

## АННОТАЦИЯ

диссертационной (PhD) работы Кишкентаевой Анаркуль Сериковны на тему «Разработка технологий фармакологически активных субстанций на основе гроссгемина и их стандартизация» на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D074800 - Технология фармацевтического производства

### Научные консультанты:

Академик НАН РК, доктор химических наук, профессор С.М. Адекенов

АО «МНПХ «Фитохимия»;

Член-корреспондент НАН РК, доктор химических наук, профессор Г.А.Атажанова

АО «МНПХ «Фитохимия»;

DSc., профессор П. Драшар Университета Химии и Технологии, Прага

**Актуальность проблемы.** Одним из приоритетов развития фармацевтической науки и промышленности Республики Казахстан является поиск подходов для более полного использования собственных ресурсов дикорастущего и культивируемого растительного сырья и создание на его основе оригинальных фитопрепаратов, доступных по ценам, в то же время не уступающих по качеству их конкурентным аналогам.

Перспективным объектом для работ в данном направлении является хартолепис средний (*Chartolepis intermedia* Voiss.), который включен в Государственную фармакопею Республики Казахстан как лекарственное растительное сырье для получения биологически активного сесквитерпенового лактона гроссгемина, обладающего высокой противоопухолевой, противовоспалительной, бактерицидной активностью.

Хартолепис средний является возобновляемым растительным сырьем, который имеет устойчивый эксплуатационный запас, позволяющий получать биологически активный сесквитерпеновый лактон гроссгемин в промышленных масштабах.

Перспективным направлением также является химическая модификация молекулы гроссгемина, которая позволяет получать производные с более высокой биологической активностью или улучшенными физико-химическими свойствами, например, растворимость в воде. Также, данные исследования помогают понять механизм действия того или иного биологически активного вещества в рамках взаимосвязи «структура-активность».

Поэтому совершенствование технологии извлечения биологически активного гроссгемина из растительного сырья хартолеписа среднего, получение на его основе новых соединений с выраженным биологическим действием, с последующим созданием на их основе субстанций для производства оригинальных лекарственных препаратов, является важной и приоритетной задачей.

**Цель работы.** Разработка энерго- и ресурсосберегающей, экологически безопасной технологии получения гроссгемина из лекарственного сырья хартолеписа среднего, разработка технологий получения новых фармакологически активных субстанций на основе гроссгемина и их стандартизация.

### Задачи исследования:

- Исследовать сырьевые запасы на территории Центрального Казахстана и провести оценку качества лекарственного сырья хартолеписа среднего;
- Провести ультразвуковую экстракцию сырья хартолеписа среднего и определить оптимальные условия количественного извлечения гроссгемина из растительного сырья;
- Разработать энерго- и ресурсосберегающую, экологически безопасную технологию получения гроссгемина из хартолеписа среднего;
- Синтезировать новые модифицированные производные на основе гроссгемина, установить строение и исследовать их биологические свойства;
- Разработать технологии получения субстанций хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина;

- Разработать нормативную документацию на субстанции хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина в виде проектов АНД и опытно-промышленных регламентов на производство.

**Объекты исследования:** лекарственное сырье: хартолепис средний трава (*Chartolepis intermedia* Boiss.); сумма экстрактивных веществ: водно-спиртовой экстракт хартолеписа среднего, полученный с применением ультразвука, спиртовой экстракт хартолеписа среднего; субстанции: гроссгемина, хлорацетилгроссгемина, гидрохлорида цитизинилгроссгемина; стандартный образец: гроссгемина.

**Предмет исследования:** оптимальные условия ультразвуковой экстракции хартолеписа среднего для количественного извлечения гроссгемина, технология получения гроссгемина из спиртового экстракта, показатели качества субстанции гроссгемина, синтез, строение и биологическая активность хлорацетилгроссгемина и гидрохлорид цитизинилгроссгемина, технологи получения субстанции хлорацетилгроссгемина и гидрохлорид цитизинилгроссгемина, нормативная документация на субстанции хлорацетилгроссгемина и гидрохлорид цитизинилгроссгемина.

**Методы исследования:** для достижения поставленной цели и решения задач использован комплекс современных физико-химических методов экстракции и анализа: ультразвуковой экстракции, аналитическая высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография (ГХ), инфракрасная (ИК) и ультрафиолетовая (УФ) спектрофотометрия, спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), и элементный анализ, температура плавления.

**Связь работы с планом государственных научных программ.** Диссертационная работа выполнена на базе АО «МНПХ «Фитохимия» в рамках программы НТП Ф.0655 «Новые биологически активные соединения из растений и их синтетические аналоги» на 2014-2016гг.; программы НТП О.0676 «Разработка новых фармакологических соединений – субстанций оригинальных лекарственных препаратов и их стандартных образцов» на 2015-2017 гг.; программы НТП О.0820 «Разработка новых фитопрепаратов и их фармакологические и клинические исследования» на 2018-2020 гг.; грантового проекта №АР05134198 «Изучение биосинтеза терпеноидов в растениях и поиск новых фармакологически активных бимолекулярных соединений» на 2018-2020 гг..

**Научная новизна работы:**

- исследованы сырьевые запасы на территории Центрального Казахстана и проведена оценка показателей качества лекарственного растительного сырья хартолеписа среднего на соответствие нормативному документу;

- впервые проведена ультразвуковая экстракция хартолеписа среднего и определены оптимальные условия количественного извлечения гроссгемина из растительного сырья;

- разработана экономичная технология получения субстанции гроссгемина из хартолеписа среднего за счет исключения использования дорогостоящих растворителей на стадиях экстракции и выделения;

- впервые на основе гроссгемина синтезированы хлорацетилгроссгемин и гидрохлорид цитизинилгроссгемина, строение которых установлены на основании ИК-, УФ-, масс-, ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -спектров, двумерной спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  (COSY, COLOC), данных элементного анализа;

- по результатам исследования биологической активности новых производных гроссгемина установлено, что хлорацетилгроссгемин обладает высокой цитотоксичностью в отношении острой моноцитарной лейкемии, при умеренной токсичности, а гидрохлорид цитизинилгроссгемина в эксперименте *in vivo* проявляет выраженное антигельминтное действие против гельминтов из семейства *Nematodae*;

- разработаны технологии получения субстанций хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина;

- разработаны спецификации качества и проведена стандартизация субстанций хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина, изучена их стабильность.

### **Практическая значимость работы:**

- установлено, что ежегодный объем заготовки лекарственного сырья хартолеписа среднего в сообществах, произрастающих на территории Центрального Казахстана, составляет от 11,9 до 21,8 ц/га, по внешним признакам, микроскопическим характеристикам, количественному содержанию гроссгемина и результатам товароведческого анализа растительное сырье соответствует нормативному документу;

- применение разработанной технология получения субстанции гроссгемина, путем исключения использования дорогостоящих растворителей на стадиях экстракции и выделения, позволило сократить продолжительность и повысить производительность технологического процесса, и при этом, существенно снизить себестоимость целевого продукта - в 9 раз; проведена оценка качества субстанции гроссгемина, подтверждено ее соответствие нормативному документу; разработан и утвержден опытно-промышленный регламент на производство субстанции гроссгемина (ОПР-ФД 65005037P-11-15);

- хлорацетилгроссгемин предложен в качестве субстанции для разработки нового лекарственного средства противоопухолевого действия и рекомендован для расширенных доклинических испытаний;

- гидрохлорид цитизинилгроссгемина предложен в качестве субстанции для создания нового лекарственного средства антигельминтного действия;

- разработаны проекты АНД на субстанции хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина;

- разработаны и утверждены опытно-промышленные регламенты на производство субстанции хлорацетилгроссгемина (ОПР-ФД65005037P-12-17) и субстанции гидрохлорида цитизинилгроссгемина (ОПР-ФД65005037P-13-17);

- на базе ТОО «Карагандинский фармацевтический завод» организовано опытное производство субстанций хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина.

**Обоснованность и достоверность.** Экспериментальные работы выполнены с применением современного, поверенного оборудования, позволяющего получать достоверные и надежные результаты.

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

- ежегодный объем заготовки на территории Центрального Казахстана и показатели качества лекарственного сырья хартолеписа среднего;

- оптимальные условия ультразвуковой экстракции сырья хартолеписа среднего (*Chartolepis intermedia* Boiss.), обеспечивающие количественное извлечение гроссгемина;

- технология получения гроссгемина из спиртового экстракта, показатели качества субстанции гроссгемина;

- синтез, физико-химические показатели, спектральные данные и биологическая активность хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина;

- технологии получения субстанций хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина;

- нормативные документы на субстанции хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина в виде проектов АНД и опытно-промышленных регламентов;

- организация выпуска опытных партий субстанций хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина.

**Личный вклад автора** заключается в исследованиях, выполненных лично соискателем и включенных в диссертацию: в разработке технологии извлечения гроссгемина из хартолеписа среднего; в синтезе, установлении строения и исследовании биологических свойств хлорацетилгроссгемина и гидрохлорид цитизинилгроссгемина; в разработке оптимальных способов и технологий получения субстанции хлорацетилгроссгемина и гидрохлорид цитизинилгроссгемина; в разработке нормативной документации на субстанции хлорацетилгроссгемина и гидрохлорид цитизинилгроссгемина в виде проектов АНД и опытно-промышленных регламентов.

**Апробация работы.** Материалы диссертационной работы доложены на: X International symposium on the chemistry of natural compounds» (Tashkent, 21-23 ноября 2013); VI Всероссийской конференции с международным участием «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (Барнаул, 22-24 апреля 2014); 22<sup>nd</sup> Conference on Isoprenoids (Prague, 7-10 сентября 2014); 6-th Russian-Korean Conference «Current Issues of Biologically Active Compound Chemistry and Biotechnology (Novosibirsk, 5-10 июля 2015); The International Scientific and Practice Conference (Achievements and prospects for the Development of Phytochemistry) (Karaganda, 10-11 апреля 2015); 11<sup>th</sup> International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (Antalya, 1-4 октября 2015); 24<sup>th</sup> Conference on Isoprenoids (Bialystok, 9-12 сентября 2018).

**Публикации.** По материалам диссертации получен 1 патент РК, получено 1 положительное решение на выдачу патента РК. Основные положения диссертации отражены в следующих публикациях:

- 4 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан;

- 7 статей в зарубежных научных изданиях, входящих в базы данных Web of Science и Scopus;

- тезисы 7 докладов, из них тезисы 3 докладов на международных конференциях.

#### **ВЫВОДЫ:**

Определены сырьевые запасы и при этом, установлено, что ежегодный объем заготовки лекарственного сырья хартолеписа среднего в сообществах, произрастающих на территории Центрального Казахстана, составляет от 11,9 до 21,8 ц/га. По внешним признакам, микроскопическим характеристикам, количественному содержанию фармакологически активного соединения гроссгемина и результатам товароведческого анализа растительное сырье *Chartolepis intermedia* Boiss. соответствует нормативному документу.

2. Впервые проведена ультразвуковая экстракция хартолеписа среднего и определены оптимальные условия, обеспечивающие количественное извлечение гроссгемина из растительного сырья.

3. Впервые разработана энерго- и ресурсосберегающую, экологически безопасную технологию получения субстанции гроссгемина из спиртового экстракта хартолеписа среднего, применение которой, за счет исключения использования дорогостоящих растворителей на стадиях экстракции и выделения, позволило сократить продолжительность и повысить производительность технологического процесса, в результате снизить себестоимость целевого продукта в 9 раз; проведена оценка качества субстанции гроссгемина, подтверждено ее соответствие нормативному документу. Разработан и утвержден опытно-промышленный регламент на производство субстанции гроссгемина (ОПР-ФД 65005037Р-11-15).

4. Впервые на основе гроссгемина синтезированы хлорацетилгроссгемин и гидрохлорид цитизинилгроссгемина, строение которых установлены на основании ИК-, УФ-, масс-, ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-спектров, двумерной спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H (COSY, COLOC), данных элементного анализа.

По результатам изучения биологической активности образцов полученных соединений, выявлено, что хлорацетилгроссгемин обладает высокой цитотоксичностью в отношении острой моноцитарной лейкемии, при умеренной токсичности, а гидрохлорид цитизинилгроссгемина в эксперименте *in vivo* проявляет выраженное антигельминтное действие против гельминтов из семейства *Nematodae*. Хлорацетилгроссгемин предложен в качестве субстанции для разработки нового противоопухолевого средства и рекомендован для расширенных доклинических испытаний, а гидрохлорид цитизинилгроссгемина предложен в качестве субстанции для создания нового лекарственного средства антигельминтного действия.

5. Разработаны технологии получения фармакологически активных субстанций на основе гроссгемина, позволяющие производить необходимое количество хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина соответствующего качества.

6. Разработаны спецификации качества и проведена стандартизация субстанций хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина, изучена их стабильность; разработаны проекты АНД на субстанции хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина.

7. Разработаны и утверждены опытно-промышленные регламенты на производство субстанции хлорацетилгроссгемина (ОПР-ФД65005037Р-12-17) и субстанции гидрохлорида цитизинилгроссгемина (ОПР-ФД65005037Р-13-17); на базе ТОО «Карагандинский фармацевтический завод» организовано опытное производство субстанций хлорацетилгроссгемина и гидрохлорида цитизинилгроссгемина для доклинических испытаний.