

## АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на тему «**Фармакогностическое изучение и технологические аспекты создания новых лекарственных средств на основе сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.)**» на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110400 – «Фармация»  
**Жумашовой Гульсим Токановны**

### **Актуальность темы исследования**

Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан «Денсаулық» на 2016-2019 гг. предусматривает реализацию Национальной лекарственной политики, направленной на обеспечение доступности и рациональное применение лекарственных средств.

В соответствии со Стратегическим планом Министерства здравоохранения Республики Казахстан на 2017-2021 гг. интенсивное развитие отечественной фармацевтической отрасли предусматривает повышение конкурентоспособности и экспорториентированности фармацевтической продукции за счет внедрения надлежащей производственной практики (GMP) и гармонизированных требований к качеству лекарственных средств, в том числе производимых из лекарственного растительного сырья отечественного ареала произрастания. Решение указанной задачи требует проведения научных исследований по выявлению новых отечественных видов лекарственных растений и лекарственного растительного сырья, разработки на их основе безопасных, эффективных и качественных лекарственных препаратов, внедрение их в медицинскую практику.

Одним из наиболее распространенных патологических состояний являются заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Неправильное питание и нарушение его режима, увеличение причин стресса, низкая физическая активность и вредные привычки являются решающими факторами в развитии болезней ЖКТ. Значительная часть населения (до 70 %) с различной повторяемостью сталкивается с нарушением деятельности ЖКТ, которое проявляется в затрудненном, либо редком опорожнении кишечника (запоре). Для лечения указанных функциональных нарушений деятельности пищеварительной системы используют слабительные средства. Слабительные свойства особо выражены у ряда лекарственных растений, в том числе у растений рода ремень (*Rheum* L.).

Среди растений данного рода значительный научный и практический интерес представляет ремень сердцевидный (*Rheum cordatum* Losinsk.), произрастающий на территории Казахстана, являющийся ценным источником биологически активных веществ (БАВ) и применяющийся в народной медицине при заболеваниях ЖКТ.

В связи с этим комплексное исследование лекарственных растений и сырья из него, их стандартизация, разработка технологии получения растительной фармацевтической субстанции, разработка состава и технологий получения лекарственных препаратов представляет актуальную научную проблему.

**Цель исследования:** Изучение анатомо-диагностических признаков, фитохимическое исследование, стандартизация сырья из ревеня сердцевидного и создание на его основе безопасных и эффективных лекарственных препаратов.

**Задачи исследования:**

- провести анализ отечественного фармацевтического рынка лекарственных препаратов слабительного действия;
- разработать надлежащую технологию сбора и заготовки сырья;
- установить основные морфологические и анатомические признаки сырья из ревеня сердцевидного и провести сравнительный анализ с признаками официального вида – ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.);
- провести фитохимический анализ и определить количественное содержание основных групп БАВ в различных органах лекарственного растения (корнях, листьях, стеблях и семенах);
- разработать оптимальную технологию получения экстракта из корней ревеня сердцевидного и провести стандартизацию;
- изучить острую и подострую токсичность, антиоксидантную и противовоспалительную активность экстракта;
- осуществить фармацевтическую разработку таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного;
- провести технико-экономическое обоснование производства таблеток, покрытых оболочкой.

**Объекты исследования:** ремень сердцевидный и его органы (корни, листья, стебли и семена), экстракт густой из корней ревеня сердцевидного, таблетки, покрытые оболочкой.

**Методы исследования:** физические, физико-химические, химические, фармакогностические, фармацевтико-технологические, фармакологические, микробиологические, биологические и статистические методы.

**Научная новизна**

Впервые проведен полный фармакогностический анализ сырья ревеня сердцевидного (*Rheum cordatum* Losinsk.). Определены морфологические и анатомические диагностические признаки сырья из ревеня сердцевидного в сравнении с признаками официального вида. В результате фитохимического исследования органов (корней, листьев, стеблей и семян) ревеня сердцевидного впервые идентифицированы 22 фенольных соединения (антраценпроизводные, дубильные вещества, катехины и их галлаты, флавоноиды и их гликозиды). Большинство представленных компонентов впервые описываются в экстрактах из сырья ревеня сердцевидного.

Получены новые данные о составе и количественном содержании БАВ (антраценпроизводных, полисахаридов, дубильных веществ, флавоноидов, органических кислот, аминокислот, хлорофиллов и каротиноидов), установлено содержание 19 макро- и микроэлементов, 18 аминокислот в сырье из ревеня сердцевидного.

В результате сравнительного анализа экстрактов установлено, что органом, наиболее обогащенным метаболитами (антраценпроизводными и другими фенольными соединениями), являются корни ревеня сердцевидного. По результатам исследования проведена стандартизация корня ревеня сердцевидного в соответствии с требованиями ГФ РК.

Разработан новый способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, позволяющий повысить выход БАВ и сократить время экстракции по сравнению с традиционным методом перколяции. Новизна разработанного способа подтверждена патентами на полезную модель № 4553 «Способ получения экстракта из корня ревеня для использования в фармацевтических и пищевых продуктах» и № 4555 «Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья», зарегистрированными в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан 19.12.2019 г.

Впервые установлена безопасность, высокая антиоксидантная и противовоспалительная активность водного и спиртового экстрактов из корней ревеня сердцевидного.

Впервые разработан состав и технология получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного. Новизна разработанного способа подтверждена патентом на полезную модель № 4554 «Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием», зарегистрированным в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан 19.12.2019 г.

**Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту:**

- анализ фармацевтического рынка сегмента слабительных лекарственных препаратов за период с 2012-2016 гг. по объему продаж в натуральном и денежном выражениях позволяет установить стабильный рост;

- фармакогностическое исследование сырья, комплексное фитохимическое изучение различных органов (корней, листьев, стеблей и семян) ревеня сердцевидного позволило идентифицировать сырье, установить качество и принадлежность к производящему виду растения *Rheum cordatum* L., а также установить орган (корни) с наибольшим содержанием БАВ (антраценпроизводных);

- разработка надлежащей технологии сбора и заготовки сырья из ревеня сердцевидного, получение экстракта густого из его корней позволяют выделить растительную фармацевтическую субстанцию фармакопейного качества с установленной безопасностью и фармакологической активностью;

- рациональный состав, оптимальная технология таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, соответствие показателей их качества фармакопейным требованиям и результаты технико-экономического обоснования позволяют рекомендовать данный проект отечественным производителям для внедрения в производство.

### **Практическая значимость исследования**

Технология сбора, заготовки и хранения корней ревеня сердцевидного внедрена ТОО «ФитОлеум», г. Есик, Казахстан (Акт внедрения №1 от 20.05.2018 г.).

Разработана спецификация качества на «Ревеня сердцевидного корни».

На базе кафедры промышленной фармации Национального фармацевтического университета, г. Харьков, Украина, апробирован оптимальный способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, позволяющий повысить выход БАВ и сократить время экстракции (Акт апробации от 05.12.2018 г.).

Разработана спецификация качества на «Экстракт густой из корней ревеня сердцевидного».

Технология получения и методики контроля качества таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного успешно апробированы в отделе фармацевтических разработок ТОО «Вива Фарм», г. Алматы, Казахстан (Акт апробации).

Разработана спецификация качества на «Таблетки, покрытые оболочкой, с экстрактом густым из корней ревеня сердцевидного».

### **Личный вклад**

Все результаты диссертационного исследования получены автором самостоятельно, что свидетельствуют о личном вкладе соискателя в науку в области фармации. Достоверность результатов, основных положений, выносимых на защиту, выводов и заключений, сформулированных в диссертационной работе обоснована значительным объемом экспериментального материала, полностью подтверждаются результатами собственных исследований, проведенных в лабораторных и производственных условиях, с использованием современных приборов и точных методов измерений, а также сопоставлением с литературными данными.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы доложены и опубликованы в материалах: Международной научно-практической конференции «Наука и образование в современном мире» (г. Караганда, Казахстан, 2018 г.); V Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Наука и медицина: современный взгляд молодежи» (г. Алматы, Казахстан, 2018 г.); Международной научно-практической конференции «Современные методы коррекции угревой болезни и других проблем кожи в практике косметолога» (г. Харьков, Украина, 2018 г.); Международной научно-практической конференции «IV Глобальная наука и инновации 2019: Центральная Азия» (г. Астана, Казахстан, 2019 г.); VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» (г. Санкт-Петербург, Россия, 2019 г.); Международной научно-практической конференции «Медицинская наука XXI века – взгляд в будущее» (г. Душанбе, Таджикистан, 2019 г.); Международной научно-

практической интернет-конференции «Современные достижения фармацевтической науки в создании и стандартизации лекарственных средств и диетических добавок, которые содержат компоненты природного происхождения» (г. Харьков, Украина, 2020 г.); Международной онлайн конференции «Modern science. Management and standards of scientific research» (г. Прага, Чехия, 2020 г.).

#### **Сведения о публикациях**

По результатам исследований опубликована 21 научная работа, в том числе:

- статья в международном рецензируемом научном журнале, входящем в базу данных Scopus и Web of Science Core Collection – 1;
- статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Министерства образования и науки РК – 6;
- тезисы и статьи на международных научно-практических конференциях (Россия, Украина, Чехия, Таджикистан, Казахстан) – 8;
- статьи в международных журналах (Россия, Таджикистан, Кыргызстан) – 3;
- патенты на полезную модель – 3.

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 132 страницах машинописного текста в компьютерном наборе, содержит 35 таблиц, 63 рисунка, список литературы, включающий 188 источников, а также 23 приложения. Работа состоит из введения, обзора литературы, раздела, посвященного материалам и методам исследования, трех разделов собственных исследований, выводов и заключения.

#### **Выводы**

1. Анализ литературных данных выявил, что официальные виды растений рода ревень (*Rheum* L.) не произрастают на территории Казахстана. Оценка перспективности изучения отечественных видов растений данного рода показала, что ревень сердцевидный (*Rheum cordatum* Losinsk.) представляет научный и практический интерес как возобновляемый источник растительного сырья для получения лекарственных препаратов.

2. Результаты анализа отечественного фармацевтического рынка в сегменте слабительных лекарственных препаратов за 2012-2016 гг. показал выраженную импортозависимость, при этом доля отечественных производителей составляет в среднем 30,2 %. Изучение объема продаж 4-х растительных слабительных лекарственных препаратов в форме таблеток продемонстрировало рост как в натуральном, так и денежном выражениях, что подтверждает увеличение спроса потребителей и, соответственно, перспективность разработки и целесообразность производства отечественных растительных слабительных лекарственных препаратов.

3. В соответствии с современными требованиями стандарта GACP впервые разработана технология сбора, заготовки и хранения сырья из ревеня сердцевидного. В результате изучения динамики накопления основных групп БАВ (антраценпроизводных и дубильных веществ) установлен оптимальный период сбора корней – поздней осенью, после осеменения и ранней весной, в начале

вегетации.

4. Определены морфологические и анатомические диагностические признаки сырья из ревеня сердцевидного в сравнении с признаками официального вида. Впервые проведено фитохимическое исследование сырья (корней, листьев, стеблей и семян) ревеня сердцевидного и идентифицированы 22 фенольных соединения (антраценпроизводные, катехины и их галлаты, дубильные вещества, флавоноиды (кверцетин, апигенин, кемпферол) и их гликозиды). Отмечено содержание эмодина (1,29 %), эпикатехин галлата (5,00 %) в экстракте из корней на основе 50 % *этанол* *P* и рутозида (4,87 %) в водном экстракте из листьев, которые можно считать маркерными соединениями, определяющими видовую принадлежность ревеня сердцевидного.

5. Определено количественное содержание основных групп БАВ (антраценпроизводных, полисахаридов, флавоноидов, дубильных веществ, органических кислот, аминокислот, хлорофиллов и каротиноидов), установлено содержание 19 макро- и микроэлементов, 18 аминокислот в сырье из ревеня сердцевидного.

В результате сравнительного анализа экстрактов установлено, что органом, наиболее обогащенным метаболитами (антраценпроизводными и другими фенольными соединениями), являются корни ревеня сердцевидного. По результатам исследования проведена стандартизация корня ревеня сердцевидного в соответствии с требованиями ГФ РК.

Комплексное фармакогностическое исследование различных органов (корней, листьев, стеблей, семян) ревеня сердцевидного позволило провести идентификацию сырья, установить качество и принадлежность к производящему виду растения *Rheum cordatum* L., а также выявить орган (корни) с наибольшим содержанием БАВ (антраценпроизводные).

Установлены показатели качества корней ревеня сердцевидного и их критерии приемлемости. Разработана спецификация качества на «Ревеня сердцевидного корни».

В результате долгосрочных испытаний стабильности сырья установлен срок годности 24 мес. (температура  $25 \pm 2$  °С и относительная влажность  $60 \pm 5$  %).

6. Для выбора оптимальных условий процесса экстрагирования изучены фармацевтико-технологические параметры сырья из корней ревеня сердцевидного с различным размером частиц. Выбраны оптимальные условия и технологические параметры процесса экстрагирования (экстрагент – 30 % *этанол* *P*). Разработан оптимальный способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного вакуум-фильтрационным экстрагированием, который позволяет повысить выход БАВ и сократить время экстракции. На кафедре промышленной фармации Национального фармацевтического университета, г. Харьков, Украина апробирована технология получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного. Новизна подтверждена патентами на полезную модель № 4553 «Способ получения экстракта из корня ревеня для использования в

фармацевтических и пищевых продуктах» и № 4555 «Способ получения экстракта из измельченного растительного сырья», зарегистрированными в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан 19.12.2019 г. Установлены показатели качества экстракта густого из корней ревеня сердцевидного и их критерии приемлемости, разработана спецификация качества.

Испытание стабильности, установление сроков годности и рекомендуемых условий хранения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного проведены по основным показателям качества.

7. В результате исследования безопасности установлено, что экстракт густой из корней ревеня сердцевидного относится к относительно безвредным веществам (VI класс токсичности) и не оказывает алергизирующего действия. Специфические фармакологические исследования показали, что экстракт густой из корней ревеня сердцевидного в концентрации 100 мг/кг имеет противовоспалительную активность сопоставимую с активностью препарата сравнения Ибупрофен в виде суспензии.

Методом ингибирования свободных радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила установлена высокая антиоксидантная активность экстрактов из корней ревеня сердцевидного – 92,3 % (экстрагент 96 % этанол *P*) и 91,59 % (водный экстракт). Максимальный «Общий фенольный индекс» (GAE 751,8 мг/л) установлен в водном экстракте из корней ревеня сердцевидного.

8. Основываясь на принципах концепции «Качество через разработку» (Quality by Design), теоретически и экспериментально обоснованы и разработаны рациональный состав и оптимальная технология получения таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного. Новизна подтверждена патентом на полезную модель № 4554 «Фармацевтическая композиция из растительного сырья, обладающая слабительным действием», зарегистрированным в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан 19.12.2019 г. Проведена апробация технологии получения таблеток, покрытых оболочкой, в отделе фармацевтических разработок ТОО «Вива Фарм», г. Алматы, Казахстан. Установлены показатели качества таблеток, покрытых оболочкой, и их критерии приемлемости. Разработана спецификация качества на таблетки, покрытые оболочкой.

В течение 18 мес. проведены испытания стабильности, установление срока годности и рекомендуемых условий хранения таблеток, покрытых оболочкой. Долгосрочные испытания стабильности продолжаются.

Рациональный состав, оптимальная технология таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного, соответствие показателей их качества фармакопейным требованиям и результаты технико-экономического обоснования позволяют рекомендовать данный проект отечественным производителям для внедрения в производство.

**Оценка полноты решения поставленных задач.** Диссертационная работа обладает внутренним единством, выполнены в полном объеме поставленные

задачи по проведению анализа отечественного фармацевтического рынка лекарственных препаратов слабительного действия; по разработке надлежащей технологии сбора и заготовки сырья; установлению основных морфологических и анатомических признаков сырья из ревеня сердцевидного и проведению сравнительного анализа с признаками официального вида – ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L. var. *tanguticum* Regel.); проведению фитохимического анализа и определению количественного содержания основных групп БАВ в различных органах лекарственного растения (корнях, листьях, стеблях и семенах); разработке оптимальной технологии получения экстракта из корней ревеня сердцевидного и проведению стандартизации; изучению острой и подострой токсичности, антиоксидантной и противовоспалительной активности экстракта; осуществлению фармацевтической разработки и по технико-экономическому обоснованию производства таблеток, покрытых оболочкой, на основе экстракта густого из корней ревеня сердцевидного.

**Рекомендации и исходные данные по конкретному использованию результатов.** Результаты оценки перспективности изучения ревеня сердцевидного показывают, что он представляет научный и практический интерес, определяют лекарственное растение как возобновляемый источник растительного сырья для получения лекарственных препаратов.

Разработанная технология сбора, заготовки и хранения сырья из ревеня сердцевидного по требованиям GACP апробирована в производственных условиях ТОО «ФитОлеум» и может быть использована в опытно-промышленных и промышленных условиях для производства растительной субстанции в условиях полного цикла.

Разработанный новый эффективный способ получения экстракта густого из корней ревеня сердцевидного вакуум-фильтрационным экстрагированием может быть рекомендован отечественным производителям, выпускающим растительные субстанции.

Результаты фармацевтической разработки таблеток, покрытых оболочкой, выполненной на принципах концепции «Качество через разработку» (Quality by Design), могут быть рекомендованы отечественному производителю ТОО «Вива Фарм» для осуществления переноса технологии в опытно-промышленные масштабы и в дальнейшем для надлежащего исследования в рамках создания новых лекарственных средств.

**Оценка технико-экономической эффективности внедрения.** Результаты диссертационного исследования имеют высокую технико-экономическую эффективность, поскольку внедрение в производство новых растительных субстанций «Ревеня сердцевидного корни» и «Экстракт густой из корней ревеня сердцевидного» расширит номенклатуру активных фармацевтических ингредиентов и позволит использовать их для создания новых лекарственных средств с АТХ классификацией А06А (слабительные препараты).

**Оценка научного уровня выполненной работы в сравнении с лучшими**

**достижениями в данной области.** Полученные результаты выполненной работы имеют инновационный характер, подтверждены 3 патентами на полезную модель и отражены в 6 статьях, опубликованных в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Министерства образования и науки РК; в статье «Phytochemical and Antioxidant Studies on a Rare *Rheum cordatum* Losinsk. Species from Kazakhstan», опубликованной в журнале входящем в базу данных Scopus и Web of Science Core Collection (импакт-фактор 4,868). Основные результаты исследования также апробированы в международных научно-практических конференциях (Россия, Украина, Чехия, Таджикистан, Казахстан).

В целом, научно-методический уровень диссертационной работы соответствует современным требованиям данной категории работ.