

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на тему: «**Фармацевтическая разработка готовой лекарственной формы на основе биологически активных веществ шалфея степного**», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D074800 – «Технология фармацевтического производства»
Левой Яны Константиновны

Актуальность темы исследования

На территории Республики Казахстан произрастает большое количество растений, в том числе и лекарственных. Большой интерес с точки зрения практического использования в медицине представляют виды рода *Salvia* L. (Шалфей). В настоящее время в Республике Казахстан произрастает 8 видов растений рода Шалфей. В Государственную фармакопею Республики Казахстан включен шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.), который рекомендован к применению в качестве противовоспалительного и антисептического средства, также используется при заболеваниях верхних дыхательных путей, ранозаживляющего средства при ожогах или заболеваниях кожи.

Однако, другие виды рода *Salvia* L. еще недостаточно изучены и не востребованы для медицинского использования. Так, шалфей степной (*Salvia stepposa* Des.-shost.) произрастает практически на всей территории Республики Казахстан, химический состав которого не изучен до сих пор. Виды рода шалфей являются сверхпродуцентами фенолпропаноидов и розмариновой кислоты. Кроме того, исследование на поиск фенолпропаноидов и розмариновой кислоты в *Salvia* L. в Казахстане ранее не проводилось.

Таким образом, исследование перспективного растительного сырья шалфея степного, для его использования для производства отечественных лекарственных средств, свидетельствует об актуальности данной диссертационной работы и её практическом значении для фармацевтической отрасли.

Цель диссертационного исследования: Разработка состава, технологии и стандартизация нового лекарственного средства на основе экстракта шалфея степного.

Задачи исследования:

- провести фармакогностическое исследование травы *Salvia stepposa* Des.-Schost и определить показатели и нормы качества, сроки хранения растительного сырья *Salvia stepposa* Des.-Schost;
- провести сравнительное исследование химического состава, технологических свойств, биологической активности экстрактов из шалфея степного, полученных традиционными способами и методами УЗ- и микроволновой активации;

- провести исследования по выбору оптимального способа получения сухого экстракта из травы шалфея степного, разработать технологию получения субстанции с выраженным биологическим действием. Определить показатели и нормы качества, сроки хранения и исследовать биологическую активность сухого экстракта шалфея степного;

- разработать оптимальный состав и технологию получения готовой лекарственной формы, содержащей экстракт шалфея степного, обладающего фармакологической активностью. Определить показатели и нормы качества, сроки хранения готовой лекарственной формы;

- разработать проекты нормативной и технической документации на сырье, экстракт и готовую лекарственную форму.

Методы исследования

Методы, использованные для проведения научных исследований, соответствуют требованиям Государственной фармакопеи Республики Казахстан (ГФ РК), Фармакопеи Евразийского экономического союза, European Pharmacopoeia, United States Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia, ФС и других нормативных документов, действующих на территории Республики Казахстан.

Для разработки способа, технологии получения биологически активной субстанции, оформления нормативных документов и лабораторного регламента использованы правила GMP, СМК, ГОСТы и другие нормативные документы, действующие на территории Республики Казахстан.

- Микроволновая, ультразвуковая и традиционная экстракция;

- Химические: качественные реакции на различные классы биологически активных веществ;

- Физико-химические: тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ/УФ, ВЭЖХ/МС), хромато-масс-спектрометрия (ГХ/МС);

- Фармакопейные методы: определение цвета, вкуса, запаха по методике, изложенной в ГФ РК, Т. 1, с. 548; определение растворимости в различных растворителях проводят по методике ГФ РК, Т. 1, с. 175;

- Статистическая обработка полученных результатов будет проводиться в соответствии с ОФС.1.1.0013.15 (Общая фармакопейная статья) «Статистическая обработка результатов химического эксперимента», раздел 3 «Метрологическая характеристика метода анализа» и раздел 4 «Метрологическая характеристика среднего результата», будут рассчитаны следующие показатели: среднее значение выборки, \bar{x} ; объем выборки, n ; стандартное отклонение, S ; стандартное отклонение среднего результата, $S_{\bar{x}}$; критерий Стьюдента, t ($P=0,95$, f); полуширина доверительного интервала, ΔX ; относительная ошибка, ε %;

- Оценка антимикробной активности в соответствии с требованиями ГФ РФ с тест-культурами: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Candida albicans* (ATCC 10231).

- Оценка противовоспалительной активности на модели острой экссудативной реакции (перитонит).

- Оценка микробиологической чистоты таблеток по ГФ РК, т I, 5.1.4 «Микробиологическая чистота».

- Оценка антиоксидантной активности исследуемых образцов. методом определения железо-восстанавливающего потенциала [FRAP-методом (Ferric Reducing Antioxidant Power assay)].

- Оценка антирадикальное действие в отношении радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH•). Для оценки антирадикальной активности в тесте с DPPH-радикалом используют этаноловый раствор ДФПГ (100 μM).

- Доклинические (неклинические) исследования экстрактов шалфея степного и опытных образцов таблеток на основе шалфея степного испытания одобрены этической комиссией НАО «Медицинский университет Караганды» КН МОН РК от 10.10.2022 г., протокол № 6, присвоенный номер 7/1.

- Исследование цитотоксичности на рачках *Artemia salina* на наборе, содержащим в себе цисты *Artemia salina*.

Объекты исследования: лекарственное сырье: надземная часть *Salvia stepposa* Des.-Schost; водно-спиртовые экстракты шалфея степного, полученные с применением традиционной экстракции, ультразвука и СВЧ; таблетки на основе сухого экстракта шалфея степного.

Предмет исследования: Фармакогностический и товароведческий анализ надземной части *Salvia stepposa* Des.-Schost; стандартизация; оптимальный способ экстракции шалфея степного; сумма экстрактивных веществ; биологическая активность и доклинические испытания сухого экстракта листьев шалфея степного; концентрация розмариновой кислоты в сырье, экстракте, таблетках; состав и технология получения таблеток, оценка показателей качества таблеток, разработка нормативной документации на сырье и готовую лекарственную форму.

Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты фармакогностического анализа надземной части *Salvia stepposa* Des.-Schost;

- экспериментальные данные по технологии получения и исследования экстрактов из надземной части *Salvia stepposa* Des.-Schost;

- результаты исследования биологической активности и безопасности сухого экстракта из листьев *Salvia stepposa* Des.-Schost;

- результаты фармацевтической разработки таблеток на основе сухого экстракта листьев *Salvia stepposa* Des.-Schost.

Описание основных результатов исследования

Основными результатами исследования являются данные о фармакогностическом изучении надземной части шалфея степного, экспериментальные данные по технологии получения и исследования экстрактов из надземной части шалфея степного, исследования биологической активности и безопасности сухого экстракта из листьев шалфея степного, результаты фармацевтической разработки таблеток на основе сухого экстракта листьев шалфея степного и стандартизация таблеток.

Обоснование научной новизны

Впервые в Республике Казахстан:

- проведен фармакогностический анализ и проведена оценка показателей качества растительного сырья *Salvia stepposa* Des.-Schost, изучена стабильность, разработан проект НД;

- проведена ультразвуковая и микроволновая экстракция *Salvia stepposa* Des.-Schost определен оптимальный способ получения с сохранением максимальной активности образца;

- разработана готовая лекарственная форма в виде таблеток на основе *Salvia stepposa* Des.-Schost;

- разработана технология получения сухого экстракта из листьев *Salvia stepposa* Des.-Schost и проведена оценка показателей качества, изучена стабильность, разработан лабораторный регламент;

- на основании экспериментальных, физико-химических, технологических исследований разработан оптимальный состав и технология производства нового лекарственного средства, обладающего выраженной фармакологической активностью на *Salvia stepposa* Des.-Schost, произрастающего на территории Республики Казахстан;

- разработана спецификация качества и проведена стандартизация готовой лекарственной формы в виде таблеток, изучена стабильность, разработан проект НД.

Практическое значение полученных результатов

Значимость работы в международном масштабе заключается в применении современных инновационных методов для получения экстрактов на основе шалфея степного, произрастающего на территории Республики Казахстан, а именно микроволновые и ультразвуковые методы активации, что, безусловно, окажет влияние на развитие науки и технологии в Казахстане.

Инновационное и конкурентное преимущество от реализации работы связаны с разработкой и внедрением системы импортозамещения жизненно-важных для Республики Казахстан видов фармацевтической промышленной продукции. Использование современной технологии в создании новых фармакологически активных веществ позволит значительно повысить производительность и снизить себестоимость.

Получены фармакогностические и товароведческие данные *Salvia stepposa* Des.-Schost, что в дальнейшем позволит использовать данное сырье в производстве отечественных лекарственных средств. Разработан проект НД «Шалфей степной листья».

Применение разработанной технологии получения сухого экстракта шалфея степного, путем использования микроволновой экстракции, позволило сократить продолжительность и повысить производительность технологического процесса и при этом, существенно снизить себестоимость целевого продукта, проведена оценка качества сухого экстракта, разработан лабораторный регламент на производство сухого экстракта листьев шалфея степного (МВШС-40).

Сухой экстракт использован в качестве субстанции для разработки нового лекарственного средства на основе шалфея степного, проведена разработка оптимального состава готовой лекарственной формы в виде таблеток, проведена оценка качества и разработан проект НД «Таблетки для рассасывания Шалфей степной». Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований НАО «МУК» в рамках научного проекта АР19176476 «Разработка нового лекарственного средства на основе экстракта шалфея степного».

Личный вклад докторанта

Диссертантом по теме диссертационной работы самостоятельно подобрана и проанализирована научная литература по теме диссертации, проведены эксперименты, получены и систематизированы экспериментальные данные, подготовлены публикации.

Выводы

1) Впервые проведено фармакогностическое исследование растительного сырья шалфея степного (*Salvia stepposa*) и определены нормы качества, сроки хранения.

Макроскопические особенности: растение 30-50 см высотой, стебель в диаметре от 3 до 5 мм, в верхней части окрашен в зеленый цвет, в нижней – в фиолетовый, прямостоячий на поперечном срезе 4-угольный, поверхность покрыта прямыми и изогнутыми многочисленными простыми волосками белого цвета.

Микроскопические особенности: клетки верхнего эпидермиса многоугольные прямыми стенками, над жилками листа - почти-прямоугольные, с ровными и утолщенными стенками, сверху покрыты слоем кутикулы; нижнего – прозенхимные клетки с утолщенными и прямыми стенками, устьица диацитного типа. Вдоль жилок листа многочисленные мелкие железистые трихомы. Эфирно-масличные железки немногочисленные, приподнимающиеся над поверхностью.

По результатам проведенных исследований по определению параметров качества растительного сырья, полученные данные включены в проекты. Результаты определения тяжелых металлов показали, что в изучаемом растительном сырье содержание тяжелых металлов не превышает пределы допустимых значений. Разработан проект НД: «Шалфей степной листья». Установлен срок хранения 24 месяца.

2) Впервые экстракты шалфея степного получены в условиях микроволновой активации. Установлено, что микроволновой экстракцией удалось сократить время экстрагирования в 15 раз в сравнении с традиционными методами. Установлены параметры получения сухого экстракта из листьев шалфея степного методом микроволновой активации: соотношение сырье экстрагент 1:10, мощность облучения – 300 Вт, время экстракции 16 минут. Выход сухого экстракта составил 23,7% в пересчете на воздушно сухое сырье.

Определен компонентный состав сухих экстрактов из листьев шалфея степного. Мажорным компонентом является розмариновая кислота.

Проведены испытания по биологической активности сухого экстракта листьев шалфея степного (МВШС-40). На основании проведенных экспериментов сухой экстракт листьев шалфея степного в концентрациях 1 мг/мл и 0,5 мг/мл проявляет цитотоксичность, а в концентрации 0,25 мг/мл не токсичен. Сухой экстракт листьев *Salvia stepposa* имеет высокую антимикробную активность по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) и умеренную антимикробную активность по отношению к штаммам *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Candida albicans* (ATCC 10231). МВШС-40 обладает наибольшей антиоксидантной активностью в концентрации 0,75 мг/мл, в концентрации 12,5 мг/мл обладает антирадикальной активностью и в дозе 25 мг/кг обладает противовоспалительной активностью.

3) Впервые разработана технология получения сухого экстракта из листьев *Salvia stepposa*. Предложена технологическая схема производства. Разработан лабораторный регламент на производство субстанции сухого экстракта листьев шалфея степного МВШС-40. Установлены показатели и нормы качества сухого экстракта листьев шалфея степного. Определен срок хранения сухого экстракта листьев шалфея степного – 24 месяца.

4) Разработана технология получения таблеток для рассасывания на основе сухого экстракта листьев шалфея степного (МВШС-40). Установлено, что таблетки на основе шалфея степного содержат в 5,5 раз больше розмариновой кислоты в сравнении с таблетками на основе шалфея лекарственного. Разработан оптимальный состав таблеток массой 750 мг: сухой экстракт шалфея степного МВШС-40 – 50мг., МКЦ 105 – 75 мг., ЕМДЕХ – 587,5 мг., лимонная кислота – 28 мг., кальция стеарат – 7,5 мг., масло мяты перечной – 1,5 мг., масло эвкалиптовое – 0,5 мг. Определен срок хранения таблеток для рассасывания на основе сухого экстракта листьев шалфея степного – 18 месяцев (время наблюдения). Разработан проект НД: «Таблетки для рассасывания Шалфей степной» и лабораторный регламент на производство таблеток для рассасывания Шалфей степной.

Апробация результатов диссертации

Результаты и основные положения научной работы представлены на:

- XXXXV Международной студенческой научно-практической конференция: Междисциплинарные исследования. современное состояние и перспективы развития (РФ, г. Екатеринбург, 2019 г.).

- 60-й Международной научной конференции Евразийского Научного Объединения (РФ, г. Москва, 2020 г.).

- Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі» (Казахстан, г. Алматы, 2019 г.).

-VI Международной научной-практической конференции «SCIENCE AND EDUCATION IN THE MODERN WORLD: CHALLENGES OF THE XXI CENTURY» (Казахстан, г. Нур-Султан, 2020 г.).

- VIII Международной научно-практической конференции «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям» (Украина, г. Полтава, 2020 г.).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе:

- статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования (КОКСНВО) РК - 3;
- статьи в зарубежных научных изданиях, входящих в базы данных Scopus - 2;
- тезисы в материалах международных научно-практических конференций - 5;
- в других научных изданиях - 1.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах компьютерного текста и состоит из введения; обзора литературы; 6 разделов, описывающих материалы и методы исследования; основной части, содержащей результаты и обсуждение собственных исследований, выводов и практических рекомендаций; заключения; списка использованной литературы, включающий 119 литературных источников; 11 приложений. Диссертация иллюстрирована 46 таблицами и 49 рисунками.