

## **АННОТАЦИЯ**

**диссертации на тему «Методологические аспекты получения экстрактов валерианы туркестанской (*Valeriana turkestanica* Sumn.), пустырника туркестанского (*Leonurus turkestanicus* V.I. Krecz&Kuprian) и разработка лекарственных форм на их основе»**

**на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности  
6D074800 - Технология фармацевтического производства  
Сермухамедовой Ольги Владимировны**

### **Актуальность темы исследования**

В настоящее время одной из актуальных задач фармацевтической отрасли является создание и внедрение импортозамещающих лекарственных средств, в том числе лекарственных препаратов растительного происхождения. Актуальность данной проблемы обусловлена тем обстоятельством, что на фармацевтическом рынке Республики Казахстан значительный удельный вес занимают зарубежные, дорогостоящие препараты. Создание и внедрение конкурентоспособных импортозамещающих лекарственных средств, с одной стороны, будет способствовать успешной реализации Стратегического плана Министерства Здравоохранения Республики Казахстан на 2017-2021 г.г., а с другой, позволит обеспечить лекарственную безопасность страны.

В целях обеспечения планомерного снижения зависимости здравоохранения республики от импорта лекарственных препаратов предусмотрено более полное использование собственных сырьевых ресурсов, создание новых фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов из растительного сырья в соответствии с международными стандартами GMP.

В рамках реализации Государственной Программы развития здравоохранения Республики Казахстан «Денсаулық» на 2016-2019 г. вопрос реализации Национальной политики лекарственного обеспечения, повышения качества и доступности лекарственной помощи населению получил статус государственного приоритета.

Внедрение в медицину отечественных препаратов, в том числе растительного происхождения, будет способствовать совершенствованию лекарственного обеспечения населения, решению актуальных проблем здравоохранения в плане профилактики и лечения различных заболеваний и, следовательно, улучшению демографической ситуации в стране.

Для обеспечения устойчивой сырьевой базы фитохимического производства и стабильного качества лекарственного растительного сырья, необходимо внедрение в культуру лекарственных растений с соблюдением требований «Надлежащей практики культивирования и сбора исходного сырья растительного происхождения» GACP.

В этом отношении особый интерес представляют пустырник туркестанский и валериана туркестанская, произрастающие на территории



Казахстана, являющиеся ценными источниками биологически активных веществ, и широко используемые в народной медицине в качестве сердечно-сосудистых, седативных средств.

Расширение номенклатуры источников растительного сырья, разработка фитосубстанций и препаратов путем внедрения производства полного цикла в рамках требований международных надлежащих практик GACP и GMP, обеспечит качество лекарственных средств, увеличит конкурентоспособность и предоставит отечественным производителям выход на внешние рынки, в том числе в рамках Евразийского экономического союза.

**Цель исследования:** экспериментально-теоретическое обоснование технологии получения экстрактов валерианы туркестанской, пустырника туркестанского и разработка на их основе лекарственных форм фармакопейного качества.

**Задачи исследования:**

- провести маркетинговый анализ фармацевтического рынка препаратов пустырника и валерианы в Республике Казахстан
- разработать методологию культивирования, сбора и хранения пустырника туркестанского и валерианы туркестанской в рамках «Надлежащей практики культивирования и сбора исходного сырья растительного происхождения» GACP
- изучить фармакогностические и фармако-технологические параметры и провести стандартизацию сырья изучаемых лекарственных растений
- разработать оптимальную технологию экстрактов и создать алгоритм методологии их получения
- разработать фармакопейные критерии качества и провести стандартизацию экстрактов пустырника туркестанского, валерианы туркестанской
- изучить острую и подострую токсичность экстрактов пустырника туркестанского, валерианы туркестанской
- провести фармацевтическую разработку и технико-экономическое обоснование производства капсул под условным названием «СЕДОКАПС».

**Объекты исследования:** Объектами исследования являются - трава пустырника туркестанского (*Leonurus turkestanicus* V.I. Krecz&Kuprian), корневища с корнями валерианы туркестанской (*Valeriana turkestanica* Sumn.), экстракты пустырника туркестанского и валерианы туркестанской, капсулы под условным названием «СЕДОКАПС».

**Методы исследования:** Стандартные физические, физико-химические, фармакогностические, фармако-технологические, фармакологические, биологические, статистические фармакопейные и нефармакопейные методы.

**Научная новизна**

Впервые:

- проведен фармакогностический анализ и стандартизация сырья травы пустырника туркестанского (*Leonurus turkestanicus* V.I. Krecz&Kuprian), корневищ с корнями валерианы туркестанской (*Valeriana turkestanica* Sumn.). Установлены макроскопические и микроскопические признаки. Результаты



фитохимического исследования сырья травы пустырника туркестанского выявили и идентифицировали 16 соединений: впервые обнаружены лавандулифолизид, вербаскозид, 3-О-кемпферол рутинозид. Результаты фитохимического анализа подземных частей валерианы туркестанской в сравнительном аспекте с валерианой лекарственной установили, что в валериане туркестанской содержание ацетоксивалереновой кислоты в три раза больше чем в валериане лекарственной.

- разработана оптимальная технология получения экстрактов пустырника туркестанского и валерианы туркестанской фармакопейного качества. Новизна подтверждена патентом на полезную модель № 1763 «Способ получения экстракта жидкого из пустырника туркестанского», зарегистрирован в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан 04.10.2016 года.

- проведена фармацевтическая разработка лекарственного средства седативного действия под условным названием «СЕДОКАПС» на основе экстрактов пустырника туркестанского, валерианы туркестанской, зизифоры Бунге. Новизна подтверждена заявкой на изобретение № 2017/0363.1 от 28.04.2017 года «Лекарственный препарат, обладающий седативным действием».

На основе концепции GxP впервые разработана методология полного цикла производства от заготовки сырья пустырника туркестанского и валерианы туркестанской до выпуска готового лекарственного средства.

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

- анализ фармацевтического рынка и обоснование производства новых ЛС седативного действия

- технология культивирования, заготовки, хранения и стандартизация сырья травы пустырника туркестанского и сырья корневищ с корнями валерианы туркестанской в соответствии требованиям ГФ РК

- методология получения экстрактов фармакопейного качества

- фармацевтическая разработка и технико-экономическое обоснование производства капсул под условным названием «СЕДОКАПС».

#### **Практическая значимость исследования**

Внедрено производство полного цикла от культивирования сырья (создана собственная возобновляемая сырьевая база) до готового продукта на фармацевтическом заводе ТОО «ФитОлеум», г. Есик, Республика Казахстан, Акт внедрения № 7 от 25.12.2017 г.:

- разработаны общие подходы и методология внедрения надлежащей практики культивирования и сбора исходного сырья растительного происхождения на отечественных фармацевтических предприятиях.

- внедрены в культуру с соблюдением надлежащих принципов культивирования и сбора исходного сырья растительного происхождения (GACP) - пустырник туркестанский (*Leonurus turkestanicus* V.I. Krecz&Kuprian) и валериана туркестанская (*Valeriana turkestanica* Sumn), Акт внедрения № 1 от 17.05.2015 г.



- проведена государственная регистрация в Республике Казахстан – «Пустырника туркестанского трава», Регистрационное удостоверение РК-ЛС-5№022301, дата государственной регистрации 29.07.2016 г., действительно до 29.07.2021 г.

- проведено расширение номенклатуры фармакопейных видов валерианы путем включения валерианы туркестанской (*Valeriana turkestanica* Sumn).

- внедрены в производство ТОО «ФитОлеум», г. Есик, Республика Казахстан - технология получения экстрактов пустырника туркестанского, Акт внедрения № 3 от 30.10.2015 г. и технология получения экстрактов валерианы туркестанской, Акт внедрения № 4 от 11.11.2015 г.

Апробированы: технология производства и методики контроля качества капсул под условным названием «СЕДОКАПС» на фармацевтическом заводе ПАО «ХФЗ «Красная звезда» (Харьков, Украина), Акт апробации № б/н от 19.04.2017 г.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертационной работы доложены и опубликованы в материалах: II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» (г. Санкт-Петербург 2014 г.); Международной научно-практической конференции «Фармацевтическое образование, наука и производство - ориентир на стратегию «Казахстан-2020» (г. Шымкент 2014 г.); III Международной научно-практической конференции «Интеграция фармацевтической науки, образования и практики на современном этапе» в рамках международной научно-практической конференции «Стратегия «Казахстан-2050»: к университету международного уровня» (г. Алматы, 2014 г.); Международной конференции «Pharmacy today and tomorrow – Theory and Practice» (г. Люблин, Польша 2015 г.); III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» (г. Санкт-Петербург, 2015 г.); Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (г. Ташкент 2015 г.); Международной научно-практической конференции «Инновационные достижения в современной фармации и медицине» (г. Шымкент, 2016 г.); X Международного симпозиума «Chromatography of natural products» (г. Люблин, Польша 2016 г.), II Международной конференции и выставки «Drug Discovery & Designing» (г. Рим, Италия 2016 г.); Международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные проблемы, пути решения и перспективы развития» (г. Одесса, Украина, 2017 г.)

### **Сведения о публикациях**

По результатам исследований опубликовано 32 научные работы, в том числе:

- статьи в международных журналах, входящих в базу данных Scopus и Web of Science Core Collection – 3,



- статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки РК – 11;
- тезисы на международных научно-практических конференциях (Польша, Италия, Россия, Казахстан) – 11;
- статьи в международных журналах (Великобритания, Россия, Украина, Узбекистан) – 5
- патент на изобретение полезной модели – 1;
- заявка на патент на изобретение – 1.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа посвящена полномасштабному изучению и стандартизации сырья пустырника туркестанского и валерианы туркестанской: надлежащей фармацевтической разработке лекарственных средств на их основе и концепции внедрения производства полного цикла в рамках требований международных стандартов GxP. Научные исследования выполнены на базах КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова; РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» Комитета науки Министерства образования и науки РК; Медицинском университете, г. Люблин, Польша; Национальном фармацевтическом университете, г. Харьков, Украина. Апробация технологии производства и методики контроля качества фармацевтических продуктов, их воспроизводство внедрены на фармацевтических предприятиях ПАТ «ХФЗ Красная звезда» г. Харьков, Украина и ТОО «ФитОлеум» г. Есик, РК.

Результаты анализа казахстанского фармацевтического рынка в сегменте лекарственных средств седативного действия на основе валерианы и пустырника показали импортозависимость. Положительная динамика объема продаж препаратов за период с 2012 г. по 2014 г. продемонстрировала рост как в денежном, так и в натуральном выражениях, подтвердила увеличение спроса потребителей на растительные препараты седативного действия, и соответственно, перспективность и экономическую целесообразность отечественного производства.

Анализ литературных данных и изучение нормативно-технической документации флоры Казахстана, показал, что фармакопейные виды пустырника сердечного *Leonurus cardiaca* L. и пустырника пятилопастного *Leonurus quinquelobatus* Gilib. не произрастают в республике и являются импортным сырьем. Виды рода *Valeriana* L. не обеспечены функционирующей отечественной сырьевой базой.

Современная оценка перспектив изучения казахстанских видов рода *Valeriana* L. из семейства Валериановые *Valerianaceae* Batsch и видов рода Пустырник (*Leonurus* L.) показала, что валериана туркестанская (*Valeriana turkestanica* Sumn) и пустырник туркестанский (*Leonurus turkestanicus* V.I. Krecz&Kuprian) представляют научный и практический интерес как возобновляемые источники растительного сырья. В связи с чем, культивирование валерианы туркестанской (*Valeriana turkestanica* Sumn.) и



пустырника туркестанского (*Leonurus turkestanicus* V.I. Krecz&Kuprian) расширит возможности производства отечественных фитопрепаратов седативного, анксиолитического и стресс-протекторного действия в рамках импортозамещения.

С целью обеспечения надлежащего качества растительного сырья впервые разработаны общие подходы и методология внедрения надлежащей практики культивирования и сбора исходного сырья на отечественных фармацевтических предприятиях. Разработана и внедрена технология культивирования и сбора пустырника туркестанского и валерианы туркестанской на ТОО «ФитОлеум». Экспериментально установлено, что пустырник туркестанский и валериана туркестанская устойчивы в культуре, размножаются вегетативно и семенами. В результате внедрения принципов GACP получен селекционный материал (семена пустырника туркестанского и валерианы туркестанской), позволяющий воспроизвести растения с заданным содержанием БАВ. Установлен оптимальный период для заготовки надземной части пустырника туркестанского: начало фазы бутонизации и цветения, май – июнь, для подземной части валерианы туркестанской: август - сентябрь.

По результатам внедрения разработанной методологии культивирования и сбора, согласованы и утверждены стандартные операционные процедуры по культивированию и сбору пустырника туркестанского и валерианы туркестанской в соответствии с требованиями GACP на производственной базе ТОО «ФитОлеум», Акт внедрения № 1 от 17.05.2015 г.

Впервые проведен полномасштабный фармакогностический анализ травы пустырника туркестанского. Установлены отличительные макроскопические и микроскопические признаки для проведения идентификации и подтверждения качества сырья. Фитохимические исследования сырья травы пустырника туркестанского выявили и идентифицировали 16 соединений: впервые обнаружены лавандулифолизид, вербаскозид, 3-О-кемпферол рутинозид. Полученные результаты использованы для стандартизации сырья травы пустырника туркестанского (*Leonurus turkestanicus* V.I. Krecz&Kuprian), семейства Яснотковых (*Lamiaceae*), разработана спецификация качества и АНД на сырье «Пустырника туркестанского трава». Впервые проведена государственная регистрация лекарственного растительного сырья «Пустырника туркестанского трава», Регистрационное удостоверение МЗСР РК № N003209 от 29.07.2016 года, утвержденное Приказом Комитета контроля медицинской и фармацевтической деятельности.

Впервые проведен комплексный фармакогностический анализ корневищ с корнями валерианы туркестанской, установлены отличительные макроскопические и микроскопические признаки для проведения идентификации и подтверждения качества сырья.

Впервые проведен фитохимический анализ подземных частей валерианы туркестанской в сравнительном аспекте с валерианой лекарственной. Установлено, что содержание биологически активных веществ (валереновой



кислоты и ее производных) в валериане туркестанской соответствует фармакопейным требованиям, а содержание ацетоксивалереновой кислоты в валериане туркестанской превышает в три раза показатели валерианы лекарственной. Разработаны критерии качества и проведена стандартизация сырья корневищ с корнями валерианы туркестанской в соответствии с требованиями ГФ РК.

Валидационная оценка методик контроля качества сырья пустырника туркестанского и валерианы туркестанской проведенная в полном объеме, подтвердила пригодность и правильность методик и достоверность полученных результатов.

Результаты сравнительного анализа культивируемых видов пустырника туркестанского и валерианы туркестанской с их дикорастущими видами в рамках проведения стабильности, показали, что за исследуемый период, качественный состав БАВ сопоставим в сравниваемых видах растений, количественное содержание БАВ культивируемого пустырника туркестанского и валерианы туркестанской не уступают дикорастущим видам и находятся в пределах регламентируемых норм. В соответствии с требованиями нормативных документов и свойств сырья пустырника туркестанского и валерианы туркестанской научно обоснована упаковка и условия хранения, которые обеспечивают сохранность биологически активных веществ: для пустырника туркестанского температура не выше 25 °С, для корневищ с корнями валерианы туркестанской не выше 18 °С, и относительной влажности не выше 50 %.

Для эффективного управления технологическим процессом экстрагирования установлены фармако-технологические параметры сырья травы пустырника туркестанского и корневищ с корнями валерианы туркестанской. Сравнительный анализ зависимости выхода экстрактивных веществ от степени измельчения сырья показал, что приемлемым является размер частиц 3-5 мм, при котором наблюдается полное смачивание сырья и оптимальный выход экстрактивных веществ.

Теоретически обоснован и разработан методологический подход технологии экстрагирования биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья. Разработанный алгоритм получения экстрактов включает, как переменные, так и постоянные факторы влияющие на физико-химические характеристики извлекаемых биологических веществ, таких как селективность экстрагента, фитохимический состав, фармако-технологические параметры сырья и методы экстрагирования. Все эти составляющие обеспечили оптимальность процесса экстрагирования и качество конечного продукта.

Проведен анализ рисков при производстве растительных лекарственных средств, установлены основные факторы: исходное растительное сырье, технологический процесс, контроль качества, помещения, оборудования, персонал. С целью минимизации рисков разработан алгоритм фармацевтической разработки растительных лекарственных средств: суммарных экстрактов и комбинированных препаратов с экстрактами.



На основании разработанной методологии с учетом установленных рисков создана технология получения экстрактов пустырника туркестанского и валерианы туркестанской. Установлены показатели качества готовых продуктов в соответствии с фармакопейными требованиями, разработаны спецификации качества и АНД.

Сравнительная характеристика полученных экстрактов пустырника туркестанского и валерианы туркестанской и оценка критериев эффективности процесса, экспериментально подтвердила метод дробной мацерации, как оптимальный для пустырника туркестанского, метод перколяции – для валерианы туркестанской. Новизна подтверждена патентом на полезную модель № 1763 «Способ получения экстракта жидкого из пустырника туркестанского», зарегистрирован в Государственном реестре полезных моделей Республики Казахстан 04.10.2016.

Результаты валидации технологического процесса получения экстрактов пустырника туркестанского и валерианы туркестанской подтвердили успешность переноса технологии в опытно-промышленные масштабы на фармацевтическом предприятии ТОО «ФитОлеум, Акт внедрения № 3 от 30.10.2015 г., Акт внедрения № 4 от 11.11.2015 г.

Результаты исследования стабильности экстрактов установили срок и условия хранения - 24 месяца при температуре не выше 15 °С и относительной влажности не выше 65 %. В рамках исследуемого периода все показатели качества соответствовали требованиям спецификации стабильности и находились в пределах регламентируемых норм.

Результаты доклинических испытаний острой и подострой токсичности установили, что экстракты валерианы туркестанской и пустырника туркестанского относятся к малотоксичным веществам (V класс токсичности), что подтверждает возможность их использования в качестве активной фармацевтической субстанции при разработке новых лекарственных форм.

На основании требований руководства Европейского Союза по качеству и подхода «Quality by design» разработан рациональный состав и оптимальная технология получения капсул под условным названием «СЕДОКАПС», новизна подтверждена заявкой на изобретение № 2017/0363.1 от 28.04.2017 года «Лекарственный препарат, обладающий седативным действием». Экспериментальные данные подтвердили целесообразность применения активных и вспомогательных веществ в составе капсул, в граммах:

*Активные вещества:*

|  |       |
|--|-------|
| Экстракт пустырника туркестанского, густой | 0,050 |
| Экстракт валерианы туркестанской, густой   | 0,030 |
| Экстракт Зизифоры Бунге густой             | 0,020 |

*Вспомогательные вещества:*

|                                |       |
|--------------------------------|-------|
| Лактоза                        | 0,136 |
| Целлюлоза микрокристаллическая | 0,058 |
| Магния стеарат                 | 0,003 |
| Каолин                         | 0,003 |



Разработаны критерии стандартизации и проведена оценка качества капсул «СЕДОКАПС» в соответствии с требованиями ГФ РК по таким показателям как: описание, идентификация, однородность массы, распадаемость, растворение, количественное содержание и микробиологическая чистота. Установлено, что разработанные капсулы соответствуют регламентируемым нормам.

В результате проведенных исследований разработаны лабораторный и опытно-промышленный регламенты, спецификация качества и АНД на препарат «СЕДОКАПС», капсулы.

Проведена апробация технологии производства и методик контроля качества капсул под условным названием «СЕДОКАПС» на фармацевтическом заводе ПАО «ХФЗ «Красная звезда» г. Харьков, Украина, Акт апробации № б/н от 19.04.2017 г.

Для подтверждения стабильности и установления срока хранения препарата «СЕДОКАПС», проведены долгосрочные испытания трех опытно-промышленных серий по основным показателям качества. В течение периода испытаний стабильности при температуре  $25 \pm 2$  °С и относительной влажности  $65 \pm 5$  % качественные и количественные характеристики находятся в пределах регламентируемых норм.

Моделирование экономической эффективности внедрения на фармацевтическом предприятии ТОО «ФитОлеум» производства полного цикла капсул под условным названием «СЕДОКАПС» показало экономическую целесообразность проекта и окупаемость в течение трех лет, при рентабельности 32%.

На основании проведенных исследований разработана методология производства полного цикла для производителей лекарственных препаратов из растительного сырья в рамках надлежащих практик GxP, которая успешно внедрена на ТОО «ФитОлеум», Акт внедрения № 7 от 25.12.2017 г.

Таким образом, в результате последовательного решения поставленных задач, впервые разработана методология производства полного цикла отечественных фитопрепаратов в рамках GxP и представлены конструктивные решения по надлежащей разработке лекарственной формы капсул «СЕДОКАПС», на основе экспериментально полученных экстрактов из лекарственного сырья – травы пустырника туркестанского и корневищ с корнями валерианы туркестанской.

Создание и внедрение безопасных конкурентоспособных импортозамещающих лекарственных средств на основе собственной возобновляемой сырьевой базы будет способствовать успешной реализации Национальной политики лекарственного обеспечения и Стратегического плана Министерства Здравоохранения Республики Казахстан на 2017-2021 г.г.