АННОТАЦИЯ

ғылыми дәрежесі 8D07105 – «Органикалық заттардың химиялық технологиясы» мамандығы бойынша философия докторы (PhD)

Касымова Дария Талғатқызы

Өсімдік негізіндегі гельді алу технологиясының схемасын жасау және оның валидациясы

Зерттеу тақырыбы: Диссертациялық жұмыста өсімдік субстанцияларын алу технологиясын валидациялау, өсімдіктің тамыры мен жер үсті бөліктерінен алынған *Limonium gmelinii* түрлі әдістермен экстракциялау: ультрадыбыстық экстракция (УЗЭ), суперсығылған флюид экстракциясы (СФЭ) және классикалық мацерация (КМ) салыстырмалы талдау арқылы таңдап алынған; субстанцияларды стандарттау, олардың антибактериалдық және иммуномодуляторлық белсенділігін зерттеу; өсімдік субстанциялары бар гельдерді фармацевтикалық әзірлеу, оларды өндіру технологиясын валидациялау және олардың қабынуға қарсы белсенділігін зерттеу жүргізілген.

Зерттеудің өзектілігі: COVID-19 пандемиясы, 2020 жылы әлемде басталған, Қазақстанның фармацевтикалық секторын ұлттық қауіпсіздіктің маңызды элементі ретінде күшейтудің қажеттілігін анық көрсетті. "Қазақстан-2050" бағдарламасы мен "Салауатты ұлт" жобасы аясында 2025 жылға дейін отандық фармацевтикалық өнімдердің үлесін 50%-ға дейін арттыру жоспарлануда. Осы мақсатқа жету үшін фармацевтикалық және медициналық өнеркәсіптерге ғылыми және кадрлық әлеуетті арттыру, сондай-ақ отандық дәрілік заттар мен медициналық бұйымдар өндірісін дамыту міндеттері қойылды.

Қазақстанның биоалуантүрлілігі мен бай өсімдік жамылғысы отандық фитопрепараттарды дамыту үшін қолайлы факторлар болып табылады, олар әлемде синтетикалық аналогтарға қауіпсіз және тиімді балама ретінде танылған.

Limonium gmelinii (L. gmelinii) өсімдіктері биологиялық белсенділігі жоғары, ресурстық қамтамасыз етілуі жақсы және жинау оңай болғандықтан, медициналық мақсатта экономикалық және экологиялық тұрғыдан қолайлы перспективті түр болып табылады. *L. gmelinii* қазірдің өзінде фармакопеялық шикізат ретінде антиоксидантты, қабынуға қарсы, жараны жазатын, гепатопротекторлық қасиеттерге ие өсімдік субстанциясын алу үшін қолданылып келеді. Бұл субстанциядан сироп, жақпа май және тұнба сияқты дәрілік формалар алынып, олар in vivo зерттеулер мен доклиникалық сынақтарда оң терапевтік әсер көрсетті.

Осыған байланысты, бұл өсімдік шикізатын заманауи ғылыми негізделген әдіспен және тиісті өндірістік практика (GMP) принциптері мен талаптарын ескере отырып, жаңа дәрілік формаларды әзірлеу өзекті міндет болып табылады. Фитопрепараттарды әзірлеу барысында кездесетін басты қиындықтардың бірі – сапаны бақылаудың және стандарттаудың болмауы, бұл олардың қауіпсіздігі мен тиімділігіне тікелей әсер етеді. Өсімдік шикізатының күрделі және өзгермелі химиялық құрамы сапаны қамтамасыз

етуді қиындатады. GMP әдіснамасының маңызды бөлігі болып табылатын валидацияның мақсаты – дәрілік заттарды өндіру процесінде таңдалған технологияның, әдістің, процестің, жабдықтың немесе жүйенің жарамдылығын дәлелдеу. Субстанциялар мен олардың негізіндегі дәрілік формалар өндірісінің технологиясын валидациялау әрбір дәрілік форма мен қаптама бірліктері үшін, сериясына қарамастан, дәрілік заттарды шығаруда тұрақтылықты қамтамасыз етеді. Бұл тұжырымдаманы стандарттау қиын өнім ретінде фитопрепараттар өндірісіне қолдану олардың сапасын жақсартуға және оны өндіру процесінде қамтамасыз етуге мүмкіндік беретіні сөзсіз.

Жоғарыда айтылғандардың негізінде, диссертациялық жұмыстың өзектілігі *L. gmelinii* перспективті өсімдік шикізаты негізінде GMP талаптарын ескере отырып, отандық дәрілік заттарды өндіру технологиясын әзірлеу және валидациялауда, сондай-ақ олардың биологиялық белсенділігін зерттеуде, медициналық практикаға енгізу мақсатында жатыр.

Зерттеу объектісі: дәрілік өсімдік шикізаты (ДӨШ) – *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктері; тамырлар мен жер үсті бөліктерінен алынған субстанциялар; *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен алынған өсімдік субстанциялары бар гельдер.

Зерттеу пәні: *L.gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен алынған субстанцияларды алу технологиясын оңтайландыру, олардың валидациясы, биологиялық қасиеттері, гельді композицияларды алудың оңтайлы құрамы мен технологиясын әзірлеу, олардың стандартталуы, тұрақтылығын зерттеу, гельдер алу технологиялық процесінің валидациясы және олардың қабынуға қарсы белсенділігін зерттеу.

Диссертациялық зерттеудің мақсаты: *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен әртүрлі экстракция әдістерімен бөлінген өсімдік субстанциялары бар жұмсақ дәрілік формаларды гельдер түрінде фармацевтикалық әзірлеу және валидациялау, олардың химиялық құрамы мен алғаш рет зерттелген иммуномодуляторлық белсенділігін талдау арқылы ең ұтымды және қолайлысын таңдау.

Зерттеу әдістері: Фармакогностикалық, химиялық және физико-химиялық талдау әдістері қолданылды, мысалы, макроскопиялық, микроскопиялық және фитохимиялық талдау; микробиологиялық бақылау; УФ-спектроскопия, Фурье түрлендірілген ИҚ-спектроскопия, ВЭЖХ-ДАД, ВЭЖХ-квадрупольды ұшып шығу уақытты масс-спектрометрия, ^{1}Н ЯМР-спектроскопия, көлденең диффузия жасуша әдісі, вискозиметрия, in vitro антибактериалдық белсенділікті зерттеу әдістері, иммунореференттік талдау әдістері (ИФА) және ағымды цитометрия, in vivo қабынуға қарсы белсенділікті зерттеу эксперименттік тышқандардың лапасына формалинді ісіну моделінде, сондай-ақ статистикалық әдістер.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

1. *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен өсімдік субстанцияларын алу тәсілдерін салыстырмалы талдау алғаш рет

жүргізілді және әрқайсысында экстракцияның оңтайлы жағдайлары анықталды.

2. *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен өсімдік субстанцияларының иммуномодуляторлық белсенділігі алғаш рет анықталды. Ультрадыбыстық экстракция (УЗЭ) және бұрын патенттелген классикалық мацерация (КМ) әдістерімен өсімдік субстанцияларын алу оңтайлы жағдайларда олардың иммуномодуляторлық белсенділігі тең екендігі анықталды.

3. Өсімдік субстанцияларының компоненттік құрамын салыстырмалы талдауы алғаш рет жүргізілді, атап айтқанда УЗЭ және КМ әдістерімен алынған субстанциялар. УЗЭ (S1, S3) және КМ (S2, S4) әдістерімен алынған тамырлардан алынған субстанциялар (S1, S2) және жер үсті бөліктерінен алынған субстанциялар (S3, S4) химиялық құрамдарының бірдейлігі анықталды. LC-QToF-MS әдісімен химиялық құрамды талдау нәтижесінде бұрын жарияланған зерттеулердің деректерімен салыстыру негізінде олардың фрагменттік иондары бойынша 62 қосылыс анықталды. Сондай-ақ S1 және S2 субстанцияларының құрамында S3 және S4 субстанцияларына қарағанда көп мөлшерде сульфатталған флавоноид туындылары бар екендігі көрсетілді, мұнда флавоноид агликондары басым.

4. *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен алынған өсімдік субстанцияларынан бөлінген полисахарид кешендеріндегі моносахарид байланыстарының орналасуы алғаш рет анықталды, метилденген альдитол ацетаттарын (МАА) ішінара талдау арқылы. Барлық өсімдік субстанцияларында рамноза (Rha-терминалды және Rha-3,4), арабиноза (Ara-терминалды), глюкурон қышқылы (GlaA), манноза (Man), галактоза (Gal) және глюкоза (Glc) бар екендігі анықталды. Жер үсті бөліктерінен алынған полисахарид кешенінде ксилоза (Xyl-терминалды) және галактурон қышқылы (GalA) да табылды.

5. *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен өсімдік субстанцияларын алу технологиясының УЗЭ әдісімен өндірістік жағдайларда ТОО «Антиген» арқылы трансфері және валидациясы алғаш рет жүргізілді.

6. *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен алынған өсімдік субстанцияларымен карбомерді геле түзгіш ретінде пайдалана отырып, жұмсақ дәрілік формаларды гельдер түрінде фармацевтикалық әзірлеу және құрастыру алғаш рет жүргізілді. ICH Q8 әдістерімен қосымша заттар мен белсенді субстанциялар құрамы алғаш рет негізделді. Лабораториялық сериялар деңгейінде технологияның валидациясы жүргізілді.

7. Жасалған гельдердің органолептикалық және реологиялық қасиеттері алғаш рет зерттелді, олардың белсенді фармацевтикалық ингредиенттерін босату кинетикасы зерттелді және олардың in vivo қабынуға қарсы белсенділігі анықталды.

Қорғауға ұсынылатын негізгі ережелер:

1. *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жерүсті бөлігінен өсімдік субстанцияларын алу үшін дубильді заттардың шығу көрсеткіштері бойынша оңтайлы жағдайлар – бұл шикізат пен экстрагенттің қатынасы 1:5 болатын тамырлар үшін және 1:7 болатын жерүсті бөліктер үшін 50%-дық этил спиртімен 45 минуттық бір реттік ультрадыбыстық экстракция (УЗЭ), сондай-ақ, 240 минут бойы 35 МПа қысымда, 45°С температурада және 60%-дық этил спиртін косорытқы ретінде қолданатын суперқысымды сұйықтықты экстракция (СФЭ).

2. *L. gmelinii* өсімдігінің жерүсті бөлігінен алынған полисахаридті кешен тамырлардан алынған кешеннен ксилоза (терминальды Xyl) және галактурон қышқылының (GalA) болуымен ерекшеленеді, бұл ацетилденген метилгликозидтерді туындату әдісімен анықталған.

3. Экстракттардың метанолдық фракциялары *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228-ге қарсы антибактериалдық белсенділік көрсетті, ал полисахаридтерді қамтитын су фракциялары антибактериалдық белсенділік көрсетпеді, бұл *L. gmelinii* экстракттарындағы фенолды қосылыстардың антибактериалдық әсердегі негізгі рөлін көрсетеді.

4. Босап шығу кинетикасы мен реологиялық қасиеттерін талдау негізінде, *L. gmelinii* өсімдігінің субстанцияларымен дайындалған 1 % карбомер және және 10 % пропиленгликольден тұратын гельдер тышқандарда жүргізілген *in vivo* экспериментінде қабынуға қарсы әсер көрсететін ең тиімді гельдік құрамдар ретінде таңдалды. Гельдерді өндіру технологиялық процесі тұрақты және қайталанбалы екені зертханалық сериялардың валидациясымен расталды.

Ғылыми-практикалық маңыздылығы. Диссертация материалдары университеттерде/ҒЗИ-де технология трансфері бөлімдерін ұйымдастыруға; фармацевтикалық сала қызметкерлерін оқыту және біліктілігін арттыруға, сондай-ақ фармацевтикалық факультеттердің магистранттары мен докторанттарын оқытуға пайдаланылуы мүмкін.

L. gmelinii өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен өсімдік субстанцияларын алу үшін ультрадыбыстық экстракция (УЗЭ) және суперсығылған флюид экстракциясы (СФЭ) әдістерінің оңтайлы шарттары әзірленді, әрі қарай дәрілік формаларды әзірлеу үшін. УЗЭ әдісімен субстанцияларды алу шарттары экономикалық және практикалық тұрғыдан тиімдірек болып табылады. "Антиген" ЖШС өндірістік жағдайында УЗЭ әдісімен өсімдік субстанцияларын алу үшін тәжірибелік-өнеркәсіптік регламенттер әзірленіп, бекітілді, валидация жүргізілді және процестің тұрақтылығы зерттелді. *L. gmelinii* өсімдігінің тамырлары мен жер үсті бөліктерінен өсімдік субстанциялары бар гельдер түріндегі МЖФ кешенді зерттеулері олардың қанағаттанарлық тұтынушылық және технологиялық қасиеттерін, сақтау процесінде тұрақтылығын және формалинмен индуцирленген тышқандардың лап ісінуі моделінде in vitro қабынуға қарсы әсерін көрсетті. Алынған эксперименттік деректер гельдерді тәжірибелік-өнеркәсіптік өндіріс жағдайында өндіру жұмыстарын жалғастыруға және оларды медицинаға енгізуге мүмкіндік береді.

Ғылымды дамыту бағыттарына немесе мемлекеттік бағдарламаларға сәйкестігі. Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің гранттық қаржыландыру бағдарламасы аясында AP05134034 «Қазақстанның фармакопеялық жабайы өсімдіктері негізінде жоғары тиімді гельдер әзірлеу және жасау және олардың кешенді зерттеулері» (2018-2020 ж.) және AP19174425 «*Limonium gmelinii* өсімдіктерінің экстракттары бар гельдердің құрамын және өндіру технологиясын әзірлеу, тәжірибелік-өнеркәсіптік өндіру, стандарттау, биологиялық қауіпсіздігін және белсенділігін зерттеу» (2023-2025 ж.) жобалары аясында орындалды.

Негізгі нәтижелердің жариялануы. Диссертациялық зерттеу нәтижелері 9 ғылыми жұмыста, оның ішінде *Plants* (Q1, 90 пайыздық процентиль) және *Antioxidants (Basel)* (Q1, 90 пайыздық процентиль) халықаралық рецензияланатын журналдарында 2 мақала және Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған журналдар тізіміне кіретін *International Journal of Biology and Chemistry* журналында 1 мақала, сондай-ақ халықаралық ғылыми конференцияларда 6 баяндама тезистері мен материалдары түрінде жарияланды.

Диссертациялық жұмысты апробациялау. Ғылыми жұмыстың нәтижелері мен негізгі ережелері келесі іс-шараларда ұсынылды: XI Бүкілресейлік жастар ғылыми конференциясы (Сыктывкар, Ресей, 2019 ж.), 47th IUPAC WORLD CHEMISTRY CONGRESS (Париж, Франция, 2019 ж.), 67th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (Инсбрук, Австрия, 2019 ж.), Тәуелсіз Мемлекеттер Достастығы елдерінің кітаптар жинағы «Үздік жас ғалым - 2020» (Астана, 2020 ж.), GA – 70th Annual Meeting (Салоники, Греция, 2022 ж.), Ғылыми-тәжірибелік конференция «Фармацевтикалық химиядағы жаңа дәрілік заттардың синтезі мәселелері» (Ташкент, Өзбекстан, 2024 ж.).

Әрбір жарияланымды дайындауда автордың жеке үлесі:

1. «Study of the hexane fraction isolated from the substance obtained from the roots Limonium gmelinii by GC-MS» мақаласы — эксперименттік деректерді алу және талқылау, деректерді талдау және өңдеу.
2. «Plant Extract of Limonium gmelinii Attenuates Oxidative Responses in Neurons, Astrocytes, and Cerebral Endothelial Cells *In Vitro* and Improves Motor Functions of Rats after Middle Cerebral Artery Occlusion» мақаласы — өсімдік субстанциясын алу және оның физика-химиялық қасиеттерін зерттеу бойынша эксперименттік бөлім, олардың химиялық құрамына қатысты деректерді талдау.
3. «Phytochemical Profiles and *In Vitro* Immunomodulatory Activities of Extracts Obtained from *Limonium gmelinii* Using Different Extraction Methods» мақаласы — әдіснаманы әзірлеу, шолуды дайындау, деректерді талдау, нәтижелерді алу, талқылау және өңдеу, журналмен байланыс.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертация 204 бет машинкамен терілген мәтінде жазылған және кіріспе, 3 бөлім, қорытынды, 32 кесте, 54 сурет және 228 атаудан тұратын пайдаланылған әдебиеттер тізімін қамтиды.