

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на тему

«Фармацевтическая разработка лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья *Cetraria islandica* (L.) Ach.»

на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности

8D10102 - «Фармация»

Манасов Нурлен Қыдырбайұлы

Актуальность темы исследования. Актуальность темы исследования. В современных условиях одним из приоритетных направлений государственной политики в области здравоохранения и фармацевтической промышленности Республики Казахстан является развитие отечественного производства лекарственных средств, снижение зависимости от импортных препаратов и внедрение инновационных технологий при создании эффективных и безопасных лекарственных средств. В соответствии с Национальным планом развития Республики Казахстан до 2029 года, одним из ключевых приоритетов в реализации стратегических направлений является профилактика неинфекционных заболеваний и развитие отечественного фармацевтического производства. Полное и рациональное использование уникальных представителей отечественной флоры, организация конкурентоспособного и высокоэффективного производства фитопрепаратов, сокращение зависимости от импорта лекарственных средств, а также наращивание мощностей отечественного фармацевтического производства, сырьевого и научно-технического потенциала являются важными направлениями реализации задач по модернизации экономики и улучшению качества жизни населения. В настоящее время доля отечественных лекарственных средств на фармацевтическом рынке составляет лишь 14,4 %, что свидетельствует о высокой степени импортозависимости (86,6 % в денежном и 73,8 % в натуральном выражении). Сложившаяся ситуация обуславливает необходимость активной разработки и внедрения отечественных препаратов, в том числе на основе лекарственного растительного сырья [1-3].

В этом контексте особую актуальность приобретает изучение лекарственного потенциала природных ресурсов Казахстана. Одним из перспективных объектов является *Cetraria islandica* (L.) Ach. - представитель семейства Parmeliaceae, широко распространённый в горных и предгорных районах республики и обладающий выраженной фармакологической активностью. Согласно данным научной литературы, лишайниковые кислоты, входящие в состав *Cetraria islandica* (L.) Ach., демонстрируют антисептические, противовоспалительные, иммуномодулирующие и антиоксидантные свойства, что подтверждает целесообразность использования данного вида при воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей и ряде других патологий [4].

Мировая и отечественная практика разработки растительных лекарственных средств свидетельствует о стабильно высоком интересе к созданию стандартизованных экстрактов и инновационных лекарственных

форм на их основе. В условиях необходимости импортозамещения и обеспечения лекарственной безопасности страны особую актуальность приобретает разработка эффективного и безопасного лекарственного средства на основе *Cetraria islandica* (L.) Ach., соответствующего требованиям Государственной фармакопеи Республики Казахстан, нормативам Евразийского экономического союза (ЕАЭС) и международным стандартам качества [5].

Актуальность диссертационного исследования обусловлена необходимостью комплексного фармакогностического изучения слоевищ *Cetraria islandica* (L.) Ach., разработки оптимальной технологии получения экстракта, стандартизации биологически активных веществ, а также оценки фармакологической активности и токсикологической безопасности. Дополнительно, разработка лекарственной формы в виде спрея представляет собой современное фармацевтическое решение, обеспечивающее локальное терапевтическое действие, высокую биодоступность и удобство применения, что соответствует актуальным мировым тенденциям в создании препаратов для лечения заболеваний органов дыхания.

Таким образом, фармацевтическая разработка лекарственного средства на основе экстракта *Cetraria islandica* соответствует приоритетным направлениям государственной стратегии в сфере здравоохранения, способствует рациональному использованию природных ресурсов, развитию отечественной фармацевтической науки и промышленности, а также открывает перспективы интеграции казахстанских разработок в международное фармацевтическое пространство.

Цель исследования. Целью диссертационного исследования является научное обоснование и разработка подходов к созданию лекарственного средства на основе стандартизированного растительного сырья *Cetraria islandica* (L.) Ach..

Задачи исследования:

1. Провести заготовку сырья *Cetraria islandica* (L.) Ach. в соответствии с требованиями GACP, разработать технологию сбора и осуществить комплексное фармакогностическое исследование слоевищ, включая морфолого-анатомический и фитохимический анализ.

2. Разработать оптимальную технологию получения экстракта *Cetraria islandica* (L.) Ach., обосновать выбор метода экстракции, провести стандартизацию экстракта и оценку его стабильности.

3. Изучить токсикологическую безопасность и биологическую активность экстракта *Cetraria islandica* (L.) Ach. в рамках доклинических исследований.

4. Разработать технологию производства лекарственной формы в виде спрея на основе экстракта *Cetraria islandica*, провести контроль качества и исследование стабильности готовой лекарственной формы.

5. Осуществить технико-экономическое обоснование производства и перспектив внедрения разработанного лекарственного средства на фармацевтический рынок Республики Казахстан.

Объекты исследования: являются лекарственное растительное сырье *Cetraria islandica* (L.) Ach., экстракты, полученные из данного сырья, а также разработанное на их основе лекарственное средство - спрей для местного применения.

Предмет исследования: являются фармакогностическое изучение растительного сырья *Cetraria islandica* (L.) Ach., разработка технологии получения экстракта и лекарственной формы в виде спрея, их стандартизация, исследование токсикологической безопасности, биологической активности, качества и стабильности, а также технико-экономическое обоснование производства спрея с экстрактом *Cetraria islandica*.

Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту:

- комплексное фармакогностическое исследование слоевищ *Cetraria islandica* (L.) Ach., собранных в Карагандинской области РК, включающее морфолого-анатомический анализ с применением световой, флуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии, а также энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDS);
- научно обоснованные результаты разработки и оптимизации технологии получения экстракта *Cetraria islandica* демонстрирующие эффективность и воспроизводимость процесса (Приложение Б);
- комплексные данные о токсикологической безопасности и биологической активности экстракта *Cetraria islandica*, подтверждающие его перспективность для использования в медицинской практике;
- результаты фармацевтической разработки лекарственной формы - спрея на основе экстракта *Cetraria islandica*, включающие обоснование выбора лекарственной формы и её характеристик.

Описание основных результатов исследования:

Диссертационная работа посвящена фармацевтической разработке лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья — цетрарии исландской (*Cetraria islandica* (L.) Ach). В ходе исследования выполнено комплексное фармакогностическое изучение, разработана оптимальная технология получения экстрактов и проведена оценка их биологической активности. Полученные данные подтверждают высокую фармакологическую ценность *Cetraria islandica* (L.) Ach. как возобновляемого источника биологически активных веществ.

Разработана и апробирована технология сбора и заготовки сырья, соответствующая принципам устойчивого природопользования и требованиям надлежащей практики сбора (GACP). Заготовка осуществлялась в соответствии с Законом Республики Казахстан «О растительном мире», что обеспечивает рациональное использование природных ресурсов и сохранность экосистем.

Проведено морфолого-анатомическое исследование, в ходе которого установлено, что слоевище *Cetraria islandica* (L.) Ach. является гетеромерным, листоватым, высотой 12–15 см, с выраженными корковым и фотобионтным слоями. Гистохимические реакции подтвердили наличие усниновой и

фумарпротоцеттаровой кислот, что отражает фармакогностическую значимость вида.

Фитохимический анализ показал наличие полисахаридов и фенольных соединений; содержание усниновой кислоты составило 2,98% в пересчёте на сухое вещество. Результаты контроля качества по физико-химическим, микробиологическим и токсикологическим показателям соответствуют нормативным требованиям, что позволяет классифицировать сырьё как стандартизованную фармацевтическую субстанцию.

Определено, что оптимальным экстрагентом для получения густого экстракта является 70% этанол, обеспечивающий наибольший выход биологически активных веществ. Проведённая валидация технологического процесса на производственной площадке ТОО «ПЛП Жанафарм» подтвердила стабильность и управляемость процесса, что обеспечивает воспроизводимость качества экстракта.

Результаты исследований стабильности показали сохранение физико-химических и микробиологических характеристик экстракта в течение 24 месяцев при температуре (25 ± 2) °C и относительной влажности 60 ± 5 %, что указывает на высокую стабильность и однородность препарата.

Биологическая активность экстракта *Cetraria islandica* (L.) Ach. была подтверждена в ходе фармакологических исследований. Экстракт показал выраженный противовоспалительный эффект — снижение отёка на 69,90% при дозе 500 мг/кг, что сопоставимо с действием ибупрофена. Также была выявлена антимикробная и противогрибковая активность против ряда клинически значимых микроорганизмов, включая *Staphylococcus aureus*, а также антималярийное действие в отношении *Plasmodium falciparum*.

Экономическое моделирование производства лекарственного средства в форме спрея показало его высокую рентабельность. При объёме выпуска 36 000 флаконов в год себестоимость одного флакона составляет 895 тенге, а отпускная цена — 2000 тенге. Ожидаемая годовая чистая прибыль достигает 30,9 млн тенге, срок окупаемости — менее одного года.

Обоснование научной новизны:

Впервые:

- проведено комплексное фармакогностическое исследование слоевищ *Cetraria islandica* (L.) Ach., собранных в Карагандинской области, включающее морфолого-анатомический анализ с применением световой, флуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии, а также энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDS);
- разработана и оптимизирована технология получения экстракта *Cetraria islandica*, включающая научное обоснование метода экстракции, его стандартизацию и оценку стабильности;
- проведено комплексное исследование показателей безопасности и биологической активности экстракта *Cetraria islandica* в рамках доклинических испытаний, включающее антимикробную и противовоспалительную активность, а также токсикологическую и аллергенную свойства (Приложение А);

- разработана и научно обоснована технология производства лекарственной формы - спрея с экстрактом *Cetraria islandica*, включая оптимизацию состава, методику получения, исследование стабильности и качества, а также технико-экономическое обоснование производства.

Практическое значение полученных результатов:

- рекомендована технология сбора и заготовки лекарственного растительного сырья *Cetraria islandica* (L.) Ach.. Идентификация подтверждена РГП на ПХВ «Институтом ботаники и фитоиндустрии», Алматы, РК. Номер справки: № 01-05/252 (Приложение В);

- проведена фитосанитарная экспертиза лекарственного растительного сырья на наличие вредных карантинных организмов в государственном учреждении «Территориальная инспекция Комитета государственной инспекции в агропромышленном комплексе по городу Алматы Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан» Номер фитосанитарного сертификата О702/202109151456744 (Приложение Г);

- разработана спецификация качества на «ЛРС *Cetraria islandica* (L.) Ach.»;

- разработан способ получения густого экстракта *Cetraria islandica* методом мацерации с применением ультразвукового воздействия. Составлена спецификация качества на «Экстракт *Cetraria islandica*, густой», которая внедрена в учебный процесс на кафедре фармацевтической технологии НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова» (Приложения Д, Е, Ж).

- технология получения и спецификация качества спрея, на основе экстракта густого из ЛРС *Cetraria islandica* успешно апробированы в Производство фармацевтических препаратов ООО «ИМП», г. Санкт-Петербург, РФ (Приложение И);

- результаты диссертационной работы внедрены в учебный и научно-исследовательский процесс кафедру промышленной технологии лекарств ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» МЗ РК (Приложение К);

- Образцу *Cetraria islandica* (L.) Ach., собранному в Карагандинской области Республики Казахстан, на территории Каркаралинского национального парка, был присвоен номер NCNPR #24269 и он включён в Ботанический репозиторий Национального центра исследований натуральных продуктов при Университете Миссисипи (США) (Приложение Л);

Образец *Cetraria islandica* (L.) Ach. был идентифицирован профессором Брюсом МакКьюном, заслуженным профессором Ассоциации выпускников кафедры ботаники и фитопатологии Университета штата Орегон (Корваллис, штат Орегон, США) – и внесён в Гербарий Орегонского университета (США) под кодом OSC-M-050921 (Приложение М, Приложение Н).

Личный вклад докторанта:

- в ходе исследования был проведён самостоятельный анализ и обширный обзор отечественных и зарубежных научных источников по теме диссертации, что позволило сформировать теоретическую базу исследования

и обозначить перспективные направления для дальнейших научных и прикладных разработок. Все экспериментальные работы выполнены с использованием современного оборудования и материалов фармакопейного качества, что обеспечивает достоверность полученных результатов, подтверждённых данными, полученными как в лабораторных, так и в производственных условиях.

- достоверность и обоснованность результатов обеспечиваются актуальностью исследуемой проблемы, соблюдением научной методологии, а также проведением всех этапов работы на базе современного исследовательского центра. В рамках диссертационного исследования была разработана нормативная документация на экстракт *Cetraria islandica* (L.) Ach. и лекарственное средство в виде спрея, что подтверждает практическую значимость полученных данных и их применимость в условиях реального фармацевтического производства.

Выводы:

Диссертационная работа посвящена фармацевтической разработке лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья *Cetraria islandica* (L.) Ach. В ходе исследования было проведено комплексное фармакогностическое изучение, разработка оптимальной технологии получения экстрактов и оценка их биологической активности, что подтвердило ценность *Cetraria islandica* (L.) Ach. как возобновляемого источника растительного сырья с выраженным фармакологическим потенциалом.

Первая часть работы описывает технологию сбора и заготовки *Cetraria islandica* (L.) Ach., основанную на принципах устойчивого природопользования и рекомендациях надлежащей практики сбора (GACP). Заготовка проводилась в соответствии с Законом РК «О растительном мире», что обеспечивает рациональное использование биологических ресурсов. Образцы собирались в стабильных экологических условиях, что подтверждает здоровье популяции и возможность частичного сбора без ущерба для экосистемы.

Морфолого-анатомическое исследование показало, что *Cetraria islandica* (L.) Ach. имеет гетеромерное листоватое слоевище высотой 12–15 см с характерными анатомическими структурами, такими как корковый и фотобионтный слой. Гистохимические реакции подтвердили наличие усниновой и фумарпротоцетраровой кислот, что подчеркивает фармакогностическую значимость данного сырья.

Фитохимическое исследование выявило широкий спектр биологически активных соединений, включая полисахариды и фенольные соединения, с содержанием усниновой кислоты в 2,98% на сухое вещество. Контроль качества подтвердил соответствие физико-химических, микробиологических и токсикологических показателей нормативным требованиям, позволяя рассматривать *Cetraria islandica* (L.) Ach. как стандартизованную фармацевтическую субстанцию.

В разделе, посвященном технологии экстракции, было установлено, что 70% этанол является наиболее эффективным экстрагентом, обеспечивающим максимальный выход активных веществ, таких как усниновая кислота. Валидация технологического процесса на предприятии ТОО «ПЛП Жанафарм» подтвердила управляемость и стабильность, что гарантирует высокое качество получаемого экстракта.

Долгосрочные исследования стабильности экстракта *Cetraria islandica* (L.) Ach. показали, что он сохраняет свои физико-химические и микробиологические характеристики на протяжении 24 месяцев при температуре 25 ± 2 °C и относительной влажности 60 ± 5 %. Это подтверждает высокую однородность и качество продукта.

Экспериментальные исследования противовоспалительной активности экстракта показали значительное снижение объема отека при дозе 500 мг/кг, достигая 69,90% эффекта, что сопоставимо с действием ибупрофена. Антимикробная и противогрибковая активность экстракта была подтверждена на десяти клинически значимых микроорганизмах, включая *Staphylococcus aureus*, а также продемонстрировал антималярийную активность против *Plasmodium falciparum*.

Финансовое обоснование проекта по производству спрея на основе экстракта *Cetraria islandica* (L.) Ach. показывает высокую рентабельность и быструю окупаемость. При запланированном объеме выпуска 36 000 флаконов в год, полная себестоимость одного спрея составит около 895 тенге, а максимальная отпускная цена – 2000 тенге. Ожидаемая чистая прибыль составляет примерно 30,9 млн тенге, что соответствует 43% от выручки. Срок окупаемости составляет около 1 года, что делает проект экономически целесообразным.

Таким образом, проект по производству спрея на основе экстракта *Cetraria islandica* (L.) Ach. имеет значительный потенциал для успешной реализации на фармацевтическом рынке Казахстана, что подтверждает целесообразность его внедрения и открывает перспективы для дальнейшего использования данного экстракта в разработке новых фитопрепаратов.

Апробация результатов диссертации:

Основные результаты диссертационного исследования были представлены на международных научных форумах и опубликованы в ряде научных изданий:

- Конгресс Международного совета по малому бизнесу ICSB «International Council for Small Business», Oxford, Mississippi State, USA, март 2022 года.

- Постерный доклад: Ultrastructural and Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy characterization of *Cetraria islandica* (L.) Ach. (L.) Ach., Oxford, Mississippi State, USA, апрель 2022 года.

- Постерный доклад: Chemical profiling of *Cetraria islandica* (L.) Ach. lichen using LC-DAD-QToF, Oxford, Mississippi State, USA, апрель 2022 года.

Публикации:

Результаты диссертационного исследования были опубликованы в 4 научных работах, в том числе 1 статья в международном журнале, индексируемом в базе данных Scopus; 3 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан; 1 патент на полезную модель РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности».

Объем и структура диссертации:

Диссертационная работа включает 176 страниц машинописного текста, 42 таблиц, 55 рисунка, 143 источников отечественной и зарубежной литературы, а также приложения. Работа состоит из введения, литературного обзора, раздела материалов и методов, четырех разделов экспериментальной части, выводов по каждому разделу и заключения.