

АННОТАЦИЯ

диссертационной (PhD) работы Жұмабековой Айнұр Маратқызы на тему: «Комплексное изучение биологически активных веществ определенных представителей рода *Thymus* L. и перспективы их применения в медицине», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110400 – Фармация

Актуальность проблемы. Увеличение спроса на лекарственные средства растительного происхождения может привести к истощению запасов лекарственного растительного сырья. Что обосновывает необходимость расширения сырьевой базы официальных лекарственных растений за счет дополнительных растительных источников и их комплексного использования.

В плане разработки и внедрения в практическое здравоохранение оригинальных эффективных фитопрепаратов несомненный интерес представляют растения рода Тимьян (*Thymus* L.). Растения рода Тимьян популярны в традиционной медицине многих стран и народов как ценное лекарственное сырье. В Государственную фармакопею Республики Казахстан в качестве лекарственных растений включены тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) и тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.). В официальной медицине данные травы применяются как лекарственное растительное сырье, обладающее антибактериальным, вяжущим, противовоспалительным, успокаивающим, противосудорожным, отхаркивающим, спазмолитическим, желчегонным, болеутоляющим, мочегонным, ранозаживляющим и глистогонным действием, используется в виде отваров и настоев.

Возможное сокращение запасов лекарственного растительного сырья тимьяна ползучего и тимьяна обыкновенного приводит к необходимости расширения сырьевой базы официальных лекарственных растений за счет использования эндемичных видов флоры Казахстана. На территории Центрального Казахстана произрастают 15 видов растений рода Тимьян, из них 5 видов являются эндемичными, в том числе, тимьян частолистый (*Thymus crebrifolius* Klok.), тимьян бритый (*Thymus rasitatus* Klok.) и тимьян пустынный (*Thymus eremita* Klok.).

Тимьян частолистый, тимьян бритый и тимьян пустынный распространены на территории Центрального Казахстана. По результатам обследования сырьевых запасов на территории Карагандинской области данные растения имеют достаточные общие эксплуатационные запасы и возможные объемы ежегодных заготовок для использования в фармации и медицине. Тем не менее, химический состав и биологические свойства данных видов растений изучены не достаточно. Поэтому исследование химического состава тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного, разработка способа и технологии получения суммы экстрактивных веществ и изучение ее биологических свойств является актуальной и приоритетной задачей.

Цель работы. Комплексное изучение биологически активных веществ

тимьяна частолистого, тимьяна бритого, тимьяна пустынного, разработка технологии их получения и исследование биологических свойств.

Задачи исследования:

1. Фармакогностическое изучение тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius*), тимьяна бритого (*Th. rasitatus*) и тимьяна пустынного (*Th. eremita*).

2. Разработать способ и технологию получения суммы экстрактивных веществ тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного с использованием ультразвука.

3. Провести изучение химического состава полифенольных соединений ультразвуковых экстрактов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного.

4. Изучить биологические свойства ультразвуковых экстрактов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного, произвести отбор образцов обладающих выраженным биологическим действием для разработки эффективных отечественных лекарственных средств.

5. Разработать нормативные документы, в виде проектов НД на лекарственное растительное сырье и субстанцию ультразвукового экстракта тимьяна частолистого, лабораторного регламента на получение субстанции.

Объекты исследования: растительное сырье: трава тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius* Клок.), тимьяна бритого (*Th. rasitatus* Клок.) и тимьяна пустынного (*Th. eremita* Клок.), собранные в популяциях Карагандинской области РК; суммы экстрактивных веществ: сухие ультразвуковые экстракты тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного.

Предмет исследования: биоморфологические особенности, диагностические признаки, товароведческие показатели и химический состав тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного; способ и технология получения сухого ультразвукового экстракта тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного; химический состав и биологические свойства сухих ультразвуковых экстрактов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного; нормативная документация на субстанцию ультразвукового экстракта тимьяна частолистого.

Методы исследования: для достижения поставленной цели и решения задач использованы современные физико-химические методы экстракции и анализа: ультразвуковая экстракция, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ/УФ, ВЭЖХ/МС), газовая хроматография (ГХ/ПИД), хромато-масс-спектрометрия (ГХ/МС), ультрафиолетовая (УФ) спектрофотометрия.

Научная новизна работы:

– впервые проведено фармакогностическое изучение эндемичных видов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного, описаны внешние признаки и микроскопические характеристики, представлены результаты товароведческого анализа, проведено комплексное

изучение содержания различных классов биологически активных веществ и минеральных элементов;

– впервые для извлечения суммы экстрактивных веществ из тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного применена ультразвуковая экстракция растительного сырья;

– впервые проведено изучение флавоноидов и фенольных кислот ультразвуковых экстрактов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного с применением ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС/МС;

– в результате проведенного биоскрининга впервые установлено, что ультразвуковой экстракт тимьяна частолистого, проявляет выраженную антимикробную активность в отношении 6 штаммов грамположительных бактерий (двух линий штаммов *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, вызывает задержку роста культур *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*), 2 штаммов грамотрицательных бактерий (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*), вызывает задержку роста 2 штаммов грибов *Candida albicans*, *Candida krusi*, и обладает выраженным бактерицидным действием в отношении *Helicobacter pylori*;

– впервые по данным биоскрининга выявлено, что ультразвуковой экстракт тимьяна бритого, обладает выраженной антимикробной активностью в отношении 3 штаммов грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, вызывает задержку роста культур *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*), 1 штамма грамотрицательных бактерий (*Klebsiella pneumoniae*), вызывает задержку роста культуры гриба *Candida albicans*, и обладает выраженным бактерицидным действием в отношении *Helicobacter pylori*;

– впервые установлено, что ультразвуковой экстракт тимьяна пустынного, проявляет выраженную антимикробную активность в отношении 1 штамма грамотрицательных бактерий (*Klebsiella pneumoniae*), вызывает задержку роста культур 4 штаммов грамположительных бактерий (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*), и обладает выраженным бактерицидным действием в отношении *Helicobacter pylori*;

– впервые установлено, что отхаркивающее действие близкое к препарату сравнения «Бронхikum С» проявляет ультразвуковой экстракт тимьяна бритого, ультразвуковой экстракт тимьяна частолистого - уступает препарату сравнения в 1,5 раза, а ультразвуковой экстракт тимьяна пустынного практически не обладает отхаркивающей активностью;

– по результатам исследования острой токсичности в эксперименте *in vivo*, установлено, что субстанция ультразвукового экстракта тимьяна частолистого относится к группе «Практически нетоксично» (V класс токсичности);

- разработана технология получения субстанции ультразвукового экстракта тимьяна частолистого;
- разработан проект НД на лекарственное растительное сырье «Тимьян частолистый трава», нормативные документы на субстанцию ультразвукового экстракта тимьяна частолистого, в виде проекта НД и лабораторного регламента на получение субстанции ультразвукового экстракта тимьяна частолистого.

Практическая значимость работы:

– по результатам комплексного изучения содержания различных классов биологически активных веществ установлено, что трава тимьяна частолистого, трава тимьяна бритого и трава тимьяна пустынного содержат значительное количество терпеноидов, флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, дубильных веществ, тритерпеновых соединений, водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, аминокислот и органических кислот, наличие которых, в комплексе с количественным содержанием многих важнейших минеральных элементов, определяют перспективность их использования в фармации и медицине;

– на основе результатов фармакогностического исследования и товароведческого анализа тимьяна частолистого разработан проект НД на лекарственное растительное сырье «Тимьян частолистый трава»;

– с учетом выхода ультразвукового экстракта и биологических свойств, в качестве субстанции перспективной для разработки отечественных лекарственных средств широкого спектра антимикробного действия, в том числе *Helicobacter pylori*, рекомендуется ультразвуковой экстракт тимьяна частолистого;

– разработана и внедрена технология получения ультразвукового экстракта тимьяна частолистого;

– разработан проект НД на субстанцию ультразвуковой экстракт тимьяна частолистого;

– разработан и утвержден лабораторный регламент на получение субстанции ультразвукового экстракта тимьяна частолистого (ЛР-005491-МК-05-21);

– на базе Научно-исследовательского центра НАО «МУК» организован выпуск опытных партий субстанции ультразвукового экстракта тимьяна частолистого для фармакологического исследования.

Основные положения, выносимые на защиту:

– результаты фармакогностического изучения эндемичных видов тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius* Klok.), тимьяна бритого (*Th. rasitatus* Klok.) и тимьяна пустынного (*Th. eremita* Klok.);

– способ и технология получения ультразвуковых экстрактов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного;

– результаты исследования качественного и количественного состава полифенольных соединений ультразвуковых экстрактов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного;

– результаты биологических свойств и острой токсичности ультразвуковых экстрактов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного;

– нормативные документы на субстанцию ультразвукового экстракта тимьяна частолистого, в виде проекта НД и лабораторного регламента на получение;

– проект НД на лекарственное растительное сырье «Тимьян частолистый трава».

ВЫВОДЫ:

1. Впервые проведено фармакогностическое изучение тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius* Klok.), тимьяна бритого (*Th. rasilatus* Klok.) и тимьяна пустынного (*Th. eremita* Klok.). По результатам комплексного изучения содержания различных классов биологически активных веществ установлено, что трава тимьяна частолистого, трава тимьяна бритого и трава тимьяна пустынного содержат значительное количество терпеноидов, флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, дубильных веществ, тритерпеновых соединений, водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, аминокислот и органических кислот, наличие которых, в комплексе с количественным содержанием многих важнейших минеральных элементов, определяют перспективность их использования в фармации и медицине. На основе фармакогностического исследования и результатов товароведческого анализа тимьяна частолистого разработан проект НД на лекарственное растительное сырье «Тимьян частолистый трава».

2. Разработан способ и технология получения суммы экстрактивных веществ тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного с применением ультразвука. Нарботаны ультразвуковые экстракты для изучения химического состава и биологических свойств.

3. Впервые проведено изучение флавоноидов и фенольных кислот ультразвуковых экстрактов тимьяна частолистого, тимьяна бритого и тимьяна пустынного с применением ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС/МС. В ультразвуковом экстракте тимьяна частолистого идентифицировано и количественно определено 12 фенольных соединений, четыре из них фенольные кислоты, восемь – флавоноиды, в ультразвуковом экстракте тимьяна бритого установлено 12 фенольных соединений, пять из них фенольные кислоты, семь – флавоноиды, в ультразвуковом экстракте тимьяна пустынного определено 14 фенольных соединений, пять из них фенольные кислоты, девять - флавоноиды. У полученных ультразвуковых экстрактов обнаружены отличия, как по качественному составу фенольных соединений, так и по количественному содержанию фенольных кислот и флавоноидов.

4. В результате проведенного биоскрининга впервые установлено, что ультразвуковой экстракт тимьяна частолистого, проявляет выраженную антимикробную активность в отношении 6 штаммов грамположительных бактерий (двух линий штаммов *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*,

вызывает задержку роста культур *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*), 2 штаммов грамотрицательных бактерий (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*), вызывает задержку роста 2 штаммов грибов *Candida albicans*, *Candida krusi*, и обладает выраженным бактерицидным действием в отношении *Helicobacter pylori*. Ультразвуковой экстракт тимьяна бритого, обладает выраженной антимикробной активностью в отношении 3 штаммов грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*), вызывает задержку роста культур *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*), 1 штамма грамотрицательных бактерий (*Klebsiella pneumoniae*), вызывает задержку роста культуры гриба *Candida albicans*, и обладает выраженным бактерицидным действием в отношении *Helicobacter pylori*. Ультразвуковой экстракт тимьяна пустынного, проявляет выраженную антимикробную активность в отношении 1 штамма грамотрицательных бактерий (*Klebsiella pneumoniae*), вызывает задержку роста культур 4 штаммов грамположительных бактерий (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*), и обладает выраженным бактерицидным действием в отношении *Helicobacter pylori*.

5. С учетом выхода ультразвукового экстракта и биологических свойств, в качестве субстанции перспективной для разработки отечественных лекарственных средств широкого спектра антимикробного действия, в том числе *Helicobacter pylori*, рекомендуется ультразвуковой экстракт тимьяна частолистого; по результатам исследования острой токсичности в эксперименте *in vivo*, установлено, что субстанция ультразвукового экстракта тимьяна частолистого относится к группе «Практически нетоксично» (V класс токсичности).

6. Разработан проект НД и проведена стандартизация субстанции ультразвукового экстракта тимьяна частолистого. Разработан и утвержден лабораторный регламент на получение субстанции ультразвукового экстракта тимьяна частолистого (ЛР-005491-МК-05-21). На базе Научно-исследовательского центра НАО «МУК» организован выпуск опытных партий субстанции ультразвукового экстракта тимьяна частолистого для фармакологического исследования.

Апробация работы. Основные результаты диссертации представлены на: V научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (Москва, 15 марта 2017 г.); международной научно-практической конференции «Теоретические и прикладные аспекты интродукции растений, сохранения биоразнообразия и рационального использования биоресурсов в аридных условиях» (Актау, 2017 г.); международной научно-практической конференции «Современная биология. Теоретические, прикладные аспекты и междисциплинарные связи» (Караганда, 12-13 октября 2017 г.); V международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, 8-9 декабря 2017 г.); IV (XII) международной ботанической конференции

молодых учёных (Санкт-Петербург, 22–28 апреля 2018 г.); международной конференции молодых ученых и студентов «Мир науки и молодежь: эра стремительных изменений» (Караганда, 28 апреля 2018 г.); IV (XII) Международной ботанической конференции молодых учёных в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, 22-23 апреля 2018 г.)

Публикации. По материалам диссертации получен 1 патент РК, основные положения диссертации отражены в следующих публикациях:

- 4 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан;

- 1 статья в международном научном издании, входящем в базу данных Scopus Q3;

- 9 статей и тезисов в сборниках Международных конференций;

- 1 статья в Республиканском научном журнале.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста, включает 31 рисунок и 39 таблиц; состоит из введения, 5 глав, заключения, списка использованных источников и приложений. Список литературы включает 150 литературных источников.