

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на тему: «*Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens шикізатынан лупинин алкалоиды негізінде субстанция алу технологиясын әзірлеу», на соискание степени доктора философии (PhD) по ОП 8D07201 - «Технология фармацевтического производства»

Бекишевой Пернеш Жайдарбековны

Актуальность исследования

Стратегическим направлением политики Республики Казахстан является развитие наукоемких технологий на базе собственных производительных сил, сырьевых ресурсов, научно-технического потенциала страны, фармацевтического производства путем планомерного снижения его зависимости от импорта лекарственных средств.

В соответствии с разделом 4 «Концепции развития сектора здравоохранения Республики Казахстан до 2026 года», утвержденной Постановлением Правительства Республики Казахстан № 945 от 24 ноября 2022 года, предполагается обеспечить удовлетворение внутренних потребностей страны, снизить зависимость от мирового фармацевтического рынка и повысить биобезопасность населения за счет развития отечественного производства инновационных лекарственных средств и усиления национального санитарно-эпидемиологического контроля.

Глава государства поставил цель увеличить долю отечественного производства на фармацевтическом рынке до 50% к 2026 году. С этой целью в рамках реализации Комплексного плана развития фармацевтической промышленности на 2020-2026 годы особое государственное значение имеет вопрос налаживания производства лекарственных средств с широким спектром фармакологического действия и различными химическими составами на основе химических веществ на территории Республики Казахстан.

На данном этапе эффективная реализация национальной лекарственной политики в Республике Казахстан направлена на обеспечение населения качественными, безопасными и доступными лекарственными средствами, снижение зависимости от зарубежной фармацевтической продукции и развитие отечественного лекарственного производства. Реализация этих задач требует поиска новых лекарственных соединений, разработки отечественных лекарственных препаратов химического происхождения и их внедрения в медицинскую практику.

Высокая зависимость от зарубежной фармацевтической продукции требует развития отечественного фармацевтического производства на научной основе. В этом направлении актуальным является изучение лекарственных растений, богатых биологически активными веществами. Богатая алкалоидами *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens, произрастающая в Казахстане, считается перспективным растением с высоким химическим составом и фармакологическим потенциалом, широко распространенным и пригодным для промышленного применения.

В ходе исследований одной из важных задач является изучение биологически активных веществ, содержащихся в растении *Anabasis salsa* (С.А. Mey.) Benth. ex Volkens, включая выделение и химическую трансформацию алкалоида лупинина и определение его фармакологического действия. Наличие активной гидроксильной группы в молекуле лупинина позволяет синтезировать на её основе новые производные. В этой связи поиск функциональных противовирусных и антибактериальных конъюгатов среди модифицированных производных алкалоидов, оказывающих стимулирующее действие на дыхательные центры, является неотложной и приоритетной задачей.

В этой связи актуальным и практически важным вопросом в фармации является исследование способов получения доступных широкой публике фитопрепаратов и расширение ассортимента противовирусных и антибактериальных препаратов на основе местного, экологически чистого сырья, содержащего алкалоиды.

Цель исследования. Получение, стандартизация и разработка технологии производства новых соединений на основе алкалоидов лупинина в качестве веществ для биологически активных препаратов.

Объекты исследования: растительное сырье *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens, густой экстракт, алкалоид лупинин и его производные.

Предмет исследования: новый способ выделения алкалоида лупинина из экстракта *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens, показатели качества и биологическая активность лупинина; синтез, строение и биологическая активность производных лупинина; технология получения субстанции, нормативная документация на сырье, экстракт, субстанцию Lup-43, Lup-41.

Методы исследования: физико-химические, фармакогностические, фармацевтико-технологические, фармакологические, микробиологические, биостатистические и статистические методы.

Задачи исследования:

1. Установить основные морфологические, анатомические признаки сырья *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens и определить числовые показатели;

2. Разработать оптимальную технологию получения экстракта из надземной части *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens, изучить химический состав экстрактов и провести его оценку качества;

3. Провести выделение, очистку алкалоида лупинина из экстракта *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens) и провести синтез соединений 1,2,3-триазола на основе лупинина;

4. Определение качественных показателей веществ, установление их стабильности и срока годности, разработка нормативной документации и проведение фармакологических исследований.

Научная новизна исследования:

Впервые проведен фармакогностический анализ и оценка растительного сырья *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens, произрастающего в Центральном Казахстане, и разработаны проекты нормативной документации. В результате фитохимических исследований надземной и подземной частей (стеблей, соцветий и корней) *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens методом ESI-QTOF-MS/MS впервые идентифицировано 26 соединений.

Разработан метод получения густых экстрактов из сырья *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens методом перколяции и мацерации, и впервые определено количественное содержание алкалоида лупинина в полученных экстрактах.

Впервые разработан метод выделения алкалоида лупинина из экстракта *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens с использованием центробежной хроматографии распределения

Оптимизированы и стандартизированы методы синтеза его 1,2,3-триазол производных на основе алкалоида лупинина, разработана технология его получения. В результате изучения биологической активности синтезированных соединений (1S,9aR)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1H-1,2,3-триазол-1-ил}метил)октагидро-2H-хинолизин (Lup-43) и {1-[(1S,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1-ил]метил}-1H-1,2,3-триазол-4-ил}метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (Lup-41) было установлено, что вещество Lup-43 обладает ингибирующим действием на АХЭ, а вещество Lup-41 – антимикробной и противовирусной активностью в отношении штамма вируса гриппа H3N2. Были изучены стабильность и острая токсичность веществ, а также разработаны проекты нормативных документов.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в патентах на полезные модели Республики Казахстан № 10151 от 14.06.2024 «Способ получения экстракта растения *Anabasis salsa* с антимикробной активностью», № 10483 от 27.02.2025 «Использование этанольного экстракта растения *Anabasis salsa* в качестве

антимикробного средства» и № 10740, зарегистрированном 03.04.2025 «{1-[(1S,9aR)-октагидро-2H-хинолизин-1ил]метил]-1H-1,2,3-триазол-4-ил}метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат с противовирусной активностью».

Основные положения выносимые на защиту:

- фармакогностическое исследование сырья, фитохимическое изучение различных органов (стеблей, цветков, корней) *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens;
- технология получения густого экстракта из надземной части *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens и выделение алкалоида лупинина для дальнейших химических модификаций;
- технология получения субстанции лупинина из экстракта надземной части *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens) с применением центробежной хроматографии распределения;
- технология синтеза новых производных лупинина для производства фармацевтических субстанций. Установление структуры синтезированных соединений с использованием современных физико-химических методов;
- биологическая активность соединений. Результаты исследований по, показателям качества и срокам годности, безопасности, стабильности и технологии получения биологически активных веществ.

Практическая значимость полученных результатов:

В результате проведенных исследований были выявлены запасы сырья *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens на территории Казахстана, проведены фармакогностические исследования и внедрены в учебный процесс на факультете биологии и географии Карагандинского национального исследовательского университета имени академика Е.А. Букетова. Разработана технология и спецификация качества получения растительного сырья *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens, подготовлены проекты нормативных документов. На основе *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens методом перколяции получен густой экстракт, определен химический состав и проведена стандартизация сырья. Предложена технология выделения алкалоида лупинина из данного растительного экстракта, доказана его структура с использованием современных физико-химических методов, изучены показатели качества.

Реализация технологического процесса получения экстракта *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens методом перколяции осуществлена на базе Школы фармации Карагандинского медицинского университета и внедрена в образовательный процесс. Получены патенты на полезные модели № 10151 «Способ получения экстракта растения *Anabasis salsa*, обладающего антимикробной активностью» и № 10483 «Применение этанольного экстракта растения *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens в качестве антимикробного средства» на надземную часть *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens.

Оптимизирован синтез новых производных на основе алкалоида лупинина, представлены результаты исследований химической структуры, биологической активности и безопасности полученных соединений. Синтезированные соединения прошли испытания в лабораториях микробиологии «Карагандинского медицинского университета» и вирусологии, АО «Научный центр противоиных инфекционных препаратов». По результатам исследования острой токсичности установлено, что 1,2,3-триазол производное лупинина не обладает токсическими свойствами.

По результатам диссертационной работы по химическому синтезу биологически активных вещества на основе новых 1,2,3-триазол производных лупинина разработаны проекты НД в Школе фармации НАО «Карагандинский медицинский университет». Разработаны лабораторные регламенты на получение субстанций.

Обоснование методов получения высококачественных фармацевтических субстанций на основе 1,2,3-триазол производных лупинина (субстанции Lup-43, Lup-41) и экстракта растения *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens может послужить основой

для создания новых отечественных лекарственных средств в будущем и способствовать развитию фармацевтической промышленности нашей страны.

Личный вклад автора

Все результаты диссертационного исследования получены автором самостоятельно, что свидетельствуют о личном вкладе соискателя в науку в области фармации. Достоверность результатов, основных положений, выносимых на защиту, выводов и заключений, сформулированных в диссертационной работе обоснована значительным объемом экспериментального материала, полностью подтверждаются результатами собственных исследований, проведенных в лабораторных и производственных условиях, с использованием современно сертифицированного оборудования и точных методов измерений, а также сопоставлением с литературными данными.

Связь задач исследования с планом научных программ

Работа выполнена в рамках грантовых проектов №AP23487712 «Дизайн и синтез соединений лидеров и их супромолекулярных клатратов в создании биоактивных субстратов нового поколения путем трансформации хинолизидинового остова лупинина», № 7966-Ф-24 «Пространственное строение и стереохимия производных алкалоидов хинолизидинового ряда и сесквитерпеноидов гваянового ряда» на 2024-2026 гг.

Апробация результатов диссертации

Основные положения диссертационной работы доложены и опубликованы в международных и республиканских конференциях: Международная конференция «Фармация – движение вперед!» (Караганда 2023 г.); Международная конференция «V Международный Симпозиум «INNOVATIONS IN LIFE SCIENCES» (Белгород 2023 г.); «VII Международное книжное издание стран Содружества Независимых Государств «Лучший молодой ученый – 2023» (Астана 2023 г.); «Фармация Казахстана» (Алматы 2023 г.); «XI Международной научно практической конференции молодых ученых «Современные тенденции развития технологий здоровье сбережения» (Москва 2023 г.); «Международный научный Симпозиум «От растения до лекарственного препарата» (Москва 2025 г.).

Сведения о публикациях

По результатам исследований опубликовано 14 научных работ, в том числе:

- 1 статья в журнале, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан;
- 4 статьи в зарубежных научных изданиях, входящих в базы данных Web of Science и Scopus, Q2, Q1;
- тезисы 6 докладов, из них тезисы 5 докладов в материалах международных конференций;
- 3 патента на полезную модель Республики Казахстан.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 154 страницах машинописного текста в компьютерном наборе, содержит 37 таблиц, 47 рисунка, список литературы, включающий 148 источников, а также 20 приложений. Работа состоит из введения, обзора литературы, раздела, посвященного материалам и методам исследования, трех разделов собственных исследований, выводов и заключения.

Заключение

1. Впервые по результатам исследований, установлены морфологические и анатомические диагностические признаки сырья из ежовника солончакового (*Anabasis salsa* (С.А.Мей.) Benth. ex Volkens). В результате проведенных гистохимических тестов на поперечных срезах побегов, поверхностном препарате соцветий, поперечных срезах корня обнаружены флавоноиды и алкалоиды, а также установлена их локализация.

По результатам экспериментальной работы были определены фармакогностические и технологические показатели растительного сырья *Anabasis salsa* (С.А.Мей.) Benth. ex Volkens), произрастающего на территории Республики Казахстан в Карагандинской

области, и выбран экстрагент для экстракции. Для выбора оптимальных условий процесса экстракции были изучены технологические параметры сырья *Anabasis salsa* (С.А.Мей.) Benth. ex Volkens) и в качестве экстрагента был выбран 70%-ный этанол, поскольку он обеспечивает высокий выход экстрагируемых веществ.

2. Впервые исследован химический состав экстрактов *Anabasis salsa* (С.А.Мей.) Benth. ex Volkens) методом ВЭЖХ УФ и ВЭЖХ-МС/МС, всего идентифицировано 26 соединений (алкалоиды, флавоноиды и их гликозиды, фенольные соединения, аминокислоты). Все идентифицированные соединения ранее были обнаружены в других видах рода *Anabasis* L., однако, большинство представленных компонентов впервые описываются для растительного сырья *Anabasis salsa* (С.А.Мей.) Benth. ex Volkens). Изучено количественного содержания алкалоида лупинина в надземной и подземных частях сырья *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens). При этом, содержание лупинина в экстрактах AS-70P и AS-90P, полученных методом перколяции, преобладает и колеблется в пределах 0,1769 и 0,0098%. В подземной части содержание алкалоида лупинина в извлечениях ASK-90 и AS-KX, полученных методом мацерации, составляет от 0,006-0,0018%. Содержание лупинина в экстракте AC-90tP, полученном из подщелоченной надземной части, составляет 0,0079%.

3. Разработан новый способ выделения лупинина из экстракта *Anabasis salsa* (С. А. Мей.) Benth. ex Volkens с применением центробежной хроматографии распределения обеспечивающая стабильную наработку необходимого количества продукта соответствующего качества.

Разработаны оптимальные условия модификации структуры алкалоида лупинина по положению С-10 с получением потенциально биоактивного 1,2,3-триазольного производного. Разработанные условия позволили с хорошим выходом синтезировать соответствующие (1*S*,9*aR*)-1-({4-[4-(бензилокси)-3-метоксифенил]-1*H*-1,2,3-триазол-1-ил}метил)октагидро-2*H*-хинолизин (Lup-43) и {1-[(1*S*,9*aR*)-октагидро-2*H*-хинолизин-1-ил]метил]-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил}метил-3-трет-бутил-2-гидрокси-5-этилбензоат (Lup-41).

4. Впервые установлено, что экстракты *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens), а именно 70% этанольный экстракт надземной части с более высоким эффектом в отношении референтных штаммов *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*. Наименьшие ингибирующие и бактерицидные концентрации составили 0,625-1,25 мг/мл и 2,5 мг/мл в отношении этих бактерий соответственно. Другие грамположительные микроорганизмы также были высокочувствительны к этому экстракту, а именно к: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* и *Bacillus cereus* (МПК = 2,5-5 мг/мл и МБК = от 10 мг/мл до >20 мг/мл). Образец лупинина также проявил активность в отношении всех грамположительных бактерий (МПК = 5-10 мг/мл и МБК = от 5 мг/мл до 20 мг/мл). Среди исследованных экстрактов *Anabasis salsa* (С.А. Мей.) Benth. ex Volkens экстракт корня оказался наиболее активным противогрибковым препаратом, обладая более высокой активностью в отношении всех референтных штаммов рода *Candida*.

Впервые в результате исследования биологической активности установлено, что соединение Lup-43 обладает АХЭ действием, а соединение Lup-41 проявляет антимикробным, а также выраженным противовирусным действием в отношении штамма вируса гриппа H3N2.

Разработан проект НД и проведена стандартизация сырья, субстанции «Ежовника солончакового экстракт густой», «Лупинин субстанция», «Lup-43 субстанция», «Lup-41 субстанция» изучена стабильность. Разработан и утвержден лабораторный регламент на получение субстанций «Lup-43 субстанция», «Lup-41 субстанция».