

## **АННОТАЦИЯ**

диссертационной работы на тему

### **«Фармацевтическое обоснование получения лекарственных средств из растительного сырья азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.)»**

на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности  
8D07201 – «Технология фармацевтического производства»

**Ғазизовой Аиды Архатқызы**

#### **Актуальность темы исследования**

Проблемы охраны здоровья населения, являющегося ключевым показателем социально-экономического благополучия Республики Казахстан, в настоящее время относятся к числу наиболее актуальных. В этой связи одним из важных направлений, обозначенных Постановлением Правительства Республики Казахстан от 12 июня 2024 года № 454 «Об утверждении Концепции развития инфраструктуры здравоохранения на 2024–2030 годы», является комплексное развитие отечественной фармацевтической отрасли. В качестве «первого шага» в данном направлении особое значение приобретает проведение научно-практических исследований, направленных на решение актуальных проблем, возникающих в сфере здравоохранения, а также на изучение лекарственных средств, необходимых рынку для профилактики и лечения заболеваний. Для достижения указанных стратегических целей и задач необходимо проведение полномасштабных исследований по эффективному использованию местного природного сырья.

Указанные приоритеты также согласуются с приоритетами Национального плана развития до 2029 года, определёнными Указом Президента Республики Казахстан от 30 июля 2024 года № 611. В данном Указе поставлены задачи по развитию отечественного фармацевтического производства, расширению местного производства лекарственных средств, укреплению сотрудничества с глобальными фармацевтическими предприятиями, привлечению инвестиций и осуществлению трансфера новых технологий и научных разработок с целью повышения конкурентоспособности фармацевтической индустрии. Наряду с этим особое внимание уделяется локализации производства лекарственных средств и увеличению доли отечественной продукции на внутреннем рынке.

Одним из важнейших механизмов реализации указанных стратегических задач является развитие научно-практических исследований, направленных на решение актуальных проблем, возникающих в сфере здравоохранения.

Одним из основных направлений развития фармацевтической отрасли является создание лекарственных средств, которые по своей природе являются натуральными, относительно безопасными, полезными для здоровья человека и доступными по стоимости.

Таким образом, в настоящее время в целях системного снижения импортной зависимости Республики Казахстан от зарубежных лекарственных средств особую актуальность приобретает эффективное использование отечественного растительного сырья.

В процессе создания новых фармакологически активных соединений природные ресурсы растительного происхождения являются важным источником лекарственных средств. Вместе с тем следует отметить значимость определения критериев выбора материала для научного исследования.

В последние годы в мировом научном сообществе проводятся исследования, направленные на оценку широкого применения растений в стоматологии, что позволило выявить виды растений с потенциальной биологической активностью. Одним из таких растений является мята азиатская (*Mentha asiatica* Boriss.) – представитель семейства *Lamiaceae*. В её составе в значительных концентрациях содержатся биологически активные вещества, обладающие антимикробным и противовоспалительным фармакологическим действием. В частности, к основным биологически активным компонентам данного лекарственного растения относятся ментон и пиперитон, лимонен, эвкалиптол, фенольные кислоты и флавоноиды.

Однако, несмотря на то, что ботанические, фитохимические и отдельные фармакологические свойства мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) описаны в литературе, фармацевтическое обоснование её применения для создания лекарственной формы, предназначенной для использования в стоматологии, до настоящего времени полностью не сформировано. В частности, не систематизированы показатели стандартизации сырья, недостаточно обоснован оптимальный метод экстракции, обеспечивающий сохранность биологически активных соединений, не определены технологические параметры введения экстракта в состав стоматологической пленки, а сведения о качестве, стабильности и доклинической безопасности готового продукта остаются ограниченными. В связи с этим разработка состава и технологии лекарственной формы с экстрактом мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.), предназначенной для применения в стоматологии, представляется актуальной.

**Цель диссертационного исследования** – разработка состава и технологии стоматологического покрытия с экстрактом азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.), оценка его качества и изучение фармакологической активности.

**Задачи исследования:**

1. Провести фармакогностический анализ растительного сырья мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) и его стандартизацию;
2. Разработать технологию получения экстрактов из сырья мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) и осуществить контроль их качества;
3. Разработать состав и технологию стоматологической пленки с экстрактом мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.);
4. Составить спецификацию качества стоматологической пленки и исследовать ее стабильность;
5. Провести доклинические исследования экстракта мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) и лекарственного препарата;
6. Разработать технико-экономическое обоснование производства стоматологической пленки.

**Методы исследования:** фармакопейные (физические и физико-химические, фармако-технологические, биологические) и статистические методы.

**Объект исследования:** сырьё азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.), её экстракты и стоматологическая пленка.

**Предмет исследования:** состав, технология, показатели качества, стабильность и фармакологическая активность стоматологической пленки, полученной на основе экстракта мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.).

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

- результаты фармакогностического исследования лекарственного растительного сырья азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.);

- результаты исследований по получению экстрактов из лекарственного растительного сырья азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.);

- результаты фармацевтической разработки стоматологической пленки с жидким экстрактом азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.);

- результаты определения безопасности и биологической активности жидкого экстракта азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.) и стоматологической пленки, изготовленной на его основе.

#### **Описание основных результатов исследования**

В ходе диссертационного исследования было проведено комплексное фармакогностическое изучение растительного сырья мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.), в результате которого были определены его морфологические, анатомические и фармацевтико-технологические показатели. Качество сырья оценено в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Казахстан, а его свойства, благоприятные для проведения экстракции, были научно обоснованы. По результатам фитохимического исследования установлено, что в составе мяты азиатской содержатся фармакологически значимые терпеновые соединения, в особенности пиперитон оксид.

В процессе исследования были сравнительно изучены несколько методов получения экстракта из сырья мяты азиатской, среди которых наиболее эффективным признан метод этанольной циркуляционной экстракции с использованием аппарата Сокслета. Полученный данным способом жидкий экстракт был стандартизован, а его антимикробная, противовоспалительная и антиоксидантная активность подтверждена экспериментально. На основании полученных результатов разработана технология получения экстракта, которая защищена патентом на полезную модель.

На основе стандартизованного жидкого экстракта в коллаген-желатин-глицериновой матрице были разработаны оптимальный состав и технология двухслойной стоматологической пленки. Изучены показатели качества готовой лекарственной формы, включая внешний вид, однородность, рН, время набухания и растворения, а также потерю массы при высушивании; установлено их соответствие требованиям Государственной фармакопеи Республики

Казахстан и Фармакопеи ЕАЭС. С помощью анализа ГХ/МС идентифицированы основные терпеновые соединения, входящие в состав пленки.

Доклинические исследования показали безопасность и фармакологическую активность экстракта мяты азиатской и разработанной на его основе стоматологической пленки. Противовоспалительная активность экстракта, а также ранозаживляющее и противовоспалительное действие стоматологической пленки подтверждены в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, технико-экономическое обоснование опытно-производственной серии в объеме 10 000 единиц показало целесообразность внедрения разработанной стоматологической пленки в промышленное производство.

#### **Обоснование научной новизны:**

Впервые:

В результате проведенных исследований впервые были получены и научно обоснованы результаты фундаментального и прикладного характера, позволяющие решать важные научно-практические задачи в области фармацевтики и фитохимии:

Идентификация растительного сырья азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.), собранного на территории Сайрам-Угамского региона Туркестанской области, была проведена в государственном учреждении Республики Казахстан «Институт ботаники и фитоинтродукции» и подтверждена справкой с регистрационным номером №01-05/341. Качество растительного сырья было оценено в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Казахстан (ГФ РК);

Из растительного сырья азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.) были получены жидкие экстракты с применением различных методов экстракции: циркуляционной экстракции, ультразвуковой экстракции и вихревой экстракции, после чего проведено сравнительное исследование их фитохимического состава. По результатам исследования оптимальным методом экстракции был определен метод циркуляционной экстракции и разработана соответствующая технология получения экстракта. Результаты подтверждены патентом Республики Казахстан на полезную модель №9819 «Способ получения жидкого экстракта *Mentha asiatica* Boriss. из травы азиатской мяты» (заявка №2024/0844.2 от 12.07.2024 г.; опубликовано 22.11.2024 г.) (Приложение А). Полученный экстракт был подвергнут оценке качества, а также исследована его фармакологическая активность в условиях *in vitro* и *in vivo*;

Разработаны состав и технология стоматологического покрытия с использованием экстракта азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.), а также определены показатели качества в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Казахстан и Фармакопеи ЕАЭС.

#### **Практическое значение полученных результатов**

Практическая значимость научной работы заключается в том, что полученные результаты являются актуальными для специалистов в области медицины и фармации и могут служить научно-методической основой для разработки экстрактов, состава и технологии лекарственных средств на основе

азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.), а также для проведения аналитической и проектной деятельности.

Разработанные состав и технология стоматологической пленки из азиатской мяты (*Mentha asiatica* Boriss.) внедрены на производственной базе ТОО НПЦ «AntiGen» (г. Алматы, Республика Казахстан) (Приложение Э), а также в Гданьском медицинском университете (г. Гданьск, Польша), что подтверждено актом внедрения (Приложение Б).

Анализ лекарственного растительного сырья, а также определение показателей качества лекарственного препарата и его биологической активности *in vitro* проведены на кафедре фармакогнозии и ботаники фармацевтического факультета Университета им. Я.А. Коменского (г. Братислава, Словакия). Результаты оформлены актом внедрения (Приложение В).

#### **Личный вклад докторанта**

Диссертант провёл обширный обзор и анализ отечественной и зарубежной научной литературы, а также самостоятельно выполнил экспериментальные исследования в соответствии с поставленными задачами. Это подтверждается полученными результатами, достигнутыми в лабораторных и производственных условиях с использованием современного оборудования и научных источников.

Достоверность и обоснованность полученных результатов подтверждаются их направленностью на решение актуальных проблем фармацевтической науки и практики, разработкой нового отечественного лекарственного средства, проведением исследований в современных научных центрах, а также разработкой проектов нормативной документации.

#### **Выводы**

Представленная диссертационная работа направлена на проведение фармакогностического исследования растительного сырья мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.), оптимизацию технологии экстракции, определение химического состава и безопасности полученного экстракта, а также на разработку стоматологической пленки на основе оптимального экстракта и технико-экономическое обоснование ее производства.

По результатам проведенных исследований были сформулированы следующие выводы:

1. Растительное сырье мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) было заготовлено в июне–августе 2023 года в Туркестанской области, в Сайрам-Угамском ГНПП, Казыгуртском филиале (41°57'N, 70°03'E), в соответствии с требованиями GACP ВОЗ (2003 г.) и ЕЭК № 15 от 26.01.2018 г., после чего была разработана технология его переработки. Макро- и микроскопические исследования позволили установить основные диагностические признаки растительного сырья: поперечное сечение стебля четырехгранное, эпидермис однослойный, лист гипостоматический, устьица аномоцитарного типа, отчетливо выражены эфирномасличные железки и многоклеточные трихомы. Длина чашечки цветка составила 4–6 мм, ширина – 2–2,5 мм, при этом венчик был в 2–2,3 раза длиннее чашечки. Гистохимический анализ показал преимущественную локализацию эфирных масел, флавоноидов и фенольных

соединений, тогда как сесквитерпеновые лактоны, крахмал и алкалоиды обнаружены не были.

По фармацевтико-технологическим показателям предельная масса составила 0,14 г/см<sup>3</sup>, объемная масса – 0,17 г/см<sup>3</sup>, насыпная масса – 0,08 г/см<sup>3</sup>, пористость – 2,21, внутренняя пористость – 1,012, свободный объем – 1,6, что характеризует рыхлую структуру сырья, благоприятную для экстракции. Наибольший выход экстрактивных веществ был получен при использовании 90% этилового спирта и составил от 3,01±0,01% до 3,5±0,02%, в среднем около 3,2%. Анализ ГХ/МС показал преобладание в листьях терпенов, в том числе пиперитон оксида (9,51%), что подтвердило богатство сырья мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) фармакологически ценными компонентами.

2. Из надземных частей растения были получены экстракты четырьмя методами: гидродистилляцией, ультразвуковой экстракцией, циркуляционной экстракцией в аппарате Сокслета и вихревой экстракцией.

По результатам ГХ/МС наиболее оптимальным был признан этанольный циркуляционный экстракт, полученный с использованием аппарата Сокслета, с технологическими параметрами: 90% этиловый спирт, продолжительность экстракции 300 минут, всего 5 циклов. Технология получения экстракта подтверждена патентом Республики Казахстан на полезную модель № 9819 «Способ получения жидкого экстракта из травы мяты азиатской *Mentha asiatica* Boriss.» (заявка № 2024/0844.2; 12.07.2024 г.; опубликовано 22.11.2024 г.) (Приложение А).

Содержание пиперитенон оксида в его составе составило 72,44%, что обусловило выраженную антимикробную, противовоспалительную и антиоксидантную активность. Кроме того, такие сесквитерпены, как транс-кариофиллен, γ-мууролен и α-гвайен, обеспечивали синергетический эффект. Полученный экстракт был стандартизирован, и установлено, что срок его стабильности составляет 24 месяца.

3. На основе жидкого экстракта мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) была разработана двухслойная стоматологическая пленка, введенная в коллаген-желатин-глицериновую матрицу. В ходе исследования было изготовлено всего 5 образцов. В результате наиболее эффективным составом был признан образец № 3. В состав признанного оптимальным образца № 3 вошли: в 1-й слой – экстракт мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) 5 мл, коллаген 10 мл, желатин 10 г, глицерин 2 мл, сорбат калия 0,5 г и очищенная вода 24,5 мл; во 2-й слой – лидокаина гидрохлорид 1 мл, коллаген 10 мл, желатин 10 г, глицерин 2 мл, сорбат калия 0,5 г и очищенная вода 24,5 мл. Основное преимущество предложенной системы характеризуется сочетанием быстрого и пролонгированного действия: лидокаина гидрохлорид обеспечивает быстрое обезболивание, а экстракт мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) длительно сохраняет противовоспалительный и антимикробный эффект.

По результатам сравнительного анализа образец № 3 показал оптимальные результаты по показателям однородности, адгезии, прочности и эластичности. В связи с этим данный образец был выбран как наиболее подходящий состав стоматологической пленки. Технология получения пленки была разработана

поэтапно и включала стадии приготовления растворов основного и второго слоев, введения вспомогательных и активных веществ, формирования слоев, сушки, резки, упаковки и маркировки. Готовый продукт высушивали при температуре 25–30°C и относительной влажности воздуха 30–40%, после чего разрезали на фрагменты размером 5×4 мм. Разработанная технология обеспечила равномерное распределение экстракта в полимерной основе и сохранение его биологической активности. В результате были обоснованы высокая структурная стабильность и фармакологическая эффективность стоматологической пленки.

4. Полученная двухслойная стоматологическая пленка имела однородную, гладкую структуру. Верхний слой благодаря природным соединениям хлорофилла в экстракте мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) имел светло-зеленую окраску, тогда как нижний слой характеризовался желтовато-прозрачным оттенком. Пленка обладала мягким ментоловым запахом, характерным для мяты азиатской. В ходе исследования установлено, что геометрические размеры пленки составляют 50×40×0,1 мм, показатель рН – 6,5±0,2, однородность массы – 7,1%. Время набухания составило 3 минуты, полное время растворения – 11 минут, а потеря массы при высушивании – 10%. В ходе качественной идентификации образование желто-оранжевого осадка в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином подтвердило наличие в составе пленки пиперитон оксида.

По результатам анализа ГХ/МС в составе пленки было идентифицировано 40 соединений. В качестве основных компонентов были определены 2-гексенол (19,61%), dl-лимонен (18,86%), ментфуран (6,94%), циклогексен (5,64%), пиперитон оксид (4,642%), эвкалиптол (3,783%), дигидрокарвон (3,217%) и терпинен-4-ол (2,893%). Суммарное содержание терпеновых соединений составило 57,07%, а их количество в 100 г готовой стоматологической пленки было рассчитано как 2,85 г. В ходе исследования стабильности в течение 24 месяцев внешний вид, цвет, запах, размеры, уровень рН, однородность массы, потеря массы при высушивании и микробиологическая чистота пленки оставались неизменными; однородность массы колебалась в пределах 7,1–7,3%, потеря массы при высушивании – в пределах 10–10,5%. Эти результаты доказали, что разработанная стоматологическая пленка является лекарственной формой с высокой структурной стабильностью, сохраняющим терпеновым составом и стабильными качественными показателями при длительном хранении.

Полученные результаты показали, что показатели качества двухслойной стоматологической пленки соответствуют требованиям Государственной фармакопеи Республики Казахстан и Фармакопеи ЕАЭС.

5. Острая и хроническая токсичность экстракта мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) была изучена в виварии НАО «КазНМУ имени С.Д. Асфендиярова» и НИИ фундаментальной и прикладной медицины имени Б. Атчабарова на основании протокола биоэтической комиссии от 07.11.2023 г. № 8 (144). При дозе 500 мг/кг в тканях почек и желудка были выявлены признаки легкого отека и паренхиматозной дистрофии; при дозе 2000 мг/кг токсические изменения в тканях печени, почек и желудка усиливались; при дозе 5000 мг/кг

регистрировались выраженные некротические поражения. Среднее число некротических очагов в печени на 10 полей зрения составило: в контроле –  $0,1 \pm 0,3$ , при дозе 500 мг/кг –  $2,3 \pm 1,1$  ( $p < 0,05$ ), при дозе 2000 мг/кг –  $5,7 \pm 1,4$  ( $p < 0,01$ ), при дозе 5000 мг/кг –  $12,4 \pm 2,1$  ( $p < 0,001$ ). Это свидетельствовало о дозозависимом характере токсичности экстракта.

*In vitro* противовоспалительная активность циркуляционного жидкого экстракта оценивалась на макрофагах RAW264.7: при нецитотоксической дозе 31,25 мкг/мл он ингибировал LPS-индуцированную продукцию NO на 31,8%. По результатам МТТ-теста циркуляционный экстракт продемонстрировал дозозависимую цитотоксичность в отношении клеток A549, Caco-2, LNCaP и MDA-MB231, тогда как его токсичность в отношении нормальных клеток HUVEC была относительно низкой, что подтвердило определенную селективность.

Ранозаживляющее действие стоматологической пленки с экстрактом мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) изучалось на крысах, причем в качестве препарата сравнения была выбрана стоматологическая пленка «Curatick» (производитель: Южная Корея). Этот препарат использовался в качестве контрольного средства при оценке ранозаживляющего эффекта. В результате у животных, получавших исследуемую пленку, масса груза, необходимого для разрыва рубца, была в 1,5-2 раза выше по сравнению с контрольной группой, а глубина раны уменьшалась в 1/3-1/2 раза, при этом процесс полной эпителизации улучшался.

При изучении противовоспалительного действия пленки на модели формалин-индуцированного отека стоматологическая пленка через 4 часа показала ингибирование отека на 47,1%, что было близко к эффекту стандартного противовоспалительного препарата индометацина – 52,1%.

6. В результате предварительного технико-экономического расчёта, проведённого для опытно-промышленной серии стоматологического покрытия в количестве 10 000 единиц, прямые производственные затраты составили 18 932 700 тенге (основное и вспомогательное сырьё - 17 765 000 тенге; упаковочные и фасовочные материалы - 967 700 тенге; прочие производственные расходы - 200 000 тенге). При консервативном сценарии с учётом административных расходов на уровне 40% и коммерческих расходов на уровне 30% полная себестоимость достигла 32 185 590 тенге. При планируемой норме прибыли 30% прогнозируемая отпускная стоимость партии составила 41 841 267 тенге, а прогнозируемая отпускная цена одной единицы продукции - 4 184,13 тенге. Таким образом, полученные результаты продемонстрировали предварительную экономическую целесообразность разработанной технологии на опытно-промышленном уровне, однако для подтверждения её полной коммерческой эффективности необходимы дополнительные маркетинговые и финансовые исследования.

Подводя итог, следует отметить, что в результате проведенных комплексных научных исследований растительное сырьё мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) было всесторонне изучено и стандартизировано на научной основе, а по результатам сравнения различных методов экстракции

этанольная циркуляционная экстракция, выполненная в аппарате Сокслета, была определена как наиболее оптимальный вариант. На основе полученного стандартизированного экстракта была разработана научно обоснованная по составу и технологии двухслойная стоматологическая пленка, определены ее качество, стабильность, безопасность и фармакологическая эффективность, что продемонстрировало высокую перспективность внедрения отечественной фитосубстанции и стоматологической пленки на основе мяты азиатской (*Mentha asiatica* Boriss.) в фармацевтическую практику.

### **Апробация результатов диссертации**

Основные результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на следующих научных мероприятиях:

- Журнал «Вестник Международного медицинского университета Центральной Азии», Кыргызская Республика, г. Жалал-Абад, 2023 г.;

- Международная научная конференция Института химии растительных веществ имени академика С.Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан, Узбекистан, г. Ташкент, 2023 г.;

- V (2023 г.) и VI (2024 г.) Международные научно-практические конференции «Формирование и перспективы развития научной школы фармации: преемственность поколений», посвященные памяти профессора Р. Дильбарханова, с докладом о результатах реализации научного проекта Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан и Комитета науки на 2023–2025 годы «ИРН АР19680441 – Фармацевтическая разработка и фармакологические исследования дентальных покрытий для применения в стоматологической практике», г. Алматы, Республика Казахстан;

- XIII Международная научно-практическая конференция «Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике», посвященная 135-летию С.Ж. Асфендиярова, 2024 г., г. Алматы, Республика Казахстан;

- Участие в конкурсе «Молодые учёные», проведенном в рамках Международного форума «ANaMed Forum – New Generation 2025», а также в VII Международной научно-практической конференции «Формирование и перспективы развития научной школы фармации: преемственность поколений», посвященной 80-летию профессора Р. Дильбарханова, 4–5 июня 2025 года (диплом II степени), г. Алматы, Республика Казахстан;

- Международная научная конференция «Contemporary Pharmacy: Issues, Challenges and Expectations», организованная факультетом фармации Литовского университета наук о здоровье, 2025 г., г. Каунас, Литва.

### **Публикации**

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 14 научных работах, в том числе: 2 статьи – в международных рецензируемых журналах, индексируемых в базе данных Scopus; 3 статьи – в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан; 5 статей и тезисов – в материалах международных научно-практических конференций; 1 патент на полезную модель; 3 акта внедрения.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертационная работа, в которой изложены результаты научного исследования, состоит из 188 страниц, включая 28 таблиц, 56 рисунков, список литературы из 114 источников и приложения. Диссертация включает введение, литературный обзор, разделы, посвященные материалам и методам исследования, разделы с результатами исследования, а также заключение.