

## АННОТАЦИЯ

Диссертации на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D074800 - «Технология фармацевтического производства» **Жунусовой Майры Абыловны** на тему: «**Фармацевтическая разработка лекарственных средств из растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.**»

### **Актуальность темы диссертационной работы**

Важным направлением мировой фармацевтической промышленности является создание близких по структуре к природе, сравнительно безопасных, достаточно полезных для здоровья человека и доступных лекарственных средств.

Для реализации целей и задач в этом направлении необходимо проводить полномасштабные исследования по рациональному использованию местного природного сырья. В Республике Казахстан осуществляются такие государственные программы, как «Стратегия «Казахстан - 2050», «Концепция по вхождению Казахстана в число 30-ти самых развитых государств мира», «Стратегический план развития Республики Казахстан до 2020 года», «Послание Президента Республики Казахстан «Казахстанский путь - 2050: единая цель, единые интересы, единое будущее», одной из целевых задач которых является увеличение числа наименований лекарственных препаратов из отечественного растительного сырья, развитие отечественной фармацевтической промышленности, строительство новых производственных площадок, а также внесение вклада в удовлетворение потребностей государства в лекарственных препаратах, путем реорганизации имеющихся производств.

Необходимость обеспечения населения Республики Казахстан собственными лекарственными препаратами также обоснована в рамках реализации «Государственной программы индустриально-инновационного развития Республики Казахстан на 2015-2019 год». В связи с этим одной из актуальных задач современной технологии фармацевтического производства является разработка новых лекарственных препаратов на основе сырьевых ресурсов Республики Казахстан, в том числе и растительного происхождения.

В Национальном докладе по науке (2015) освещены приоритетные фундаментальные и прикладные исследования, в том числе рациональное использование природных ресурсов, переработка сырья и продукции.

Исходя из вышеизложенного, актуальность диссертационной работы заключается в разработке лекарственных средств на основе растительного сырья, как источника биологически активных веществ, которые обуславливают меньшую токсичность, биодоступность и широкий спектр биологической активности в сравнении с синтетическими лекарственными препаратами.

Флора Казахстана богата перспективными малоизученными растениями, которые применяют в народной медицине, но для их внедрения в медицинскую практику требуются дополнительные глубокие исследования, с помощью современных научных методик.

Учитывая вышеуказанное, проведение исследований полиморфных растений из семейства *Dipsacaceae*, рода *Scabiosa*, с целью их внедрения в медицинскую практику и разработки новых лекарственных средств на их основе, является актуальной задачей и соответствует требованиям современной фармацевтической науки.

**Цель работы.** Фармацевтическая разработка растительного сырья и углекислотных экстрактов на основе растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

**Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:**

1) определить сырьевые запасы растений скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* L.) и скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* L.) на территории Карагандинской области;

2) разработать технологию заготовки растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской;

3) провести фармакогностическое исследование трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L.;

4) определить показатели и нормы качества, сроки хранения растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

5) провести исследования по выбору параметров получения углекислотного экстракта из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской;

6) исследовать углекислотные экстракты из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской: определить компонентный состав, исследовать на присутствие тяжелых металлов и изучить термическое разложение;

7) разработать технологию производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

8) определить показатели и нормы качества, сроки хранения углекислотных экстрактов, полученных из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

9) исследовать биологическую активность *in vitro* углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. и экстрактов, полученных из отхода углекислотной экстракции из этих видов сырья.

#### **Научная новизна результатов исследования**

Новизна результатов исследования заключается в том, что впервые:

1) проведена оценка сырьевых запасов растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области;

2) получены углекислотные экстракты из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

3) исследован компонентный состав углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

4) разработана технология производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

На основании полученных результатов действуют 2 охранных документа:

1) Патент на изобретение 33430, МПК А61К 36/35 (2006.01), А61К 133/00 (2006.01), А61К 31/04 (2006.01), В01Д 11/00 (2006.01). «Способ получения CO<sub>2</sub>-экстракта из *Scabiosa ochroleuca* (L.) обладающего противомикробной активностью». - № 2017/0665.1; заявл. 11.08.2017 г.; опубл. 01.02.2019 г.;

2) Патент на изобретение 33431, МПК А61К 36/35 (2006.01), А61К 133/00 (2006.01), А61К 31/04 (2006.01), В01Д 11/00 (2006.01). «Способ получения CO<sub>2</sub>-экстракта из *Scabiosa isetensis* (L.), обладающего цитотоксической активностью». - № 2017/0666.1; заявл. 11.08.2017 г.; опубл. 01.02.2019 г.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- сырьевые запасы растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области;

- фармакогностический анализ трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

- получение углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

- физико-химические показатели и спектральные данные углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

- технология производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

- показатели нормы и качества углекислотного экстракта и растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.;

- результаты исследования цитотоксической, антимицробной, антимикотической, антирадикальной и антиоксидантной активности углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L. и экстрактов из отхода углекислотной экстракции этих видов сырья.

#### **Практическая значимость работы.**

В результате проведенных исследований определены сырьевые запасы растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области.

На основании полученных результатов рекомендовано лекарственное растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. в качестве лекарственного средства.

Разработана рациональная технология углекислотных экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской для дальнейшей разработки лекарственных форм.

Разработаны проекты аналитических нормативных документов (АНД): «Скабиоза бледно-желтая трава», «Скабиоза исетская трава», «Скабиозы бледно-желтой экстракт углекислотный», «Скабиозы исетской экстракт углекислотный».

Разработаны проекты опытно-промышленных регламентов (ОПР): а) на производство CO<sub>2</sub>-экстракта скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях; б) на производство CO<sub>2</sub>-экстракта скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* (L.) A. Love et D. Love), полученного в докритических условиях.

Результаты научно-исследовательской работы:

а) по фармакогностическому изучению надземных органов *Scabiosa isetensis* L. и *Scabiosa ochroleuca* L. внедрены в учебный процесс кафедры ботаники по дисциплине «Фармакогнозия» для студентов специальности 5В070100 – «Биотехнология»;

б) по подбору оптимальных условий (температура, давление) экстрагирования с достижением максимального выхода экстракта внедрены в ТОО «Фито-аромат».

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликована **21** печатная работа, в том числе: **3** - в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (ККСОН МОН РК); **1** статья в международном научном издании, входящим в международную базу данных Web of Science Core Collection (Clarivate Analytics) и Scopus (импакт-фактор 0,46); **6** - в материалах международных конференций, в том числе 4 - в материалах зарубежных конференций; **11** – в других научных изданиях, в том числе: 2 - в перечне изданий, рекомендуемых ККСОН МОН РК, 3 - в изданиях, входящие в базу данных РИНЦ.

### **Апробация работы**

Результаты и основные положения научной работы представлены на:

1) VIII Международной научно-практической конференции «Исследование различных направлений науки», г. Москва, 29 января, 2016 г.

2) Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии» г. Самарканд, Узбекистан, 3-4 ноября, 2016 г.

3) Пятой Международной научно-практической интернет-конференции «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям», г. Полтава, 30-31 мая, 2016 г.

4) PhD medical science research group 1<sup>st</sup> annual meeting «PhD day – 2016», Kazakhstan, Karaganda, December 9, 2016 yr.

5) Международной научно-практической конференции «Наука и образование в современном мире», г. Караганда, 19 февраля, 2017 г.

6) V Научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине», г. Москва, 15 марта, 2017 г.

7) Республиканской студенческой научной конференции «Вклад молодежной науки в реализацию «Стратегии «Казахстан - 2050», г. Караганда, 13-14 апреля, 2017 г.

8) VII Всероссийской студенческой научно-практической конференции

«Актуальные проблемы науки в студенческих исследованиях», г. Альметьевск, 12 мая, 2017 г.

9) XIII International scientific conference «Modern science in Eastern Europe», USA, Morrisville, December 22, 2017 yr.

10) Международной научно-практической конференции «Наука и образование в современном мире», г. Караганда, 16 февраля, 2018 г.

11) Республиканской научно-практической конференции студентов, магистрантов, докторантов и молодых ученых (с международным участием) «Молодежь и глобальные проблемы современности», г. Караганда 30 марта, 2018 г.

12) XXX Международной научно-практической конференции: «Актуальные проблемы современной науки», Санкт-Петербург – Астана – Киев – Вена, 30 мая, 2018 г.

13) Аprobация диссертации на научно-экспертной комиссии «Фармация» и «Технология фармацевтического производства» (Протокол № 2 от 07 июня 2019 г.).

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 139 страницах компьютерного текста и состоит из введения; обзора литературы; 7 разделов, описывающих материалы и методы исследования; основной части, содержащей результаты и обсуждение собственных исследований, выводов и практических рекомендаций; заключения; списка использованной литературы, включающий 175 литературных источников, из которых 3 на государственном языке, 103 на русском языке и 69 на иностранных языках; приложений. Диссертация иллюстрирована 47 таблицами и 63 рисунками.

### **Выводы**

1) Исследованы сырьевые запасы растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Центрального Казахстана. Заросли скабиозы бледно-желтой отмечены на территории Корнеевских лесов и скабиозы исетской – в горах Улытау. Эксплуатационный запас скабиозы бледно-желтой составил 31,25 ц, а объем возможного сбора – 18,75 ц. Эксплуатационный запас скабиозы исетской составил 87,83 ц, объем возможного сбора сырья рассчитан на уровне 52,70 ц.

2) Разработана технология заготовки растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Растительное сырье собирали путем срезания на 7-10 см от поверхности почвы, сушили на открытом воздухе в тени при температуре окружающей среды (при температуре 23-25 °С тепла), раскладывали на стеллажи с марлей слоями 5-8 см, периодически переворачивая (не менее 2-х раз за сутки).

3) Проведена идентификация растительного сырья скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca* L.) и скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis* L.) по совокупности основополагающих факторов: внешних и микроскопических характеристик, качественного и количественного содержания α-сантонина.

Установлены макроскопические особенности:

а) *Scabiosa ochroleuca* L.: растение 80-100 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, от середины - обильно разветвляющийся, поверхность голая, только в самой нижней части и под головой - кудрявая и пушистая, цвет стебля – зеленый;

б) *Scabiosa isetensis* L.: растение 35-40 см высотой; стебель прямостоячий, на поперечном разрезе округлый, не ветвящийся, поверхность небольшая - грубая, непонятная и кудрявая и волосатая, в верхней части с более плотным опушением с примесью редких и длинных волос.

Определены микроскопические особенности растения *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Установлены следующие диагностические признаки:

а) *Scabiosa ochroleuca* L.: сильно-извилистостенные клетки эпидермиса, устьица диацитного типа, с нижней стороны листа отмечены немногочисленные бичевидные трихомы;

б) *Scabiosa isetensis* L.: клетки верхнего эпидермиса мелкие, прозенхимного типа, нижнего – изодиаметрические с извилистыми стенками, устьица диацитного типа, трихомы отсутствуют, на поперечном срезе листа отмечены вытянутые вместилища схизогенного типа.

При изучении минерального состава исследуемых растений получены количественные данные о 59 элементах.

4) Установлены параметры и нормы качества растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

По результатам проведенных исследований по определению параметров качества растительного сырья, полученные данные включены в проекты аналитического нормативного документа (АНД) на лекарственное растительное сырье «Скабиоза бледно-желтая трава» и «Скабиоза исетская трава». Определен срок хранения РС скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской – 18 месяцев (время наблюдения).

5) Установлены параметры получения углекислотных экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой, скабиозы исетской: рабочее давление – 69-72 атмосфер, температура – 18-21 °С, время экстракции 18 часов. Выход составил для *Scabiosa isetensis* L. – 0,57%, *Scabiosa ochroleuca* L. – 0,46%.

б) Определен компонентный состав углекислотных экстрактов из трав скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской. Основные компоненты  $\alpha$ -сантонин, 1.8-цинеол, монотерпеновые кетоны в виде стереоизомеров  $\alpha$ - и  $\beta$ -туйона, *n*-гексадекановая кислота, кампестерол, стигмастерол, гексадекановой кислоты этиловый эфир, линоленовой кислоты этиловый эфир, также идентифицированы терпены и их производные: ароматический монотерпен о-Цимен, моноциклический монотерпен 4-терпиненил ацетат,  $\alpha$ -терпенилацетат, монотерпеновый циклический спирт, цис-сабиненгидрат; терпинен-4-ол; кроме того обнаружены антиоксиданты  $\alpha$ -токоферол и сквален, насыщенная, полиненасыщенные и незаменимые жирные кислоты; компонент хлорофиллов зеленых и красных водорослей, дитерпеновый спирт, фитол.

Результаты определения тяжелых металлов показали, что в изучаемом растительном сырье содержание тяжелых металлов не превышает пределы допустимых значений.

В цепи растительное сырье - углекислотный экстракт из травы скабиозы исетской, переход кадмия составил  $\leq 2,2\%$ ; свинца -  $0,03\%$ .

В цепи растительное сырье – углекислотный экстракт – экстракты из отхода углекислотной экстракции травы скабиозы бледно-желтой, переход кадмия в углекислотный экстракт составил  $3\%$ ; в спиртовой экстракт из отхода углекислотной экстракции -  $12\%$ ; в водный экстракт из отхода углекислотной экстракции –  $100\%$ ; переход свинца в углекислотный экстракт составил  $0,42\%$ , в спиртовой экстракт из отхода углекислотной экстракции -  $0,28\%$ ; в водный экстракт из отхода углекислотной экстракции –  $2,2\%$ .

Результатами исследований по изучению стабильности углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой к воздействию повышенных температур установлен температурный интервал от начала деструкции до полного выгорания образцов, соответствующий  $52-369\text{ }^{\circ}\text{C}$ , что определяет возможность хранения углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой в нормальных условиях и возможности применения высоких температур при изготовлении лекарственных форм.

7) Разработана технология производства углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Предложены технологическая и аппаратная схемы производства. На основании полученных результатов разработаны проекты опытно-промышленных регламентов (ОПР) на производство углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

8) Установлены показатели и нормы качества углекислотных экстрактов на основании ИК-, УФ-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии, ТСХ, ВЭЖХ, минерального анализа золы, качественных реакций. Описаны физико-химические и спектральные показатели  $\alpha$ -сantonина, определенного в этих экстрактах, которые будут использованы для идентификации и количественного определения  $\alpha$ -сantonина в лекарственных средствах углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Разработаны проекты АНД на лекарственные средства: «Скабиозы бледно-желтой экстракт углекислотный» и «Скабиозы исетской экстракт углекислотный». Определен срок хранения углекислотных экстрактов скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской – 18 месяцев (время наблюдения).

9) На основании проведенных экспериментов по исследованию биологической активности *in vitro* углекислотный экстракт травы скабиозы исетской в концентрациях 10 и 5 мг/мл проявляет цитотоксичность, смертность личинок составляет 78-88%, а в концентрации 1 мг/мл не токсичен. Углекислотный экстракт травы *Scabiosa ochroleuca* L. имеет высокую антимикробную активность по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus* (0586), и умеренную антимикробную активность по

отношению к штаммам *Escherichia coli* (0524), *Bacillus subtilis* (6633), *Candida albicans* (0475), *Candida albicans* (НИЦ 1). Экстракты из отхода углекислотной экстракции трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L. в отношении штаммов *Staphylococcus aureus* (0586), *Escherichia coli* (0524), *Bacillus subtilis* (6633), *Candida albicans* (0475), *Candida albicans* (НИЦ 1) проявили слабо выраженную активность эквивалентную активности спирта этилового 96% P.

В исследованиях биологической активности методом инверсионной вольтамперометрии, результаты расчетов кинетического критерия, отражающего количество кислорода и активных кислородных радикалов, прореагировавших с суммарным содержанием антиоксидантов в спиртовом и водном экстракте из отхода углекислотной экстракции травы *Scabiosa ochroleuca* L., также доказывает наличие антиоксидантной активности. Все результаты по исследованию биологической активности углекислотных экстрактов дают основания предположить, что активность экстрактов не связана с каким-либо индивидуальным веществом, она обусловлена синергетическим эффектом, где можно провести связь «состав – биологическая активность».

**Оценка полноты решения поставленных задач.** Поставленные задачи по определению сырьевых запасов растений *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области и фармакогностическому изучению растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской; разработке технологии получения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L.; исследованию физических и физико-химических показателей, регламентирующих идентификацию и качество лекарственного растительного сырья, углекислотных экстрактов, отходов производства углекислотного экстракта; по исследованию биологической активности углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L., и отхода производства углекислотного экстракта; по разработке технологии производства углекислотного экстракта из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.; по исследованию показателей и нормы качества углекислотного экстракта и растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.; по разработке проекта нормативного документа на виды лекарственного растительного сырья и лекарственные средства скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской, выполнены полностью.

**Рекомендации и исходные данные по конкретному использованию результатов.** Разработана технология производства углекислотного экстракта из трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Полученный углекислотный экстракт может быть использован как субстанция, так и готовое лекарственное средство; отходы углекислотной экстракции трав *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. могут быть предложены в качестве наполнителей, добавок в производстве функционального питания и лекарственных средств. Установленный температурный интервал от начала деструкции до полного выгорания образцов соответствует 52-369 °С и



определяет возможность хранения углекислотных экстрактов из трав скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой в нормальных условиях. Эти результаты могут быть рекомендованы при определении качества хранения изучаемых углекислотных экстрактов в процессе хранения и возможности применения высоких температур при изготовлении лекарственных форм. Результаты данной диссертационной работы могут быть использованы в фармации и технологии лекарств.

**Оценка технико-экономической эффективности внедрения.** Полученные результаты имеют высокую технико-экономическую эффективность, поскольку, разработана технология получения углекислотных экстрактов из трав *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L, характеризующаяся безопасностью и качеством полученных продуктов. Внедрение в производство лекарственных средств из травы скабиозы бледно-желтой, обладающего антимикробным действием и скабиозы исетской, обладающего цитотоксическим действием расширит номенклатуру лекарственных средств на основе отечественного сырья растительного происхождения.

**Оценка научного уровня выполненной работы в сравнении с лучшими достижениями в данной области.** На основании полученных результатов действуют 2 охранных документа, опубликованы 3 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, 1 статья в зарубежном научном издании, входящем в международную базу данных Web of Science Core Collection (Clarivate Analytics) и Scopus, 6 статей в материалах международных конференций, в том числе 3 в материалах зарубежных конференций, 1 в материалах дальнего зарубежья.

В целом, научно-методический уровень представленной диссертационной работы соответствует современным аналогам, опубликованным в открытой научной печати.