

**ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSC.27.06.2017.FAR.32.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

ХАЛИЛОВА ШахнозаРавшановна

**ЎЗБЕКИСТОНДА ЎСАДИГАН СЕБАРГА ТУРЛАРИНИ
ФАРМАКОГНОСТИК ТАВСИФИ**

15.00.02 – фармацевтик кимё ва фармакогнозия

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

Тошкент– 2018

Фалсафа доктори(PhD)диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Content of the abstract of doctor of philosophy dissertation (PhD)

Халилова ШахнозаРавшановна

Ўзбекистонда ўсадиган себарга турларини фармакогностик
тавсифи.....3

Халилова ШахнозаРавшановна

Фармакогностическая характеристика видов клевера, произрастающих в
Узбекистане.....21

KhalilovaShakhnozaRavshanovna

Pharmacognostic study of clover species growing in
Uzbekistan.....41

Эълон килинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works44

**ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSC.27.06.2017.FAR.32.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

ХАЛИЛОВА ШахнозаРавшановна

**ЎЗБЕКИСТОНДА ЎСАДИГАН СЕБАРГА ТУРЛАРИНИ
ФАРМАКОГНОСТИК ТАВСИФИ**

15.00.02 – фармацевтик кимё ва фармакогнозия

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

Тошкент– 2018

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.1.PhD/Far.9 рақами билан рўйхатга олинган.

Диссертация Тошкент фармацевтика институтида бажарилган.

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

**Илмий
маслаҳатчи:**

Урманова Флюра Фаридовна
фармацевтика фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Юлдашев Зокиржон Обидович
фармацевтика фанлари доктори, профессор

**Етакчи
ташқилот:**

Патсаев Анапия Каныбекович
кимё фанлари доктори, профессор, академик

**А.Султанов номли Ўзбекистон кимё-фармацевтика
илмий тадқиқот институти**

Диссертация химояси Тошкент фармацевтика институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSC.27.06.2017.Far.32.01 рақамли Илмий кенгашнинг « 10 » ноябрь 2018й. соат 12⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100015, Тошкент, Миробод тумани, Ойбек кўч. 45. 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 (21 - рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил:100015, Тошкент ш., Миробод тумани, Ойбек кўчаси, 45 уй. Тел.: (+99871) 256-37-38).

Диссертация автореферати 2018йил «24» октябрь куни тарқатилди.
(2018йил «24» октябрьдаги 7 - рақамли реестр баённомаси).

И.И.Алимджанов

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

Р.Т.Туляганов

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

С.Н. Аминов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
кошидаги Илмий семинар
раиси к.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Жаҳонда касалликларни даволаш амалиётида синтетик дори воситаларидан кўра доривор ўсимликлар асосида олинган препаратларни қўллашга жуда катта эътибор қаратилмоқда. Бутун жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилоти маълумотларига кўра дунё бўйича 150 млн.дан ортиқ киши қандли диабет хасталигига дучор бўлган бўлиб, уларнинг 80-90 фоизи иккинчи типдаги диабетга тўғри келмоқда. Мазкур кўрсаткич 2025 йилга келиб 300 млн. кишига етиши тахмин қилинмоқда. Шу жиҳатдан ҳам қандли диабет билан касалланганларни даволашда синтетик дори воситаларидан кўра доривор ўсимликлардан олинган препаратларнинг комплекс таъсирга эгалиги ҳамда безарарлиги туфайли тиббиёт амалиётида уларга бўлган эҳтиёж ортиб бормоқда.

Жаҳонда касалликларни даволаш амалиётида доривор ўсимликлардан олинган препаратларнинг самарадорлиги ва безарарлигини эътиборга олган ҳолда мазкур йўналишдаги илмий-тадқиқотларга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Бу борада маҳаллий флора ўсимликларининг янги турларини аниқлаш, янги туркум хом ашёлардан тегишли моддаларни ажралиб олиш ҳамда дори воситаларни ишлаб чиқишнинг мўътадил усулларини асослаш, шунингдек, маҳаллий ўтлоқ ўсимликларнинг истиқболли турларини фармацевтика амалиётига жорий қилиш бўйича тадқиқотларга устувор изланишлар сифатида қаралмоқда.

Ўзбекистон Республикаси доривор ўсимликларга бой минтақалардан бири ҳисобланади. Қадимдан халқ табобатида себарга ўсимлигининг шифобахш хусусиятлари маълум бўлиб, турли касалликлар учун ишлатиб келинган. Мустақиллик йилларида, айниқса кейинги йилларда яратиб берилган кенг имкониятлар фармацевтика саноатини ривожлантиришда муҳим омил бўлди. Жаҳонда рақобат тобора кучайиб бораётган шароитда маҳаллий истиқболли доривор ўсимликлар асосида импорт ўрнини босувчи ва экспортга йўналтирилган арзон, сифатли дори воситалар яратиш ҳамда саноат миқёсида ишлаб чиқаришга жорий қилиш борасидаги ишлар кўлами кенгайди. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори воситалари билан таъминлашни яхшилаш»¹ муҳим вазифалардан бири сифатида белгиланган. Шундан келиб чиққан ҳолда себарга ўсимлиги республикамиз ҳудудида кенг тарқалганлиги, маҳаллий себарга доривор ўсимлик хом ашёси асосида кенг терапевтик таъсирга, шу жумладан диабетга қарши эга бўлган маҳаллий дори воситаларини ишлаб чиқиш ва уларни стандартлаштириш борасидаги илмий изланишлар алоҳида аҳамият

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони // «Халқ сўзи», 2017 йил 8 февраль.

касб этади.

Юқорида келтирилган Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси, 2017 йил 17 июлдаги ПҚ-3137-сон «Аҳолини дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминлаш тизимини такомиллаштириш бўйича кўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги ва 2018 йил 23 январдаги ПҚ-3489-сон «Дори воситалари ва тиббиёт буюмлари ишлаб чиқариш ҳамда олиб киришни янада тартибга солиш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Адабиётларни ретроспектив таҳлил қилиш натижасида Буюк Абу Али ибн Синонинг илмий қўлланмаларида ўтлоқ себарга ўсимлиги «хандакука» номи остида таърифланганлиги аниқланди. Ҳозирги вақтда доривор ўсимликларни фитокимёвий ўрганиш ва маҳаллий хом ашёлар асосида дори воситаларни яратиш бўйича Х.Х.Холматов, Т.П.Пўлатова, А.Я.Ибрагимов, Х.М.Комилов, Ф.Ф.Урманова, С.Н.Аминов, А.Қ.Ғаниев, У.М.Азизов каби олимларнинг тадқиқотлари муҳим аҳамиятга эга.

Дунё миқёсида себарга ўсимлиги турли давлат олимлари томонидан ўрганиш ишлари олиб борилмоқда. *Trifolium* L. туркумига мансуб себарга ўсимлиги турларини фитокимёвий ўрганиш, улар таркибидаги биофаол моддаларни ажратиб олиш ва улар асосида биофаол кўшимчаларни ишлаб чиқариш бўйича Бабаскин В.С., Ботиров Э.Х., Дренин А.А., Казаков А.Л., Atkinson Ch., Banisalam B., Clare A.M., Day N.E., Dunning A. M, Dowling C., Dowsett M., Esmaeili A.Kh., Frydenberg M., Healey C.S, Husband A.J., Jarred R.A., Keikha M., Khazaei M., Li S., Liu S., Mohajer S., Risbridger G.P., Runswick Sh., Sala E., Scollen S., Sun Z., Taha R.M., Tian O., Pedersen J.S., Warren R. ML. лар томонидан олиб борилган тадқиқотлар алоҳида илмий аҳамиятга эга. Улар турли ҳил, ўз кимёвий таркиби бўйича мураккаб бўлган биологик фаол моддалар, ўсимликнинг терапевтик самарадорлигига таъсир ўтказувчи, себарга турлари, турларнинг кимёвий таркиби улар ўсаётган жойга боғлиқлиги топилган, биологик фаол кўшимчалар сифатида кўп ҳолларда қўллаш бўйича тавсиялар ишлаб чиқилган.

Маҳаллий себарга ўсимлиги турларини фитокимёвий жиҳатдан етарли даражада ўрганилмаган ўсимликлар қаторига киритиш мумкин. Маҳсулотни чинлигини ва сифатини белгиловчи меъёрий ҳужжатни йўқлиги; себарга ўсимлиги турларининг чинлигини баҳоловчи морфологик-анатомикдиагностик белгиларини йўқлиги; асосий таъсир

қилувчи моддаларнинг сифати ва миқдорини аниқлаш усуллари ишлаб чиқилмаган.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган олиў таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Тошкент фармацевтика институти илмий-тадқиқот ишлари режасига мувофиқ «Маҳаллий доривор ўсимликлар ва координацион бирикмалар асосида оригинал дори воситаларини ишлаб чиқиш ва тиббиёт амалиётига татбиқ этиш» илмий лойиҳаси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади маҳаллий флоранинг себарга ўсимлиги турлари асосида самарали дори воситаларини яратиш ва уларни тиббиёт амалиётида қўллаш имкониятларини асослаш ҳамда ўсимликларни фармакогностик тавсифлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

ресурсшунослик ва кимёвий таҳлиллар, замонавий ўрганилганлик ҳолати, тузилиши бўйича ҳар хиллиги ва биологик фаоллиги асосида Ўзбекистон флорасининг *Trifolium* L. туркумига мансуб себарга турларини истиқболли доривор ўсимлиги хом ашёси сифатида қўлланишини асослаш; маҳаллий флорани себарга ўсимлигининг 7 та турини морфологик-анатомик тузилишини ўрганиш ва мазкур ўсимлик хом ашёсини стандартлаш учун анатомик-диагностик белгиларини аниқлаш;

асосий биологик фаол моддаларни аниқлаш мақсадида *Trifolium* L. турини кимёвий таркибини ўрганиш; изланишлар натижасида специфик фаоллигини асослаб берувчи пинитол ва изофлавоноид сақловчи себарга ўсимлиги турлари орасидан истиқболли турини танлаш;

доривор ўсимлик маҳсулоти, у асосидаги қуруқ экстракти ва дори шакли таркибидаги пинитол ва изофлавоноидларнинг сифат ва миқдорий таҳлил усуллари ишлаб чиқиш;

доривор ўсимлик маҳсулоти ва дори воситасининг специфик фаоллигини белгиловчи асосий таъсир этувчи моддасини стандартлаш параметрларини ишлаб чиқиш бўйича тадқиқот ишларини олиб бориш ва клиник олди тадқиқотларни ўтказиш; шунингдек, корхона фармакопоя мақоласи лойиҳасини ишлаб чиқиш учун хом ашёнинг сифатини белгиловчи кўрсаткичларини аниқлаш;

олиб борилган тадқиқотлар асосида тавсия этилаётган хом ашё ва дори воситасига тегишли меъёрий ҳужжат лойиҳаларини ишлаб чиқиш ва тиббиётда қўллашга рухсат олиш учун ЎзР ССВ “Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартизацияси Давлат маркази” ДУКга тақдим этиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида маҳаллий флоранинг *Trifolium* L. туркумига мансуб себарга ўсимлиги турларини ер устки қисми олинган: дала с. - *T.campestre* S., ербағирлаган с. - *T.fragiferum* L., чакамуғ с. - *T.lappaceum* L., майда, кўримсиз с. - *T.neglectum* C., судралиб ўсувчи, оқ с. - *T.repens* L., ағдарма с.-*T.resupinatum* L., ҳамда ўтлоқ себаргани-*T.pratense* L.

ер устки қисми, илдизи, уруғи олинган.

Тадқиқотнинг предмети себарга ўсимлиги турларининг биологик фаоллигини таъминловчи асосий компонентларини аниқлаш ва ўрганиш, шунингдек истиқболли ўтлоқ себарга хом ашёси ва унинг қуруқ экстракти асосидаги дори воситасини стандартлаш ва тиббиёт амалиётига татбиқ этиш билан боғлиқ масалаларни ҳал қилишдан иборат.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотда физик-кимёвий, кимёвий, фармакологик, технологик таҳлил усулларидан фойдаланилди. Ишлаб чиқилган дори препаратининг сифат назорати «Доривор ўсимлик маҳсулотлари таҳлил усуллари», «Экстрактлар» (ХІ ДФ, 1,2 қисм) умумий фармакопея мақолалари талабларига мувофиқ олиб борилган ҳамда миқдорий таҳлилида УБ-спектрофотометрия ва масс-спектрометрия (ICP-MS AT-7500 спектрометри, АҚШ), юқори самарали суюқлик хроматография (Agilent Technologies 1100, АҚШ), газ-суюқлик хроматографияси (Agilent 6890 N, АҚШ), ион алмашилиш хроматографияси («Т-339» аминокислота анализатори, Чехия) ҳамда кимёвий усуллар ишлатилган. Натижаларнинг статистик таҳлилида Стъюдентнинг t-критерийсидан ва махсус компьютер дастуридан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор маҳаллий флоранинг себарга ўсимлигининг 7 та турининг морфологик-анатомик тадқиқи асосида доривор ўсимлик маҳсулотини стандартлаш учун зарур анатомик-диагностик белгилари аниқланган;

илк бор *Trifolium L.* туркуми хом ашёсидан пинитол ва изофлаваноид моддаларнинг кўп миқдорда ажралиб олишни таъминловчи мўътадил усуллари ҳамда пинитол ва изофлаваноидлар йиғиндисини формононетинга нисбатан сифат ва миқдорий таҳлил усуллари ишлаб чиқилган;

маҳаллий ўтлоқ себарга ўсимлигининг турли қисмларида пинитол ва изофлаваноидлар миқдори аниқланган, ҳамда себарга ўсимлиги турлари орасидан истиқболли ўтлоқ себаргасини кимёвий таркиби аниқланган;

илк бор ўтлоқ себарга маҳсулоти ва уни асосидаги дори шаклини сифатини баҳоловчи стандартлаш усуллари ишлаб чиқилган ҳамда истиқболли ўтлоқ себарга ўсимлиги маҳсулотини анатомик-диагностик белгилари ва сифатини белгиловчи кўрсаткичлар, экологик тозаллиги ва қўлланишда хавфсизлиги аниқланган;

тавсия этилган хом ашё таркибидаги пинитолни тўпланиш динамикаси асосида сифат ва миқдорини аниқлаш усуллари ишлаб чиқилиб, пинитолнинг миқдор меъёри аниқланган, тажрибада уни тайёрлаш ва сақлашнинг мўътадил муддатлари асосланган;

ўтлоқ себарга хом ашёсидан олинган қуруқ экстракт асосидаги оригинал дори воситасини специфик фаоллиги ва фармако-токсикологик хусусиятлари аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

Ўзбекистонда ўсадиган *Trifolium L.* туркумининг 7 та вакиллари биологик фаол моддаларни кимёвий табиати ҳақида назарий хулосалар

умумлаштирилган ва тажрибавий маълумотлар кенгайтирилган;

пинитол ва изофлавоноидларни янги маҳаллий манбааси - ўтлоқ себарга хом ашёси ҳамда ўтлоқ себарга ер устки қисми юқори гипогликемик фаолликка эга дори воситаси сифатида қуруқ экстракти ва у асосида “Диабефор” капсулалари тиббиёт амалиётига тавсия этилган;

"Remedy Group" Ўзбек-Британия қўшма корхонаси шароитида ўтлоқ себарга қуруқ экстракти ва у асосидаги “Диабефор” капсулалари муқобил таркиби ва ишлаб чиқариш технологияси ҳамда Ўзбекистонда ўсувчи ўтлоқ себаргаси ер устки қисми учун маҳсулотни йиғиш ва қуриштириш инструкцияси ишлаб чиқилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Тадқиқотда олинган натижалар замонавий математик, статистик, таҳлилий усуллар ва клиник текширувлар асосида ва саноат миқёсида ишлаб чиқариш жараёнида тасдиқланган. Текширувлар масс-спектрометрия (ICP-MS AT 7500, АҚШ), юқори самарали суюқлик хроматография (Agilent1100, АҚШ), газ-суюқлик хроматография (Agilent 6890 N, АҚШ) каби замонавий усуллар ёрдамида экспериментал натижалар олинганлиги билан асосланган ҳамда лаборатория тадқиқотлари амалиётда ва саноат миқёсида синаб кўрилган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти маҳаллий себарга ўсимлиги турларини морфологик-анатомик тузилиши ва кимёвий таркиби ўрганилганлиги асосида диабетга қарши янги дори воситасининг терапевтик самарадорлиги бўйича хорижий доривор ўсимликлар асосида олинган препаратлардан кам бўлмаган дори воситани ишлаб чиқариш имкониятини яратилиши ҳамда ўтлоқ себарга хом ашёси асосида олинган қуруқ экстракт таркибидаги пинитол, изофлавоноид ва бошқа компонентларни ўз ичига олган капсула дори воситасини олиш технологияси ишлаб чиқилиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти доривор ўсимлик маҳсулотларидан ишлаб чиқариладиган дори воситаларни ассортиментини кенгайтириш мақсадида ўтлоқ себарга қуруқ экстракти ва у асосидаги «Диабефор» капсулалари ишлаб чиқилди ва самарадорлиги, иқтисодий жиҳатдан улардан устун бўлган, безарар, аҳолини эҳтиёжини қондириш имконини берадиган, ўсимлик хом ашёси асосида олинган диабетга қарши оригинал дори восита сифатида тиббиёт амалиётига тавсия қилиниб, саноатда ишлаб чиқаришга татбиқ этилганлиги билан исботланади. Диабетга қарши “Диабефор” капсулаларини ишлаб чиқариш хориждан импорт қилинадиган антидиабетик дори препаратларининг ўрнини босади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Ўтлоқ себарга ер устки қисмининг кимёвий таркибини ўрганиш, тавсия этилаётган хом ашё ва унинг асосида яратилган қуруқ экстракт ва дори воситасини стандартлаш усулларини ишлаб чиқишда олинган илмий натижалар асосида:

ўтлоқ себаргаси қуруқ экстракти асосидаги диабетга қарши воситаси

учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтиро патенти олинган (№IAP 05095, 2015 й.). Натижада олинган курук экстракт унинг асосида дори воситасини олиш имкони яратилган;

ўтлоқ себарга ер устки қисми маҳсулоти, субстанция - ўтлоқ себаргаси курук экстракти ва унинг асосидаги дори воситаси “Диабефор” капсулалари учун «Remedy Group» қўшма корхонасида КФМ лойиҳалари ишланиб, клиник синовдан ўтказиш учун Соғлиқни сақлаш вазирлигининг «Дори воситалари, тиббий ашё ва тиббий техника экспертизаси ва стандартизация давлат маркази» ДУК томонидан рўйхатга олинган (Фармакология қўмитаси Раёсатининг 2017 йил 19 апрелдаги 7-сон қарори) ҳамда Этика қўмитаси томонидан мазкур препаратни клиник синовдан ўтказишга руҳсат берилган (Этика қўмитасининг 2018 йил 8 январдаги 9/16-сон маълумотномаси), (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2018 йил 15 октябрдаги 8н-3/280-сон хати). Мазкур лойиҳани амалга ошириш натижасида қандли диабет касаллигини маҳаллий доривор ўсимликлардан олинган препарат асосида самарали ва безарар даволаш имконияти яратилади.

Тадқиқот натижаларнинг апробацияси. Тадқиқот натижалари 6 та халқаро ва 8 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтган.

Тадқиқот натижаларнинг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 36 та илмий иш чоп этилган, шулардан 1 та ихтиро патенти олинган ва Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг фалсафа доктори (PhD) диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 22 та мақола, жумладан, 14 таси республика ва 8 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, адабиётлар шарҳи, шахсий тадқиқотларнинг учта боб, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 120 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида мавзунинг долзарблиги ва зарурати асослаб берилган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, мақсади ва вазифалари аниқланган, муаммонинг ўрганилганлик даражаси, тадқиқотнинг объекти ва предмети, усуллари, ишнинг илмий ва амалий аҳамияти, олинган натижаларнинг илмий жиҳатдан янгилиги ва амалиётга татбиқ этилиши, нашр этилган ишлар, диссертация тузилиши ва ҳажми бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Себарга турларини умумий тавсифи**» деб номланган биринчи боби ўз ичига маҳаллий ва хорижий олимларнинг себарга ўсимлиги турлари бўйича бажарилган илмий натижалари, кимёвий

таркиби ва тиббиётда қўлланилиши ҳақидаги маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг иккинчи боби «Ўзбекистонда ўсадиган *Trifolium L.* туркумига мансуб турларининг морфологик ва анатомик тузилишини аниқлаш» деб номланиб, тадқиқот объектлари, ўсимлик хом ашёсини йиғиш, уни таҳлилга тайёрлаш, себарга ўсимлигини 7 та турини морфологик ва анатомик тузилиши ҳақидаги аниқланган натижалар келтирилган. Ўсимлик маҳсулотининг ташқи белгилари ва микроскопик тузилиши XI ДФнинг талабларига мувофиқ ўрганилди.

Тадқиқот натижаларида ҳар бир себарга тури маҳсулотларини стандартлаш учун уларни анатомик-диагностик белгилари аниқланди:

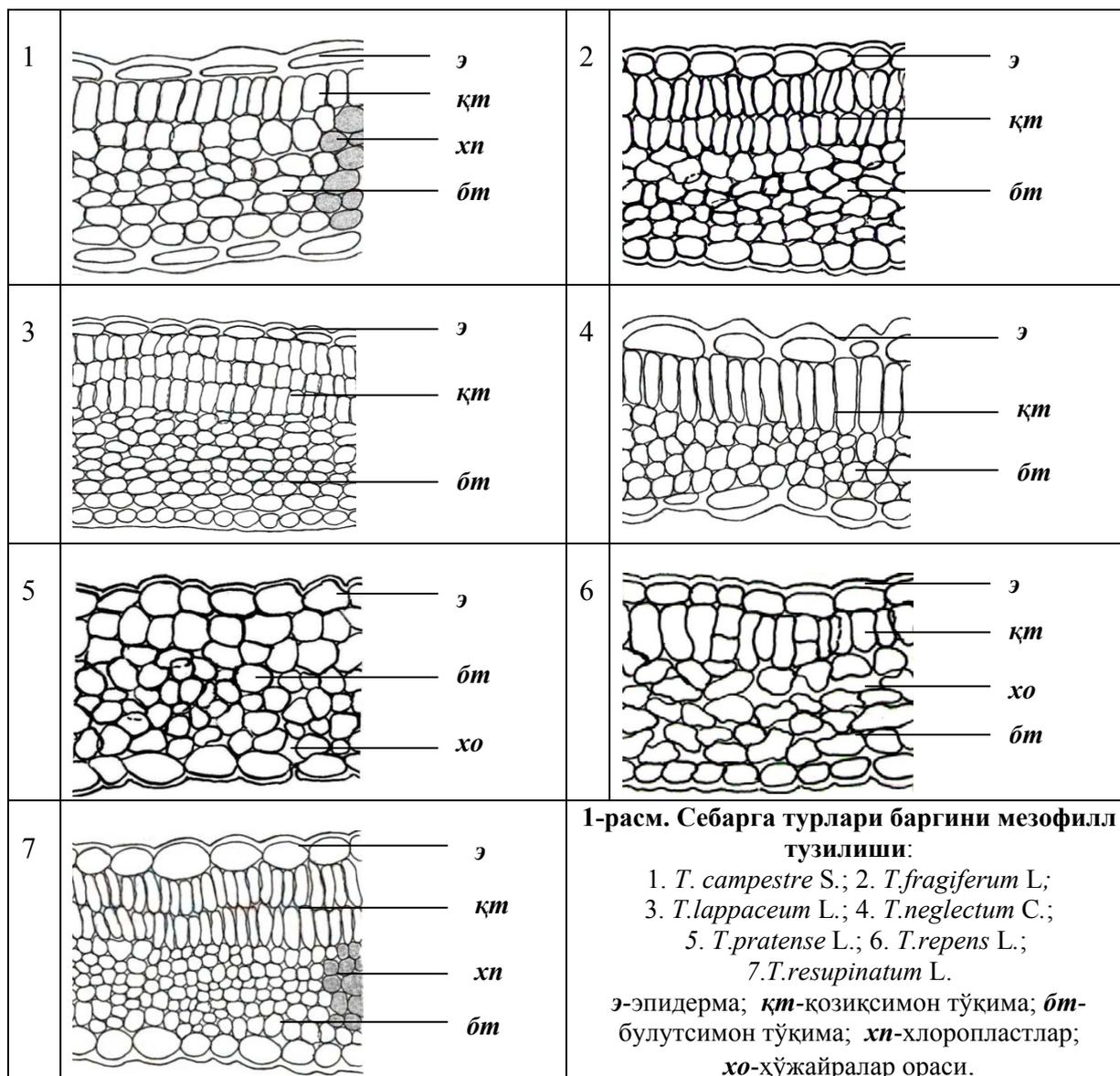
-мураккаб уч баргда – баргчани шакли эллипсимон, кенг тескари тухумсимон, икки хужайрали сўгалли туклар, эпидермис хужайра деворларини шакли: эгри-бугри (*T.pratense*, *T.lappaceum*, *T.campestre*, *T.repens*) ва текис (*T.fragiferum*, *T.resupinatum*, *T.neglectum*); оғизча аппаратини тузилиши бўйича: аномоцит (*T.pratense*), анизоцит (*T.repens*) парацит (*T.fragiferum*, *T.neglectum*), диацит (*T.resupinatum*) ва гемипарацит (*T.lappaceum*, *T.campestre*); мезофилл тузилиши бўйича: булутсимон (*T.pratense*) ва дорсивентрал (қозиксимон тўқимаси): бир-қатор–(*T.repens*, *T.campestre*, *T.neglectum*); икки-қатор – *T.fragiferum*, *T.resupinatum*; уч-қатор – (*T.lappaceum*), булутсумон тўқима 5-7 қатор бўлиб, хлоропластлардан иборат (*T.campestre*, *T.resupinatum*), хужайралараро бўшлиқлар мавжуд (*T.pratense*, *T.repens*); асосий ўтказувчи боғламни тузилиши барча турларда коллатерал;

-ҳар бир гулида ўзига хос специфик белгилари мавжуд бўлиб, гултоғбарг ва гулкосачабаргни эпидермис хужайраларининг шакли ва тузилиши: юқори қисми чўзиқ, чуқурчали учбурчак шаклли (*T.pratense*), бироз чўзиқ эгри-бугри деворли 5-6 бурчакли (*T.campestre*), чўзиқ бироз эгри-бугри деворли 4-5 бурчакли (*T.resupinatum*) оғизчаси анизоцит ва гемипарацит типда (бошқа турларда учрамайди) тузилиши косачабаргни тишларини ва тукларини тузилиши ва шакли бўйича: *T.pratense* эпидермис деворлари юпқа, текис деворли ва сўрғичсимон ўсимталари мавжуд, икки хужайрали ва безли; гулкосачабаргни туклари бир хужайрали, майда;

-поясида: оддий икки хужайрали сўгалли туклар ва 5-7-хужайра бошчали 4-5-хужайра оёқчали безли туклар, эпидермис хужайра деворлари бироз эгри бугри, пояни асосий боғламининг тузилиши бўйича коллатерал; перфорацион пластинкаларнинг тузилиши оддий, найлар кетма-кет жойлашган.

1-расмда себарга турлари баргини мезофилл тузилишининг анатомик белгилари кўрсатилган.

Пинитол ва изофлавоноидларнинг кенг қамровли физиологик фаоллигини, уларнинг маҳаллий себарга ўсимлиги турлари таркибида мавжудлигини ва йиғилишини инобатга олган ҳолда “Себарга турлари орасида истиқболли шифобахш ўсимлик хом ашёсини аниқлаш” учинчи бобида келтирилган ҳамда пинитолва изофлавоноид сақловчи

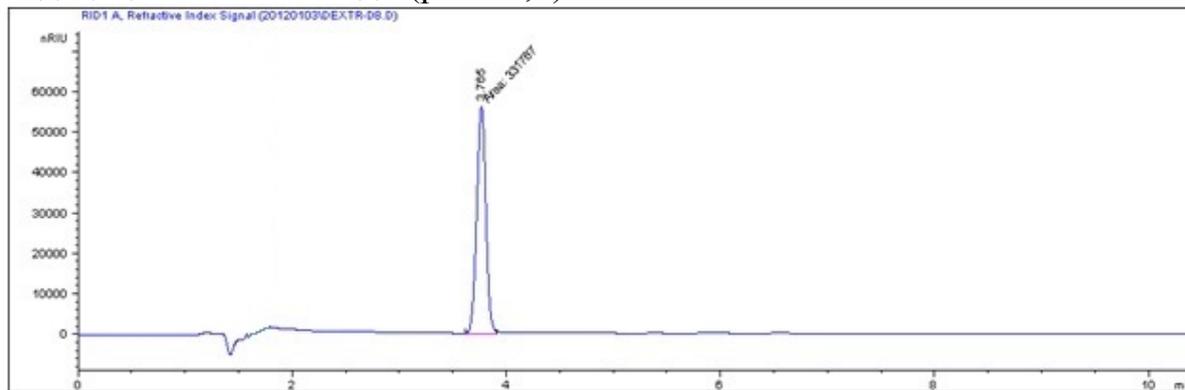


самарали дори воситани ишлаб чиқариш имконияти ўрганиб чиқилган.

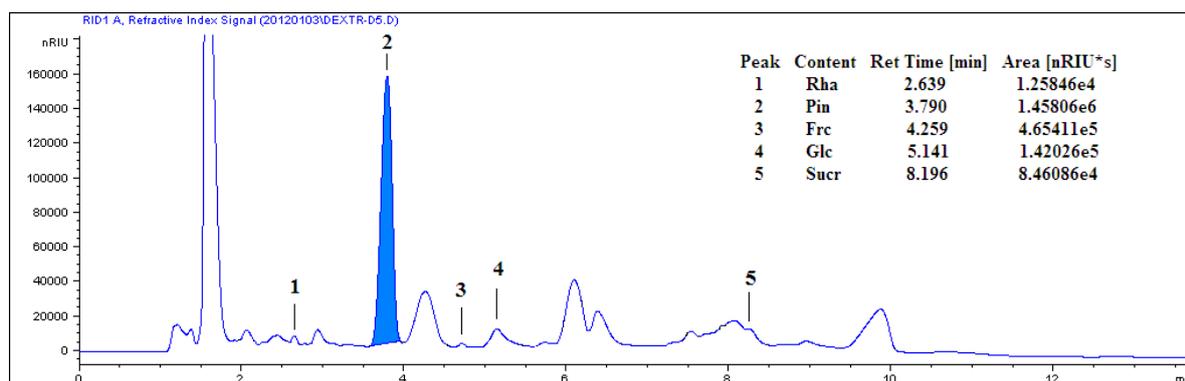
Хом ашё таркибида пинитолни сифат жиҳатдан аниқлаш учун этилацетат-метанол (3:2) система эритувчиларида «Silufol UV-254» пластинкалари сорбентнинг юпка қаватларида тақсимланиш хроматография усули таклиф этилган. Очувчи реактив сифатида концентрацияланган сульфат кислотаси пуркалганда қизил-жигарранг рангли доғ пайдо бўлиши керак, бу пинитол стандарт намунасига мос келади ($R_f 0,60$ га тенг).

Пинитол миқдори ЮССХ усули билан Agilent 1100 суюқлик хроматографиясида аниқланди. Детекторлаш программалаштирилган рефрактометрик детектор ёрдамида 25 x 0,46 см ўлчамли Ultrasphere - amino нормал-фаза колонкасида (Beckman, АҚШ) хона ҳарорати шароитида амалга оширилди. Кўзгалувчи фаза сифатида ацетонитрил ва сувнинг 75:25 нисбатидаги аралашмасидан фойдаланилди, ҳамда олдиндан газсизлантирилган ва ғоваклиги 0,22 мкм бўлган мембрана фильтр орқали филтрланди. Элюент узатиш тезлиги-1 мл/дақиқа, таҳлил давомийлиги –

20 дақиқани ташкил этди (расм 2,3).



2-расм. Пинитол стандарт моддасининг хроматограммаси



3-расм. Ўтлоқ себарга ер устки қисми таркибидаги пинитол ва қандлар миқдорининг хроматограммаси

Олинган натижалар 1-жадвалда келтирилган.

1-жадвал

Себарга турлари таркибидаги пинитол ва қандларнинг миқдори

Себарга турлари	Пинитол Pin %	Қандлар Sug, %					
		араби- ноза Ara	глю- коза Glc	ман- ноза Mann	рам- ноза Rha	сахаро- за Sucr	фрук- тоза Frc
T.campestre S.	0,020	-	0,320	-	0,110	0,740	2,050
T.fragiferum L.	2,100	-	0,450	-	0,270	0,310	0,620
T.lappaceum L.	0,008	0,017	0,350	0,007	0,240	0,820	1,200
T.neglectum C.	2,400	-	0,180	-	0,530	0,360	1,260
T.pratense L.	4,060	0,345	0,430	-	0,040	0,200	1,010
T.repens L.	0,800	-	0,210	-	0,300	0,600	-
T.resupenatum L.	0,042	0,305	0,575	0,038	0,022	1,600	1,500

*Пинитол ва қандларни идентификацияси бир пайтда амалга оширилган. Бу уларни метаболит келиб чиқиши ҳамда физик ва хроматографик хоссалари яқинлиги билан изоҳланади.

1-жадвалдаги таҳлил натижалари шуни кўрсатдики, пинитолнинг миқдори ўтлоқ себарга ўсимлиги маҳсулоти таркибида кўплиги аниқланди.

Ўсимликнинг морфологик гуруҳларида пинитолнинг миқдори ўрганилди ва уни ер устки қисмида > уруғида > илдизида аниқланди.

Хом ашё таркибида изофлавоноидларни сифат жиҳатдан аниқлаш

учун хлороформ-метанол-чумоли кислотаси (31:1:0,15) система эритувчиларида «Silufol UV-254» пластинкалари сорбентнинг юпқа қаватларида тақсимланиш хроматография усули таклиф этилган. Очувчи реактив сифатида аммиакни парлари ишлатилди. Натижада УБ-нурда тўқ-жигарранг рангли доғ пайдо бўлиши керак, бу формонетин стандарт намунасига мос келади (R_f 0,58 га тенг).

Изофлавоноидларни миқдорини аниқлаш учун спектрофотометрия усулидан фойдаланилди. Ўтлоқ себарганинг ер устки қисмидан сувли ва спиртли ажратмаларининг УБ-спектрлари ўрганилди. Спектрлар «Agilent 8453» спектрофотометри ёрдамида аниқланди. Текширилаётган ажратма ютилиш максимуми 260 ± 5 нм тўлқин узунлигида қайд этилган. У билан формонетин стандарт эритмасининг ютилиш максимуми мос келди. Юқоридагиларни инобатга олган холда, формонетин стандарт модда сифатида ишлатилиши мумкинлигини кўрсатди.

Тажрибада асосида, изофлавоноидларни ўсимлик маҳсулотидан ажратиб олишнинг мўътадил шароитлари аниқланди: экстрагент - 60% этил спирти, хом-ашёни майдалиги тешиги 1 мм диаметр ўлчамли элакдан ўтадиган, сув хаммомида 45 дақиқа давомида қиздирилганда, хом-ашё: экстрагент – 1:30 нисбатда изофлавоноидларни максимал ажратиб олиш мумкинлиги аниқланди.

Себарга турлари маҳсулоти таркибидаги изофлавоноидларни миқдорини (формонетинга нисбатан) камайиши бўйича қуйидаги қаторда жойлаштириш мумкин (%): *T.pratense* ($4,35 \pm 0,04$) > *T.lappaceum* ($2,05 \pm 0,07$) > *T.fragiferum* ($1,80 \pm 0,03$) > *T.neglectum* ($1,54 \pm 0,05$) > *T.resupenatum* ($1,35 \pm 0,02$) > *T.campestre* ($1,28 \pm 0,05$) > *T.repens* ($1,10 \pm 0,04$).

Келтирилган натижаларга асосланиб, себарга ўсимлиги турларини пинитол ва изофлавоноидларни миқдори жиҳатидан энг кўп ўтлоқ себарганинг ер устки қисми таркибида борлиги аниқланди ва истиқболли доривор ўсимлик маҳсулоти сифатида танлаб олинди. Кейинги босқичда ўрганилаётган ўсимликнинг биологик фаол моддаларини аниқлаш бўйича маълумотлар баён этилган.

Амикислоталар таркибини ўрганишда, дастурий бошқарувли Т-339 (Mikrotechna-Prague) маркали аминокислота анализаторида аниқланди. Натижада ўрганилаётган ўсимлик маҳсулоти таркибида 16 та аминокислоталардан иборатлиги, улардан 9 таси алмашиб бўлмайдиган аминокислота эканлиги аниқланди (2-жадвал).

Келтирилган натижалар асосида, ўтлоқ себарга ер устки қисмида мажор компонентли аминокислоталардан глютамин, аспарагин ва аргинин кислоталар эканлиги маълум бўлди.

Ўтлоқ себарга ер устки қисми таркибидаги ёғ кислоталар липидларни таркибини аниқлашда аланга-ионланиш детекторли Agilent Technologies 6890 N хроматографида ГСХ усулида таҳлил қилинди. Тадқиқот натижасида 16 та ёғ кислоталар аниқланди, улар орасида энг кўп миқдорда пальмитин, олеин, линол ва линолен кислота борлиги аниқланди

Ўтлоқ себарга маҳсулотининг аминокислоталар таркиби

№	Идентификацияланган аминокислоталар		Аминокислоталар миқдори, n ¹ mol	Аминокислоталар миқдори, %	Аминокислоталар миқдори, % умумий йиғиндисига нисбатан
1	Аланин	Ala	16,67	0,30	4,20
2	Валин*	Val	11,79	0,28	3,92
3	Глицин	Gly	19,87	0,30	4,20
4	Изолейцин*	Ile	8,56	0,22	3,08
5	Лейцин*	Leu	15,85	0,42	5,88
6	Серин	Ser	15,57	0,33	4,62
7	Треонин*	Thr	10,71	0,25	3,50
8	Метионин*	Met	1,72	0,05	0,70
9	Фенилаланин *	Phe	11,81	0,39	5,46
10	Тирозин	Tyr	7,37	0,27	3,78
11	Глутамин	Glu	60,00	1,76	24,65
12	Аспарагин	Asp	31,91	0,85	11,90
13	Аргинин*	Arg	29,71	1,03	14,43
14	Лизин*	Lys	9,47	0,28	3,92
15	Гистидин*	His	7,57	0,21	2,95
16	Пролин	Pro	8,70	0,20	2,80
*-алмашиб бўлмайдиган аминокислоталар					
Аминокислоталар умумий йиғиндиси				7,14	
Алмашиб бўлмайдиган аминокислоталар йиғиндиси				3,13	43,84

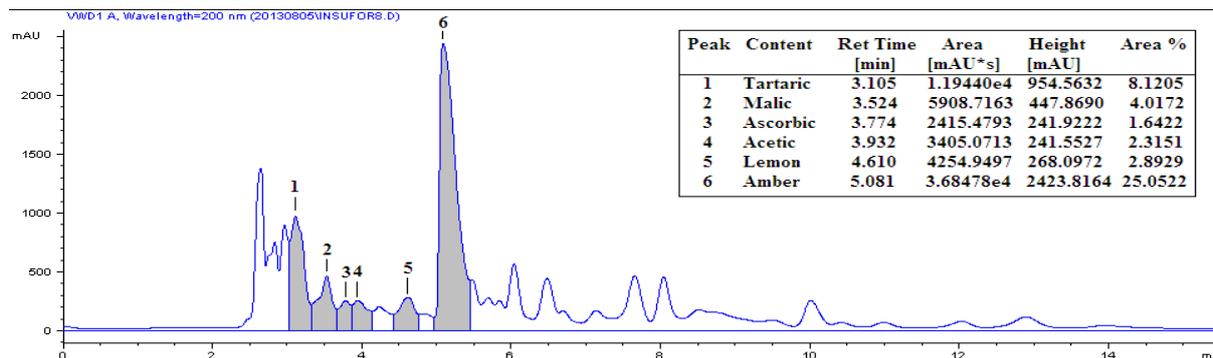
(ёғ кислоталарини умумий суммасидан 88,8%).

Тўйинмаган ёғ кислоталарни умумий суммаси 60%дан юқори (3-жадвал).

Ўтлоқ себарга ер устки қисми таркибидаги ёғ кислоталарининг миқдори

№	Ушланиш вақти, дақиқа	Идентификацияланган кислоталар		Миқдори, % ёғ кислоталарни умумий йиғиндисидан
1.	3,052	Каприн	10:0	0,13
2.	5,588	Лауриня	12:0	0,73
3.	9,633	Миристиня	14:0	1,11
4.	11,911	Пентадекан	15:0	0,70
5.	13,733	Пальмитолеин	16:1	0,48
6.	14,268	Пальмитин	16:0	23,43
7.	16,491	Маргарин	17:0	0,63
8.	18,057	Линол	18:2	28,65
9.	18,221	Олеин+Линолен	18:1+ 18:3	36,75
10.	18,719	Стеарин	18:0	4,16
11.	22,372	Эйкозен	20:1	0,20
12.	22,906	Арахин	20:0	1,11
13.	26,818	Беген	22:0	0,89
14.	30,453	Лигноцерин	24:0	0,83
15.	34,240	Церотин	26:0	0,20
Σтўйинган кислоталар				33,92
Σтўйинмаган кислоталар				66,08

Ўтлоқ себарга ер устки қисми таркибидаги органик кислоталар миқдорини ЮССХ усули билан суюқлик хроматографи Agilent 1100 аниқланди (4-расм).



4-расм. Ўтлоқ себарга ер устки таркибидаги органик кислоталар миқдорининг хроматограммаси

Таҳлил натажалари шуни кўрсатдики, ўтлоқ себарга ер устки қисмида олма, вино, сирка, аскорбин, лимон ва янтар кислоталар борлиги аниқланди (4-жадвал).

4-жадвал

Ўтлоқ себарга ер устки қисми таркибидаги органик кислоталар миқдори

Ушланиш вақти, дақиқа	Органик кислоталар	Миқдори, %
3,105	вино	3,580
3,524	олма	2,940
3,774	аскорбин	0,120
3,932	сирка	0,520
4,610	лимон	1,900
5,081	кахрабо	2,500

Каротиноидларни сифат таҳлили юпқа қаватли хроматография усули ёрдамида олиб борилди. Таҳлил натижасида каротиноидлар аниқланди, улардан учтаси α - β - γ - каротинларга тўғри келди.

Каротиноидларни миқдорий таҳлили спектрофотометрия ёрдамида аниқланди ($8,05 \pm 0,75$ мг%).

Ўтлоқ себарга ер устки қисмидаги углеводли комплексни ўрганишида даставвал бўёвчи моддалар ва паст молекулали бирикмаларни бартараф этиш учун хом ашёга хлороформ билан уч мартаба ишлов берилди, кейин этанолбилан экстракция қилинганда спиртда эрийдиган қандлар (фруктоза, сахароза и глюкоза) экстрактга ўтди. Шундан сўнг, хом ашёни иссиқ сувда (сувда эрийдиган полисахаридлар - 1,09 г ёки 4,12%), оксалат кислота ва аммоний оксалатнинг 0,5%ли эритмаларининг 1:1 нисбатдаги аралашмаси (пектин моддалар - 0,67 г ёки 2,77%) ва натрий гидроксиднинг 5% эритмаси (гемицеллюлоза - 1,66 г ёки 5,06%) ёрдамида босқичма-босқич селектив экстракция қилиш орқали полисахаридлар этанол билан чўкмага тушириб ажратиб олинди.

Полисахаридлар таркибидаги идентификацияланган моносахаридларнинг қолдиқларини ГСХ усули ёрдамида аниқланди. Газ суюқ хроматографиясида аланга-ионланиш Chrom-5 детекторли, шиша колонкали (250x0,3см), 5% ХЕ билан тўлдирилган, газ-ташувчи гелий, 60мл/дақ, 200°С да хроматограмма намуналари ацетат алдонитритлар кўринишида олинди. Углеводлар йиғиндисининг таҳлил натижалари 5-жадвалда келтирилган.

5-жадвал

Ўтлоқ себарга ер устки қисмидаги полисахаридлар ва улар таркибидаги моносахаридларни миқдори

Ажратиб олинган полисахаридлар	Унум, %	Моносахаридлар таркиби							
		галактоза Gal	глюкоза Glu	ксилоза Xyl	арабиноза Ara	рамноза Rha	фруктоза Frc	сахароза Sucr	галактурон кислотаси GalUA
Сувда эрийдиган полисахаридлар СЭПС	4,12	1,6	2,66	1,0	8,0	2,0	+	+	+
Пектин моддалар ПМ	2,77	1,5	1,0	2,4	2,55	1,0	+	+	+
Гемицеллюлоза ГМЦ	5,06	3,2	1,0	1,4	6,0	1,28	+	+	+

Ушбу 5-жадвалдаги таҳлил натижаларига кўра маҳсулот таркибида энг кўп миқдорда ГМЦ эканлиги ҳамда моносахаридлардан арабиноза доминант эканлигини аниқланди.

Маҳсулотдаги элемент таркибини ўрганишида индуктив боғланган плазмали масс-спектрометрия усули ёрдамида аниқланди. Текширилаётган намуналарни парчалаш учун азот кислотаси ишлатилди. Олинган эритмалар таҳлили спектрал-аналитик комплекс ICP-MSAT 7500 “Agilent Technologies” (АҚШ) Semiquant тартибида олиб борилди.

Таҳлил натижасида 42 минерал элементлар мавжудлиги аниқланди. Аниқланган элементларни улар миқдорини камайиши бўйича қуйидаги кетма-кетликда жойлаштириш мумкин: K> Ca> Fe> Se> Mg> Na> Cr> Ni> Al>Sr>Mn>Zn>Br>Ba>Ti>Cu>Mo>I>B>Rb>Li>V>As>Hg>Co=Pb> Pd >W > Sn=Sb>Sc>Cs>U>Nb>Cd>Bi>Te>TI>Ir=Hf>Be>In.

Токсик минерал элементлар миқдорлари белгиланган МХ талабига жавоб берди.

Олинган натижалар ўтлоқ себарга ўтининг таркибини биологик қимматлигини тавсифлайди.

Маҳаллий доривор ўсимлик маҳсулоти ўтлоқ себарга ер устки қисми, субстанция-ўтлоқ себаргаси ўсимлигининг куруқ экстракти ва ўтлоқ себаргаси ўсимлигининг куруқ экстракти асосидаги «Диабефор» капсулалари дори воситасини тиббиёт амалиётига татбиқ этиш мақсадида стандартлаш билан боғлиқ тажриба маълумотлар диссертациянинг тўртинчи “Тадқиқот натижаларининг амалий қўллаш билан боғлиқ масалалар ечими” бобида келтирилган.

Ўтлоқ себарга ўсимлигини гипогликемик таъсири энг аввало унинг таркибидаги пинитол моддасининг специфик биологик фаоллиги билан боғлиқ. Шуни инобатга олган ҳолда маҳсулотни стандартлаш ишларида

сифатини белгиловчи асосий мезон сифатида пинитол моддаси танлаб олинди. Хом ашёнинг чинлиги унинг ташқи ва анатомик-диагностик белгиларини ўрганиш, асосий таъсир этувчи моддаларни сифат реакциялари натижалари бўйича аниқланди.

Ўтлоқ себарга ер устки қисми таркибидаги пинитолни миқдорини юқорида келтирилган ЮССХ усули ёрдамида аниқланди.

Пинитолни тўпланиш динамикаси ер устки қисми таркибида ўсимликнинг онтогенезида аста-секин кўпайиб боради ва гуллаш даврида максимал даражага етади ($4,46 \pm 0,84\%$), сўнгра камаяди. Шу муносабат билан, кўрсатилган муддат хом ашёни тайёрлашнинг оптимал муддати сифатида белгиланди. Пинитол миқдорининг мавсумий динамикаси ҳақидаги маълумотлардан биз ўтлоқ себарга ер устки қисмини тайёрлаш ва қуритиш бўйича йўриқнома ишлаб чиқишда фойдаландик. Олиб борилган пинитолнинг миқдорини аниқлаш натижаларига асосан унинг ўтлоқ себарга ер устки қисмидаги миқдори 3%дан кам бўлмаслиги белгиланди.

Ўтлоқ себарга ер устки қисмининг 5 та партиясида олиб борилган кимёвий ва товаршунослик таҳлиллар асосида тавсия этилаётган маҳсулотни сифатини белгиловчи сонли кўрсаткичлари аниқланди (6-жадвал).

6-жадвал

Ўтлоқ себарга маҳсулотини сонли кўрсаткичлари

Кўрсаткичлар номи	Маҳсулот учун стандарт	
	бутун	майдаланган
Пинитол миқдори, % дан кам эмаслиги	3,0	3,0
Намлиги, % дан ошмаслиги	10,0	10,0
Умумий кули, % дан ошмаслиги	10,0	10,0
10% ли хлорид кислотасида эримайдиган кул, % дан ошмаслиги	1,0	1,0
Сарғайган ва қорайган ер устки қисми, % дан ошмаслиги	7,0	7,0
7 мм диаметри элакдан ўтмайдиган зарралар, % дан ошмаслиги	-	4,0
0,25 мм диаметри элакдан ўтайдиган зарралар, % дан ошмаслиги	-	3,0
Органик аралашмалар, % дан ошмаслиги	1,0	1,0
Минерал аралашмалар, % дан ошмаслиги	1,0	1,0

Табиий сақлаш шароитида ўтлоқ себарга хом ашёсининг турғунлигини ўрганиш унинг ташқи белгилари ва сон кўрсаткичларини 3 йил давомида деярли ўзгармаслигини кўрсатди. Шунинг учун ўтлоқ себарга ер устки қисмидан тайёрлаган вақтидан бошлаб 3 йил давомида фойдаланиш тавсия этилади.

Турли давлатларнинг меъёрий ҳужжатларига киритилган доривор ўсимлик воситаларини сифати ва тадқиқот усулларига қўйиладиган талабларнинг уйғунлаштиришнинг замонавий тенденцияларини ҳисобга олган ҳолда, тақлиф этилаётган хом ашёнинг сифати ва хавфсизлигини белгиловчи кўрсаткичлар қаторида микробиологик тозалик, радионуклидлар, пестицидларнинг қолдиқлари аниқланди. Тадқиқот натижалари ўтлоқ себарга ер устки қисмининг экологик тозаллиги ва қўллашда хавфсизлиги тўғрисида хулоса чиқаришга имкон берди.

Олинган маълумотлар асосида ЎзР ФА С.Ю.Юнусов номли Ўсимлик моддалари кимёси институтининг саноат маҳсулотларини ишлаб-чиқариш лабораториясида бизнинг иштирокимизда ишлаб чиқарилган ўтлоқ себарганинг куруқ экстракти ва «Remedy Group» МЧЖ ҚҚда унинг асосидаги «Диабефор» капсулалари дори воситасини ишлаб-чиқариш билан боғлиқ назарий ва амалий масалаларни ечими ҳал этишга хизмат қилди.

Куруқ экстракт олишда осон, иқтисодий томондан арзон (асосий таъсир этувчи биофаол моддалар йиғиндисини ўсимлик маҳсулотидан ажратиб олиш сув ёрдамида амалга оширилади) ва хавфсиз технология, ҳамда 20-23% тайёр маҳсулотни олиш имконини берадиган ҳамда экстракт таркибига асосий таъсир этувчи моддаларни максимал ажралиб чиқишини таъминлаб ва физиологик фаолликни сақлаш имконини беради.

Олинган натижалар шуни кўрсатдики, куруқ экстрактнинг сифат кўрсаткичлари фармакопея талабларига жавоб берди.

Клиник олди фармакологик тадқиқотлар натижасида, пинитол сақловчи ўтлоқ себаргасини куруқ экстрактини безарарлигини ва организмга нојўя таъсирини йўқлиги билан биргаликда сезиларли гипогликемик таъсир кўрсатади, шунингдек, гепатопротектор, яллиғланишга қарши ва пешоб ҳайдовчи таъсирни ҳам намоён қилади. Хусусан, алиментар, адреналин, аллоксан ва глюкозали моделларида ўтлоқ себарга ер устки қисми куруқ экстракти гипогликемик фаоллиги бўйича хорижий намуна Ҳиндистонда ишлаб чиқариладиган «Глукейр» дори воситасидан қолишмайди.

Қайд этилган ўсимлик воситаларини стандартлаш, хом ашёни пинитол бўйича стандартлаш сингари амалга оширилди, яъни хом ашё-субстанция-тайёр дори шакли қатордаги кўрсаткичлар, меъёрлар ва сифатини баҳолаш усуллар унификациясини таъминловчи ягона “туташ” стандартлаш усулидан фойдаланилди.

Олинган натижалар асосида «Remedy Group» МЧЖ ҚҚ билан биргаликда ўтлоқ себаргаси ер устки қисми, субстанцияси-куруқ экстракт ва унинг дори воситаси “Диабефор” капсулаларидан тиббиёт амалиётида фойдаланишга рухсат олиш учун КФМ лойиҳаси ишлаб чиқилди ва ЎзР ССВ нинг “Дори воситалари, тиббий ашё ва тиббий техника экспертизаси ва стандартизация давлат маркази” ДУКга кўриб чиқиш учун тақдим этилди.

“Диабефор” капсулалар клиник синовдан ўтказиш учун ЎзР ССВ Фармакология кўмитасининг қарорига мувофиқ розилиги олинди (25.04.2017 йилдаги 29/03-506-сонли хати) ва ЎзР ССВ Этика Кўмитасининг 21.12.2017 йилдаги 9-сонли қарорига мувофиқ клиник синовларни ўтказиш учун клиник базалар белгиланди (08.01.2018 йилдаги 9/16-сон маълумотномаси).

Ўзбекистон Республикаси интеллектуал мулк агентлигига ўтлоқ себаргаси куруқ экстракти асосида гепатопротектор таъсирли ва ўтлоқ

себаргаси курук экстракти асосида пешоб ҳайдовчи дори воситаси бўйича патент олиш учун талабнома юборилиб, ушбу №IAP 20170041 ва №IAP 20170315 сонли талабномалар бўйича дастлабки экспертизадан ўтганлиги тўғрисида қарори олинган.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор маҳаллий флоранинг себарга ўсимлиги турлари бўйича фармакогностик тадқиқот олиб борилди.

2. Илк бор Ўзбекистонда ўсадиган себарга ўсимлигининг 7 та турини ер устки қисмини морфологик-анатомик тузилиши ўрганилди. Тадқиқотлар натижасида маҳаллий себарга турларини ташқи кўриниши ва микроскопик тузилиши бўйича маҳсулотни идентификация қилиш учун диагностик кўрсаткичлари аниқланди.

3. Себарга ўсимлигини 7 та тури таркибидаги асосий таъсир этувчи биологик фаол моддаларлар сифат ва миқдор кўрсаткичлари аниқланди ҳамда асосий моддалари пинитол ва изофлавоноидлар эканлиги ва улар энг кўп миқдорда ўтлоқ себаргаси ўсимлиги таркибида мавжудлиги аниқланди. Юқоридагиларни инобатга олган ҳолда, ҳамда ўтлоқ себарга маҳсулотини кенг тарқалганлиги ва тиббиёт амалиётига татбиқ этиш мақсадида ушбу ўсимлик тури танлаб олинди.

4. Комплекс фармакогностик ва клиник олди тадқиқотлар натижасида ўтлоқ себаргаси гипогликемик таъсирга эга янги самарали ва безарар дори воситаси сифатида тавсия этилди.

5. Ўтлоқ себаргасини ер устки қисми таркибидаги унинг ўзига хос фаоллигини белгиловчи биологик фаол моддалар мажмуаси пинитол, изофлавоноидлар, аминокислоталар, ёғ кислоталар, каротиноидлар, органик кислоталар, ошловчи моддалар, моно- ва полисахаридлар, минерал моддалардан иборат эканлиги аниқланди. Ҳом ашёдаги биологик фаол моддаларнинг асосий гуруҳлари таркиби ва миқдори белгиланди.

6. Тавсия этилаётган ҳом ашёни стандартлаш тизими таклиф этилди: асосий таъсир этувчи модда - пинитолни сифат ва миқдорини аниқлаш усуллари ишлаб чиқилди; ҳом ашёнинг чинлигини ва сифат кўрсаткичлари тавсифлари аниқланди, тажрибада уларни тайёрлаш ва сақлашнинг муътадил муддатлари ишлаб чиқилди.

7. Ўтлоқ себаргаси ўсимлигининг курук экстракти ва унинг асосидаги «Диабефор» капсула дори воситани яратиш ва стандартлашнинг назарий ва амалий жиҳатлари ечими топилди.

8. Олинган маълумотлар асосида тиббиёт амалиётида фойдаланишга руҳсат олиш мақсадида юқорида кўрсатилган дори воситаларга, КФМ лойихаси ишлаб чиқилди ва ЎзР ССВнинг «Дори воситалари, тиббий ашё ва тиббий техника экспертизаси ва стандартизация давлат маркази» ДУКга кўриб чиқиш учун тақдим этилди.

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

ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

ХАЛИЛОВА Шахноза Равшановна

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВ
КЛЕВЕРА, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УЗБЕКИСТАНЕ**

15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия

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

Ташкент – 2018

Тема диссертации доктора философии (PhD) по фармацевтическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2017.1.PhD / Far9.

Диссертация выполнена в Ташкентском фармацевтическом институте.

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

Научный руководитель: **Урманова Флюра Фаридовна**
доктор фармацевтических наук, профессор

**Официальные
оппоненты:** **Юлдашев Зокиржон Обидович**
доктор фармацевтических наук, профессор

Патсаев Анапия Каныбекович
доктор химических наук, профессор, академик

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

Защита диссертации состоится «___» _____ 2018 г. в ___ часов на заседании Научного совета DSC.27.06.2017Far.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 «___» _____ 2018 г.
(реестр протокола рассылки № ___ от «___» _____ 2018 г.).

И.И.Алимджанов

Председатель Научного совета
по присуждению ученых степеней
д.мед.н., профессор

Р.Т.Туляганов

Ученый секретарь Научного
совета по присуждению ученых
степеней д.б.н., профессор

С.Н.Аминов

Председатель Научного
семинара при Научном совете по
присуждению ученых степеней
д.х.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации (PhD) доктора философии)

Актуальность и востребованность темы диссертации. Для лечения заболеваний во всем мире уделяется большое внимание использованию лекарственных средств на растительной основе, чем синтетическим препаратам. По данным Всемирной организации здравоохранения, в настоящее время в мире более 150 млн. людей больны сахарным диабетом, из которых 80-90% приходится на больных диабетом 2-го типа. Предполагается, что к 2025 году этот показатель увеличится до 300 млн. человек. При лечении сахарного диабета благодаря комплексному действию и безвредности большим спросом пользуются лекарственные средства на растительной основе.

Учитывая эффективность и безопасность лекарственных растительных препаратов, во всем мире уделяется особое внимание научным исследованиям в этом направлении. В этой связи поиск новых видов растений отечественной флоры, выявление новых веществ, а также обоснование оптимальных условий для создания лекарственных средств и внедрение в фармацевтическую практику перспективных видов клевера, считается приоритетным направлением.

Республика Узбекистан является богатейшим регионом сосредоточения лекарственных растений. Лечебные свойства клевера известны издавна. В народе клевер популярен, его используют при самых разных заболеваниях. Широкие возможности, созданы в годы независимости явились важным фактором для развития фармацевтической промышленности. Разработка эффективных, дешевых, импортзамещающих лекарственных средств на основе местных растений и проведение работ по их промышленному производству и экспорту для удовлетворения потребностей мировых клиентурных рынков является требованием времени. Стратегия действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определила основное направление развития фармацевтической отрасли: «развивать фармацевтическую промышленность, улучшать обеспечение населения и медицинских учреждений дешевыми, качественными лекарственными средствами»¹. Отмеченные обстоятельства и широкое распространение видов клевера на территории нашей республики обосновывают актуальность использования их в качестве лекарственного растительного сырья с широким терапевтическим действием, в том числе для лечения сахарного диабета, решения вопросов его стандартизации и внедрения в производство.

Данная работа в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Постановлениями Президента Республики Узбекистан «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики

¹ Указ Президента Республики Узбекистан №УП-4947 от 7 февраля 2017 года "О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан" // «Народное слово», 8 февраля 2017 года

Узбекистан»,

Узбекистан», ПП-3137 от 17 июля 2017 года «Дополнительные меры по совершенствованию системы обеспечения населения лекарственными средствами и изделиями медицинского назначения», ПП-3489 от 23 января 2018 года за «О мерах по дальнейшему упорядочению производства и ввоза лекарственных средств и изделий медицинского назначения», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

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

Степень изученности проблемы. Ретроспективный анализ литературы показал, что в трудах великого Абу Али ибн Сино клевер луговой описан под названием «хандакука». В настоящее время широко известны результаты исследований по созданию лекарственных средств на основе местного сырья таких отечественных ученых, как Х.Х. Холматов, Т.П. Пулатова, А.Я. Ибрагимов, Х.М. Комилов, Ф.Ф. Урманова, С.Н. Аминов, У.М. Азизов, А.К. Ганиев.

Клевер является предметом изучения ученых разных стран. Необходимо отметить исследования Бабаскина В.С., Ботирова Э.Х., Дренина А.А., Казакова А.Л., Atkinson Ch., Banisalam B., Clare A.M., Day N.E., Dunning A.M, Dowling C., Dowsett M., Esmaeili A.Kh., Frydenberg M., Healey C.S, Husband A.J., Jarred R.A., Keikha M., Khazaei M., Li S., Liu S., Mohajer S., Risbridger G.P., Runswick Sh., Sala E., Scollen S., Sun Z., Taha R.M., Tian O., Pedersen J.S., Warren R.ML. Ими выявлен комплекс разнообразных, сложных по своему химическому составу биологических активных веществ видов клевера, обуславливающий их терапевтическую эффективность, зависимость химического состава видов от местности их произрастания, разработаны рекомендации по применению, во многих случаях в виде биологических активных добавок.

Отечественные виды клевера следует отнести к числу практически неизученных в фитохимическом отношении растений. Отсутствуют нормативная документация, регламентирующая подлинность и качество сырья; остается открытой морфолого-анатомическая диагностика видов клевера для объективной оценки их подлинности; нет утвержденных методик качественного и количественного определения основных действующих веществ.

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

Целью исследования является фармакогностическая характеристика видов клевера отечественной флоры для обоснования возможности использования их в медицинской практике в качестве лекарственного растительного сырья и создания эффективных лекарственных средств на их основе.

Задачи исследования:

обосновать перспективность использования видов клевера флоры Узбекистана в качестве лекарственного растительного сырья на основании ресурсоведческого и химического анализов, изучения современного состояния степени изученности, структурного разнообразия и биологической активности представителей рода *Trifolium* L.;

изучить морфолого-анатомическое строение семи видов клевера отечественной флоры и выявить анатомо-диагностические признаки, необходимые для идентификации растительного сырья;

изучить химический состав представителей рода *Trifolium* L. с целью выявления основных групп биологически активных веществ; выявить наиболее перспективный вид клевера - источника пинитола и изофлавоноидов, обуславливающих его специфическую активность;

разработать методику качественного и количественного определения пинитола и изофлавоноидов в исследуемом сырье, сухом экстракте на его основе и в его лекарственной форме;

разработать методические подходы к параметрам стандартизации сырья и лекарственных средств на его основе по доминирующему компоненту, обуславливающему их специфическую активность; определить показатели и нормы качества, предлагаемых лекарственных средств, для разработки проектов фармакопейных статей предприятия;

на основании проведенных исследований разработать нормативную документацию, на предлагаемые лекарственные средства, и представить в ГУП «Государственный Центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники» Министерства здравоохранения Республики Узбекистан для получения разрешения на использование в медицинской практике.

В качестве объекта исследования использованы образцы надземные частей отечественных представителей рода *Trifolium* L.: к. полевой - *T.campestre* S., к. земляничный - *T.fragiferum* L., к. репейниковый - *T.lappaceum* L., к. пренебреженный - *T.neglectum* C., к. ползучий - *T.repens* L., к. опрокинутый - *T.resupinatum* L., а также надземная часть, корень, семена к. лугового - *T.pratense* L.

Предметом исследования было определение основных действующих веществ видов клевера, обуславливающих их биологическую активность, а также решение вопросов, связанных со стандартизацией и внедрением в медицинскую практику перспективного вида - клевера лугового и лекарственного средства на основе его сухого экстракта.

Методы исследований. В работе использованы физико-химические,

химические, фармакологические, технологические методы анализа. Контроль качества разработанных лекарственных средств проведен по требованию общих фармакопейных статей «Методы анализа лекарственного растительного сырья», «Экстракты» (ГФ XI, 1,2 части) с использованием методик количественного анализа, приведенных в ГФ XI: спектрофотометрии, масс-спектрометрии (ICP-MSAT-7500, США), высокоэффективной жидкостной хроматографии (Agilent technologies 1100, США), газожидкостной хроматографии (Agilent 6890 N, США), ионообменной хроматографии (аминокислотный анализатор «Т-339», Чехия). Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

на основании сравнительного морфолого-анатомического исследования надземной части семи видов клевера отечественной флоры впервые установлены анатомо-диагностические признаки, необходимые для идентификации лекарственного растительного сырья;

впервые разработаны оптимальные условия извлечения пинитола и изофлаваноидов из сырья представителей рода *Trifolium* L.; разработаны методики качественного и количественного определения пинитола и суммы изофлавоноидов в пересчете на формонетин;

установлено содержание пинитола и изофлавоноидов в различных органах клевера лугового. Определен химический состав перспективного вида клевера – клевер луговой;

впервые разработана система стандартизации для оценки качества сырья клевера лугового и лекарственных средств на его основе. Установлены анатомо-диагностические признаки и показатели, характеризующие их качество, экологическую чистоту и безопасность применения сырья клевера лугового;

разработаны методические приемы качественного и количественного определения пинитола в предлагаемом сырье изучена динамика его накопления, установлены нормы содержания пинитола, экспериментально обоснованы допустимые сроки его хранения;

обоснована специфическая активность и фармако-токсикологические свойства оригинального лекарственного средства на основе сухого экстракта клевера лугового.

Практические результаты исследования. Впервые теоретически обобщены и экспериментально развиты представления о химической природе биологически активных веществ семи представителей рода *Trifolium* L., произрастающих в Узбекистане;

в результате проведенного исследования предложен новый источник пинитола и изофлавоноидов отечественной флоры - клевер луговой. Надземная часть клевера лугового рекомендована в медицинскую практику в качестве самостоятельного лекарственного средства с выраженной гипогликемической активностью, а также для получения

лекарственных средств - сухого экстракта и капсул «Диабефор» на его основе;

в СП ООО «Remedy Group» разработана технология сухого экстракта клевера лугового и капсул «Диабефор» на его основе, также разработана инструкция по сбору и сушке сырья надземной части клевера лугового, произрастающего в Узбекистане.

Достоверность результатов исследования. Полученные результаты исследований подтверждены на основе современных математических, статических методов анализа, результатами клинических испытаний и в процессе опытно-промышленного производства. Лабораторные исследования обоснованы и апробированы экспериментальными данными, полученными с использованием современных методов анализа - масс-спектрометрии (ICP-MS AT 7500, США), высокоэффективной жидкостной хроматографии (Agilent 1100, США), газо-жидкостной хроматографии (Agilent 6890 N, США).

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования определяется расширением знаний о морфолого-анатомическом строении и химическом составе отечественных видов клевера, которые послужили основой для разработки нового лекарственного растительного средства антидиабетического действия, не уступающего по терапевтической эффективности и экономичности зарубежным аналогам. Предложен новый источник пинитола и изофлавоноидов, а также разработана технология получения капсул на основе сухого экстракта сырья клевера лугового.

Практическая значимость работы состоит в том, что капсулы «Диабефор» на основе сухого экстракта клевера лугового рекомендованы в медицинскую практику в качестве антидиабетического средства, в удовлетворении потребностей населения, страдающего сахарным диабетом, в оригинальном, недорогом, безвредном, эффективном, отечественном лекарственном средстве; в расширении арсенала лекарственных средств растительного происхождения для профилактики и лечения сахарного диабета. Разработанный антидиабетический препарат «Диабефор» капсулы не уступают зарубежным импортным препаратам.

Внедрение результатов исследования. На основании научных результатов, полученных при изучении химического состава отечественных видов клевера, в частности, надземной части клевера лугового, а также разработки методов стандартизации предлагаемого сырья и созданных на его основе лекарственных средств:

получен патент на изобретение агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан на сухой экстракт травы клевера лугового (IAP 05095, 25.09.2015 г.). В результате сухой экстракт послужил основой для получения оригинального лекарственного средства;

совместно с СП ООО «Remedy Group» разработаны проекты ФСП на лекарственное сырье-траву клевера лугового, субстанцию-сухой экстракт

клевера лугового и лекарственное средство на его основе - «Диабефор» капсулы, которые зарегистрированы ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, медицинских изделий и медицинской техники» Министерства здравоохранения Республики Узбекистан (решение Фармакологического комитета №7 от 19 апреля 2017 года), а также получено разрешение на проведение клинических испытаний Этического комитета Министерства здравоохранения Республики Узбекистан (письмо Этического комитета №9/16 от 8 января 2018 года), (письмо Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №8н-3/280 от 15 октября 2018 года). В результате данного проекта имеется возможность внедрения эффективного и безопасного местного растительного лекарственного препарата от сахарного диабета.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований обсуждены на 6 международных и 8 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликованы 36 научные работы, из них 1 патент, 22 научные статьи в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора философии (PhD), в том числе 14 статей опубликованы в республиканских и 8 статей в зарубежных журналах.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, выводов, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 120 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

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

Первая глава «**Общая характеристика видов клевера**» включает сведения о результатах исследований видов клевера отечественными и зарубежными учеными, о химическом составе и применении клевера лугового в медицинской практике.

Заготовка и подготовка сырья к анализу, результаты выявления анатомо-диагностических признаков 7 видов клевера изложены во второй главе под названием «**Морфолого-анатомическое изучение видов рода *Trifolium* L., произрастающих в Узбекистане**». Макро- и

микроскопические признаки сырья определены в соответствии с требованиями ГФ XI.

В результате исследования установлены следующие анатомо-диагностические признаки изученных видов клевера:

-эллиптическая, широко обратно яйцевидная форма листочка тройчатого листа, двухклеточные бородавчатые волоски, извилистые стенки клеток эпидермиса (*T.pratense*, *T.lappaceum*, *T.repens*, *T.campestre*) и прямолинейные (*T.fragiferum*, *T.resupinatum*, *T.neglectum*), аномоцитный (*T.pratense*), анизоцитный (*T.repens*), парацитный (*T.fragiferum*, *T.neglectum*), диацитный (*T.resupinatum*) и гемипарацитный (*T.lappaceum*, *T.campestre*) тип устьичного аппарата; мезофилл: изогубчатый (*T.pratense*) и дорсивентральный (палисадная паренхима: одно-рядная – (*T.campestre*, *T.neglectum*, *T.repens*); двух-рядная – *T.fragiferum*, *T.resupinatum*; трех-рядная – (*T.lappaceum*), губчатая паренхима состоит из 5-7 рядов обильно заполнена хлоропластами (*T.campestre*, *T.resupinatum*), имеются межклетники (*T.pratense*, *T.repens*), проводящие пучки у всех видов коллатеральные;

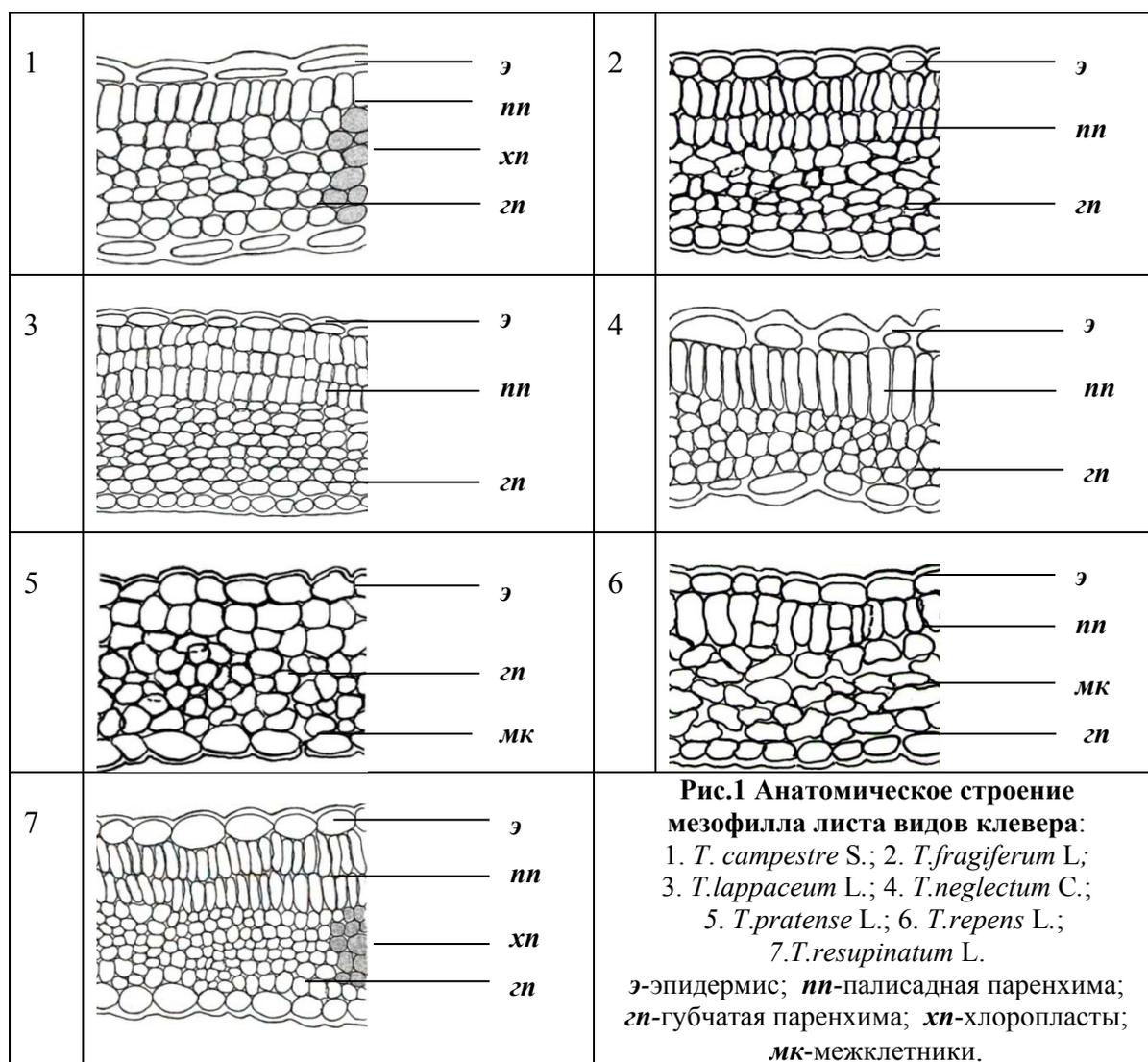
-клетки эпидермиса лепестка венчика и чашелистника - треугольно-лопатчатой формы с выемкой, на верхушке вытянутые (*T.pratense*), продолговатые, со слабо извилистыми стенками, 5-6 угольные (*T.campestre*), вытянутые, 4-5 угольные, со слегка извилистыми стенками (*T.resupinatum*), устьица анизоцитного и гемипарацитного типа (которые у остальных видов не встречаются), для чашечки *T.pratense* характерны клетки эпидермиса с тонкими, прямыми стенками и сосочковидными выростами, двухклеточные волоски и железки; волосков чашелистника цветка-волоски одноклеточные, мелкие;

-у стебля простые двухклеточные волоски с бородавчатой поверхностью и железки с 5-7-клеточной головкой на 4-5-клеточной ножке; клетки эпидермиса слабо извилистые; строение пучковое; пучки коллатеральные, перфорационные пластинки сосудов простые, сосудистая поровость очередная.

На рисунке 1 показано анатомическое строение мезофилла листа клевера.

Принимая во внимание широкий спектр физиологического действия пинитола и изофлавоноидов, наличие их в видах клевера, в третьей главе **«Поиск перспективного лекарственного растительного сырья среди видов рода *Trifolium* L.»** изучена возможность мобилизации сырья отечественных видов клевера для разработки эффективных пинитол- и изофлавоноид содержащих лекарственных средств.

Для качественного обнаружения пинитола в сырье рекомендуется использование распределительной хроматографии в тонких слоях сорбента на пластинках «Silufol UV-254» в системе растворителей этилацетат-метанол (3:2). При проявлении хроматограмм концентрированной серной кислотой должно обнаруживаться пятно красновато-коричневого цвета



с $R_f 0,60$, соответствующее стандартному образцу пинитола.

Содержание пинитола определяли методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1100. Детектирование осуществляли с помощью программируемого рефрактометрического детектора с переменной длиной волны на нормально-фазовой хроматографической колонке размером 25x0,46см, Ultrasphere - amino размером частиц 5 мкм (Beckman, США) при комнатной температуре. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и воды в соотношении 75:25, предварительно дегазированную и профильтрованную через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм. Скорость подачи элюента составляла 1 мл/мин, продолжительность анализа - 20 мин.

Результаты исследования приведены на рисунке 2,3 и в таблице 1.

Из данных, приведенных в таблице 1, следует, что наибольшее количество пинитола содержится в траве клевера лугового.

При исследовании содержания пинитола в различных органах растения наибольшее количество его установлено в надземной части > семенах > корнях.

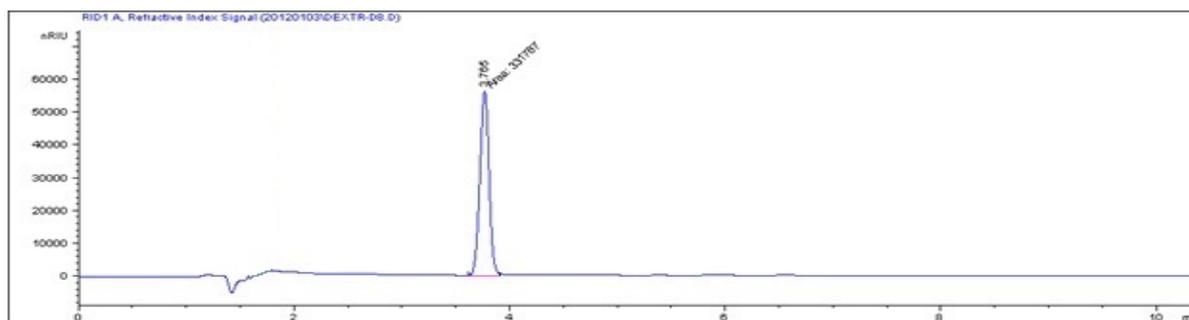


Рис.2. Хроматограмма РСО пинитола

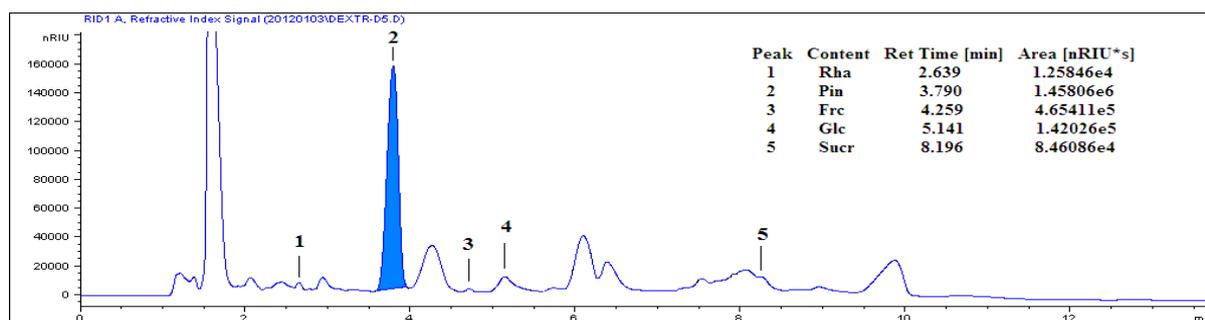


Рис.3. Хроматограмма пинитола и сахаров в траве клевера лугового

Таблица 1

Количественное содержание пинитола и сахаров в видах клевера

Виды клевера	Пинитол, Pin %	Сахара Sug, %					
		араби- ноза Ara	глю- козаG lc	ман- ноза Mann	рам- ноза Rha	сахаро- розаS ucr	фрук- тоза Frc
T.campestreS.	0,020	-	0,320	-	0,110	0,740	2,050
T.fragiferum L.	2,100	-	0,450	-	0,270	0,310	0,620
T.lappaceum L.	0,008	0,017	0,350	0,007	0,240	0,820	1,200
T.neglectum C.	2,400	-	0,180	-	0,530	0,360	1,260
T.pratense L.	4,060	0,345	0,430	-	0,040	0,200	1,010
T.repens L.	0,800	-	0,210	-	0,300	0,600	-
T.resupenatumL.	0,042	0,305	0,575	0,038	0,022	1,600	1,500

**Идентификация пинитола и сахаров осуществлялась одновременно. Это объясняется близостью метаболического происхождения, их физических и хроматографических свойств.*

Для качественного обнаружения изофлавоноидов в сырье рекомендуется использование распределительной хроматографии в тонких слоях сорбента на пластинках «Silufol UV-254» в системе растворителей хлороформ-метанол-муравьиная кислота (31:1:0,15). После проявления хроматограмм парами аммиака в УФ-свете должно обнаруживаться пятно темно - коричневого цвета с R_f 0,58, соответствующее стандартному образцу формонетина.

Для количественного определения изофлавоноидов использовали метод прямой спектрофотометрии. Были изучены УФ-спектры водно-спиртовых извлечений из надземной части клевера лугового. Регистрацию спектров проводили с помощью спектрофотометра «Agilent 8453». Максимум поглощения извлечения из исследуемого сырья отмечен при

длине волны 260 ± 5 нм. С ним практически полностью совпадал максимум поглощения РСО формонетина. Отмеченное обстоятельство указывает на возможность использования формонетина в качестве стандарта.

Экспериментально установлены оптимальные условия извлечения изофлавоноидов из сырья: экстрагент–60% спирт этиловый, измельченность сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм, нагревание на кипящей водяной бане в течение 45 мин, соотношение сырья: экстрагента – 1:30, при которых извлечение изофлавоноидов происходит максимально.

По мере убывания содержания изофлавоноидов в пересчете на формонетин и абсолютно сухое сырье (в %) исследованные виды можно расположить в следующей последовательности: *T.pratense* ($4,35 \pm 0,04$) > *T.lappaceum* ($2,05 \pm 0,07$) > *T.fragiferum* ($1,80 \pm 0,03$) > *T.neglectum* ($1,54 \pm 0,05$) > *T.resupenatum* ($1,35 \pm 0,02$) > *T.campestre* ($1,28 \pm 0,05$) > *T.repens* ($1,10 \pm 0,04$).

Таким образом, в результате сравнительного изучения семи отечественных видов клевера на содержание пинитола и изофлавоноидов установлено наибольшее содержание их в траве клевера лугового. Поэтому этот вид отобран нами для более глубокого изучения. Далее приводятся результаты исследования состава его биологически активных веществ.

Для определения аминокислотного состава использовали аминокислотный анализатор марки Т-339 (Mikrotechna - Prague) с программным управлением (табл.2).

Таблица 2

Аминокислотный состав травы клевера лугового

№	Идентифицированные аминокислоты		Содержание аминокислот, μmol	Содержание аминокислот, в %	Содержание аминокислот, % от общей суммы
1	Аланин	Ala	16,67	0,30	4,20
2	Валин*	Val	11,79	0,28	3,92
3	Глицин	Gly	19,87	0,30	4,20
4	Изолейцин*	Ile	8,56	0,22	3,08
5	Лейцин*	Leu	15,85	0,42	5,88
6	Серин	Ser	15,57	0,33	4,62
7	Треонин*	Thr	10,71	0,25	3,50
8	Метионин*	Met	1,72	0,05	0,70
9	Фенилаланин *	Phe	11,81	0,39	5,46
10	Тирозин	Tyr	7,37	0,27	3,78
11	Глутамин	Glu	60,00	1,76	24,65
12	Аспарагин	Asp	31,91	0,85	11,90
13	Аргинин*	Arg	29,71	1,03	14,43
14	Лизин*	Lys	9,47	0,28	3,92
15	Гистидин*	His	7,57	0,21	2,95
16	Пролин	Pro	8,70	0,20	2,80
*-незаменимые аминокислоты					
Общая сумма аминокислот				7,14	
Сумма незаменимых аминокислот				3,13	43,84

Установлено, что специфический набор аминокислот изучаемого растения включает 16 аминокислот, из которых 9 являются незаменимыми.

Из приведенных данных следует, что мажорными компонентами аминокислотного состава надземной части клевера лугового являются глютаминовая, аспарагиновая кислоты и аргинин.

При исследовании состава жирных кислот липидов надземной части клевера лугового использован метод ГЖХ на приборе Agilent Technologies 6890 N (США) с пламенно-ионизационным детектором. В результате выявлены 16 жирных кислот, среди которых доминируют пальмитиновая, олеиновая, линолевая и линоленовая кислоты (88,8% от суммы жирных кислот). Сумма ненасыщенных жирных кислот составляет более 60% (табл.3).

Таблица 3

Состав жирных кислот липидов надземной части клевера лугового

№	Время удерживания, мин.	Идентифицированные кислоты	Содержание, % от суммы жирных кислот
1.	3,052	Каприновая, 10:0	0,13
2.	5,588	Лауриновая, 12:0	0,73
3.	9,633	Миристиновая, 14:0	1,11
4.	11,911	Пентадекановая, 15:0	0,70
5.	13,733	Пальмитолеиновая, 16:1	0,48
6.	14,268	Пальмитиновая, 16:0	23,43
7.	16,491	Маргаринаовая, 17:0	0,63
8.	18,057	Линолевая, 18:2	28,65
9.	18,221	Олеиновая+Линоленовая, 18:1+ 18:3	36,75
10.	18,719	Стеариновая, 18:0	4,16
11.	22,372	Эйкозеновая, 20:1	0,20
12.	22,906	Арахидиновая, 20:0	1,11
13.	26,818	Бегеновая, 22:0	0,89
14.	30,453	Лигноцериновая, 24:0	0,83
15.	34,240	Церотиновая, 26:0	0,20
Σнасыщ. кислоты			33,92
Σненасыщ. кислоты			66,08

Методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 изучены состав и количественное содержание органических кислот травы клевера лугового (рис. 4).

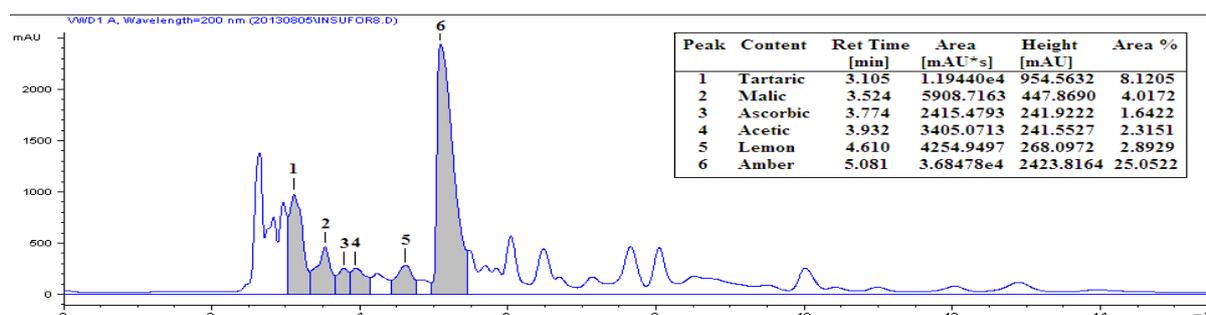


Рис.4. Хроматограмма органических кислот травы клевера лугового

В результате в исследуемом сырье установлено содержание яблочной, винной, аскорбиновой, уксусной, лимонной и янтарной кислот (табл. 4).

Таблица 4

Количественное содержание органических кислот в траве клевера лугового

Время удерживания	Органические кислоты	Количественное содержание, %
3,105	винная	3,580
3,524	яблочная	2,940
3,774	аскорбиновая	0,120
3,932	уксусная	0,520
4,610	лимонная	1,900
5,081	янтарная	2,500

Методом распределительной хроматографии в тонких слоях сорбента в исследуемом сырье обнаружены каротиноиды, три из которых отождествлены с α -, β -, γ -каротинами. Количественное содержание каротиноидов ($8,05 \pm 0,75$ мг%) определяли спектрофотометрическим методом.

При исследовании углеводного комплекса травы клевера лугового, для удаления красящих и низкомолекулярных соединений сырье трижды обрабатывали хлороформом (1:5), затем экстрагировали этиловым спиртом, в который переходили растворимые в спирте сахара (фруктоза, сахароза и глюкоза). Далее проводили выделение полисахаридов по этапной селективной экстракции сырья горячей водой с последующим осаждением их этанолом. При этом (водорастворимых полисахаридов – 1,09 г или 4,12%), смесью 0,5% растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония, 1:1 (пектиновых веществ - 0,67 г или 2,77%), 5 % раствором натрия гидроксида (гемицеллюлозы - 1,66 г или 5,06%).

Соотношение идентифицированных моносахаридных остатков в выделенных образцах полисахаридов устанавливали методом ГЖХ. Хроматограммы образцов в виде ацетатов алдоонитритов снимали на газо-жидкостном хроматографе Chrom-5 с плазменно-ионизационным детектором, колонка стеклянная (250x0,3 см), заполненная 5% ХЕ, газ-носитель-гелий, 60мл/мин, температура 200°C. Результаты изучения углеводного комплекса приведены в таблице 5.

Из данных видно, что в сырье преобладает ГМЦ, доминирующим моносахаридом который является арабиноза.

Определение элементного состава сырья проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Для разложения исследуемых образцов использовали азотную кислоту. Полученные растворы анализировали на спектрально-аналитическом комплексе ICP - MS AT 7500 «Agilent Technologies» (США) в режиме Semiquant. Исследованием определено 42 минеральных элемента.

Количественное содержание полисахаридов надземной части клевера лугового и их моносахаридный состав

Выделенные полисахариды	Выход, %	Моносахаридный состав							
		галактоза Gal	глюкоза Glu	ксилоза Xyl	арабиноза Ara	рамноза Rha	фруктоза Frc	сахароза Sucr	галактуроновая кислота GalUA
Водорастворимые полисахариды (ВРПС)	4,12	1,6	2,66	1,0	8,0	2,0	+	+	+
Пектиновые вещества (ПВ)	2,77	1,5	1,0	2,4	2,55	1,0	+	+	+
Гемицеллюлоза (ГМЦ)	5,06	3,2	1,0	1,4	6,0	1,28	+	+	+

Обнаруженные элементы по степени убывания можно представить в виде следующего ряда: K> Ca> Fe> Se> Mg> Na> Cr> Ni> Al> Sr> Mn> Zn>Br>Ba>Ti>Cu>Mo>I>V>Rb>Li>V>As>Hg>Co=Pb>Pd> W> Sn= Sb> Sc> Cs>U>Nb>Cd>Bi>Te>Tl>Ir= Hf>Be>In.

Токсичные тяжелые металлы определены в пределах допустимых значений НД.

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о биологической ценности и экологичности травы клевера лугового.

В четвертой главе диссертации **«Решение вопросов, связанных с практическим использованием результатов исследования»** представлены материалы по стандартизации местного сырья клевера лугового, полученного на его основе сухого экстракта и его лекарственной формы – капсул «Диабефор».

Гипокликемическое действие клевера лугового обусловлено прежде всего специфической биологической активностью пинитола. Поскольку специфическая биологическая активность травы клевера лугового обусловлена пинитолом, последний был выбран нами в качестве основного критерия подлинности и доброкачественности сырья при его химической стандартизации. Подлинность сырья устанавливали на основании изучения внешних и анатомо-диагностических признаков и определения основных действующих веществ качественными реакциями.

Для количественного определения пинитола в траве клевера лугового использовали метод ВЭЖХ, который приведенный выше.

Исследования динамики накопления пинитола в растении показало, что содержание его в траве, увеличиваясь постепенно в онтогенезе растения, достигает максимума в период цветения ($4,46 \pm 0,84\%$), после чего снижается. Поэтому фаза цветения определена в качестве оптимальной для заготовки сырья изучаемого растения и учтена нами при составлении инструкций по сбору и сушке сырья клевера лугового. Исходя из результатов исследования, норма содержания пинитола в траве клевера лугового установлена не менее 3,0%.

На основании результатов исследований 5 партий травы клевера лугового химического и товароведческого анализа, нами установлены

нормы числовых показателей, регламентирующих качество предлагаемого сырья (табл.6).

Таблица 6

Числовые показатели травы клевера лугового

Наименование показателей	Норма для сырья	
	цельного	измельченного
Содержание пинитола, %, не менее	3,0	3,0
Влажность, %, не более	10,0	10,0
Золы общей, %, не более	10,0	10,0
Золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, %, не более	1,0	1,0
Пожелтевших или побуревших частей травы, %, не более	7,0	7,0
Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм, %, не более	-	4,0
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм, %, не более	-	3,0
Органической примеси, %, не более	1,0	1,0
Минеральной примеси, %, не более	1,0	1,0

Изучение стабильности сырья клевера лугового в условиях естественного хранения показало, что внешние признаки и числовые показатели не изменяются в течение 3 лет. Поэтому траву клевера лугового рекомендуется использовать в течение 3 лет со времени заготовки.

Учитывая современные тенденции гармонизаций требований к качеству и методам испытаний лекарственных растительных средств, заложенных в нормативных документах различных стран, в числе показателей, нормирующих качество и безопасность предлагаемого сырья, включены показатели микробиологической чистоты, содержания радионуклидов, остаточных количеств пестицидов. Результаты исследования позволили сделать вывод об экологической чистоте и возможности безопасного использования травы клевера лугового.

Полученные данные послужили теоритической и практической основой для разработки технологии получения сухого экстракта клевера лугового, совместно с сотрудниками Опытно-промышленного производства института химии растительных веществ АН РУз им. акад. С.Ю.Юнусова, а на СП ООО «Remedy Group» - технологии его лекарственной формы -капсул, условно названных нами «Диабефор».

При получении сухого экстракта использована несложная, экономичная (выделение суммы основных биологически активных веществ из растительного сырья осуществляется водой) и безопасная технология, позволяющая добиться выхода готового продукта порядка 20-23%, обеспечить максимальное содержание основных действующих веществ в полученном экстракте и сохранить физиологическую активность исходного сырья.

Показано также, что показатели качества сухого экстракта клевера лугового соответствуют фармакопейным требованиям.

Доклинические фармакологические исследования показали, что пинитол содержащий сухой экстракт клевера лугового, будучи практически нетоксичным и не оказывая побочного действия на организм, проявляет выраженное гипогликемическое, а также гепатопротекторное, противовоспалительное и диуретическое действие. В частности, на моделях алиментарной, адреналиновой, аллоксановой и гипергликемии с глюкозной нагрузкой установлено, что по гипогликемической активности сухой экстракт клевера лугового не уступает зарубежному аналогу - лекарственному препарату «Глукейр» (Индия).

Стандартизация указанных растительных средств проведена нами, как и в случае травы клевера лугового, по пинитолу, т.е. использован метод «сквозной стандартизации», обеспечивающий унификацию показателей, норм и методов оценки качества в ряду: сырье – субстанция – готовая лекарственная форма.

На основании полученных данных совместно с СП ООО «Remedy Group» разработаны и представлены на рассмотрение в Агентство по развитию фармацевтической отрасли при МЗ РУз ГУП «Государственный Центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, медицинских изделий и медицинской техники» проекты ФСП на траву клевера лугового, субстанцию - сухой экстракт клевера лугового и его лекарственную форму - капсулы «Диабефор».

Получено разрешение Фармакологического комитета МЗ РУ на проведение клинического испытания «Диабефор» капсулы (письмо №29/03-506 от 25.04.2017 года) и решение Этического комитета МЗ РУз №9 от 21.12.2017 года, определены клинические базы для проведения исследований (письмо № 9/16 от 08.01.2018 года).

В Агентство по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан направлена заявка на получение патента по применению сухого экстракта клевера лугового гепатопротекторного и диуретического средства, зарегистрированные за номером № IAP 20170041 и № IAP 20170315 получены решения о прохождении их первичной экспертизы.

ВЫВОДЫ

1. Впервые проведено фармакогностическое исследование видов клевера отечественной флоры.

2. Впервые проведено сравнительное морфолого-анатомическое изучение надземной части 7 видов клевера, произрастающих в Узбекистане. В результате исследований внешних признаков и микроскопического строения отечественных видов клевера установлены диагностические признаки, необходимые для идентификации сырья.

3. Показано, что среди исследованных видов клевера по содержанию биологически активных веществ, в частности, пинитола и изофлавоноидов наиболее перспективным является клевер луговой. Учитывая отмеченное обстоятельство, а также достаточные сырьевые ресурсы, указанный вид

отобран нами для дальнейшего изучения с целью внедрения его в медицинскую практику.

4. В результате комплексного фармакогностического и доклинического исследования клевер луговой рекомендован в качестве нового эффективного и безопасного лекарственного средства с гипогликемической активностью.

5. Установлено, что комплекс биологически активных веществ надземной части клевера лугового, обуславливающий его специфическую активность, представлен пинитолом, изофлавоноидами, свободными аминокислотами, липидами, органическими кислотами, каротиноидами, дубильными веществами, моно- и полисахаридами, минеральными веществами. Установлены состав и количественное содержание основных групп биологически активных веществ сырья.

6. Предложена система стандартизации предлагаемого сырья: разработаны методики качественного и количественного определения основного действующего вещества – пинитола, определены показатели подлинности и доброкачественности сырья, экспериментально установлены сроки его заготовки и хранения.

7. Решены теоретические и практические аспекты создания и стандартизации сухого экстракта клевера лугового и его лекарственной формы – капсул «Диабефор».

8. На основании полученных данных разработаны и представлены на рассмотрение в ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, медицинских изделий и медицинской техники» МЗ РУз проекты ФСП на указанные выше лекарственные средства с целью получения разрешения на использование в медицинской практике.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSC.27.06.2017. FAR.32.01 AT
THE TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE
ON CONFERMENT OF SCIENTIFIC DEGREE**

TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE

KHALILOVA Shakhnoza Ravshanovna

**PHARMACOGNOSTIC STUDY OF CLOVER SPECIES
GROWING IN UZBEKISTAN**

15.00.02 –Pharmaceutical Chemistry and Pharmacjgnosy

**ABSTRACT OF DOCTOR’S DISSERTATION OF
PHILOSOPHY OF PHARMACEUTICAL SCIENSES (PhD)**

Tashkent – 2018

The subject doctor of philosophy dissertation (PhD) is registered in the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan in number B2017.1. PhD / Far9

The dissertation is carried out at the Tashkent Pharmaceutical Institute.

Abstract of dissertation in three (Uzbek, Russian, English (summary)) languages is placed on web page to address (www.pharmi.uz) and information-educational portal Ziyonet to address www.ziyonet.uz.

Scientific consultant:

Urmanova Flura Faridovna

Doctor of pharmaceutical sciences, professor

Official opponents:

Yuldashev Zokir Abidovich

Doctor of pharmaceutical sciences, professor

Patsaev Anapiya Kanibekovich

Doctor of chemical sciences, professor,
academician

Leading organization:

**Uzbek Chemical-pharmaceutical research
institute named after A.Sultanov**

Defence will take place ----2018 -----at the meeting of scientific council number DSc.27.06.2017. Far.32.01 at the Tashkent Pharmaceutical Institute to address 100015, Tashkent City, Aibek Str., 45. Phone (+99871)256-37-38.Fax (+99871)256-45-04. E-mail pharmi@pharmi.uz.

Dissertation is

Abstract of dissertation send out ----- 2018
(mailing report ----- 2018)

I.I.Alimdjanov

Chairman of the scientific council
on conferment of scientific degree
of doctor of sciences d.m.sc., professor

R.T.Tulyaganov

Scientific secretary of scientific council
on award of scientific degree of doctor
of sciences d.b.sc., docent

S.N.Aminov

Chairman of scientific seminar at scientific
council on award of scientific degree
of doctor of sciences d.ch.sc., professor

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

The aim of the research work was pharmacognostic analysis of the existing types of clover at the native flora in order to identify the opportunity for the usage of the substance in medical practice, as a medical treatment substance and production of the effective medicine on its basis.

The object of the research work we used the following types of the genus *Trifolium* L. growing in Uzbekistan: *T.campestre* S., *T.fragiferum* L., *T.lappaceum* L., *T.neglectum* C., *T.pratense* L., *T.repens* L., *T.resupinatum* L.

Scientific actuality of the research is following:

the anatomical and diagnostic features were first established on the basis of a comparative morphological and anatomical study of the above-ground part of the seven species of clover of the native flora, necessary for the identification of medicinal plant material;

for the first time, optimal conditions were developed for extracting pinitol and isoflavonoids from raw materials of representatives of the genus *Trifolium* L.; methods have been developed for the qualitative and quantitative determination of pinitol and the amount of isoflavones in terms of formononetin;

the content of pinitol and isoflavonoids in various clover meadow organs was ascertained. A promising species of clover - clover meadow - has been subjected to deep chemical study;

for the first time, a system of standard tests was developed to assess the quality of raw clover meadow and a medicinal form based on it. Diagnostic features of promising clover meadow raw materials were ascertained, methods for quantifying pinitol and the sum of isoflavonoids in terms of formononetin in the meadow clover herb were developed.

were developed methodological techniques for qualitative and quantitative measurement of pinitol in the proposed raw material, were developed the dynamics of its accumulation, were identified standards of the pinitol's content, and were proved the storage period;

it was identified the specific activity and pharmaco-toxicological features of the original drug based on dry clover extract.

Implementation of the research results. Based on the scientific results obtained in the study of the chemical composition of the domestic types of clover, in particular, herb meadow clover, it was developed methods for standardization of the proposed raw materials and medicine produced on its basis:

the State Agency on Intellectual Property issued the patent (IAP 05095 25.09.2015) on the dry extract of clover meadow. As a result, the dry extract of clover meadow served as a substance for producing the original medicine;

jointly with the JV Ltd. «Remedy Group» were developed the PAE projects on raw clover meadow herb, substance of dry extract of clover meadow and preparation «Diabefor» capsules on the basis of the substance of the dry extract of clover meadow, which are registered by the State Unitary Enterprise «State Center on Expertise and Standardization of Medical Substances, Products and

Equipment» under the Public Health Ministry of the Republic of Uzbekistan (decision №7 from 19 April 2017 of the Pharmacological Committee); likewise, it was received the decision for clinical testing from the Ethical Committee of the Public Health Ministry of the Republic of Uzbekistan (letter №9/16 from 8 January 2018 of the Ethical Committee), (letter №8H-3/280 from 15 October 2018 of the Public Ministry of Health). As a result of the project, there is the opportunity to integrate effective and safe local herbal medicine for treating diabetes mellitus.

Structure and volume of the dissertation. Structure of the thesis include introduction, three chapters, conclusions, a list of used literature and appendices. The volume of the thesis is 120 pages.

**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
ЭЪЛОН КИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
LIST OF PUBLISHED WORKS**

I бўлим (Часть, part I)

1. Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф., Холматов Х.Х., Шамсувалиева Л.А. Морфолого-анатомическое исследование клевера лугового (*Trifolium pratense* L.), произрастающего в Узбекистане // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2012.-№3.-С.53-56. (15.00.00, №2).

2. Халилова Ш.Р., Пулатова Д.К., Урманова Ф.Ф. Изучение элементного состава надземной части клевера лугового // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2012.-№4.-С.26-28. (15.00.00, №2).

3. Халилова Ш.Р., Пулатова Д.К., Урманова Ф.Ф. Изучение аминокислотного состава травы клевера лугового // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2013. - № 2.-С.29-33. (15.00.00, №2).

4. Халилова Ш.Р. Фармакогностическое изучение *Trifolium pratense* L., произрастающего в Узбекистане//Вестник ЮКГФА.-Шымкент, 2013. Том 2. - №3(64). – С.3-6.

5. Халилова Ш.Р., Набиев А.Н. Антимикробная активность и противовоспалительное действие клевера лугового // Фармацевтический вестник Узбекистана. – Ташкент, 2013.-№2.-С.21-23 (15.00.00, №4).

6. Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Жирнокислотный состав липидов *Trifolium pratense* L. // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2013.-№ 3.-С.17-19. (15.00.00, №2).

7. Халилова Ш.Р. Ценнейшие представители рода клевера отечественной флоры // Экологический вестник. – Ташкент, - 2013. – №9. – С.53-56. (04.00.00., №1); (06.00.00., №2); (11.00.00., №1); (16.00.00, №2).

8. Халилова Ш.Р. Изучение микробиологической чистоты и фармакологические исследования сухого экстракта клевера лугового // Вестник ЮКГФА.- Шымкент, 2013. Том 2. - №4 (65). – С.178-182.

9. Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Стандартизация травы клевера лугового, произрастающего в Узбекистане // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2013. - № 4.-С.33-38 (15.00.00., №2).

10. Халилова Ш.Р. Оценка содержания изофлавоноидов в видах клевера, произрастающих в Узбекистане // Фармация (научно-практический журнал). Специальный выпуск. - Санкт-Петербург. Россия. - 2014.- с.571-573. (15.00.00, №8)

11. Халилова Ш.Р. Определение остаточного содержания пестицидов и радионуклидов в траве клевера лугового // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2014.-№ 2.-С.12-16. (15.00.00, №2).

12. Khalilova Sh.R., Yuldashev M.P., Urmanova F.F. Procedure for determination of isoflavonoids in overground part of meadow clover growing in

Uzbekistan // Український медичний альманах. - Луганск, Украина. - 2014. Том 17, №1. – С.4-7.

13.Халилова Ш.Р. Количественное содержание изофлавоноидов в сухом экстракте клевера лугового // Вестник ЮКГФА.- Шымкент, 2014. - Том 2.-№ 3 (68). – С.71-74.

14.Халилова Ш.Р., Эллинская О.Л., Урманова Ф.Ф. Медико-биологическая оценка безопасности нового растительного препарата «Диабефор» // Фармацевтический журнал. –Ташкент, 2014. -№3.–С.8-11. (15.00.00, №2).

15.Халилова Ш.Р. Стандартизация капсул «Диабефор» // Фармация (научно-практический журнал). Специальный выпуск. - Санкт-Петербург. Россия. - 2015.- с.518-521. (15.00.00, №8).

16.Халилова Ш.Р., Выпова Н.Л., Урманова Ф.Ф. Изучение влияния препарата «Диабефор» на гликемию на фоне экспериментальных моделей сахарного диабета // Фармацевтический журнал. –Ташкент, 2015. -№ 4.- С.103-107. (15.00.00, №2).

17.Халилова Ш.Р. Морфолого-анатомическое строение стебля видов рода *Trifolium* L. // Фармацевтический вестник Узбекистана. – Ташкент, 2016. - №4. - С.64-68 (15.00.00., №4).

18.Халилова Ш.Р. Морфолого-анатомическое строение цветков представителей рода *Trifolium* L., произрастающих в Узбекистане// Фармацевтический вестник Узбекистана. – Ташкент, 2017.-№1.-С.65-69. (15.00.00, №4).

19.Халилова Ш.Р. Морфолого-анатомическое строение листа видов рода *Trifolium* L., произрастающих в Узбекистане // Фармацевтический вестник Узбекистана. - Ташкент, 2017.-№ 2.-С.64-69. (15.00.00, №4).

20.Халилова Ш.Р., Имамалиев Б.А., Урманова Ф.Ф. Изучение изменение гематологических показателей при пероральном введении препарата «Диабефор» // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2017.- № 2.-С.131-135. (15.00.00, №2).

21.Khalilova Sh.R., Urmanova F.F. Study of Chronic Toxicity of «Diabefor» Preparation // London Review of Education and Science, No.2. (22), July-December. 2017 /-VOLUME XI. Imperial College Press. – 2017. –Р 76-81.

22.Халилова Ш.Р. Поиск перспективного лекарственного растительного сырья среди видов рода *Trifolium* L. // Вестник ЮКГФА.- Шымкент, 2017. - Том 2. - №3(64). – С.13-17.

23.Халилова Ш.Р. Антидиабетическое средство из сухого экстракта клевера лугового / Патент на изобретение № IAP 05095. // Агентство по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан. Зарегистрирован в государственном реестре изобретений Республики Узбекистан. – г.Ташкент, 25.09.2015г. - 6 стр.

И бўлим (II часть, partII)

24.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Исследования на экологическую чистоту клевера лугового, произрастающего в Узбекистане // Конституция

Республики Узбекистан и образование молодежи: Сб. материалов науч.-практ. конф. – Ташкент: Филиал МГУ им. М.В.Ломоносова, 2012.-С.154-156.

25.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Количественное определение каротиноидов надземной части клевера лугового // Молодая фармация-потенциал будущего. Сб. материалов III Всероссийской науч. конф. студентов и аспирантов с междунар. участием. 25-26 апреля 2013 г. - Санкт-Петербург, Россия, 2013.- С.284-285.

26.Халилова Ш.Р., Мавлянов Г., Урманова Ф.Ф. Количественное содержание пинитола и сахаров в видах клевера, произрастающих в Узбекистане // Материалы республиканской научно-практической конференции (с международным участием) «Интеграция образования, науки и производства в фармации». - Ташкент, 2014.- С.74-75.

27.Khalilova Sh.R. Organik acids of clover species growing in Uzbekistan / Science in the modern information society M. Vol.3. spc Academic North Charleston, USA. - 2015. - P.167-170.

28.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Определение пинитола и изофлавоноидов в различных органах клевера лугового, произрастающего в Узбекистане // Интеграция образования, науки и производства в фармации». Сб. материалов респ. науч.-практ. конф. - Ташкент: ТашФарми, 2015.- С.95-97.

29.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Стандартизация сухого экстракта травы клевера лугового // Наука в медицине: современный взгляд молодежи, посвященный 25-летию Независимости Республики Казахстан. Сб. материалов Междунар. науч.–практич. конф.-Алмата, 2016. -С.211-212.

30.Халилова Ш.Р. Изучение элементного состава сухого экстракта клевера лугового // Биоорганическая химия в решении актуальных задач здравоохранения и сельского хозяйства: Сб.тезисов респуб.конф.молодых ученых. 15-16 ноября 2016года. - Ташкент: АН РУ институт биоорганической химии им. Акад. А.С.Садыкова, 2016. –С.75.

31.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Изучение химического состава сухого экстракта клевера лугового // Материалы республиканской научно-практической конференции (с международным участием) «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации. 17-18 ноября 2016 года». - Ташкент, 2016.- С.90-91.

32.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Антидиабетическое средство “Диабефор” капсулы // Каталог X Республиканская ярмарка инновационных идей, технологий и проектов. – Ташкент, 2017. – С.179.

33.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф. Гепатопротекторное действие сухого экстракта клевера лугового // Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології. - Харків, Україна. - 2017. Випуск 3. – С.308-310.

34.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф.Изучение биологически активных веществ клевера земляничного// Материалы республиканской научно-практической конференции (с международным участием) «Фармация:

наука, образование, инновации и производство».- Ташкент, 2017.- С.75-76.

35.Халилова Ш.Р., Урманова Ф.Ф., Имамалиев Б.А. Гепатопротекторное средство на основе сухого экстракта клевера лугового // Официальный бюллетень. – Ташкент, 2017. – №7 (195): заявка №IAP 20170041 от 30.01.2017 г. – С. 9-10.

36.Халилова Ш.Р. Диуретическое средство на основе сухого экстракта клевера лугового // Официальный бюллетень. – Ташкент, 2018. – №9 (209): заявка №IAP 20170315 от 28.07.2017 г. – С.10.

Автореферат «Farmatsevtika jurnali»да тахририятидан тахрирдан
ўтказилди
(21.10.2018 йил)

Босишга рухсат этилди: 23.10.2018 йил.

Бичими: 60x84 1/16. «Times New Roman» гарнитура рақамли босма
усулда босилди. Шартли босма табағи: 3. Адади 100. Буюртма № 993-18.

“Ўзбекистон” НМИУ босмахонасида чоп этилди.