Capillary 30,0m x 250 μ m x 1,40 μ m nominal; детектор-пламенно-ионизационный (FID); температура детектора-260 $^{\circ}$ C, скорость воздуха- 420 мл/мин, скорость водорода 40 мл/мин, соответственно; подвижная фаза- гелий (He)-0,5 мл/мин, температура выпаривания -170 $^{\circ}$ C, температура печки от 40 $^{\circ}$ C до 110 $^{\circ}$ C, 5 $^{\circ}$ C/мин; продолжительность анализа-14

мин., температура инжектора -150°C; инъекция 2µl, split ratio 60:1. Достоверность результатов анализа проверяли путем определения пригодности хроматографической системы по: -разделению пиков этилового и изопропилового спиртов (R) (не менее 2,0); -коэффициенту асимметрии (T) пиков этилового и изопропилового спирта (не более 1,5); относительному стандартному отклонению (RSD) (не более 2,0%). Идентификацию этилового и изопропилового спиртов на хроматограммах объектов исследования проводили путем сравнения стандартных образцов со временем удерживания. Результаты приведены в таблице 7.

Таблица 7

Результаты определения этилового и изопропилового спирта в настойках и жидких экстрактах

| № | Название образца | Название производителя | Серия сырья | Количество этилового спирта, % | Количество изопропилового спирта, % |
|---|---------------------------------|------------------------|-------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | «Гемостат» жидкий экстракт | «ZIYO NUR FAR» ЧП | 030418 | 65,1 | - |
| 2 | Настойка горца перечного | - | - | 70 | 0,0223 |
| 3 | Настойка горца птичьего | - | - | 69,4 | 0,0123 |
| 4 | Настойка женшеня | «Radiks» ЧП | 021217 | 69,8 | 0,0284 |
| 5 | Настойка календулы | «ZIYO NUR FAR» ЧП | 040817 | 69,7 | 0,0091 |
| 6 | Настойка перца стручкового | «ZIYO NUR FAR» ЧП | 020816 | 94,0 | 0,0153 |
| 7 | Настойка валерианы | «ZIYO NUR FAR» ЧП | 02122016 | 69,4 | 0,044 |
| 8 | Жидкий экстракт пастушьей сумки | «Галеника» ЧП | 040517 | 65,5 | - |
| 9 | Настойка «Фито диабетол» | «AKTASH» ЧП | 030219 | 66,1 | - |

На основании проведенных исследований были выбраны оптимальные условия ГЖХ анализа для современного метода определения содержания этилового и изопропилового спиртов в настойках и жидких экстрактах,

впервые исследованы выбранные условия опрабированы на образцах, производимых в промышленном масштабе и получены положительные результаты. Предложенный метод анализа позволяет гарантировать качество фармацевтического продукта.

Определение содержания тяжелых металлов в настойках и экстрактах. Содержания тяжелых металлов в настойках и жидких экстрактах определено методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС). При проведении анализа в качестве источника индуцирования эмиссионных спектров использовали пламя смеси ацетилен-воздух или пропан-бутан-воздух. Метод пламенной фотометрии использовался в основном при определении минимального количества натрия, калия, лития и бария в лекарственных средствах.

С помощью метода ААС в пламени чаще всего определяются магний, цинк, свинец, никель, медь, железо, барий, кальций, серебро, натрий, а также платина, стронций. При определении ртути, содержащейся в препаратах, используют холодный пар.

Метод ААС позволяет определить содержание ртути и другие элементы (As, Se и b.) на уровне ppm, удобном для использования, точность анализа-СКО составляет 2%, анализ занимает значительно меньше времени (3 пробы занимают менее 1 минуты) и небольшое количество (8 мл на 1 единицу) проб; процес полностью автоматизирован и отличается отсутствием загрязнения. Испытания проводили графитовой печи ZEENIT-650 фирмы «Analytic Yena» (Германия) в следующих условиях приведенных в таблице 8.

Таблица 8

Условия анализа методом атомно адсорбционной спектроскопии

| Условия анализа | Элементы | | | | | |
|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|
| | Zn | Cu | As | Pb | Cd | Hg |
| Условия сушки, °С; время, сек | 90– 110, 50 | 90– 110, 50 | 300, 25 | 90– 110, 10 | 90– 110, 50 | 150, 30 |
| Пиролиз, °С; время, сек | 650, 10 | 850, 10 | проведение паров графита | 950, 10 | 300, 60 | проведение паров графита |
| Атомизация, °С; время, сек | 1800, 3 | 2000, 4 | 2050, 5 | 1500, 4 | 800, 3 | 800, 5 |

Результаты определения тяжелых металлов методом ААС представлены в таблице 9.

Количественное содержание тяжелых металлов в анализируемых образцах (мкг/л)

| № | Образцы | Zn | Cu | As | Pb | Cd | Hg |
|---|---------------------------------|--------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------|
| 1 | Настойка горца перечного | 0,0025 | 0,0003 | <0,005 | <0,005 | <0,005 | <0,005 |
| 2 | Настойка горца птичьего | 0,0013 | 0,005 | <0,005 | <0,005 | <0,005 | <0,001 |
| 3 | Настойка Календулы | 0,36 | 0,20 | Необна ружено | 0,01 | Необна ружено | <0,001 |
| 4 | Настойка женшеня | 0,023 | 0,075 | 0,010 | Необна ружено | Необна ружено | <0,001 |
| 5 | Настойка перча стручкового | 0,012 | 0,047 | Необна ружено | Необна ружено | Необна ружено | <0,001 |
| 6 | Жидкий экстракт «Гемостат» | 6,6 | 0,357 | 0,033 | 0,102 | Необна ружено | <0,051 |
| 7 | Жидкий экстракт пастушьей сумки | 3,5 | Необна ружено | 0,033 | Необна ружено | Необна ружено | <0,001 |
| 8 | «Фито диабетол» | 0,072 | 0,037 | Необна ружено | 0,100 | Необна ружено | <0,001 |

Одновременно с обнаружением тяжелых металлов проводились эксперименты по обнаружению других макро-, и микроэлементов (МЭ), содержащихся в исследуемых образцах.

Определение МЭ в составе исследуемых объектов перистальтическим насосом Perі Pump, масс-детектором и ICP-MS (масс-спектрометром, связанным с индукцией-плазмой), который снабжен специальной программой «Chemstation», обрабатывающей полученные данные, проводили в масс-спектрометре AT 7500 при следующих условиях: мощность плазмы - 1200 Вт; температура плазмы-70000с, газоноситель-аргон; - 0,1 об/сек, объем пробы -1 мл.

В качестве эталона использован многоэлементный раствор фирмы Agilent Technology (состоит из 27 компонентов, количество каждого из них составляет 10,0 мг/л.).

Результаты проведенных исследований показали, что исследуемые фармацевтические препараты богаты макро-, микроэлементами. Установлено, что из обнаруженных МЭ большую часть составляют калий, натрий, фосфор, кальций и магний, которые необходимы для жизни. В настойке календулы содержатся К (180,0), Са (2,200), Na (26,0), Р (7,8), Mg (3,1), Zn (0,36), в настойке перца стручкового Na (19,0), К (18,0), Са (0,97), в настойке женьшеня К (54,0), Са (1,4), Na (19,0), в жидком экстракте «Гемостат» Mg (120,0), Са (82,0), Na (53,0) и в настойке «Фито диабетол» Mg (11,0), К (74,0), Са (23,0), Na (19,0) (мг/мл)

ВЫВОДЫ

1. На основании отечественных и зарубежных нормативных документов, а также научных информационно-аналитических данных проведен поиск лекарственного растительного сырья и исследования по совершенствованию методов оценки их качества. Предложена методология и унифицированный подход к нормированию и оценке качества лекарственной растительной продукции.

2. Из местного сырья горца перечного, горца птичьего, крапивы двудомной, галеги лекарственной и черники обыкновенной впервые получены настойки «Горца птичьего», «Фито диабетол» и жидкий экстракт «Гемостат» изучена их фармакологическая активность и стабильность. Данные препараты, обладающие кровоостанавливающим, противовоспалительным и гипогликемическим действием разрешены к применению ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники» МЗ РУз.

3. Разработаны современные методы анализа спектрофотометрия (СФ), тонкослойная (ТСХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), позволяющие объективно оценивать химический состав новых полученных лекарственных препаратов которые, включены стандарты качества лекарств и утверждены со стороны ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники» МЗ РУз.

4. Разработан альтернативный метод ВЭЖХ для определения содержания флавоноидов в объектах исследования и определены оптимальные условия. При этом составило в жидком экстракте «Гемостат» найдено рутина 0,72 %, кверцетина - 0,035%, в настойке горца птичьего найдено рутина - 0,015 % и кверцетина - 0,023%, в настойке «Фито диабетол» найдено в среднем 0,05% рутина. Относительная ошибка результата не превышает 3%. На основании полученных результатов нормированы их количественное содержание флавоноидов.

5. Впервые разработаны методы СФ, ТСХ и ВЭЖХ для жидкого экстракта пастушья сумка отечественного производителя. Усовершенствованы методы контроля качества действующих веществ в составе настоек календулы, женьшеня, валерианы и перца стручкового. Данные методы рекомендованы для включения в нормативные документы-фармакопейные статьи предприятий.

6. Разработаны и выбраны оптимальные условия современного метода ГЖХ для определения этилового и изопропилового спиртов в новых лекарственных препаратах в настойках «Фито диабетол», «Горца птичьего», жидком экстракте «Гемостат», а также для некоторых препарат отечественных производителей: в настойке календулы, женьшеня, валерианы, перца стручкового и жидком экстракте пастушья сумка. Выбранные условия впервые были испытаны в промышленных образцах и

были получены положительные результаты. Данный метод включен в качестве общего фармакопейного метода для определения этилового и изопропилового спиртов в проект фармакопеи РУз.

7. В соответствии с требованиями GMP была проведена валидация методов контроля качества изученных препаратов по следующим валидационным параметрам: специфичность, линейность, правильность изученных, прецизионность. На основании валидационных параметров для впервые изученных препарат, предложены показатели «идентификация» и «количественное определение».

8. Для определения тяжелых металлов в настойках и экстрактах предложен воспроизводимый, селективный, высокочувствительный, простой и быстрый в применении метод ААС для исследуемых объектов, обладающий способностью разделения различных токсических элементов. Изучены оптимальные условия разделения и индивидуального количественного определения тяжелых металлов. Данный метод рекомендован в национальную фармакопею РУз в качестве экспресс- метода определения тяжелых металлов в препаратах на основе лекарственных растений.

9. Результаты исследования включены в четыре нормативных документа, используемых в настоящее время в контрольно-аналитических лабораториях отечественных фармацевтических предприятий (настойка «Горца птичьего» (ФС 42 Уз-1249-2016), жидкий экстракт «Гемостат» (ФСП 42 Уз-22477731-3757-2019)), а также разработаны Технические условия на биологическую активную добавку «Фито диабетол» в форме настойки (Ts 5005859-07:2016) и технологический регламент на настойку календулы (42 Уз-03837-22477731-2808-2018).

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREE OF
DOCTOR OF SCIENCE 27.06.2017. FAR.32.01 AT THE TASHKENT
PHARMACEUTICAL INSTITUTE**

TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE

YUNUSKHODJAEVA NODIRA ABDULXAMITOVNA

**IMPROVEMENT OF METHODOLOGICAL APPROACHES TO
QUALITY PROVISION AND STANDARTIZATION OF TINCTURES AND
EXTRACTS**

15.00.02-Pharmaceutical chemistry and pharmacognosy

**DISSERTATION ABSTRACT OF DOCTOR OF SCIENCE (DSc)
ON PHARMACEUTICAL SCIENCES**

Tashkent-2019

The subject of doctor of pharmaceutical sciences (DSc) dissertation is registered at the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number B.2018.1.DSc/Far 18

Doctor of Science (DSc) dissertation has been carried out at the Tashkent pharmaceutical institute. Abstract of dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English) is placed on web page of Scientific council(www.pharmi.uz) and on Information-educational portal “ZiyoNet” (www.ziyo.net.uz)

| | |
|-------------------------------|--|
| Scientific supervisor: | Abdullabekova Viloyat Nurullabekovna Doctor of pharmaceutical Sciences, professor |
| Official opponents: | Dusmatov Aziz Fayzamatovich Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor Tolaganov Abdukadir Abduraxmanovich Doctor of pharmaceutical Sciences, professor Abdullajanova Nodira Gafurjanovna Doctor of chemical Sciences, professor |
| Leading organization: | Uzbek-chemical pharmaceutical scientific-research nstitute named A.Sultonov |

Defense will take place on “___” _____ 2019 at ___ at the meeting of the Scientific Council DSc.27.06.2017 Far.32.01 at the Tashkent pharmaceutical institute (Address:100015, Tashkent, Mirabad district, Aybek str 45, phone +99871 256-37-38, fax +99871 256-45-04, e-mail:pharmi@pharmi.uz).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Tashkent pharmaceutical institute (№ ___). Address:100015, Tashkent, Mirabad district, Aibek str., 45. Phone: (99871) 256-37-38.

Abstract of dissertation sent out on " ___ " _____ 2019.
(mailing report № _____ on _____ 2019)

I.I. Alimdjanov
Chairman of the scientific council on
awarding of scientific degrees D.M.Sc.,
professor

Yo.S.Karieva
Scientific secretary of the scientific council
on award of scientific degree of doctor of
sciences, D.Ph.Sc., professor

F.F.Urmanova
Chairman of the scientific seminar under
scientific council on award of scientific
degrees of doctor of sciences, D.Ph.Sc.,
professor

INTRODUCTION (Dissertation abstract of the doctor of Sciences (DSc))

The aim of the research is to develop scientifically modern based methods of analysis for quality control and standardization of new and currently manufactured drugs derived from plant raw materials.

The object of the study: «Gemostat» served as a liquid extract which used local raw materials from the plants of *polygonum hydropiper*, *polygonum aviculare* and *urtica dioica* L., liquid extracts of *polygonum hydropiper* and *polygonum aviculare*, tincture «Fito diabetol» where there are blueberries and *galega officinalis* L. From local preparations some tinctures and extracts like calendula, ginseng and valerian liquid extract of shepherd's purse have been selected.

The scientific novelty of the study is as follows:

liquid extract of «Gemostat» for the first time was obtained on the basis of the local vegetable raw materials of *polygonum hydropiper* L., *polygonum aviculare* L., *urtica dioica* L., was received;

in «Gemostat» liquid extract biologically active substances, flavonoids, amino acids, vitamin K₁, macro- microelement compositions were determined; moreover, for the purpose of introduction into medical practice pharmacological activity has been studied;

in addition to that, for the first time was received tincture «Fito diabetol» which is the dietary supplements based on raw materials of plants *blueberry* and *galega officinalis*. Also studied the toxicity and biological effectiveness of dietary supplements;

spectrophotometry and HPLC methods for liquid extract of *Capsella bursa-pastoris* were developed for the first time;

modern methods of analysis for tincture of *polygonum aviculare* liquid and extract of *polygonum hydropiper* were developed;

modern methods for determining the amount of ethyl and methyl alcohols, heavy metals and macro-trace elements for tincture of valerian, ginseng and capsicum, as well as extract of *Capsella bursa-pastoris*, produced by local pharmaceutical manufacturers, have been developed. GLC method for ethyl and methyl alcohols, it has been found that it is possible to use the AAS method for the detection of heavy metals;

the preparations obtained for the first time, shelf life and stability by the natural method were established is determined.

Implementation of research results. On the basis of the received scientific results on improvement of methodical maintenance in quality assurance and standardization of tinctures and extracts:

permission «The state center for expertise and standardization of medicines, Medical Devices and Medical Equipment» state agency on development of pharmaceutical industry of public health ministry of the Republic of Uzbekistan for the production and use in medical practice of tincture «*Polygonum aviculare*» and liquid extract «Gemostat» (FS 42 Uz-1249-2016; FS 42 Uz 22477731-3757-2019). As a result, the obtained drugs allowed effective treatment as hemostatics;

Approved Technical condition (Ts15005859-02:2016) for biologically active additive "Fito diabetol", Technological instruction (TI 15005859-02:2016) approved by the state center of sanitary and epidemiological control of the Republic of Uzbekistan. As a result, Dietary Supplement «Fito diabetol» is produced at the state of emergency «Aktash»; Modern methods of analysis of ethyl and propyl alcohol and a method of quantitative determination of heavy metals for the following drugs «Calendula tincture» (FSP 42 Uz 22477731-3096-2017) were developed and included in the draft, «Tincture of Ginseng» (FSP Uz 42-22477731-3296-2018), «Tincture of capsicum» (FSP Uz 42-22477731-3209-2017). These methods of analysis are harmonized with international standards.

The structure and volume of dissertation. The dissertation consists of an introduction, a literature review, five chapters, a conclusion, a list of references and appendices. The size of the dissertation is 200 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Yunuskhodzhaeva N.A., Eshbakova K.A., Abdullabekova V.N. «Flavonoid composition of the herb *Polygonum aviculare*» // *Chemistry of Natural Compounds*, 2010. -Vol. 46 (5), -P. 803-804. DOI: 10.1007/s10600-010-9749-4. (IF=0.33).

2. Yunuskhodzhaeva N.A., Abdullabekova V.N., Ibragimova K.S., Mezhlumyan L.G. «Amino-acid composition of *Urtica dioica* leaves and *Polygonum hydropiper* and *P. aviculare*» // *Chemistry of Natural Compounds*, 2014. -Vol. 50 (5), -P. 970-971. DOI 10.1007/s10600-014-1137-z. (IF=0.64).

3. Yunuskhodzhaeva N.A., Saydalieva F. Preclinical study of hemostatic activity of the sum of flavonoids from *Polygonum aviculare* // *Health Education Research*.- Oxford University Press.-2017.-№6 (2).-P.1526-1534. (IF-1,66).

4. Юнусходжаева Н.А., Выпова Н.Л. Изучение сосудисто-тромбоцитарного механизма свертывания крови под влиянием препарата горца птичьего // *Фармацевтический журнал*.-2010.- № 2.-С.80-82. (15.00.00.; № 2).

5. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н., Убайдуллаев Қ.А. К вопросу стандартизации нового фитопрепарата // *Фармацевтический журнал*.-2011.- № 2.-С.33-36. (15.00.00.; №2)

6. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Определение витамина К₁ в жидком экстракте крапивы с использованием метода ВЭЖХ // *Фармацевтический журнал*.-2012.- №1.-С.55-57. (15.00.00.; 1.07.2011.; №4)

7. Юнусходжаева Н.А., Сайдалиева Ф.А., Казанцева Д.С. Гемостатические свойства сбора из лекарственных растений горца птичьего, горца перечного и крапивы // *Инфекция, иммунитет и фармакология*.-2012.- №4.- С.76-79.

8. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н., Ибрагимова К.С. Разработка технологии жидкого экстракта «Гемостат» // *Фармацевтический журнал*.-Ташкент, 2013.- №2.-С.62-67. (15.00.00.; № 2).

9. Юнусходжаева Н.А. Количественный анализ витамина К₁ в жидком экстракте «Гемостат» // *Фармацевтический вестник Узбекистана*, 2013.- № 3-4.- С. 55-57. (15.00.00.; №4)

10. Юнусходжаева Н.А., Убайдуллаев Қ.А. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов жидкого экстракта «Гемостат» // *Фармацевтический журнал*.-Ташкент, 2017.- №1.-С. 29-33. (15.00.00.; №2).

11. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Ривожланган давлатлар фармакопеяларидаги настойка ва экстрактлар сифатига қўйилган талаблар таҳлили // *Фармацевтик хабарнома*.2017.- №2.- Б.20-24. (15.00.00.; №4).

12. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Изучение макро и микроэлементного состава в настойках из растительного сырья // Фармацевтический вестник Узбекистана, 2018.- № 4. - С.62-65.(15.00.00.; №4).

13. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н., Жураева А.А. Современные методы анализа при стандартизации растительных жидких лекарственных препаратов // Фармацевтический вестник Узбекистана, 2018.- № 4. - С.66-70. (15.00.00.; № 4).

14. Юнусходжаева Н.А., Саидвалиев А.Қ., Абдуллабекова В.Н. Определение количества капсаицина в настойке перца стручкового // Фармацевтический журнал.-Ташкент, 2018.- №4.-С.37-39. (15.00.00. №2).

II бўлим (II часть; II part)

15. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Исследование химического состава травы *POLYGONI AVICULARIS L.* // Химия растительного сырья.- Барнаул. 2012.- № 4.- С. 187-191.

16. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н., Жураева А.А. Определение химического состава жидкого экстракта «Гемостат» // Вестник фармации.- Беларусь, 2014.- №3 (65).- С. 77-82. (30,12, 2013г., № 17).

17. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Определение флавоноидов травы горца перечного // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации».- Ташкент, 2009.-С. 234-235.

18. Сайдалиева Ф.А., Юнусходжаева Н.А., Алиев Х.У. Куш торон ўсимлиги дамламасининг марказий нерв системасига таъсири // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации».-Ташкент, 2009.-С.330-331.

19. Юнусходжаева Н.А. Количественное определение суммы флавоноидов в настойке горца птичьего // «Тиббиётнинг долзарб муаммолари» Талабалар, магистрлар, клиник ординаторлар ва ёш олимларнинг XVII- илмий амалий анжумани материаллари.- Ургенч, 2010.- 198 бет

20. Юнусходжаева Н.А. Нурбоева Л. Валидация разработанного спектрофотометрического метода количественного определения суммы флавоноидов в жидком экстракте горца перечного // «Тиббиётнинг долзарб муаммолари» Талабалар, магистрлар, клиник ординаторлар ва ёш олимларнинг XVII- илмий амалий анжумани материаллари.- Ургенч, 2010.- 197 бет.

21. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Определение флавоноидов в жидком экстракте крапивы методом ВЭЖХ // Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации», посвященная Году гармонично развитого поколения.-Ташкент, 2010.- С. 259-260.

22. Абдуллабекова В.Н., Азизов О.Т., Юнусходжаева Н.А., Юнусова Д.А. Метод ГЖХ в контроле качества настоек // Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации», посвященная Году гармонично развитого поколения.-Ташкент, 2010.- С. 261-262.

23. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Биологически активные вещества травы горца птичьего // Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации», посвященная Году гармонично развитого поколения.-Ташкент, 2010.- С. 197.

24. Юнусходжаева Н.А., Бекчанов Х.Н., Абдуллабекова В.Н. Использование метода ВЭЖХ для определения витамина К₁ в жидком экстракте крапивы // Тезисы конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений».-Ташкент,-2010.- С. 74.

25. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Проамины и аминокислоты спиртового фитоэкстракта // Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации. -Ташкент, 2011.- С. 311.

26. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Определение числовых показателей нового фитобальзама // Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации»,-Ташкент, 2011.- С. 312-313.

27. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Макро и микроэлементный состав спиртового фитоэкстракта // Материалы конференции молодых ученых «Актуальные проблемы химии природных соединений» посвященной акад. С.Ю. Юнусова.- Ташкент, 2012.- С. 81.

28. Юнусходжаева Н.А. Терпеноиды жидкого экстракта горца перечного // Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации».- Ташкент, 2012.-С. 341-343.

29. Юнусходжаева Н.А. Определение биологически активных веществ в траве горца перечного// Материалы научно-практической конференции «Интеграция образования, науки и производства в фармации».- Ташкент, 2012.-С. 405-408.

30. Юнусходжаева Н.А., Тошев Г.К., Ибрагимова К.С. Количественное определение суммы флавоноидов в жидком экстракте «Гемостат» // Сборник материалов III Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». - Санкт-Петербург, 2013.- С.280-281.

31. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Стандартизация кровоостанавливающих ЛС из растительного сырья. Разработка методики контроля микробиологической чистоты фитопрепарата «Гемостат»// Сборник материалов VII научно- практической конференции «Управление качеством в фармации». –Харьков, 2013.-С.158.

32. Ибрагимова К.С, Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н., Убайдуллаев Қ.А. Хромато-масс спектрометрический анализ жидкого

экстракта «Гемостат» // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы науки, образования и производства в фармации».- Ташкент, 2013.-С.79-80.

33. Юнусходжаева Н.А., Жураева А.А., Тошев Г.К., Сайдалиева Ф. Определение спирта методом газожидкостной хроматографии // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы науки, образования и производства в фармации».- Ташкент, 2013г.- С. 80-82.

34. Сайдалиева Ф.А., Туляганов Р.Т., Юнусходжаева Н.А. Изучение влияния жидкого экстракта сбора из трав горца птичьего, горца перечного и крапивы на центральную нервную систему // Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы науки, образования и производства в фармации».- Ташкент, 2013.- С. 524-526.

35. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Фенольные соединения травы горца перечного // Материалы II Международной научно – практической конференции «Наука и технологии в современном обществе».- Уфа, 2015.- С.123-125

36. Юнусходжаева Н.А. Качественное определение флавоноидов в жидком экстракте «Гемостат» // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука и практика: проблемы, достижения, перспективы развития». - Ташкент, 2016.- С. 106-107.

37. Юнусходжаева Н.А., Умурзакова С.Н. Изучение стабильности жидкого экстракта «Гемостат» // Вестник ЮКГФА том 4. -№4- С. 126- 127.

38. Юнусходжаева Н.А. Изучение аминокислотного состава жидкого экстракта «Гемостат» // Материалы IV Международной научно- практической конференции «Наука и общество в условиях глобализации».- Уфа, 2017.- С.152-154.

39. Yunusxodjaeva N.A. Haemostatic action of flavonoid sum from plant *Polygonum aviculare* // 12th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. –Tashkent, 2017.- P.163.

40. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н., Абдураимова А.У., Хакимова М.С. Определение макро-и микроэлементного состава в настойке календулы // Республиканский научный журнал «Вестник» Казахской фармацевтической академии.- 2018.- № 4 (84).-С. 141-142.

41. Юнусходжаева Н.А., Акромова М.О., Юлдашева Ш.С. Изучение макро и микроэлементного состава настойки женьшеня // Научная практическая посвященная 110 летию академика С.Ю.Юнусова.- Ташкент.- С.63.

42. Юнусходжаева Н.А., Ризаева Н.А., Акромова М.О. Изучение макро и микроэлементного состава в настойке стручкового перца // Материалы III научно-практической конференции.- Харьков, 2019.-С.320.

Автореферат «Фармацевтика журнали» таҳририятида таҳрирдан ўтказилди.

Бичими 60x84¹/₁₆. Рақамли босма усули. Times гарнитураси.
Шартли босма табағи: 2,75. Адади 100 Буюртма № 102.

Гувоҳнома reestr № 10-3719
“Тошкент кимё технология институти” босмаҳонасида чоп этилган.
Босмаҳона манзили: 100011, Тошкент ш., Навоий кўчаси, 32-уй.