

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Рамазановой Асель на тему
«Разработка новых антимикробных лекарственных средств на основе *Dracoscephalum nutans* L. и *Dracoscephalum ruyschiana* L.», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 8D07201 – «Технология фармацевтического производства»

Актуальность темы исследования

В настоящее время одним из приоритетных направлений деятельности фармации является обеспечение населения Республики Казахстан относительно безопасными, качественными, эффективными и доступными отечественными лекарственными средствами. Для реализации данного направления необходимо проведение исследований по эффективному использованию отечественного природного сырьевого ресурса в фармацевтической отрасли. В соответствии с Посланием Президента РК народу «Казахстан в новой реальности: время действий» и Распоряжением Премьер Министра РК о «Комплексном плане по развитию фармацевтической и медицинской промышленности на 2020-2025 годы», так же Постановлениями Правительства РК о «Концепции развития обрабатывающей промышленности на 2023-2029 годы» все большую значимость приобретает создание отечественных лекарственных средств с использованием лекарственных растений, произрастающих на территории Республики Казахстан, а так же развитие фармацевтического кластера путем повышения конкурентоспособности отечественной продукции и выхода на внешние рынки.

В настоящее время арсенал фармацевтического рынка значительно расширился высокоэффективными лекарственными препаратами растительного происхождения. Во флоре Казахстана произрастает более 1000 эфиромасличных растений. Большой интерес представляют некоторые виды из семейств *Lamiaceae*, которые раньше вовсе не изучались, или по которым имеются только краткие сведения о химическом составе и биологических свойствах. В этом отношении интерес представляет семейство *Lamiaceae* L., являющееся одним из ведущих во флоре Казахстана. Так, на территории республики в данном семействе насчитывается 233 вида.

Среди них наибольшей известностью пользуются растения рода *Dracoscephalum*, которые являются богатым и очень распространенным источником эфирных масел. По информации базы данных The Plant List (на август 2020) род включает 74 вида, в Казахстане произрастает 20 видов.

Исследования показали, что некоторые виды *Dracoscephalum* обладают антибактериальным, противокашлевым, противодиарейным, антиоксидантным, противораковым, противовоспалительным, противодиабетическим и успокаивающим действием.

Эфирное масло *Dracoscephalum moldavica* L. обладает выраженными антимикробными свойствами, химический состав которого состоит из

лимонена, оксида кариофиллена, 1,8-цинеола, вербенона, периллилового спирта, нерала и геранилацетата.

Ранее казахстанские виды *Dracocephalum* на содержание биологически активных соединений не были изучены. В связи с этим, целенаправленный поиск новых, эффективных противомикробных лекарственных средств на основе *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L., произрастающих в Центральном Казахстане является актуальным с научно - практической точки зрения и перспективным направлением развития.

В народной медицине *Dracocephalum nutans* L. из-за высокого содержания различных биологически активных соединений (эфирные масла, флавоноиды, сапонины, кумарины, полифенольных кислот), экстракты растительного сырья широко используются при лечении таких заболеваний, как воспаление почек, гепатит, гастрит и др. В тибетской народной медицине отвар надземной части травы применяют при воспалении почек, гепатите, гастрите, в монгольской народной медицине – желудочно-кишечных заболеваниях.

Dracocephalum ruyschiana L. - эфиромасличное растение, находящее применение в народной медицине. *Dracocephalum ruyschiana* L. применяется в народной медицине при болезнях дыхательных путей, в качестве жаропонижающего средства. Сообщается, что экстракты *Dracocephalum ruyschiana* используются в качестве кровоостанавливающего, противовоспалительного, обезболивающего, мочегонного средства.

Следовательно актуальным и перспективным направлением является поиск и разработка новых противомикробных лекарственных средств на основе *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L.

Цель диссертационного исследования: Разработка отечественных антимикробных лекарственных средств на основе растительного сырья *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. с изучением профиля их биологической активности и безопасности.

Задачи исследования:

1. Разработка технологии сбора, заготовки сырья и фармакогностическое исследование надземной части *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L.

2. Определение спецификации качества и сроков хранения растительного сырья *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L.

3. Разработка оптимальной технологии получения экстракта растительного сырья *Dracocephalum nutans* L. и растительного сырья *Dracocephalum ruyschiana* L., изучение их химического состава и скрининг образцов на биологическую активность.

4. Выделение эфирных масел из травы *Dracocephalum nutans* L. и травы *Dracocephalum ruyschiana* L., изучение их химического состава методом ГХ-МС, разработка спецификации качества и определение срок годности.

5. Разработка состава и технологии получения геля на основе эфирного масла *Dracocephalum nutans* L.

6. Исследование острой токсичности эфирного масла *Dracocephalum nutans* L.

7. Скрининг образцов эфирного масла *Dracocephalum nutans* L. и геля на его основе на биологическую активность.

Методы исследования: фармакопейные, фармакогностические, фармакологические, биологические, статистические.

Объекты исследования: растительное сырье: *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. собранные на территории Центрального Казахстана; густые экстракты *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L., эфирное масло *Dracocephalum nutans* L. и гель на его основе.

Предмет исследования: ресурсоведческие данные, биоморфологические особенности, диагностические признаки, числовые показатели сырья и химический состав *Dracocephalum nutans* L. (змееголовник поникший) и *Dracocephalum ruyschiana* L. (змееголовник Рюйша); густые экстракты *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L., полученных в результате ультразвуковой экстракции; химический состав и биологические свойства густых экстрактов *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L., полученных ультразвуковым методом; эфирное масло *Dracocephalum nutans* L. и гель на его основе; исследование безопасности эфирного масла, исследование биологической активности эфирного масла и геля на его основе, разработка нормативных документов, сбор итоговых материалов, определяющих теоретическую и практическую ценность диссертации.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Результаты фармакогностического анализа надземной части растительного сырья *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. и результаты стандартизации;
2. Компонентный состав и биологическая активность густых экстрактов *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L.;
3. Компонентный состав, острая токсичность, антимикробная активность эфирного масла *Dracocephalum nutans* L. и результаты стандартизации.
5. Антимикробная активность и технология получения геля на основе эфирного масла *Dracocephalum nutans* L. и результаты стандартизации.

Научная новизна исследования:

В результате научных исследований впервые:

- определен химический состав эфирного масла *Dracocephalum nutans* L., полученного методом гидродистилляции; основные компоненты: 1,8-цинеол - 34%, 2-борнанол - 9%, эндоборнеол - 2,5%, камфен - 2,6%, α -пинен - 2,6%.

- изучена антимикробная, противогрибковая активность и острая токсичность эфирного масла *Dracocephalum nutans* L.;

- разработана технология получения антимикробного геля на основе эфирного масла *Dracocephalum nutans* L.;

- определена антимикробная активность геля на основе эфирного масла *Dracocephalum nutans* L.

Научная новизна исследования подтверждены патентом на полезную модель под регистрационным номером №8038 от 05.05.2023 г. «Применение эфирного масла змееголовника поникшего (*Dracocephalum nutans* L.) в качестве антимикробного средства»;

Практическое значение полученных результатов

В результате проведенных исследований определены сырьевые запасы травы *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. на территории Центрального Казахстана.

На основании полученных в ходе проведенного диссертационного исследования результатов рекомендовано лекарственное растительное сырье двух видов: трава *Dracocephalum nutans* L. и трава *Dracocephalum ruyschiana* L.

Разработаны технология заготовки и спецификация качества, проекты нормативных документов на ЛРС «Трава змееголовник поникший» и «Трава змееголовник Рюйша».

Методом гидродистилляции получено эфирное масло *Dracocephalum nutans* L. и определен его химический состав методом ГХ-МС.

На основе фармацевтической субстанции (эфирного масла *Dracocephalum nutans* L.) разработано лекарственное средство в виде антимикробного геля. По результатам неклинических испытаний фармацевтическая субстанция не обладает токсическими свойствами и рекомендуется в качестве противомикробного средства. Разработан лабораторный регламент и подготовлены проекты нормативных документов для получения антимикробного геля. Результаты научно-исследовательской работы по фармакогностическому изучению *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. внедрены в учебный процесс школы фармации НАО «Медицинский университет Караганды».

Личный вклад докторанта:

Все результаты диссертационного исследования автор провел самостоятельно и является личным вкладом докторанта в технологию фармацевтического производства.

Выводы:

В результате проведенных диссертационных исследований сделаны следующие выводы:

1.1 Исследованы ареал распространения и ресурсы *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. В результате изучения ареала распространения сделаны выводы о том, что трава *Dracocephalum nutans* L. и трава *Dracocephalum ruyschiana* L. широко распространены на территории Казахстана, в том числе в Карагандинской области. Как показали результаты исследования ресурсов, эксплуатационные запасы *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. составляют 14,5 тонн и 9,5 тонн соответственно, возможный годовой объем сбора сырья - 7,3 и 5,7 тонн соответственно.

1.2 Определены фармакогностические особенности растительного сырья *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L.: проведен

макроскопический, микроскопический анализ сырья. Определен гистохимический состав.

Определены показатели идентификации по результатам гистохимического и фитохимического анализа.

Впервые проведено изучение надземных органов *D.ruyschiana* L. и *D. nutans* L. методами световой микроскопии в сочетании с гистохимическими тестами. В результате проведенных гистохимических тестов на поперечных срезах листьев, стеблей и поверхностного среза цветков *D. ruyschiana* L. и *D. nutans* L. обнаружены эфирные масла, фенольные кислоты, флавоноиды, а также установлена их локализация:

- эфирные масла – в эфирномасличных железках и головчатых волосках;
- фенольные кислоты – в склеренхиме и хлоренхиме листа, коровой и проводящей зоне стебля, проводящей зоне и механической ткани черешка;
- флавоноиды – в мезофилле листа; уголкового колленхима, эпидермиса, хлоренхимы и сосудисто-проводящих пучках стебля; хлоренхиме и проводящих пучках черешка.

1.3 Разработана технология сбора, приготовления *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L.

2.1 Разработаны нормативы качества *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. и определены сроки хранения. В течение 24 месяцев в период испытаний стабильности растительного сырья *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. в первичной упаковке показатели стабильности качества находились в пределах регламентированного предела, а полученные данные были включены в проект нормативной документации на сырье.

3.1 Определены параметры экстрактов, полученного ультразвуковым методом *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L.: наибольший выход продукта обеспечивается двукратной экстракцией ультразвуком воздушно-сухого сырья, измельченного до размера 3-5 мм, 70% этанолом при частоте ультразвукового излучения 40 кГц, в течение 30 минут; Сравнительно высокий выход густого экстракта, полученного в результате ультразвуковой экстракции для *Dracocephalum nutans* L. составил 4,5 г, для сырья *Dracocephalum ruyschiana* L. составил 4,2 г. Методом перколяции выходы составили для *Dracocephalum ruyschiana* L. и *Dracocephalum nutans* L. 2,0 г и 2,5 г соответственно.

3.2 Химический состав экстрактов определен методом ВЭЖХ. В экстрактах *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. выявлены сходства по качественному составу фенольных соединений, но имеются существенные различия по количественному составу фенольных кислот и флавоноидов. В экстрактах *Dracocephalum ruyschiana* L. и *Dracocephalum nutans* L. доминирующими фенольными соединениями являются розмариновая кислоты (44,76 и 19,54 мг/г соответственно). Также в экстракте *Dracocephalum nutans* L. доминирующим компонентом является кверцетин-3'-глюкозид (изокверцетин) 47,96 мг/г.

3.3 В результате скрининга образцов экстрактов *Dracocephalum nutans* L.

и *Dracocephalum ruyschiana* L., полученных ультразвуковым методом на биологическую активность, установлено, что экстракты *Dracocephalum ruyschiana* L. и *Dracocephalum nutans* L. проявляют слабую антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, грамотрицательных бактерий *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и к дрожжевому грибку *Candida albicans*.

Данные экстракты из-за отсутствия выраженной биологической активности оказались неперспективными для дальнейшей разработки технологии антимикробного средства на их основе.

4.1 Эфирные масла *Dracocephalum nutans* L. и *Dracocephalum ruyschiana* L. получены методом гидродистилляции:

В результате выход эфирного масла *Dracocephalum nutans* L. составил 0,6%, а в траве *Dracocephalum ruyschiana* были обнаружены только следы эфирного масла, поэтому дальнейшее его изучение по химическому составу, скрининга на биологическую активность и разработки лекарственного средства на его основе было невозможно.

4.2 Изучен химический состав эфирного масла *Dracocephalum nutans* L., где основными компонентами являются: 1,8-цинеол-34%, 2-борнанон – 9%, эндо-борнеол - 2,5%, камфен – 2,6%, α-пинен-2,6%.

4.3 Разработана спецификация качества эфирного масла *Dracocephalum nutans* и определены сроки хранения.

5. Разработан оптимальный состав и технология получения антимикробного геля на основе эфирного масла *Dracocephalum nutans* L.

В составе:

- активное вещество - эфирное масло *Dracocephalum nutans* L.-5 мл, вспомогательные вещества: натрия КМЦ (20,0 г) - гель-образователь, глицерин (10 мл) - пластификатор, твин 80-эмульгатор (1 мл) и очищенная вода.

Разработана спецификация качества геля и определены сроки хранения.

Проведено технико-экономическое обоснование производства эфирного масла *Dracocephalum nutans* и геля на его основе. Полная себестоимость единицы продукции составила 1084,6 тенге, розничная цена – 1409,9 тенге. Срок окупаемости производства геля на основе эфирного масла *Dracocephalum nutans* L. при рентабельности 30% составил 3 года и 4 месяца.

6. В ходе анализа результатов наблюдений за экспериментальными мышами на протяжении 7 и 14 дней после острого введения вещества эфирного масла в дозах 500, 1000, 1500 мг/кг не отмечено негативных влияний на внешний вид, общее состояние, массу тела и поведение животных, а также отрицательного влияния на биохимические параметры крови и основные физиологические функции организма. Установлено, что эфирное масла *D. nutans* относятся к группе «Практически нетоксично» (V класс - малотоксично).

7. В результате исследования на антимикробную активность установлено, что эфирное масло *Dracocephalum nutans* L. и гель на его основе проявляют

выраженную антимикробную активность по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis* и слабую активность в отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и слабую активность к дрожжевому грибку *Candida albicans*.

Апробация результатов

Результаты и основные положения научной работы представлены на:

1. Международной конференции, посвященной 100-летию кафедры аналитической химии " Современные аспекты разработки лекарственных средств" (г. Харьков, Украина, 2021 г.);

2. Студенческой научно-практической конференции «Расцвет фармации!» (г. Караганда, 2023 г.);

3. XI Международной научно-практической конференции «Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике (г. Алматы, 4 ноября 2022 года).

Публикации:

по материалам диссертации опубликованы 7 печатных работ, в том числе: 3 статьи в международном научном издании, входящим в международную базу данных Scopus; 1 - в издании, рекомендованных КОКСНВО МНВО РК; тезисы 3 докладов в материалах международных конференций. Получен патент на полезную модель.

Объем и структура диссертации: Диссертация изложена на 136 страницах компьютерного текста, включающий 160 литературных источника. Диссертация иллюстрирована 45 таблицами и 23 рисунками и включает 13 приложений.