

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на тему **«Фармакогностическое изучение синеголовника каратауского (*Eryngium karatavicum* Пjin) и получение фитосубстанции на его основе»** на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110400 - «Фармация»
Амантаевой Меруерт Ералиевны

Актуальность темы исследования: По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) – продукты природного происхождения являются важными источниками различных биологически активных веществ, так как химические вещества растительного происхождения содержат различные соединения, определение их принадлежности к какой группе, изучение физико-химических свойств, проведение качественного и количественного анализа, рассмотрение методов получения и выбор оптимального из них - одна из наиболее актуальных проблем развития фармацевтической отрасли. Известно, что в нашей Республике фармация имеет большое значение с социальной, экономической и стратегической точек зрения развития науки.

Реализация национальной лекарственной политики, т. е. снижение зависимости от зарубежных фармацевтических продуктов путем обеспечения населения высококачественными, эффективными, безопасными и недорогими лекарственными средствами, развитие внутреннего рынка, повышение финансовой устойчивости системы здравоохранения, поиск новых лекарственных соединений, разработка и внедрение в практику отечественных лекарственных препаратов природного происхождения, имеет очень большое значение. В связи с этим, наиболее глубокое изучение лекарственных средств растительного происхождения, производимых на нашей стране, имеет высокую научно-техническую значимость.

Флора Республики Казахстан очень богата лекарственными растениями. В нашей стране зарегистрировано более 600 эндемичных растений. Они содержат большое количество сырья лекарственных растений, которое до конца не изучено.

В соответствии с разделом 4 концепции развития здравоохранения Республики Казахстан до 2026 года (постановление Правительства РК от 24 ноября 2022 года 945) отечественное фармацевтическое производство и национальная санитарно-эпидемиологическая служба инновационных лекарственных препаратов обеспечивают внутреннюю потребность, независимость от мирового фармацевтического рынка и биобезопасность населения.

Во исполнение Комплексного плана развития фармацевтической промышленности страны, направленного на 2020-2025 годы, вопрос организации производства лекарственных препаратов на основе лекарственных растений на

территории РК с различным химическим составом, широким фармакологическим действием имеет для нашего государства значительный статус.

Фармакогностическое исследование растительного сырья и получение на его основе лекарственного средства с малой токсичностью, широким фармакологическим действием – считается важным вопросом.

Цель научно-исследовательской работы:

Фармакогностическое исследование синеголовника каратауского, получение и стандартизация фитосубстанции на его основе.

Задачи исследовательской работы:

- Определение морфологических, анатомо-диагностических признаков *Eryngium karatavicum* Пјin.

- Изучение химического состава лекарственного растительного сырья и определение основных групп биологически активных соединений *Eryngium karatavicum* Пјin

- Стандартизация сырья *Eryngium karatavicum* Пјin в соответствии с фармакопейными требованиями.

- Получение и стандартизация экстрактов *Eryngium karatavicum* Пјin с выбором оптимальных технологий.

- Определение стабильности экстракта из сырья *Eryngium karatavicum* Пјin

- Исследование безопасности экстракта из сырья *Eryngium karatavicum* Пјin

- Определение фармакологической активности экстракта *Eryngium karatavicum* Пјin.

- **Объекты исследования:** надземная часть *Eryngium karatavicum* Пјin и экстракт, полученный на основе надземной части растения .

Научна новизна исследования:

Впервые в Казахстане проведен фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin макро- и микроскопический анализ, товароведческий анализ, фитохимический анализ. Для сравнительного изучения химического состава лекарственного растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin были получены густые экстракты методами перколяции дробной мацерации с воздействием ультразвука, их химический состав определен методом газовой хроматографии с использованием масс-спектрометрического детектора. В результате в качестве оптимальной технологии получения экстракта из растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin был выбран метод мацерации с применением ультразвука, в ходе исследования его фитохимического состава было выявлено свыше 50 химических соединений. Была определена антимикробная активность против тест-штаммов *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Str. Pneumonia*, *K. pneumonia*., а также антиоксидантная и цитотоксическая эффективности.

Научная новизна исследования подтверждена патентом под регистрационным номером №8783 (Способ получения экстракта *Eryngium karatavicum* Пјin с антимикробным действием.

Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту:

- Результаты изучения ареала распространения, разработка технологии заготовки сырья, определения фармакогностических особенностей и фармацевтико-технологических параметров растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin и его стандартизация.
- Результаты исследований по выбору оптимальной технологии получения экстракта из сырья *Eryngium karatavicum* Пјin, определения его компонентного состава и стандартизации, оценка его безопасности и фармакологической активности.

Практическая значимость полученных результатов

Разработаны проекты нормативных документов на растительное сырье *Eryngium karatavicum* Пјin и экстракты на его основе, апробированы и внедрены методы анализа:

- Представлена технология сбора и подготовки растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin Идентификация лекарственного растительного сырья подтверждена Государственным учреждением Республики Казахстан «Институт ботаники и фитоинтродукции». Регистрационный номер справки №01-08/200

- По практическому применению технологии сбора и заготовки растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin представлен Акт внедрения в «Сырдария-Туркестанский государственный региональный природный парк»;

НАО «Карагандинский медицинский университет.

- Представлен акт внедрения технологического процесса получения экстракта из растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin на кафедре фармацевтической технологии НАО «Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова»

- Выполнена научная стажировка в КазНУ им. Аль-Фараби в рамках докторской диссертации

Личный вклад докторанта

Докторантом самостоятельно проведен обзор и анализ информации отечественных и зарубежных стран по теме диссертационной работы, выполнены все экспериментальные работы по поставленным исследовательским задачам. Все полученные результаты исследований подтверждаются использованием современных методов анализа и оборудований в научных центрах и лабораториях.

Достоверность и обоснованность результатов по исследованиям подтверждается тем, что выполненные работы предназначены для решения актуальной на сегодняшний день проблемы, выполнены в ведущих современных исследовательских центрах мирового уровня и проектом нормативных документов.

Апробация результатов диссертации:

Основные результаты диссертационной работы изложены и опубликованы в материалах международных конференций:

К 130-летию С. Ж. Асфендиярова «Дни университета-2019: Педиатрия XXI века. Международная научно-практическая конференция» Современные проблемы и тенденции» (г. Алматы, Казахстан, 2019 г.).

Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Доктора фармацевтических наук, профессора Рахимжана Дильбархана-улы, организованная в рамках «Становление и перспективы развития научной школы фармации: Преемственность поколений» (г. Алматы, Казахстан, 2019 г.).

«Научная дискуссия: Актуальные вопросы, достижения и инновации в медицине» материал XIV Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, посвященный «Году развития села, туризма и народных ремесел (2019-2021)» (г. Душанбе, Таджикистан, 19 апреля, 2019 г.).

Материалы VI Международной научной конференции «Фараби элемеі» для студентов и молодых ученых (Алматы, Казахстан, 2019 г.).

Публикации

Результаты диссертационного исследования были опубликованы в 9 научных работах, в том числе: 1 публикация в международном журнале, входящий в базу данных Web of Science Core Collection и Scopus, 3 публикации в журналах, рекомендованных КОКСОН МОН РК, 4 публикации в материалах Международных научно-практических конференции, 1 патент на изобретение.

Заключение

1. Растительное сырье *Eryngium karatavicum* Пјin было собрано в летний период в фазе цветения в соответствии с надлежащими требованиями. Траву сушили в хорошо проветриваемом помещении при комнатной температуре $25\pm 5^{\circ}\text{C}$. Было проконтролировано, что собранное сырье не содержит твердых частиц почвы, грязи, пыли, насекомых. Сырье помещали в мешки из крафт-бумаги указанием наименования сырья, места заготовки, времени сбора и массы нетто. Изучение анатомо-морфологических особенностей сырья *Eryngium karatavicum* Пјin выявило следующие диагностические признаки: Диагностическими признаками на микроскопическом уровне можно определить следующие:

- форма клеток основной эпидермы листа, наличие устьиц диацитного типа;
- изолатеральный тип листа с многослойным эпидермисом с нижней и верхней стороны листа;
- наличие друз оксалата кальция, просвечивающихся с поверхности листа;
- наличие мелких вместилищ с эфирным маслом на поперечном срезе листа и стебля.

Идентификация образцов растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin проводилась по следующим параметрам: макро- и микроскопические особенности сырья, качественный и количественный состав БАВ. Качественное и количественное исследование выявило наличие флавоноидов, аминокислот, полисахаридов, гидролизированных и конденсированных дубильных веществ, эфирных масел (терпены), фенольных кислот, кумаринов и сапонинов.

Согласно приказу Министра Здравоохранения Республики Казахстан № ҚР ДСМ-20 от 16 февраля 2021 года определены показатели качества растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin и разработана спецификация качества.

Согласно приказу от 28 октября 2020 года результаты, полученные в течение длительного периода исследований сырья *Eryngium karatavicum* Пјin позволяют установить температуру $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, показатель относительной влажности $60\pm 5\%$, и срок хранения 2 года.

Определены технологические параметры растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin: удельная, объемная и насыпная масса, пористость, порозность, свободный объем слоя сырья, коэффициент поглощения экстрагента, экстрактивные вещества.

На основе растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin были получены экстракты традиционными и современными методами экстракции. Используются классические метод - перколяция; современный метод: дробная мацерация с применением ультразвука. В качестве оптимального экстракта был выбран экстракт, полученный методом мацерации с применением ультразвука и были определены параметры его экстрагирования.

Определены показатели качества экстракта на основе растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin согласно приказу Министра здравоохранения Республики Казахстан № ҚР ДСМ-20 от 16 февраля 2021 года: описание, идентификация, сухой остаток, потеря в массе при высушивании, тяжелые металлы, микробиологическая чистота, количественное определение, упаковка, маркировка, транспортировка, хранение, срок хранения, основное фармакологическое действие.

Полученные данные по долгосрочному испытанию экстракта на основе растительного сырья *Eryngium karatavicum* Пјin согласно приказу Министра здравоохранения Республики Казахстан № ҚР ДСМ -165/2020 от 28 октября 2020 г. показали, что при температуре $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, относительной влажности $60\pm 5\%$, существенных изменений по результатам определения показателей качества не наблюдалось.

Обращаясь к данным из опубликованной до сих пор литературы, в растениях были обнаружены вещества, обладающие биологически активными свойствами, принадлежащие к различным классам природных органических соединений. Химический состав многих растений *Eryngium* состоит в основном из полиацетиленовых соединений, трехтерпеновых сапонинов, терпеноидов, фенольных соединений, дубильных веществ, витаминов и других биологически активных веществ.

Развитие фармацевтического производства Республики Казахстан имеет решающее значение для развития экономики страны и потенциала населения. Из-за его многочисленных преимуществ известно, что препараты, полученные из лекарственных растений, очень широко используются в медицине.

2. Для разработки эффективности процесса извлечения экстрактов из травы кизила Каратауского (*Eryngium karatavicum* Пјin) исследованы и определены

следующие его технологические параметры: измельчение растительного сырья - 3-5 мм; удельная масса 1,34 г / см³; массовая масса - 0,25 г/см³; объемная масса - 0,47 г/см³; пористость-0,63 г/см³; делимость - 0,57 г/см³; свободный объем слоя - 0,84 г/см³; коэффициент поглощения экстрагента: вода - 5,1 мл/г; 30% этанол - 4,12 мл/г; 50% этанол - 3,92 мл/г; 70% этанол-3,53 мл/г; 90% этанол-2,91 мл/г. выход экстрактивных веществ показал относительно наибольшее значение в экстракте из 90% этилового спирта. Полученные данные будут использованы в технологическом процессе при производстве экстракционных препаратов на основе трав синеголовника каратауского.

Значительное количество микроэлементов железа (Fe), цинка (Zn), марганца (Mn) и макроэлементов натрия (Na), магния (Mg), кальция (Ca) в сырье надземной части растения. Содержание тяжелых металлов соответствует требованиям, предъявляемым к лекарственному растительному сырью и пищевым продуктам.

В исследуемой выборке сырья *Eryngium karatavicum* Пјјп 18 видов аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми: валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, фенилаланин, лизин, триптофан, 8 замещаемых: глицин, серин, цистеин, пролин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аланин, тирозин и условно замещаемый гистидин, аргинин было обнаружено, что аминокислоты.

В ходе проведенных исследований по теме диссертации определено содержание жирных кислот по детектору ионизации пламени газовой хроматографии, среди которых встречаются насыщенные, мононенасыщенные и полиненасыщенные жирные кислоты: мононенасыщенные жирные кислоты – пальмитолеин (0,0028%), эрук (0,1961%), нервон (0,0154%), гамолен (0,008%), миристолеин (0,0037%) полиненасыщенные жирные кислоты - линол (0,1803%), арахидон (0,1368%), линолен (0,0078%), линолеаидин (0,046%).

Из насыщенных жирных кислот-жирная (бутановая) (2,35%), капроновая (95,62%), каприновая (декан) (0,063%), миристиновая (0,257%), изогептадекановая (0,085%), гептадекановая (0,016%), стеариновая (1,042%) кислоты. Жирные кислоты, в том числе ненасыщенные жирные кислоты, участвуют в различных биохимических процессах в организме человека, поэтому считается важным, чтобы их количество было нормальным.

Согласно нормативной документации, в обязательном нормировании в лекарственном растительном сырье выявлено 4 основных потенциально токсичных элемента (кадмий, ртуть, свинец и мышьяк), в результате чего кадмий, ртуть и мышьяк не обнаружены. Помимо тяжелых металлов, проведены исследования на содержание радионуклидов, пестицидов, микотоксинов, чистоту микроорганизмов и установлено соответствие нормам. На основе данных показателей составлена спецификация качества растительного сырья.

В результате долгосрочных испытаний стабильности сырья при температуре (25±2) °С и относительной влажности (60 ± 5)% Срок годности установлен 24 месяца.

Фармакогнозическое исследование сырья, комплексное фитохимическое исследование растения *Eryngium karatavicum* Iljin позволяет идентифицировать сырье, устанавливать показатели качества и составлять нормативный документ (ОД) на исследуемое сырье.

По результатам исследований острой и подострой токсичности *Eryngium karatavicum* Iljin был отнесен к V классу токсичности, то есть к практически нетоксичным веществам, в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического содействия и развития (OECD). Было обнаружено, что экстракт этанола *Eryngium karatavicum* Iljin проявляет активность против грамположительных, грамотрицательных бактерий и двух эталонных штаммов дрожжевых грибов (*Candida albicans* и *Aspergillus*). Значения МИК были близки для всех протестированных эталонных микроорганизмов, и эти значения составляли 10 мг/мл для дрожжевых грибов и 20 мг/мл для бактерий. *E. coli* и *S.* для всех протестированных бактерий, за исключением *epidermidis*, отношение МВС к МИС равно 1, что означает, что, хотя тестируемое соединение показывает, что оно обладает бактерицидными свойствами, отношение МФС к МИС было от 1 до 2, что указывает на фунгицидную активность экстракта.

Оценка полноты поставленных задач

Сохраняя внутреннее единство диссертационной работы в полном объеме были выполнены исследования по поставленным задачам по определению ареала распространения растительного сырья *Eryngium karatavicum* Iljin, разработки соответствующей технологии заготовки сырья, фармакогнозические особенности и результатам определения фармацевтико–технологических параметров и стандартизации; по выбору оптимальной технологии получения экстракта из *Eryngium karatavicum* Iljin, определению его компонентного состава и стандартизации, оценке безопасности и биологической активности.

Рекомендации и исходные данные для конкретного использования результатов

Определение ареала распространения растительного сырья *Eryngium karatavicum* Iljin, разработка соответствующей технологии заготовки сырья, фармакогнозические особенности и результаты определения фармацевтико–технологических параметров и стандартизация; выбор эффективной технологии получения различных видов экстракта из *Eryngium karatavicum* Iljin, определение его компонентного состава и стандартизация, определение безопасности и антиоксидантной, антимикробной и противовоспалительной свойств позволяют его рекомендовать отечественным фармацевтическим производствам в качестве фармацевтической субстанции.

Разработан проект нормативных документов на растительное сырье *Eryngium karatavicum* Iljin, и экстракт на его основе.

Оценка научного уровня выполненной работы в сравнении с лучшими достижениями в данной области

Полученные результаты по выполненной диссертационной работе подтверждены 1 патентом на изобретение, 3 статьями в журналах,

рекомендованных КОКСОН МОН РК; 1 публикацией в международном журнале, входящим в базу данных Scopus и Web of Science Core Collection. Кроме того, основные результаты исследований докладывались на Международных научно-практических конференциях (Казахстан, Таджикистан).

Научно-методический уровень диссертационной работы в целом соответствует современным требованиям, предъявляемым к данной категории работ.