АННОТАЦИЯ

6D110400 – Фармация мамандығы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындаған диссертация

АДЕКЕНОВА АЙГЕРИМ СЕРИКОВНА

«Бастапқы дәрілік заттардың өндірісін бақылауға арналған гроссгемин, цинаропикрин және гармин отандық стандарттық үлгілері»

Мәселенің өзектілігі. Дәрілік заттардың «өмірлік циклы» бойы сапасын қамтамасыз етуде стандарттық үлгілер шешуші рөл атқарады – оны жобалаудан бастап, өндіріс кезінде және мемлекет нарығында дәрілік заттардың сапасын бақылаумен аяқталады. Еуропалық фармакопеяға сәйкес стандарттық үлгілер дәрілік заттардың сапасын бақылауда тиісті деңгейге жету үшін қолданылады. Заманауи деңгейде дәл осы стандарттық үлгілер дәрілік заттардың сапасын бақылауды қамтамасыз етеді: олар дәрілік заттардың түпнұсқасын анықтауға қажет (яғни жалған дәрілік заттарды табу), белсенді заттардың сандық құрамын және қажетсіз қоспаларды анықтау үшін қажет (яғни дәрілік заттардың тиімділігін және қауіпсіздігін растау үшін).

Фармацевтикалық салада стандарттық үлгілер өлшеу бірлігін қамтамасыз етеді, өз кезегінде, талдау нәтижелерін қадағалануын яғни белгіленген принципін іске асыруды қамтамасыз етеді: түрлі орындарда, түрлі уақытта жүзеге асырылған талдау нәтижелері, дәрілік заттардың сапасы туралы қорытындысы бірдей болуы тиіс. Сондықтан заманауи деңгейде стандарттық үлгілерді қолданбай дәрілік заттардың сапасын бақылау мүмкін емес.

Мысалы, Британдық фармакопеяда 500, АҚШ фармакопеясында-1300-ге жуық стандарттық үлгілері бар. Егер арнайы құрылған және жеке фармакопея ретінде шыққан, жыл сайын стандарттық үлгілер каталогы ретінде жарияланған дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының деректеріне назар аударсақ, онда 3700 ден аса дәрілік заттардың стандарттық үлгілері және олардың қоспалары барлық әлемде айналымға түседі.

Өсімдік шикізаты негізіндегі стандарттық үлгілердің бар болуын әртүрлі елдердің фармакопеяларын салыстырмалы талдау нәтижелері бойынша Еуропалық фармакопясында 75 стандарттық үлгілер, Американдық шөп негізді фармакопеясында – 36 стандарттық үлгілер, Ресейлік мемлекеттік фармакопеясында 30-дан аса өсімдік шикізаты негізіндегі стандарттық үлгілері бар екені белгілі болды.

Қазақстан Республикасының Мемлекеттік Фармакопеясында бұрын стандарттық үлгілер болмаған. Сондықтан өсімдік шикізаты негізіндегі дәрілік заттардың сапасын бағалау үшін стандарттық үлгілерді енгізу маңызды және басым мәселе болып табылады.

Жұмыс мақсаты. Өсімдік шикізаты негізіндегі отандық дәрілік

заттардың өндірісін бақылау және сапасын бағалау үшін гроссгемин, цинаропикрин және гармин фармакологиялық белсенді қосылыстар стандарттық үлгілерін жобалау.

Зерттеу мідеттері:

• Орташа хартолепис (*Chartolepis intermedia* Boiss.) және кәдімгі адыраспан (*Peganum harmala* L.) өсімдіктерінің түпнұсқасын сәйкестендіру үшін фармакогностикалық зерттеу.

• Нысаналы өнімдердің тұрақты атқарымын қажетті көлемде және тиісті сапада қамтамасыз ететін гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін алу технологиясын және жаңа әдісін жобалау.

• Алынған стандартық үлгілердің сапасын және түпнұсқасын реттеуші физика-химиялық және спектралды көрсеткіштерді зерттеу және дәлелдеу.

• Аналитикалық нормативті құжаттар және лабораториялық регламент түрінде фармакологиялық белсенді қосылыстар гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілеріне нормативті құжаттар жобаларын жобалау.

• Өсімдік негізіндегі түпнұсқалы дәрілік заттардың сапасын бағалауға және өндірістің кезеңдік бақылауына стадарттық үлгілерді енгізу.

Зерттеу нысаны: дәрілік өсімдік шикізат: орташа хартолепис шөбі (*Chartolepis intermedia* Boiss.), кәдімгі адыраспан және тамырлары (*Peganum harmala* L.); сығынды заттар қоспасы: орташа хартолепистің этилацетатты сығындысы, кәдімгі адыраспанның этанолды сығындысы, стандаттық үлгілер: гроссгемин, цинаропикрин и гармин.

Зерттеуге арналған заттар: орташа хартолепис (*Chartolepis intermedia* Boiss.) және орташа адыраспан (*Peganum harmala* L.) биоморфологиялық ерекшеліктері және диагностикалық белгілері; гроссгемин, цинаропикрин және гарминнің спектралды деректері және сипаттамасы; фармакологиялық белсенді қосылыстар гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін алу технологиясы және жаңа әдісі; гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерінің физика-химиялық көрсеткіштері; гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілеріне нормативті құжаттар.

Зерттеу әдістері: алға қойылған мақсатқа және мәселені шешу үшін заманауи физика-химиялық бөлу әдістері және талдау әдістерінің жинағы қолданылды: ортадан тепкіш бөлу хроматографиясы, препаративті және аналитикалық тиімділігі жоғары сұйықтық хроматографиясы, газ хроматографиясы, инфрақызыл және ультракүлгін спектрофотометриясы, ядролық магниттік резонанс спектроскопиясы, масс-спектрометриясы, рентгенқұрылымдық және элементтік талдау, балқу температурасын анықтау.

Жұмыстың ғылыми жаңалығы:

• Келесі негізін қалаушы жиынтығы бойынша орташа хартолепис (*Chartolepis intermedia* Boiss.) және кәдімгі адыраспан (*Peganum harmala* L.) өсімдіктерін сәйкестендіру жүргізілді: сыртқы және микроскопиялық

сипаттамалары, гроссгемин, цинаропикрин және гармин биологиялық белсенді заттарының сапалық және сандық мөлшері;

- Тиімділігі жоғары сұйықтық хроматографиясын және ортадан тепкіш бөлу хроматографиясын қолдана отырып орташа хартолепис этилацетатты сығындысынан гроссгемин және цинаропикринді бөліп алу әдісі жобаланды; ортадан тепкіш бөлу хроматографиясын қолдана отырып кәдімгі адыраспан этанолды сығындысынан гарминді бөліп алу әдісі жобаланды;
- Мақсатты сапалы өнімнің сандық шығымын қамтамасыз ететін тиімді, үнемді және экологиялық қауіпсіз гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін алу технологиясы жобаланды.
- Сәйкестендіруге пайдаланылатын гроссгемин, цинаропикрин и гармин стандарттық үлгілерінің физика-химиялық және спектралды көрсеткіштері сипатталды;
- Қазақстан Республикасының Мемлекттік Фармакопеясының стандарттық үлгілері ретінде гроссгемин, цинаропикрин және гарминды стандарттау жүргізілді және сапа спецификациясы жобаланды, Қазақстан Республикасының Мемлекеттік Фармакопеясына енгізу үшін гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілеріне құжаттама дайындалды және Республикалық мемлекеттік кәсіпорынның шаруашылық жүргізу құқығындағы дәрілік заттарды, медициналық мақсаттағы бұйымдарды және медицина техникасын сараптау ұлттық орталығына тапсырылды.

Жұмыстың тәжірибелік маңыздылығы:

- Орташа хартолепис (*Chartolepis intermedia* Boiss.) және кәдімгі адыраспан (*Peganum harmala* L.) өсімдіктерінің көрсеткіштері «Орташа хартолепис шөбі» және «Кәдімгі адыраспан тамыры» дәрілік өсімдік шикізаттарының аналитикалық нормативті құжат жобаларына белгіленген түрлерді сәйкестендіру үшін енгізілді;
- Нысаналы өнімдердің тұрақты атқарымын қажетті көлемде және тиісті сапада қамтамасыз ететін гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін алу технологиясы жобаланды, сыналды және енгізілді;
- Гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілеріне аналитикалық нормативті құжат жобалары әзірленді;
- Дәрілік өсімдік препараттары және дәрілік өсімдік шикізатында сандық мөлшерді анықтауға және сәйкестендіруге арналған гроссгемин, цинаропикрин және гармин Қазақстан Республикасының Мемлекеттік Фармакопеясына ұлттық стандарттық үлгілер ретінде енді (ҚР МФ, Т. III., 2014);
- Гроссгемин, цинаропикрин (ЗР 40761819-07-14) және гармин (ЗР 40761819-08-14) стандарттық үлгілерін алуға зертханалық регламенттер әзірленді және бекітілді;
- АҚ «ХҒӨХ «Фитохимия» фитопрепараттар технологиясы зертханасының негізінде гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін шығару ұйымдастырылды;
- Шикізат – субстанция – дәрілік түр қатарында «Хартинол» вирусқа

қарсы, «Саусалин» паразитке қарсы және «Гармина гидрохлорид» нейротропты өсімдік негізіндегі дәрілік заттардың өндірісін кезеңдік бақылау және сапасын бақылау үшін АҚ «ХҒӨХ «Фитохимия» бақылау-аналитикалық жұмыстары және физикалық зерттеу әдістері зертханасына гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілері енгізілді;

Негіздігі және нақтылығы. Анық және сенімді нәтиже алуға мүмкіндік беретін тексерістен өткен құрылғыларды қолдана отырып зерттеулер жүргізілген.

Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар:

- Орташа хартолепис (*Chartolepis intermedia* Boiss.) және кәдімгі адыраспан (P*eganum harmala* L.) шикізаттарының биоморфологиялық ерекшеліктері және диагностикалық белгілері;
- Мақсатты сапалы өнімнің сандық шығымын қамтамасыз ететін ететін фармакологиялық белсенді қосылыстар гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін алу жаңа технологиясы және жаңа әдісі;
- Алынған гроссгемин, цинаропикрин и гармин стандартық үлгілерінің сапасын және түпнұсқасын реттеуші физика-химиялық және спектралды көрсеткіштері;
- Гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін алуға арналған зертханалық регламент және аналитикалық нормативті құжаттар;
- Шикізат – субстанция – дәрілік түр қатарында алынған стандарттық үлгілерді өсімдік негізіндгі отандық дәрілік заттардың сапасын бақылау және өндірістің кезеңдік бақылауына енгізу;

Жұмыс аппробациясы. Диссертациялық жұмыс материалдары келесі басылымдарда баяндалды: «Жаңа фармацевтикалық өнімнің жобасы, зерттелуі және маркетингі» фармация және фармакология бойынша 68-ші өңірлік конференциясында (Волгоград, 22-25 қаңтар 2013 ж.); «Жаңа фармацевтикалық өнімнің жобасы, зерттелуі және маркетингі» фармация және фармакология бойынша 69-ші өңірлік конференциясында (Пятигорск, 28-31 қаңтар 2014 ж.); «Өсімдік заттарының химиясы және фармакологиясы»бүкілресейлік ғылыми конференциясында (Сыктывкар, 4-6 маусым 2014 ж.); International research and practice conference «Achievements and prospects for the development of phytochemistry» (Қарағанды, 10-11 сәуір 2015 ж.).

Мақалалар. Диссертациялық жұмыс материалдары бойынша ҚР патентіне 1 өтініш берілді, диссертацияның негізгі тұжырымдары төмендегі басылымдарда жарияланды:

- Қазақстан Республикасының білім және ғылым Министрлігі саласында бақылау Комитетімен ұсынылған журналда 3 мақала;
- Thomson Reuters базасына кіретін шетелдік ғылыми басылымда 1 мақала;
- Scopus базасына кіретін халықаралық ғылыми басылымда 1 мақала;
- халықаралық конференцияларда 5 баяндама тезистары.

ҚОРЫТЫНДЫЛАР:

1. Келесі негізін қалаушы жиынтығы бойынша орташа хартолепис (*Chartolepis intermedia* Boiss.) және кәдімгі адыраспан (*Peganum harmala* L.) өсімдіктерін сәйкестендіру жүргізілді: сыртқы және микроскопиялық сипаттамалары, гроссгемин, цинаропикрин және гармин биологиялық белсенді заттарының сапалық және сандық мөлшері. Алынған деректер «Орташа хартолепис шөбі» және «Кәдімгі адыраспан тамыры» дәрілік өсімдік шикізаттарының аналитикалық нормативті құжат жобасына енді.

2. Тиімділігі жоғары сұйықтық хроматографиясын және ортадан тепкіш бөлу хроматографиясын қолдана отырып орташа хартолепис этилацетатты сығындысынан гроссгемин және цинаропикрин сесквитерпенді лактондарын бөліп алу жаңа әдісі және тазалау әдісі жобаланды; ортадан тепкіш бөлу хроматографиясын қолдана отырып кәдімгі адыраспан этанолды сығындысынан гарминді бөліп алу жаңа әдісі жобаланды;

3. Нысаналы өнімдердің тұрақты атқарымын қажетті көлемде және тиісті сапада қамтамасыз ететін гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін алу технологиясы жобаланды.

4. Стандарттық үлгілердің құрылысы және түпнұсқалылығы ИК-, УФ-, масс-спектрометриялар, ЯМР-спектроскопия, рентгенқұрылымды элементті анализ негізінде анықталды. Стандарттық үлгілерді сәйкестендіруге қолданылатын көрсеткіштер сипатталды.

5. Гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілеріне аналитикалық нормативті құжат жобаланды. Дәрілік өсімдік препараттары және дәрілік өсімдік шикізатында сандық мөлшерін анықтауға және сәйкестендіруге арналған гроссгемин, цинаропикрин және гармин Қазақстан Республикасының Мемлекеттік Фармакопеясына ұлттық стандарттық үлгілер ретінде енді.

6. Гроссгемин, цинаропикрин гармин стандарттық үлгілерін алуға зертханалық регламенттер әзірленді және бекітілді. АҚ «ХҒӨХ «Фитохимия» фитопрепараттар технологиясы зертханасының негізінде гроссгемин, цинаропикрин және гармин стандарттық үлгілерін шығару ұйымдастырылды. Шикізат – субстанция – дәрілік түр қатарында «Хартинол» вирусқа қарсы, «Саусалин» паразитке қарсы және «Гармина гидрохлорид» нейротропты өсімдік негізіндегі дәрілік заттардың өндірісін кезеңдік бақылау және сапасын бақылау үшін АҚ «ХҒӨХ «Фитохимия» бақылау-аналитикалық жұмыстары және физикалық зерттеу әдістері зертханасына гроссгемин, цинаропикрин және гармин ҚР МФ стандарттық үлгілері енгізілді;

АННОТАЦИЯ

диссертационной (PhD) работы

АДЕКЕНОВОЙ АЙГЕРИМ СЕРИКОВНЫ

на тему: «Отечественные стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина для контроля качества производства оригинальных лекарственных средств», представленной на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110400 – Фармация

Актуальность проблемы. Стандартные образцы (СО) играют ключевую роль в обеспечении качества на протяжении всего «жизненного цикла» лекарственного средства (ЛС) - начиная от его разработки, в процессе производства и заканчивая контролем качества ЛС на рынке страны. Согласно Европейской фармакопее стандартные образцы используют для достижения надлежащего уровня контроля качества лекарственных средств. Именно стандартные образцы обеспечивают контроль качества на современном уровне: они необходимы для определения подлинности ЛС (т.е. для выявления фальсификата), определения количественного содержания действующего вещества и содержания нежелательных примесей (т.е. для подтверждения эффективности и безопасности ЛС).

Стандартные образцы в фармацевтическом секторе обеспечивают единство измерений, что, в свою очередь, обеспечивает так называемую прослеживаемость результатов анализа, то есть реализацию принципа: результаты анализа, выполненные в различное время в различных местах, должны давать одно и то же заключение о качестве ЛС. Поэтому контроль качества ЛС без использования СО на современном уровне невозможен.

Например, в Британской фармакопее насчитывается около 500 стандартных образцов, в Фармакопее США - около 1300. Если принять во внимание данные Всемирной организации здравоохранения, которые ежегодно публикуются в виде каталога стандартных образцов, выпускаемых как отдельными фармакопеями, так и специально созданными, то всего в мире циркулирует свыше 3700 стандартных образцов лекарственных веществ и их примесей.

По результатам сравнительного анализа наличия стандартных образцов растительного происхождения в Фармакопеях разных стран выявлено, что в «European Pharmacopoeia» (Европейская фармакопея) имеется 75 стандартных образцов; «The United States Pharmacopoeia» (Американская травяная фармакопея) - 36 стандартных образцов; Российской Государственной фармакопее - более 30 стандартных образцов растительного происхождения.

В Казахстанскую Государственную фармакопею стандартные образцы ранее не были включены. Поэтому разработка стандартных образцов для

контроля качества отечественных лекарственных средств растительного происхождения является важной и приоритетной задачей.

Цель работы. Разработка стандартных образцов биологически активных соединений гроссгемина, цинаропикрина и гармина, для контроля производства и оценки качества отечественных лекарственных средств растительного происхождения.

Задачи исследования:

- Провести фармакогностическое изучение хартолеписа среднего (*Chartolepis intermedia* Boiss.) и гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L.) для идентификации данных видов.
- Разработать новый способ и технологии получения стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина, обеспечивающие стабильную наработку целевых продуктов в необходимом количестве и соответствующего качества.
- Исследовать и обосновать физико-химические показатели и спектральные данные, регламентирующие идентификацию и качество полученных стандартных образцов.
- Разработать проекты нормативных документов на стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина, в виде проектов АНД и лабораторных регламентов на получение.
- Внедрить, полученные стандартные образцы, в постадийный контроль производства и оценку качества оригинальных лекарственных средств растительного происхождения.

Объекты исследования: лекарственное сырье: хартолепис средний трава (*Chartolepis intermedia* Boiss.), гармала обыкновенная корни (*Peganum harmala* L.); суммы экстрактивных веществ: густой этилацетатный экстракт хартолеписа среднего, густой спиртовый экстракт гармалы обыкновенной; стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина.

Предмет исследования: биоморфологические особенности, диагностические признаки и товароведческие показатели травы хартолеписа среднего (*Chartolepis intermedia* Boiss.), корней гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L.), описание и спектральные данные гроссгемина, цинаропикрина и гармина; способ и технология получения стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина; физико-химические показатели и спектральные данные стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина; нормативная документация на стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина.

Методы исследования: для достижения поставленной цели и решения задач использован комплекс современных физико-химических методов разделения и анализа: центробежная хроматография разделения (ЦХР), препаративная и аналитическая высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография (ГХ), инфракрасная (ИК) и ультрафиолетовая (УФ) спектрофотометрия, спектроскопия ядерного

магнитного резонанса (ЯМР), масс-спектрометрия, рентгеноструктурный и элементный анализ, температура плавления.

Научная новизна работы:

- проведена идентификация лекарственного растительного сырья хартолеписа среднего (*Chartolepis intermedia* Boiss.) и гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L.) по совокупности основополагающих факторов: внешних и микроскопических характеристик, качественного и количественного содержания биологически активных веществ гроссгемина, цинаропикрина, гармина, результатам товароведческого анализа;
- разработан новый способ выделения и очистки сесквитерпеновых лактонов гроссгемина и цинаропикрина из этилацетатного экстракта хартолеписа среднего с применением центробежной хроматографии распределения и высокоэффективной жидкостной хроматографии; разработан новый способ выделения и очистки алкалоида гармина из спиртового экстракта гармалы обыкновенной с применением центробежной хроматографии распределения;
- разработаны эффективные, экономичные и экологически безопасные технологии получения стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина, обеспечивающие количественный выход качественных целевых продуктов;
- описаны физико-химические и спектральные показатели полученных стандартных образцов, которые будут использованы для идентификации и количественного определения гроссгемина, цинаропикрина и гармина в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах;
- разработаны спецификации качества и проведена стандартизация гроссгемина, цинаропикрина и гармина в качестве стандартных образцов; для включения в Государственную фармакопею Казахстана подготовлены досье на стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина и представлены в РГП на ПХФ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники».

Практическая значимость работы:

- показатели фармакогностического исследования и результаты товароведческого анализа хартолеписа среднего (*Chartolepis intermedia* Boiss.) и гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L.) включены в проекты АНД на лекарственное растительное сырье «Хартолепис средний трава» и «Гармала обыкновенная корни» для идентификации данных видов;
- разработаны, апробированы и внедрены технологии получения стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина, которые обеспечивают стабильную наработку целевых продуктов в необходимом количестве и соответствующего качества;
- разработаны проекты АНД на стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина;

• гроссгемин, цинаропикрин и гармин включены в качестве национальных стандартных образцов в Государственную фармакопею Республики Казахстан, которые предназначены для идентификации и количественного определения в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах (ГФ РК, Т. III., 2014);

• разработаны и утверждены лабораторные регламенты на получение стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина (ЛР 40761819-07-14) и гармина (ЛР 40761819-08-14);

• на базе лаборатории технологии фитопрепаратов АО «МНПХ «Фитохимия» организован выпуск стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина;

• стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина внедрены в лаборатории контрольно-аналитических работ и физических методов исследования АО «МНПХ «Фитохимия» для постадийного контроля производства и оценки качества лекарственных растительных средств: «Хартинол» противовирусного действия, «Саусалин» противопаразитарного действия и «Гармина гидрохлорид» нейротропного действия, в ряду сырье - субстанция - лекарственная форма.

Основные положения, выносимые на защиту:

• биоморфологические особенности, диагностические признаки и результаты товароведческого анализа воздушно-сухого сырья хартолеписа среднего (*Chartolepis intermedia* Boiss.) и гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L.);

• новый способ и технология получения стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина, обеспечивающие количественный выход качественных целевых продуктов;

• физико-химические показатели и спектральные данные, регламентирующие идентификацию и качество полученных стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина;

• нормативные документы на стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина, в виде проектов АНД и лабораторных регламентов на получение;

• внедрение, полученных стандартных образцов, в постадийный контроль производства и оценку качества отечественных лекарственных средств растительного происхождения в ряду сырье - субстанция - лекарственная форма.

Публикации. По материалам диссертации подана 1 заявка на патент РК, основные положения диссертации отражены в следдующих публикациях:

- 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 базы данных Thomson Reuters, Scopus;

- 1 статья в международном научном издании, входящем в базу данных Scopus;

- тезисы 5 докладов на международных конференциях.

ВЫВОДЫ:

1 Проведена идентификация лекарственного растительного сырья хартолеписа среднего (*Chartolepis intermedia* Boiss.) и гармалы обыкновенной (*Peganum harmala* L.) по совокупности основополагающих факторов: внешних и микроскопических характеристик, качественного и количественного содержания биологически активных веществ гроссгемина, цинаропикрина, гармина, результатам товароведческого анализа, полученные данные включены в проекты АНД на лекарственное растительное сырье «Хартолепис средний трава» и «Гармала обыкновенная корни».

2 Разработан новый способ выделения и очистки сесквитерпеновых лактонов гроссгемина и цинаропикрина из этилацетатного экстракта хартолеписа среднего с применением центробежной хроматографии распределения и высокоэффективной жидкостной хроматографии; разработан новый способ выделения и очистки алкалоида гармина из спиртового экстракта гармалы обыкновенной с применением центробежной хроматографии распределения.

3 Разработаны технологии получения стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина, обеспечивающие стабильную наработку целевых продуктов в необходимом количестве и соответствующего качества.

4 Строение стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина однозначно установлены на основании ИК-, УФ-, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии, рентгеноструктурного и элементного анализа. Описаны физико-химические и спектральные показатели стандартных образцов, которые будут использованы для идентификации и количественного определения гроссгемина, цинаропикрина и гармина в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах;

5 Разработаны проекты АНД на стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина. Гроссгемин, цинаропикрин и гармин включены в Государственную фармакопею Республики Казахстан в качестве национальных стандартных образцов ГФ РК, которые предназначены для идентификации и количественного определения в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах.

6 Разработаны и утверждены лабораторные регламенты на получение стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина. На базе лаборатории технологии фитопрепаратов АО «МНПХ «Фитохимия» организован выпуск стандартных образцов гроссгемина, цинаропикрина и гармина. Стандартные образцы гроссгемина, цинаропикрина и гармина внедрены в лаборатории контрольно-аналитических работ и физических методов исследования АО «МНПХ «Фитохимия» для контроля производства

и оценки качества лекарственных средств растительного происхождения: «Хартинол» противовирусного действия, «Саусалин» противопаразитарного действия и «Гармина гидрохлорид» нейротропного действия, в ряду сырье - субстанция - лекарственная форма.

ABSTRACT

of dissertation (PhD) work of

ADEKENOVA AIGERIM SERIKOVNA

on topic "Domestic Reference Standards of Grosheimin, Cynaropicrin and Harmine for Quality Control of Original Medicines Production" submitted for the degree of Doctor of Philosophy (PhD) on specialty 6D110400 – Pharmacy

Issue urgency. Reference standards (RS) play a key role in ensuring the quality throughout the entire life-cycle of medicinal preparation (MP), from its development, in the production process and ending with quality control of medicinal preparations on the country market. According to the European Pharmacopoeia, reference standards are used to achieve the proper level of quality control of medicines. These are exactly the reference standards that ensure quality control on the modern level: they are necessary for determining the authenticity of MP (i.e. for detecting falsification), determining the quantitative content of the active substance and the content of undesirable impurities (i.e. for confirming the efficacy and safety of MP).

Reference standards in the pharmaceutical sector ensure the unity of measurements, which in its turn provides so-called traceability of the analysis results, i.e. the implementation of the principle: the results of the analysis performed at different times and different places should give the same conclusion on the quality of MP. Therefore, quality control of MP without using RS is impossible on the modern level.

For example, in the British Pharmacopoeia there are nearly 500 reference standards, in the Pharmacopoeia of the United States nearly 1300. If take into account the data of the World Health Organization published annually in the form of the catalogue of reference standards, produced by both separate pharmacopoeias and specially developed, then altogether in the world circulate over 3700 reference standards of medicinal substances and their impurities.

Based on the comparative analysis of the presence of reference standards of plant origin in the Pharmacopoeias of different countries it was revealed that nearly 2500 reference standards are in the European Pharmacopoeia, 36 reference standards in the United States Pharmacopeia (American Herbal Pharmacopoeia), more than 30 reference standards of plant origin in The State Pharmacopoeia of Russian Federation.

The reference standards were not previously included in the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan. Therefore, development of reference standards for quality control of domestic medicinal preparations of plant origin is an important and priority task.

Research purpose: development of reference standards of biological active substances of grosheimin, cynaropicrin and harmine for control of production and

quality evaluation of domestic medicinal preparations of plant origin.

Research tasks:

- To conduct pharmacognostic study of *Chartolepis intermedia* Boiss. and *Peganum harmala* L. for identification of these species.
- To develop new method and technologies of obtaining reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine providing consistent recovery of target products in sufficient quantity and conform to the quality.
- To examine and prove physico-chemical and spectral indicators regulating the authenticity and quality of obtained reference standards.
- To develop projects of analytical normative documents for reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine in the form of the projects of analytical normative documents and laboratory regulations on obtainment.
- To introduce the obtained reference standards into stagewise control of production and quality evaluation of original medicinal preparations of plant origin.

Research objects: raw materials: herb of *Chartolepis intermedia* Boiss., herb and roots of P*eganum harmala* L.; sum of extractive substances: spissum ethyl acetate extract of *Chartolepis intermedia* Boiss., spissum ethanol extract of P*eganum harmala* L.; reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine.

Research subject: biomorphological characteristics and diagnostic properties and merchandising indicators of herb of *Chartolepis intermedia* Boiss. and roots of P*eganum harmala* L.; description and spectral indicators of grosheimin, cynaropicrin and harmine; method and technology of obtaining reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine, physico-chemical indicators and spectral data of reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine, normative documents for reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine.

Research methods: in order to accomplish this goal and solve the tasks a complex of modern physico-chemical methods of separation and analysis was used: centrifugal partition chromatography, preparative and analytical high performance liquid chromatography, gas chromatography, UV and IR spectophotometries, nuclear magnetic resonance spectroscopy, mass spectrometry, X-ray structure analysis, elemental analyses, melting point.

Scientific novelty of research:

- Identification of medicinal plant raw material of *Chartolepis intermedia* Boiss. and P*eganum harmala* L. cumulatively of key aspect such as external and microscopic characteristic of qualitative and quantitative content of biological active substances of grosheimin, cynaropicrin and harmine and results of merchandising analysis was performed;
- New method of isolation and purification of sesquiterpene lactones grosheimin and cynaropicrin from ethyl acetate extract of *Chartolepis intermedia* Boiss. using centrifugal partition chromatography and high performance liquid chromatography as well as new method of isolation and purification of alkaloid

harmine from ethanol extract of P*eganum harmala* L. using centrifugal partition chromatography were developed;

- Efficient, economic and ecologically-safe technologies of obtaining reference standards of grosheimin, cynaropicrin, harmine providing quantitative yield of qualitative end products were developed;
- Physico-chemical and spectral indicators of reference standards that will be used for identification and quantitative determination of grosheimin, cynaropicrin in medicinal plant raw materials and medicinal preparations of plant origin were described;
- Quality specifications were developed and also grosheimin, cynaropicrin and harmine were standardized as reference standards of the SP of RK; dossiers on reference standards for introduction into the State Pharmacopeia of Kazakhstan were prepared and submitted to the Republican state enterprise on the right of economic management "National Center for Expertise of medicines, medical devices and medical equipment".

Practical implications:

- Indicators of pharmacognostic study and results of merchandising analysis of *Chartolepis intermedia* Boiss. and P*eganum harmala* L. are included in the projects of analytical normative documents on medicinal plant raw materials of "*Chartolepis intermedia* Boiss., herb" and "P*eganum harmala* L., roots"for identification of this types;
- Technologies of obtaining reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine were developed, tested and introduced that provide consistent recovery of target products in sufficient quantity and conform to the quality;
- Projects of analytical normative documents for reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine were developed;
- Grosheimin, cynaropicrin and harmine were included as national reference standards in the State Pharmacopeia of the Republic of Kazakhstan, which assigned for identification and quantitative determination in medicinal plant raw materials and plant medicinal preparations (SP of RK, Volume III, 2014);
- Laboratory regulations on obtaining reference standards of grosheimin, cynaropicrin (LR 40761819-07-14) and harmine (LR 40761819-08-14) were developed and approved;
- On the basis of Laboratory of Phytopreparations Production of JSC "International Research and Production Holding "Phytochemistry" was organized production of reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine;
- reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine were implemented at the Laboratory of Control and Analytical Work and Physical Methods of Research of JSC "International Research and Production Holding "Phytochemistry" for stagewise control of production and quality evaluation of medicinal preparations: "Hartinol" that has antiviral activity, "Sausalin" that has antiparasitic activity and "Harmine hydrochlorid" that has neurotropic activity, in series of raw materials - substance - dosage form.

Main provisions for the defense:

- Biomorphological characteristics and diagnostic properties and and results of merchandising analysis of air-dried raw material of *Chartolepis intermedia* Boiss., and P*eganum harmala* L.;
- New method and technologies of obtaining reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine providing quantitative yield of qualitative end products;
- Physico-chemical and spectral indicators regulating the authenticity and quality of obtained reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine;
- Normative documents for reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine in the form of projects of analytical normative documents and laboratory regulations on obtainment.
- Introduction of obtained reference standards into stagewise control of production and quality evaluation of domestic medicinal preparations of plant origin in series of raw materials - substance - dosage form.

Publications. Based on the materials of thesis was made one application for patent of RK, the main provisions of the dissertation are reflected in the following publications:

- 3 articles in journals recommended by the Committee for Control of Education and Science, Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan;

-1 article in international scientific journal, included in Thomson Reuters database and Scopus database;

- 1 article in international scientific journal, included in Scopus database;

- 5 theses at international conferences.

SUMMARY:

- Identification of medicinal plant raw material of *Chartolepis intermedia* Boiss. and P*eganum harmala* L. cumulatively of key aspect such as external and microscopic characteristic of qualitative and quantitative content of biological active substances of grosheimin, cynaropicrin and harmine and results of merchandising analysis was performed. Obtained data included in the projects of analytical normative documents on medicinal plant raw materials of "*Chartolepis intermedia* Boiss., herb" and "P*eganum harmala* L., roots";

2. New method of isolation and purification of sesquiterpene lactones grosheimin and cynaropicrin from ethyl acetate extract of *Chartolepis intermedia* Boiss. using centrifugal partition chromatography and high performance liquid chromatography was developed; new method of isolation and purification of alkaloid harmine from ethanol extract of P*eganum harmala* L. using centrifugal partition chromatography was developed;

3. Technologies of obtaining reference standards of grosheimin, cynaropicrin, harmine providing consistent recovery of target products in sufficient quantity and conform to the quality were developed;

4. Construction and authenticity of reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine based on IR -, UV -, mass spectrometry, NMR-

spectroscopy, X-ray structure and elemental analysis were determined. Physico-chemical and spectral indicators of reference standards that will be used for identification and quantitative determination in medicinal plant raw materials and medicinal preparations of plant origin were described.

5. Projects of normative documents on reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine were developed. Grosheimin, cynaropicrin and harmine are included into the State Pharmacopeia of the Republic of Kazakhstan as national reference standards assigned for identification and quantitative determination in medicinal plant raw materials and medicinal preparations of plant origin;

6. Laboratory regulations for obtaining reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine were developed and approved. On the basis of the Laboratory of Phytopreparations Production of JSC “International Research and Production Holding “Phytochemistry” was organized production of reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine. Reference standards of grosheimin, cynaropicrin and harmine are implemented at the Laboratory of Control and Analytical Work and Physical Methods of Research of JSC “International Research and Production Holding “Phytochemistry” for stagewise control of production and quality evaluation of domestic medicinal preparations of plant origin: “Hartinol” that has antiviral activity, “Sausalin” that has antiparasitic activity and “Garmin hydrochloride” that has neurotropic activity, in series of raw materials - substance - dosage form.