АҢДАТПА

6D072100 – «Органикалық заттардың химиялық технологиясы» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынылған диссертация

Шевченко Анастасия Сергеевна

“*Polygonum L.* өсімдігінің фармакопеялық түрін кешенді өңдеу технологиясын жасау ”

Диссертациялық жұмыс каннабиноидтік және опиоидтық биологиялық белсенділігі бар *Polygonum L.* тегіне жататын кейбір фармокопеялық өсімдіктердің құрғақ экстракттарын алу технологиясын жасауға арналған.

Зеттеу тақырыбының өзектілігі

Ауаны өнеркәсіптік ластанудың ұлғаюы мен қоршаған ортаның экологиялық жағдайының нашарлауына байланысты денсаулық сақтауға қажетті өнімдерге деген сұраныс артып келеді. Бұл мәселені шешудің жолдарының бірі өсімдік негізіндегі дәрілік препараттарды қолдану. Қазақстан өсімдік түрлерінің көптігі (6000 түрден астам) бойынша аса бай аймақ болып табылады, ал оларды зерттеу деңгейінің төмен болуы дәрілік шикізаттар мен фитопрепараттардың айтарлықтай көлемі жақын және алыс шет елдерден алынып келуіне әкеліп соғады.

Қазіргі уақытта Қазақстан Республикасының денсаулық сақтау және фармацевтика өнеркәсібінің жергілікті өсімдік дүниесінен алынатын жаңа, тиімділігі жоғары дәрілік заттарға деген қажеттілігі бар. Бұл мәселенің табысты шешілуі Қазақстан Республикасының фармацевтика және медицина өнеркәсібін 2025 жылға дейінгі дамыту бағдарламасын іске асыруға мүмкіндік тудырады.

Біздің мемлекетіміздің үкіметі отандық фармацевтік нарықты ең алдымен, жергілікті (аймақтық) өсімдік ресурстарының негізінде өндірілетін дәрі-дәрмектермен қанықтыруды көздеп отыр. Сонымен қатар, Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы (ДДҰ) фармация үшін өсімдіктерді шикізат ретінде пайдалануды ең жоғары басымдықтардың бірі ретінде қарастырады.

Қазақстан Республикасы өсімдік ресурстарына бай, бірақ солардың тек аз бөлігі ғана медицина мен халық шаруашылығында қолданылады. Қазіргі кезде әлемдік тәжірибеде 30%-дан көп дәрілік заттар өсімдіктерден өндіріледі, бұл ретте бірқатар ауруларды емдеу үшін көптеген өсімдік текті дәрі-дәрмектер ауыстырылмайтын болып саналады.

Бұл тұрғыда теориялық және практикалық қызығушылықты *Polygonaceae Juss.* тұқымдасының жабайы өсімдіктері тудырады Қазақстанда кең таралған. Бұл

тұқымдастың зерттелген өсімдектері биологиялық белсенділіктің кең спектрге ие және әртүрлі қабыну, ісіну және басқа да ауруларды емдеу үшін қолданылады.

Осыған байланысты *Polygonaceae Juss*. тұқымдасының жаңа жабайы өсімдігінің құрамындағы биологиялық белсенді заттарды химиялық зерттеу, бөлу сұлбаларын әзірлеу, биологиялық белсенділікті және фитопрепараттардың жабайы Қазақстандық түрлерін зерттеудің әлеуметтік маңызы бар, өйткені жергілікті жерден өндірілетін, қайта жаңартылатын өсімдік шикізаты ҚР-ның дәрілік заттар ассортиментік қенейтуге мүмкіндін береді.

Зерттеудің мақсаты – *Polygonum* L. тектес өсімдіктерден субстанцияларды бөліп алу технологиясының оңтайлы параметрлерін анықтау және оларды стандарттау болып табылады.

Мақсатқа жету үшін төменгі **мәселелер** қойылды:

1. Зерттелген өсімдік түрлерінің (*P. hydropiper, P. aviculare, P. minus*) сапалық көрсеткіштерін зерттеу;
2. Зерттелген өсімдік түрлеріндегі биологиялық белсенді заттардың (БАЗ) негізгі топтарының сапалық және сандық құрамын анықтау;
3. Зерттелген өсімдіктерден құрғақ экстракттарын алудың оңтайлы технологиялық параметрлерін жасау және анықтау;
4. Зерттелетін өсімдіктерден фитопрепараттардың жиынтығын бөліп алудың зертханалық регламентін жасау;
5. Субтанцияларды стандарттау үшін және олардың БАЗ кешендерін жекелеген қосылыстарға бөлудің оңтайлы схемаларын құрастыру және бөлінген заттарды идентификациялау;
6. Медицинада қолданысқа енгізу үшін құрғақ экстракттардан болінген заттар мен фракциялардың белсенділігінің жаңа түрлерін зерттеу.

Зерттеудің нысаны – *Polygonum* L. туыстарына жататын өсімдіктердің фармакопеялық түрлерінің *Polygonaceae* Juss тұқымдастарының (дәріханалық үлгілері): *Polygonum hydropiper* L., *Polygonum aviculare* L., *Polygonum minus* Huds. жерүсті бөліктері болып табылады.

Зерттеудің тақырыбы – қазақстандық үш фармакопеялық түрдің жерүсті бөліктерінің нормативті көрсеткіштері бойынша олардағы белсенді және ілеспелі заттардың сапалық (фармакопеялық мақала) және сандық құрамын, оңтайлы экстрагенттерді таңдау, шикізат - экстрагент қатынасын, экстракттау әдісін және экстракттау уақытын анықтау. Алынған потенциалды фитопрепараттарға тест-сынама биоскринингі жүргізу.

Зерттеу әдістері. Жұмыста зерттеудің негізгі физика-химиялық әдістері ретінде УК-, УФ-спектроскопия, сонымен қатар белгіленген заттардың құрылымын идентифицирлеуге бір өлшемдік (^{1}H и ^{13}C ЯМР, DEPT), екі өлшемдік (HMQC, HMBC, COSY), масс- и хромато-масс спектрометрия қолданылады.

Қорғауға ұсынылған диссертацияның негізгі ережелері:

- Қазақстан Республикасы территориясында өсетін үш жабайы өсімдік түрлерінің: *P. hydropiper, P. aviculare, P. minus* жерүсті бөліктері құрамындағы биологиялық белсенді заттардың негізгі топтарына салыстырмалы сапалық және сандық талдау;

- *Polygonum L* текті зерттелген өсімдіктердің жерүсті бөліктерінен құрғақ экстракттар алу технологиясының сипаттамасы;

- субстраттар жиынтығын жекелеген компоненттерге бөліу, әрі қарай спектралды идентификациялау;

- оқшауланған жекелеген заттар мен фракциялардың биологиялық сынақтарының нәтижелері.

- оның ары қарай ішкі нарыққа бағдарлау үшін бөлінген фракциялар мен жеке заттардың биологиялық зерттеудің нәтижесі.

Ғылыми жаңалығы.

1. *P. hydropiper* және *P. aviculare* өсімдіктерінің жер үсті бөліктеріндегі флавоноидтарды спектрометриялық сандық анықтаудың оригиналды әдістері жасалды;
2. Зерттелген өсімдік түрлеріндегі биологиялық белсенді заттардың (БАЗ) негізгі топтарының сапалық және сандық құрамы анықталды;
3. Зерттелген өсімдіктерден құрғақ экстракттар алудың оңтайлы технологиялық параметрлері жасалынды;
4. Тұңғыш рет зерттелетін өсімдіктерден фитопрепараттар жиынтығын бөліп алудың зертханалық регламенті жасалды;
5. Субстанцияларды стандарттау үшін олардың БАЗ кешендерін жекелеген қосылыстарға бөлудің оңтайлы сызбалары әзірленді және құрастырылды. 10 флавоноидтар, 2 май қышқылдары, 3 стерин, 1 фенолкарбон қышқылы, 3 сесквитерпен, 1 май қышқылының эфирі бөлінді. Арахидон қышқылы мен изополипипер қышқылы *P. hydropiper.* Өсімдігінің жерүсті бөлігінен тұңғыш рет бөлініп алынды;
6. Бөлінген қосылыстардың және құрғақ экстракттардан оқшауланған фракциялардың микробқа қарсы, малярияға қарсы, каннабиноидтық және опиоидтық түрлерінің белсенділігі зерттеліп, оларды медицинада қолдану мүмкіндіктері қарастырылған;
7. Тұңғыш рет 3,3'-диметилэллаг қышқылының каннабиноидты белсенділігі зерттелді.

Жұмыстың теориялық маңыздылығы. Заманауи физика-химиялық зерттеу әдістері *Polygonum* L. тұқымдасының химиялық құрамы жөнінде жаңа мәліметтер алуға және сапалық баға беруге септігін тигізді. Шикізат құрамындағы сандық және сапалық әдістердің көрсеткіш нәтижелері өсімдіктің қаншалықты құндылығын көрсетеді. Каннабиноидты және опиоидты зерттеу *P. hydropiper* шөптерінің кең көлемде қолданысқа жарамдылығын арттырады.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы. Жергілікті флораларды Отандық фармацевтикалық өнеркәсіпте негізгі шикізат ретінде қолдану зерттеудің тәжірибелік маңызы болып табылады, сондай-ақ өзіндік фармакопеялық шикізаттан дәрілік препараттар алу өндірісінің ассортиментін кеңейту және де болашақта препараттарды медицинаға енгізуді қамтамасыз етеді. Биоскрининг нәтижелері бойынша тәжірибелік маңыздылық анықталады. Егер шикізат алғашқыда фармакопеялық болса, онда субстанцияны енгізу жолы қысқа болу керек.

Негізгі нәтижелер:

1. *Polygonum* L. түқымдас өсімдігінің ББЗ-ның сандық топтары мен сапалық топтарын анықтау. Үш түрлі өсімдіктің сапалық зертеу нәтижелері *Polygonum* L. тұқымдасы ұқсас болып келеді. Бірақ сандық анализ нәтижелері. ББЗ-дың негізгі топтары бойынша айырмашылықтарды байқатты. Сандық анализ көрсеткіштеріне сүйенер болсақ полисахаридтер *P. aviculare* (5.13%) жер үсті бөлігінде басым, тері илеуіш заттар - *P. hydropiper* (2.11%), флавоноидтер - *P. aviculare* және *P. minus* (3.41% және 6.21% сәйкес), аминқышқылдар - *P. hydropiper* және *P. minus* (7.72% және 6.16% сәйкес). Сондай-ақ тау шикізатының күл қалдықтарында түрлі (микроэлементтерге) Zn, Ni, Cr, Cu, Mn, Co, Mg бай, (жалпы күлділігі *P. hydropiper* – 12.68%, *P. aviculare* – 8.21%, *P. minus* – 10.32%). Өнімде фосфор мен марганец мөлшері көп сондықтан да биосинтез процессінде біріншілік және екіншілік метаболизм кезінде атқарар рөлі маңызды болып табылады.

2. Стандартталған спектрометриялық әдістер нәтижесінде флавоноидтар анықталды. Диагностикалық қоспа ретінде алюминий хлоридінің ерітіндісін пайдаландық. Флавоноидтардың максималды абсорбциялану *P. hydropiper* λ_{max}=425 нм, *P. aviculare* – λ_{max}=385 нм толқын ұзындығын да жүреді.

3. Эксктрактивті заттардың және флавоноидтердің шығуына әдіс және экстракция ұзақтығы, гидромодуль, экстрагент табиғаттының әсері зерттелді.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесіне сәйкес, экстрагент ретінде *P. hydropiper* және *P. minus* өсімдігі үшін 50% этил спирті, *P. aviculare* өсімдігі үшін 70% этил спиртін қолданған. Сығындыларды 1:7 – *P. hydropiper* және *P. minus* өсімдігі үшін, 1:10 – *P. aviculare* қатынастарында дайындаған. Шикізаттың ұнтақтау дәрежесі 3 мм - *P. hydropiper* және *P. minus,* 1 мм - *P. aviculare*.

Құрғақ биологиялық активті экстракттерді *P. hydropiper* және *P. minus*-тан алудың оңтайлы экстракция әдісі болып табылды; ал *P. aviculare* үшін - перколяция.

P. hydropiper үшін қатты дене-сұйықтық жүйесінде концентрацияларының динамикалық тепе-теңдігі 24-сағаттан кейін орнайды (ЭЗ 23.77 %, флавоноидтар 2.85 %), *P.aviculare* үшін – 12 сағаттан кейін (ЭЗ 23.27 %, флавоноидтар 3.29 %),

P. minus үшін – 24 сағаттан кейін (ЭЗ 22.84%, флавоноидтар 3.35%), бұл бірінші экстракция үшін; ол екінші экстракция 3 өсімдік 6 сағаттан кейін.

4. Алғаш рет үш фармакопеялық өсімдіктерден (*P. hydropiper, P. aviculare, P. minus*) фитопрепараттар өдірісін оңтайландырылған технологиялық блок-схемалар мен материалдық қалдықтар құрастырылған. Ұсынылған технологияларға сәйкес фитопрепараттардың шығуы *P. hydropiper* өсімдігі үшін 25,25%, *P. aviculare* өсімдігі үшін 23,95%, *P. minus* өсімдігі үшін 24,73%. Сондай-ақ, шөптен жасалған құрғақ фитопрепараттың өнеркәсіптік өндірісінің экономикалық негіздемесі есептелінді. Мәселен, 100 грамм дайын өнімнің өзіндік бағасы 1500 теңгеден асады.

5. Хромато-масс спектроскопиялық өсімдіктердің *(P. hydropiper* и *P. aviculare)* құрғақ сығындыларының липофильдік фракциялары зерттелді. Осылайша *P. hydropiper* сығындысынан бөлінген фракциядан ұстап қалу уақыты бойынша 29 липофильді зат анықталды. Изоборнил-тиоцианоацетат (6.85%), 5,5-диметил-4 - [(1e) -3-метил-1,3-бутадиенил] -1-оксаспиро [2.5] октан (11.87%), 6,6,9a-триметил-4,5,5a, 6,7,8,9,9a-октагидронафто [1,2-C] фуран-1 (3H) -он (17.52%), фталь қышқылы, бис (2-этилгексил) эфир (25.94%) ең көп концентрацияларда табылған. *P. aviculare* РА-2-7 фракциясының құрамында 22 липофильді заттар бар, оның ішінде гептадекан (7.06%), октадекан (16.67%), тетракозан (12.75%), фракция салмағына қайта есептегенде ең көп концетрацияларда болды.

6. Үш өсімдіктердің (*P. hydropiper, P. aviculare, P. minus)* майқышқылдық құрамдары газ-сұйықтық хроматография әдісімен зерттелді. Зерттеу нәтижесінде *P. hydropiper* және *P. minus* өсімдіктерінің құрамында 7 май қышқылы, *P. aviculare* өсімдігінің құрамында 5 май қышқылы анықталды. *P. hydropiper* және *P. aviculare* өсімдіктерінің құрамында каприл қышқылының 8:0 концентрациялары 63.37% және 40.43% басым, сәйкесінше; *P. minus* өсімдігінде – олеин қышқылы. *P. hydropiper* өсімдігінің құрамында аз концентрацияда пальмитин 16:0 (13.39%) және линол 18:2∆6 (7.48%) қышқылдары бар; *P. aviculare* өсімдігінің құрамында – линолен 18:3∆3 (20.40%) және пальмитин 16:0 (16.40%) қышқылдары; *P. minus* өсімдігінің құрамында линол 18:2∆6 (52.20%) және пальмитин 16:0 (12.30%) қышқылдары бар.

7. Хроматографияның әр түрлі нұсқаларын және химиялық, физика-химиялық талдау әдістерінің деректерін пайдалана отырып, келесі қосылыстық құрылымдар анықталды: стерат стеарилі, изополипипер қышқылы, 3, 3’-ди-О-метилэллаг қышқылы, кверцетин, таксифолин, β-ситостерол, β-ситостирол-β-D-глюкозид (даукостерол), фуегин, дендокарбин L, кверцитрин, изокверцитрин, кверцетиннің 3-О-метил эфирі, изорамнетин, тамариксетин, мирицетин, линол және стерин қышқылдары. Арахидон қышқылы мен изополипипер қышқылы алғаш рет *P. hydropiper* жер үстінен бөлініп алынған.

8. Оқшауланған заттардың және құрғақ сығындылардан алынған фракциялардың антимикробтық, антималярлық, опиоидтік және каннабиноидтік қызметі зерттелген. 7 сығынды және 9 жеке қосылыс биоскринингтік тәсілімен зерттелді. Сонымен қатар зерттелген түрлерге алғаш рет антималярия қарсы, опиоидті және каннабиноидтік әрекеттер зерттелді. 3,3'-ди-О-метилэллаг қышқылы және этанол сығындысы сәйкесінше 62.1 және 56.7% CB1 рецепторлары бойынша жақсы үлгілеу белсенділігін көрсетті. Этилацетат фракциясы опиоидты рецепторлардың δ-кіші түріне (52.8%) байланусудың жақсы белсенділігін көрсетті.

Нәтижелерді нақты қолдану бойынша ұсыныстар мен бастапқы мәліметтерді әзірлеу. Алынған құрғақ фитопрепараттар дәрілік зат ретінде атап айтқанда науқастарды наркотикалық тәуелділіктен емдеу үшін қолданылуы мүмкін.

Тәжірибелік нәтижелерді апробациялау

Диссертация тақырыбы бойынша негізгі қорытындылар халықаралық конференциялар мен форумдарда ұсынылған баяндамаларда көрсетілген: Young generation forum, World Conference of Scientists and Engineers (WCSE) (Оңтүстік Корея, Сеул, 2016 ж.), II Евразийском форуме молодых ученых "YES-Forum" при Фонде Первого Президента Республики Казахстан – Лидера Нации (Алматы, 2016 ж.) VI Международная научно-практическая конференция «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям» (Полтава, 2017 ж.), XI Международная научная конференция «Инновационное развитие и востребованность науки в современном казахстане» (Алматы, 2017 ж.).

Автордың жеке үлесі зерттеу бағытын таңдау, мақсаты мен міндетін анықтау, эксперименттік жұмыс, статистикалық өңдеу және деректерді талдауға негізделген. Автордың қосқан үлесі зерттеудің барлық сатыларында шешуші рөл атқарады. Автор осы жұмыста әдеби деректерді жинауға және өңдеуге, эксперименталды бөлікті орындауға, нәтижелерді талдауға, талқылауға, түсіндіру, тұжырымдар жасауға, кең ауқымды әрекет ететін 3 фитопрепараттарды өндіру технологиясын өңдеу жұмыстарына тікелей қатысқан.

Қойылған міндеттерді шешудің толықтығын бағалау. Қойылған міндеттер толық шешілді. Өйткені жұмыста өсімдіктердің зерттелетін түрлерінің (*P. hydropiper, P. aviculare, P. minus*) сапа көрсеткіштері зерттелді; биологиялық белсенді заттардың негізгі топтарының сапалық және сандық құрамы; өсімдіктердің зерттелетін түрлеріндегі заттар құрғақ экстрактілерді алудың оңтайлы технологиялық параметрлері қабылданды; зерттелетін өсімдіктерден жасалған жиынтық фитопрепараттарды зертханалық бөлу регламентінің оңтайлы схемалары әзірленді және жасалды;

Субстанцияны стандарттау үшін ББЗ кешендерін жеке қосылыстарға бөлудің оңтайлы сызбалары құрастырылып, бөлінген заттар сәйкестендірілді; Бөлінген заттардың белсенділігінің жаңа түрлерін және әрі қарай оны медицинада қолдану үшін құрғақ сығындылардан алынған фракциялар зерттелінді. Алынған құрғақ фитопрепараттар емдік заттар ретінде, көбінесе есірткіге тәуелді науқастарды емдеуде қолданылады.

Бұл жұмыстың өзге ғылыми-зерттеу жұмыстарымен байланысы.

Диссертациялық жұмыстың нәтижелері 2048/GF4 «Қазақстанның өсімдіктерінен биологиялық белсенді заттардың өнеркәсіптік маңызды кластарын селективті бөліп алудың экономикалық тиімді универсалды әдістерін жасау» (мемлекеттік тіркеу нөмірі 0115РК00563), 2015-2017 жж. жобасы бойынша ғылыми-зерттеу жұмыстарының есептеріне енгізілген.

Диссертация тақырыбы бойынша жарияланымдар.

Диссертациялық жұмыстың қорытындысы бойынша 9 ғылыми еңбек жарияланды, оның ішінде ҚР БжҒМ Білім және ғылым саласындағы бақылау комитеті мақұлдаған мақалалардан шыққан 3 мақала: «Chemistry of natural compounds» рейтингілік журналында 1 мақала және мамандандырылған халықаралық конференциялар материалдарында 5 тезис жарияланды.

Диссертацияның құрылымы мен көлемі. Диссертация машинамен басылған мәтіннің 148 бетіне жазылған және кіріспеден, 3 бөлімнен, қорытындыдан, 58 кестеден, 24 суреттен, 262 пайдаланылған әдебиет көздерінен және 4 қосымшадан тұрады.