

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на тему: «**Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья клоповника широколистного (*Lepidium latifolium* L.) и фармацевтическая разработка фитопрепаратов на его основе**» на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D074800 - «Технология фармацевтического производства»
Азимхановой Балжан Бердеханкызы

Актуальность темы исследования

Одним из актуальных вопросов нынешней фармацевтической отрасли Республики Казахстан является разработка и внедрение в производство импортозамещающих лекарственных средств, в том числе растительного происхождения.

Национальный проект «Качественное и доступное здравоохранение для каждого гражданина «Здоровая нация» Министерства здравоохранения Республики Казахстан направлен на увеличение доли отечественной фармацевтической продукции с 17% в 2020 году до 50% в 2025 году. Основными задачами проекта являются повышение научного и кадрового потенциала для фармацевтической и медицинской промышленности, а также развитие отечественного производства лекарственных средств и медицинских изделий. Кроме того, Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан на 2020-2025 годы направлена на укрепление здоровья населения, обеспечение качественного и доступного здравоохранения, а также создание и внедрение конкурентоспособных импортозамещающих лекарственных средств. В этой связи актуальным является создание новых фармацевтических субстанций из отечественного растительного сырья и лекарственных средств на их основе.

Территория Республики Казахстан располагает богатым запасом лекарственных растений, рациональное использование и переработка которых будет способствовать повышению объема лекарственных препаратов растительного происхождения. Флора Казахстана насчитывает более 6000 видов растений, однако степень их изученности на низком уровне, а также фармакологические действия их не были полностью исследованы [1]. В качестве лекарственных препаратов используются немногочисленные виды растений. В связи с этим поиск растений в качестве потенциальных источников биологически активных соединений, идентификация и изучение их химического состава, разработка оптимальной технологии фармацевтических субстанций и лекарственных средств на их основе, изучение фармакологической активности являются основными задачами фармацевтической науки Казахстана.

Клоповник широколистный (*Lepidium latifolium* L.) представляет практический интерес, как перспективное лекарственное растение, которое отличается богатым набором биологически активных веществ. На

территории Казахстана растение встречается повсеместно. Согласно литературным данным, *Lepidium latifolium* L. используется в качестве растительного продукта, гарнира, напитка, а также как травянистое лекарственное растение с противовоспалительным, антибактериальным, мочегонным и тонизирующим действиями [2]. Западный гималайский экотип этого растения используется в качестве растительного продукта для лечения желудочно-кишечного тракта. В народной медицине отвар и настой корней применяют для лечения дерматологических заболеваний, ран, расстройств нервной и пищеварительной систем [3].

Растение содержит сапонины, флавоноиды, алкалоиды, гликозиды и дубильные вещества [1], листья содержат стероиды [4].

Последующее комплексное исследование фармакологических свойств клоповника широколистного позволит расширить ассортимент отечественных лекарственных средств растительного происхождения для применения в медицинской практике в качестве антимикробного и противовоспалительного средства.

Цель диссертационного исследования: проведение фармакогностического анализа лекарственного растительного сырья *Lepidium latifolium* L., получение и исследование фитопрепаратов на его основе.

Объекты исследования: надземная часть лекарственного растительного сырья *Lepidium latifolium* L., экстракты, полученные методами перколяции, ультразвуковой и углекислотной экстракции и гель на основе углекислотного экстракта.

Предмет исследования: ареал произрастания, определение фармакогностических особенностей растительного сырья *Lepidium latifolium* L.; оптимальная технология получения экстракта и его стандартизация; технология получения геля на основе углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. и его стандартизация; исследование безопасности и фармакологических свойств углекислотного экстракта и геля на его основе.

Задачи исследования:

- провести сбор и фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья *Lepidium latifolium* L.;
- разработать оптимальную технологию экстракта из *Lepidium latifolium* L. и провести его стандартизацию;
- провести фармацевтическую разработку геля на основе углекислотного экстракта из *Lepidium latifolium* L.;
- определить безопасность и фармакологическую активность углекислотного экстракта, и геля на его основе на экспериментальных животных;
- провести технико-экономическое обоснование производства геля.

Научная новизна исследования

Впервые в Казахстане:

-проведен фармакогностический анализ надземной части *Lepidium latifolium* L.: макро- и микроскопический, товароведческий, фитохимический анализы;

-для сравнительного изучения химического состава лекарственного растительного сырья клоповника широколистного были получены густые экстракты методами перколяции, углекислотной в докритических условиях и ультразвуковой экстракцией, а их химический состав был исследован методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. В качестве оптимального был выбран углекислотный экстракт, в составе которого идентифицировано более 40 химических соединений;

-проведена фармацевтическая разработка геля на основе углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L.;

-доказана выраженная антимикробная активность углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. и геля на его основе против клинически значимых тест-штаммов *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, а также противовоспалительное действие.

Научная новизна исследования подтверждена патентом на полезную модель под регистрационным номером №5249 от 16.04.2021 г. «Способ получения углекислотного экстракта из надземной части клоповника широколистного (*Lepidium latifolium* L.)» (Приложение Н);

Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту

1) Результаты фармакогностического исследования лекарственного растительного сырья *Lepidium latifolium* L.;

2) Экспериментальные данные по технологии получения и исследования экстрактов из лекарственного растительного сырья *Lepidium latifolium* L.;

3) Результаты фармацевтической разработки геля на основе углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. и исследования его безопасности и фармакологической активности.

Практическая значимость полученных результатов

- Представлена технология сбора и заготовки растительного сырья *Lepidium latifolium* L. Идентификация подтверждена РГП на ПХВ КН РК «Институт ботаники и фитоинтродукции». Регистрационный номер справки № 01-08/10 (Приложение А);

- Технология сбора и заготовки растительного сырья *Lepidium latifolium* L. внедрена в ТОО «Зерде-Фито» (Приложение Б);

- Способ получения густого углекислотного экстракта из надземной части растительного сырья *Lepidium latifolium* L. внедрен в ТОО «ПЛП Жанафарм» (Приложение В);

- Представлен проект технологической инструкции на «Способ получения густого углекислотного экстракта из надземной части растительного сырья *Lepidium latifolium* L.» в ТОО «ПЛП Жанафарм» (Приложение Г);

- Предложен Стандарт организации на «Способ получения густого углекислотного экстракта из надземной части растительного сырья *Lepidium latifolium* L.» в ТОО «ПЛП Жанафарм» (Приложение Д);
- Получение экстракта методом перколяции из *Lepidium latifolium* L. внедрено на кафедру фармацевтической технологии НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова» (Приложение Е);
- Разработан проект НД на CO₂ экстракт, полученный в докритических условиях из травы клоповника широколистного (*Lepidium latifolium* L.) - (Приложение Ж);
- Технология получения геля на основе углекислотного экстракта из надземной части *Lepidium latifolium* L. внедрена в ТОО «DOSFARM» (Приложение И);
- Разработан проект технологической инструкции на производство геля, содержащий углекислотный экстракт клоповника широколистного (*Lepidium latifolium* L.) и утвержден в ТОО «DOSFARM» (Приложение К);
- Разработан проект НД на гель, полученный на основе углекислотного экстракта из *Lepidium latifolium* L. (Приложение Л);
- Разработка оптимального состава и технология получения геля на основе углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. внедрена на кафедру фармацевтической технологии НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова» (Приложение М).

Личный вклад докторанта

Диссертантом по теме диссертационной работы самостоятельно проведен обзор и анализ отечественной и зарубежной литературы, выполнены экспериментальные работы по всем поставленным задачам. Это подтверждают результаты исследований, полученные в лабораторных и производственных условиях с использованием современного оборудования и литературы.

Достоверность и обоснованность результатов исследования подтверждается направленностью выполненных работ на решение актуальной на сегодняшний день проблемы, выполнением в современном исследовательском центре и проектом нормативных документов.

Апробация результатов диссертации

Основные результаты диссертационного исследования были опубликованы и доложены в материалах:

- VII научно-практической конференции с международным участием «Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике» (Алматы, 2018 г.);
- Международной конференции «Modern achievements of pharmaceutical technology and biotechnology: collection of scientific works» (Харковь, 2018 г.);
- научно-практической конференции, посвященной 80-летию КГМА (Бишкек, 2019 г.);
- III Международной научно-практической конференции «Абу Али ибн Сино и инновации в современной фармацевтике» (Ташкент, 2020 г.);

- III Международной научно-практической конференции, посвященной памяти профессора Р. Дильбарханова «Становление и перспективы развития научной школы фармации: преемственность поколений " (Алматы, 2020 г.);

- IX Международной конференции «Издательства фармации и стоматологии: от теории к практике», посвященной памяти профессора Кияшева Д. К. в рамках 90-летия Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова (Алматы, 2020 г.);

- XVI Международной научно-практической конференции «Global science and innovations 2022: Central Asia» (Нур-Султан, 2022 г.).

Публикации

Результаты диссертационного исследования были опубликованы в 14 научных работах, в том числе:

- статья в международном журнале, входящий в базу данных Scopus -1;
- статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки -4;
- тезисы в материалах международных научно-практических конференции -8;
- патент на полезную модель -1.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа включает в себя 165 страниц машинного текста, 50 таблиц, 48 рисунков, 130 отечественной и зарубежной литературы, а также приложения. Работа состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов, 5 разделов экспериментальной части, выводов по разделам и заключения.

Заключение

1. Был проведен сбор, заготовка и хранение лекарственного сырья клоповника широколистного в соответствии с Надлежащей практикой сбора лекарственных растений (GACP). Сушку травы *Lepidium latifolium* L. осуществляли в теневом помещении при температуре окружающей среды $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности $(60\pm 5)\%$ на базе Института ботаники и фитоинтродукции растений КН МОН РК. Было проконтролировано, что собранное сырье не содержит твердых частиц почвы, грязи, пыли, насекомых. Сырье помещали в мешки из крафт-бумаги по 10 кг с указанием наименования сырья, места заготовки, времени сбора и массы нетто.

Проведен фармакогностический анализ ЛРС *Lepidium latifolium* L.:

- по макроскопическим признакам стебель ветвистый. Листья кожистые, продолговатые, цельнокрайные серо-зеленого цвета. Прикорневые листья суженные в длинный черешок, эллиптические, пилосидно зубчатые, ширина 1-2 см, длина 3-5 см. Верхние листья сидячие, мелкие. Цветки мелкие белого цвета.

- по микроскопическим признакам стебель на поперечном срезе округлый, имеют утолщенные тангентальные стенки. Центральная часть стебля занята сердцевинной, клетки которой многогранны. Сердцевина представлена запасующими тканями. На поперечном срезе лист

дорзовентрального строения. Устьица многочисленна с обеих сторон листа. На обеих эпидермисах листа встречаются устьицы анизоцитного типа.

- выявлены следующие биологически активные вещества: алкалоиды, дубильные вещества, антрахиноны, флавоноиды, полисахариды, стероиды, сапонины, фенолкислоты. Установлено, что в количественном отношении преобладают стероиды и полисахариды.

Были определены фармацевтико-технологические параметры сырья *Lepidium latifolium* L. для оптимальной технологии экстрагирования с целью максимального извлечения БАВ: удельная масса ($1,64 \pm 0,01$ г/см³), насыпная масса ($0,35 \pm 0,01$ г/см³), пористость ($0,71 \pm 0,01$ г/см³), порозность ($0,24 \pm 0,00$ г/см³), свободный объем слоя сырья ($0,78 \pm 0,01$ г/см³), коэффициент поглощения экстрагента (3,45), выход экстрактивных веществ (54,71%).

Определены показатели качества и разработана спецификация качества на растительное сырье *Lepidium latifolium* L. (приказ МЗ РК №ҚР ДСМ-20 от 16 февраля 2021 года).

Результаты, полученные в течение долгосрочного исследования сырья *Lepidium latifolium* L. позволяют установить температуру (25 ± 2)°С, показатель относительной влажности (60 ± 5)%, и срок хранения 2 года (приказ МЗ РК №ҚР ДСМ-165/2020 от 28 октября на основании долгосрочного исследования стабильности лекарственного растительного сырья клоповника широколистного).

2. Получены густые экстракты традиционными и современными методами. Традиционный – методом перколяции с использованием этанола (70%) Р, современный- методом углекислотной экстракции в докритических условиях и ультразвуковой экстракции.

Проведен анализ химического состава полученных экстрактов методом газовой хроматографии (Agilent MSD ChemStation) с использованием масс-спектрометрического детектора.

В качестве оптимального экстракта был выбран докритический углекислотный экстракт, в составе которого были выявлены более 40 соединения, среди них основные компоненты: фитостеролы (кампестерол - 2,80%, стигмастерол -1,76%, β -ситостерол - 12,71%), дитерпены (фитол 7,30%), тритерпен (скален -1,54%), Витамин Е – 5,54% и др., были определены параметры его экстрагирования: рабочее давление 51 атм, температура 21⁰С, и время экстракции 11 часов, скорость потока экстрагента через сырье 5-10 см³/ч, степень измельченности сырья 3-5 мм, при этом выход составил 1,35%.

Разработана технологическая схема получения углекислотного экстракта из надземной части *Lepidium latifolium* L.

Разработана спецификация качества на углекислотный экстракт *Lepidium latifolium* L.: описание, идентификация, сухой остаток, потеря в массе при высушивании, тяжелые металлы, микробиологическая чистота, количественное определение, упаковка, маркировка, транспортировка, хранение, срок хранения, основное фармакологическое действие, время

удерживания β -ситостерола - 18,7 мин; количественное определение - 12,71%.

Получены данные по долгосрочному испытанию углекислотного экстракта на основе растительного сырья *Lepidium latifolium* L., существенные изменения по результатам определения показателей качества не наблюдались (приказ МЗ РК №ҚР ДСМ-165/2020 от 28 октября 2020 г.).

3. Проведена фармацевтическая разработка геля на основе углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. Разработан оптимальный состав, технология получения геля, в состав которого входят: фармацевтическая субстанция для практического применения растительного происхождения - углекислотный экстракт (3 г), вспомогательные вещества: Лецигель (1 г)- гелеобразователь, глицерин (10 г) – пластификатор, нипагин (0,04 г), нипазол (0,01 г) – консерванты, вода очищенная. Разработана технология получения геля на основе углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L.

Разработана спецификация качества на гель на основе углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L., а также разработан проект НД (приказ МЗ РК №ҚР ДСМ-20 от 16 февраля 2021 года).

Результаты испытания стабильности геля на основе углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. при долгосрочных условиях: при температуре $(25\pm 2)^\circ\text{C}$, относительной влажности $(60\pm 5)\%$ показали, что существенные изменения по результатам определения показателей качества не наблюдались (приказ МЗ РК №ҚР ДСМ -165/2020 от 28 октября 2020 г.). Исследования по определению стабильности геля продолжаются.

4. Проведены испытания на эффективность и безопасность углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. и геля на его основе. Установлено, что они являются безопасными, и при исследовании аллергизирующего действия не наблюдалась реакция на участке кожи, куда наносили масляный раствор углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. и гель на его основе.

По классификации Hodge, Sterner и К.К. Сидорова экстракт относится к группе практически нетоксичных соединений класса 5, $LD_{50} > 5000$ мг/кг.

Углекислотный экстракт из сырья *Lepidium latifolium* L. и гель на его основе практически относится к группе нетоксичных лекарственных средств, поэтому доказана возможность рекомендации для проведения клинических исследований для расширения номенклатуры фармацевтического производства.

Углекислотный экстракт растительного сырья *Lepidium latifolium* L. и гель на его основе обладают выраженным антимикробным действием против клинически значимых микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, а также проявляют значительную противовоспалительную активность.

5. Проведено технико-экономическое обоснование производства углекислотного экстракта *Lepidium latifolium* L. и геля на его основе.