

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на тему

«Фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья Оносма Гмелина (*Onosma gmelinii*) и фармацевтическая разработка лекарственного средства на его основе»

на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности

6D074800 – «Технология фармацевтического производства»

Шилова Сергея Владимировича

Актуальность темы исследования

Согласно постановлению правительства РК от 24 ноября 2022 года № 945 «Об утверждении Концепции развития здравоохранения Республики Казахстан до 2026 года», доля медикаментов отечественного производства на фармацевтическом рынке Казахстана составила 23,4 % в 2021 году, и представлена в основном препаратами-генериками, тогда как обеспечение национальной лекарственной безопасности страны должно быть не ниже 30 %. Вопрос нехватки лекарственных препаратов отечественного производства и необходимости развития собственной фармацевтической промышленности особенно стал актуален в условиях недавней пандемии коронавирусной инфекции (COVID-19), когда во всех странах был наложен запрет на вывоз медикаментов. Ключевую роль в импортозамещении лекарственных препаратов на отечественном рынке играют фармацевтические предприятия, базирующиеся на разработке новых лекарственных средств из отечественного сырья.

Республика Казахстан обладает богатыми природными ресурсами, включая растительное многообразие, которое представляет собой ценный источник биологически активных соединений. Использование растительного сырья для разработки новых лекарственных препаратов является одним из ключевых направлений в развитии фармацевтической промышленности Республики Казахстан.

Природные соединения и лекарственные препараты из них обладают рядом неоспоримых преимуществ перед синтетическими аналогами, так как они менее токсичны и более эффективны при лечении различных заболеваний, а также обладают более широким спектром биологического действия на организм человека.

Растения рода Оносма – это род многолетних травянистых растений, полукустарников и полукустарничков из семейства Бурачниковые (лат. *Boraginaceae*). Почти все виды трав рода Оносма имеют одинаково широкое применение в качестве лекарственных растений для лечения тех или иных заболеваний. Полезные свойства данных растений обусловлены наличием в их составе компонентов с фармакологическими эффектами, таких как нафтохиноны, флавоноиды, алканоиды, сапонины, высшие жирные кислоты. Оносма активно применяется в официальной и традиционной медицине, оказывая седативное, гипотензивное и мочегонное действие, а также обладая антисептическим, противовоспалительным и противомикробным свойствами. Особый интерес в этом отношении представляет дикорастущее растение *Onosma*

gmelinii, произрастающее на территории Казахстана, химический состав и свойства которого малоизучены. Практический научный интерес представляют корни растения, содержащие биологически активные вещества – нафтохиноны, с производными которых могут быть связаны многие фармакологические свойства данного растения, такие как антиоксидантные, противоопухолевые, противомикробные, противовирусные и противовоспалительные.

В связи с этим комплексное исследование компонентного состава и фармакологических свойств оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*), а также разработка лекарственного средства, содержащего экстракт растения, является своевременным, перспективным и актуальным направлением.

Цель диссертационного исследования: фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья *Onosma gmelinii*, получение и исследование экстракта оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*) для фармацевтической разработки лекарственного средства на его основе.

Задачи исследования:

- провести сбор и фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья *Onosma gmelinii*;
- получить и провести скрининг экстрактов из лекарственного растительного сырья *Onosma gmelinii*;
- провести стандартизацию экстракта из лекарственного растительного сырья *Onosma gmelinii*;
- провести фармацевтическую разработку мази с сухим экстрактом *Onosma gmelinii*;
- изучить безопасность и фармакологическую эффективность сухого экстракта *Onosma gmelinii* и мази с экстрактом в исследованиях *in vivo*.

Методы исследования: фармацевтико-технологические, фармакогностические, физические, физико-химические, фармакологические, статистические.

Объекты исследования: лекарственное растительное сырье – надземная и подземная части растения оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*); фармацевтическая субстанция растительного происхождения – экстракты, полученные из растительного сырья *Onosma gmelinii*; лекарственный растительный препарат – мазь с экстрактом из растительного сырья *Onosma gmelinii*.

Предмет исследования: проведение анализа ареала произрастания, определение фармакогностических особенностей растительного сырья *Onosma gmelinii* и его стандартизация; разработка технологии получения экстрактов и изучение их фитохимического состава и биологической активности; разработка технологии получения мази с экстрактом корня *Onosma gmelinii*; исследование безопасности и фармакологических свойств экстракта, полученного методом ультразвуковой экстракции, и мази с сухим экстрактом.

Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту:

- 1) результаты фармакогностического исследования лекарственного растительного сырья *Onosma gmelinii*;

2) результаты исследований по разработке технологии получения экстрактов из корня *Onosma gmelinii*;

3) результаты фармацевтической разработки мази с сухим экстрактом корня *Onosma gmelinii*;

4) результаты изучения безопасности и фармакологической эффективности сухого экстракта корня *Onosma gmelinii* и мази с сухим экстрактом.

Научная новизна:

- впервые в Казахстане проведено фармакогностическое исследование малоизученного растения вида *Onosma gmelinii*, относящегося к роду *Onosma* семейства *Boraginaceae*;

- из лекарственного растительного сырья *Onosma gmelinii* получены сухие экстракты методом перколяции и ультразвуковой экстракции, а также густой экстракт методом углекислотной экстракции в сверхкритических условиях;

- изучен химический состав, безопасность и эффективность в опытах *in vitro*. В качестве оптимального был выбран экстракт, полученный методом ультразвуковой экстракции, имеющий более широкий спектр биологически активных соединений и обладающий выраженными противомикробными и противовирусными свойствами;

- разработана оптимальная технология мази с сухим экстрактом корня оносмы Гмелина;

- проведены исследования безопасности и эффективности сухого экстракта корня *Onosma gmelinii* и мази с сухим экстрактом, а также доказаны выраженные антимикробные и ранозаживляющие свойства мази в исследованиях *in vivo*.

Научная новизна исследования подтверждена патентом на полезную модель под регистрационным номером № 5972 от 09.04.2021 г. «Способ получения сухого экстракта из растительного сырья оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*)».

Практическая значимость исследования:

- рекомендована технология сбора и заготовки лекарственного растительного сырья *Onosma gmelinii*. Идентификация подтверждена на кафедре биоразнообразия и биоресурсов факультета биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, РК. Номер справки: № 12-23/619;

- 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 O702/2019102800586977;

- разработан проект НД на лекарственное растительное сырье – корень оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*);

- разработан способ получения экстракта методом перколяции из *Onosma gmelinii* и внедрен на кафедре фармацевтической технологии НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова»;

- разработан способ получения экстракта методом ультразвуковой экстракции из *Onosma gmelinii* и внедрен в опытное производство АО «Научный центр противомикробных препаратов»;

- разработан проект НД на фармацевтическую субстанцию растительного происхождения – сухой экстракт из корня оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*), полученный методом ультразвуковой экстракции;
- разработан проект технологической инструкции на производство сухого экстракта из корня оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*), полученного методом ультразвуковой экстракции;
- впервые разработан оптимальный состав и технологическая схема получения мази с сухим экстрактом корня *Onosma gmelinii* и внедрен на кафедре фармацевтической технологии НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова»;
- впервые разработан оптимальный состав и технологическая схема получения мази с сухим экстрактом корня *Onosma gmelinii* и внедрен в опытное производство АО «Научный центр противомикробных препаратов»;
- разработан проект НД на лекарственный растительный препарат – мазь с сухим экстрактом корня оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*);
- разработан проект технологической инструкции на мазь с сухим экстрактом корня оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*);
- результаты диссертационной работы внедрены в учебный и научно-исследовательский процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет».

Личный вклад докторанта

Диссертантом самостоятельно проведен обширный обзор и анализ отечественной и зарубежной литературы, выполнены экспериментальные работы, соответствующие поставленным задачам. Это подтверждают результаты исследований, полученные в лабораторных и производственных условиях с применением современного оборудования и литературы.

Достоверность и обоснованность полученных результатов подтверждаются акцентом на решение актуальных задач фармацевтической науки и практики по разработке новых лекарственных средств отечественного производства, а также выполнением исследований в современном исследовательском центре и разработкой проектов нормативных документов.

Заключение

Осуществлен сбор и заготовка растительного сырья оносмы Гмелина (*Onosma gmelinii*) в соответствии с требованиями «Надлежащей практикой сбора лекарственных растений (GACP)». Проведен фармакогностический анализ корня и надземной части растения *Onosma gmelinii*. Для выбора оптимальной технологии экстрагирования с целью максимального извлечения БАВ определены фармацевтико-технологические параметры ЛРС. При проведении качественного и количественного анализа БАВ растительного сырья *Onosma gmelinii* обнаружено наличие флавоноидов, полисахаридов, дубильных веществ, алкалоидов, сапонинов, нафтохинонов, эфирных масел, сложных эфиров, органических и фенольных соединений и в корне, и в надземной части растения. Изучен минеральный и аминокислотный составы ЛРС. Основываясь на

полученных результатах, в первую очередь на суммарное количественное содержание биологически активных веществ и количественное содержание специфических БАВ растений рода *Onosma* – нафтохинонов (в корне – 1,579 %; в надземной части – 0,075 %), было решено в качестве ЛРС использовать корни растения *Onosma gmelinii*. Определены показатели качества и разработана спецификация качества на корень *Onosma gmelinii*. Результаты долгосрочного исследования стабильности ЛРС *Onosma gmelinii* при температуре $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ и относительной влажности $(60 \pm 5) \%$ позволили установить срок его хранения в 36 месяцев.

Разработаны технологии и представлены технологические схемы получения экстрактов из корня *Onosma gmelinii* методами перколяции, ультразвуковой и углекислотной экстракции. Изучен компонентный состав и биологическая активность полученных экстрактов. По полученным результатам для производства мази был отобран экстракт, полученный методом ультразвуковой экстракции, обладающий антивирусной, антибактериальной и антифунгальной активностями. Разработана спецификация качества сухого экстракта из корня *Onosma gmelinii*, полученного методом ультразвуковой экстракции: описание, идентификация нафтохинонов, растворимость, потеря в массе при высушивании, тяжелые металлы, микробиологическая чистота, количественное определение нафтохинонов, упаковка, маркировка, транспортировка, хранение, срок хранения, основное фармакологическое действие. Установлены сроки хранения при долгосрочных условиях испытания при температуре $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ и относительной влажности $(60 \pm 5) \%$ на трех сериях – 2 года. Проведена валидация методики количественного определения шиконина по валидационным характеристикам: линейность, специфичность, точность и воспроизводимость.

Проведена фармацевтическая разработка мази с сухим экстрактом корня *Onosma gmelinii*. Подобран оптимальный состав и технология получения мази, в состав которой входят: сухой экстракт корня *Onosma gmelinii*, полученный методом ультразвуковой экстракции (0,3 г), основа – вазелин (90,0 г), эмульгатор – Твин 80 (3,0 г), растворитель – вода очищенная (6,7 мл). Разработана спецификация качества мази с сухим экстрактом корня *O. gmelinii*. Установлены нормы содержания нафтохинонов в мази на уровне от 0,0088 % до 0,0132 % (0,0110 % с допустимым интервалом $\pm 20 \%$). При долгосрочных исследованиях стабильности мази (температура $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$, относительная влажность $(60 \pm 5) \%$) качественные и количественные показатели, рН водной вытяжки, микробиологическая чистота находились в установленных допустимых пределах. Установлены сроки хранения – 18 месяцев.

Проведены испытания безопасности и эффективности сухого экстракта *Onosma gmelinii* и мази с экстрактом в исследованиях *in vivo*. По результатам исследования острой токсичности экстракта на белых беспородных обоеполых мышях, экстракт относится к 4 классу малотоксичных субстанций. Испытания острой токсичности мази с сухим экстрактом корня *Onosma gmelinii* не выявили существенных отклонений в поведении животных, что свидетельствует о низкой токсичности исследуемого препарата. При исследовании аллергизирующего

действия экстракта корня *Onosma gmelinii* и мази с сухим экстрактом на кроликах в местах нанесения не наблюдалась аллергическая реакция. Разработанная мазь проявляет высокую противомикробную и ранозаживляющую активность в опытах *in vivo*, сокращая сроки заживления ран в 1,5 и 2 раза по сравнению с применением препаратов сравнения мази «Левомеколь» и крема «Терфалин 1 %» соответственно.

Апробация результатов диссертации

Основные результаты диссертационного исследования были опубликованы и доложены в материалах: VII научно-практической с международным участием «Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике» (Алматы, 2018 г.); IV международной научно-практической конференции «GLOBAL SCIENCE AND INNOVATIONS 2019: CENTRAL ASIA». (Астана, 2019 г.); международной научно-практической конференции студентов, молодых ученых и преподавателей «Акановские чтения: роль ПМСП в достижении всеобщего охвата услугами» (Алматы, 2019 г.); III международной научно-практической конференции, посвященной памяти профессора Р.Д. Дильбарханова «Формирование и перспективы развития научной школы фармации: преемственность поколений» (Алматы, 2020 г.).

Публикации

Результаты диссертационного исследования были опубликованы в 12 научных работах, в том числе:

- статья в международном журнале, входящим в базу данных Scopus – 1;
- статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования – 4;
- статьи и тезисы в материалах международных научно-практических конференций – 6;
- патент на полезную модель – 1.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа включает в себя 169 страниц машинного текста в компьютерном наборе, 47 таблиц, 53 рисунков, 129 отечественной и зарубежной литературы, а также приложения. Работа состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов, 4-х разделов экспериментальной части, выводов по разделам и заключения.