

**КЫРГЫЗСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
им. И.К. Ахунбаева**

ИНСТИТУТ БИОТЕХНОЛОГИИ НАН КР

Диссертационный совет Д 03.17.558

На правах рукописи
УДК 615:615.014:615.4

ИСМАИЛОВ ИСАБЕК ЗАЙЛИДИНОВИЧ

**НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ
ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ГОТОВЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ФИТОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ
НАДЗЕМНЫХ ЧАСТЕЙ *RADUS GRAYANA* MAXIM,
ИЗУЧЕНИЕ ИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ И
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ**

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

14.04.01 – технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

Бишкек – 2018

**Работа выполнена в Кыргызской государственной медицинской академии
им. И.К. Ахунбаева**

Научный консультант: член-корр. НАН КР., д.м.н., профессор
Зурдинов Аширали Зурдинович

Официальные оппоненты: доктор фармацевтических наук, профессор
Сагиндыкова Баян Ахметовна

доктор фармацевтических наук, профессор
Датхаев Убайдулла Махамбетович

доктор медицинских наук, профессор
Ишанкулова Бустон Астановна

Ведущая (оппонирующая) организация: Башкирский государственный
медицинский университет, 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул.
Ленина, 3.

Защита диссертации состоится 22 июня 2018 г. в 13 часов на заседании
диссертационного совета Д 03.17.558 при Кыргызской государственной
медицинской академии и Институте биотехнологии НАН Кыргызской
Республики по адресу: Кыргызская Государственная Медицинская Академия
им. И.К. Ахунбаева, 720020, г. Бишкек, ул. Ахунбаева 92.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Кыргызской
Государственной Медицинской Академии им. И.К. Ахунбаева, 720020, г.
Бишкек, ул. Ахунбаева 92 (<http://kgma.kg>) и библиотеке НАН КР, 720071, г.
Бишкек, проспект Чуй, 265.

**Ученый секретарь
диссертационного совета,
Д 03.17.558, к.м.н., доцент**

Т.С. Сабирова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Растительный мир был и остается одним из основных источников получения лекарственных средств. В 2002г. была обнародована Стратегия ВОЗ по традиционной медицине на 2002–2005 гг., а в 2014 году была представлена ее обновленная редакция на 2014–2023гг [Селимзянова Л.Р., 2016; WHO, 2014]. В этих документах ВОЗ отмечается важность гербальной и дополнительной (альтернативной) медицины, а также подтверждается тенденция к росту спроса среди населения на препараты растительного происхождения.

Поиск и разработка новых эффективных ЛС иммуномодулирующего действия обусловлены широким распространением заболеваний, связанных с иммунодефицитными состояниями [Борисов, А.Г., 2013; Хаитов Р.М., 2014].

Как следует из данных литературы, с целью коррекции иммунодефицитных состояний используются ЛС как синтетического, так и природного происхождения. Особый интерес представляют ЛС растительного происхождения, выгодно отличающиеся от синтетических лекарств широким спектром терапевтического действия, малой токсичностью и связанной с этим возможностью длительного применения. [Головкин, Д.Н., 2017; Булаев, В.М., 2013].

Надо отметить, что при разработке новых фитопрепаратов предпочтение отдается наиболее эффективным, безопасным и удобным в применении лекарственным формам.

Лекарственные препараты, изготовленные на основе сухих растительных экстрактов, вполне отвечают данным критериям. К преимуществам их использования относятся удобство применения, устойчивость при хранении, возможность более точного дозирования [Сакаева И.В., 2013; Богоявленский А.П., 2013].

Всестороннее изучение и рациональное использование препаратов получаемых из лекарственного растительного сырья (ЛРС) является одним из важнейших направлений развития фармакологии и фармацевтической промышленности, в особенности, в нашей стране, т.к. Кыргызская Республика обладает богатейшими растительными ресурсами, что и определяет актуальность данного исследования.

Связь темы диссертации с крупными научными программами, основными научно-исследовательскими работами, проводимыми научными учреждениями. Работа выполнена в рамках темы научно-исследовательской работы кафедры базисной и клинической фармакологии КГМА им. И.К. Ахунбаева «Разработка новых фармакологических средств природного и синтетического происхождения и изучение использования

лекарственных препаратов в практической медицине», № государственной регистрации 0004828.

Цель исследования: обоснование и разработка технологии получения готовых лекарственных форм фитопрепарата *Padus Grayanae Maxim* и исследование их фармацевтических и фармакологических свойств.

Задачи исследования

1. Провести анализ фармацевтического рынка иммуномодулирующих средств в Кыргызской Республике по фармакотерапевтическим группам, лекарственным формам, ценовым характеристикам и фирмам-производителям с целью обоснования перспективности создания иммуномодуляторов на основе сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* из местного растительного сырья.
2. Разработать технологические параметры получения сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* и провести стандартизацию полученного сухого экстракта (субстанции) согласно фармакопейным требованиям.
3. Изучить физические, фитохимические и технологические свойства сухого экстракта из надземных частей *Padus Grayanae Maxim*. Разработать и валидировать методику определения комплекса БАВ в готовой лекарственной форме.
4. Провести доклинические исследования спектра фармакологической активности, иммуностропных свойств и токсикологических характеристик сухого экстракта *Padus Grayana Maxim*.
5. Теоретически и экспериментально обосновать оптимальный состав и разработать рациональную технологию получения твердых лекарственных форм с сухим экстрактом *Padus Grayanae Maxim* для перорального приема в форме саше, капсул, таблеток.
6. Провести исследования по установлению основных показателей качества разработанных лекарственных форм для их стандартизации, обосновать условия хранения и срок годности.
7. Разработать необходимую нормативную документацию на субстанцию и готовые лекарственные формы на основе сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в виде проектов ФСП, опытно-промышленных регламентов на производство.

Научная новизна полученных результатов. На основе проведенного анализа фармацевтического рынка иммуномодулирующих средств в КР обоснована актуальность создания и изучения иммуномодуляторов природного происхождения из местного растительного сырья.

Впервые теоретически обоснован и экспериментально подтвержден способ получения сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*, включающий в себя основные стадии: экстрагирование, упаривание, очистку, сушку и

стабилизацию. Разработаны показатели качества полученного фитоэкстракта, необходимые для его стандартизации согласно фармакопейным требованиям.

Впервые получены данные о фармако-токсикологических свойствах сухого экстракта *Padus Grayana Maxim*: изучены острая и хроническая токсичность, мутагенность, иммуномодулирующее и противовоспалительное действие, антиоксидантная и противоопухолевая активность.

Впервые теоретически и экспериментально обоснованы схемы рациональной рецептуры и технологии готовых лекарственных форм фитопрепаратов из сухого экстракта *Padus Grayana Maxim* для перорального приема – таблетки, капсулы и саше, экономически доступных, удобных в применении и стабильных при хранении. Разработаны методики оценки качества ГЛФ фитопрепарата из сухого экстракта *Padus Grayana Maxim*, проведена их стандартизация по основным действующим веществам, изучена стабильность при хранении.

Научная новизна работы подтверждена 2 Патентами на изобретение: Патент № 20170100.1 «Способы получения сухого экстракта из надземных частей *Padus Grayana Maxim*» и Патент № 20170104.1 «Лекарственное средство в виде таблеток на основе сухого экстракта из надземных частей *Padus Grayana Maxim*».

Практическая значимость полученных результатов. В результате проведенных исследований разработаны технология и методы стандартизации опытно-промышленного производства твердых лекарственных форм фитопрепарата из сухого экстракта *Padus Grayana Maxim*.

По результатам исследований разработаны проекты фармакопейной статьи предприятия (ФСП) на готовые лекарственные формы фитопрепарата *Padus Grayana Maxim* и получены опытные серии разработанных готовых лекарственных форм.

Разработанные оптимальные ГЛФ фитопрепарата из надземных частей *Padus Grayana Maxim* с использованием современных технологий позволят расширить арсенал иммуностропных фитопрепаратов для перорального применения, будут способствовать освоению производства лекарственных средств на основе местного лекарственного растительного сырья и развитию отечественной фармацевтической промышленности.

Внедрение результатов исследований (экономическая значимость полученных результатов). Разработанная технология и методы стандартизации опытно-промышленного производства твердых лекарственных форм фитопрепарата *Padus Grayana Maxim* внедрены в производственный процесс ОсОО «Биовит», Кыргызская Республика.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Отечественный рынок фармацевтических препаратов недостаточно насыщен препаратами-иммуномодуляторами: в аптеках имеется в продаже только около 50% от зарегистрированных в Кыргызстане препаратов из группы иммуномодуляторов, чем и обусловлена необходимость в разработке и внедрении препаратов из группы иммуномодуляторов.
2. Разработаны технологические параметры эффективного и экологически безопасного получения сухого экстракта из надземных частей *Padus Grayanae maxim*, установлен качественный и количественный состав БАВ и регламентируемые показатели для его стандартизации согласно фармакопейным требованиям.
3. Изучение острой токсичности сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на мышах и крысах при внутрижелудочном пути введения позволяет отнести изучаемый фитоэкстракт к 5 классу токсичности по международной системе классификации токсичности веществ (GHS).
4. Изучение профиля безопасности фитоэкстракта *Padus Grayanae Maxim* в дозах 300, 600 и 900 мг/кг в течение 30 и 90 суток не выявило отрицательного влияния изучаемого фитоэкстракта на общее состояние, массу тела, показатели периферической крови, биохимические параметры сыворотки крови и морфологическую картину внутренних органов экспериментальных животных.
5. Доклиническое изучение фармакологической активности сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* показало, что изучаемый фитоэкстракт обладает противовоспалительным, иммуномодулирующим, противоопухолевым и антиоксидантным действиями.
6. Разработаны оптимальный состав и технология производства готовых твердых лекарственных форм из сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*, основные показатели качества для их стандартизации.

Личный вклад соискателя: непосредственное участие автора во всех этапах выполнения диссертационной работы: разработке плана и дизайна исследования, анализе и обобщении данных научной литературы по теме исследования, сборе и обработке фактического материала, анализе, обобщении интерпретации данных собственных исследований, написании статей и окончательном оформлении диссертационной работы.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований доложены и обсуждены на: XVII Международной научно - практической конференции молодых ученых и студентов (Бишкек, 2012); IV Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» в Южно-Казахстанской фармацевтической академии (Шымкент, 2016); IV Московский международный салон образования

(Москва 2017); II международная научно-практическая конференция фармакологов (Рига 2017); Международная научно-практическая конференция «Роль современной фармакологии, клинической фармакологии и фармации в охране здоровья населения», посвящённая 90-летию почетного Академика НАН КР, профессора М.Т. Нанаевой (Бишкек 2017).

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях.

Основные положения диссертации отражены в 18 научных статьях, в изданиях, рекомендованных ВАК КР, 2 Патентах на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа включает введение, литературный обзор, главу «Материалы и методы исследования», 5 глав с описанием результатов собственных исследований, выводы, практические рекомендации, список литературы, включающий 303 использованных библиографических источников, из них 183 отечественных и стран ближнего зарубежья и 120 – дальнего зарубежья; 4 приложений.

Диссертационная работа изложена на 413 страницах текста, выполненного на компьютере, шрифтом Times New Roman 14 через 1,5 межстрочных интервала, иллюстрирована 38 таблицами, 28 рисунками, 28 микрофотографиями.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе «Разработка и применение иммуномодуляторов на современном этапе: проблемы и перспективы» представлен обзор литературных данных по современному состоянию проблемы иммунодефицитных состояний, на основании которого автором обоснована необходимость разработки и изучения новых иммуномодуляторов растительного происхождения.

Глава 2. «Материалы и методы исследования». Работа выполнялась на кафедре базисной и клинической фармакологии, на базе Межотраслевого Учебно-Научного Центра биомедицинских исследований Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева, Научном центре противоинфекционных препаратов РК, в лаборатории биотехнологии растений НАН КР, на фармацевтическом заводе ОсОО «Биовит».

Объектами изучения являлись сухой экстракт из надземных частей *Radus Graynae Maxim*, готовые твердые лекарственные формы (ГЛФ) фитопрепарата *Radus Grayana Maxim*.

Предмет исследования

Разработка состава и оптимальной технологии получения твердых лекарственных форм из сухого экстракта *Radus Graynae Maxim*. Выбор и обоснование показателей качества ГЛФ и разработка методов их определения.

Разработка проекта технологического регламента производства ГЛФ из сухого экстракта *Radus Graynae Maxim.*

Изучение токсикологических характеристик и фармакологических свойств фитопрепарата из сухого экстракта *Radus Graynae Maxim.*

Методы исследования: органолептические, физико-химические, микробиологические, биохимические, технологические, фармакологические, морфологические методы исследования.

При проведении исследований использовались химические реактивы и растворители, стандартные образцы, соответствующие требованиям аналитической нормативной документации.

При проведении маркетингового анализа фармацевтического рынка иммуномодулирующих средств Кыргызской Республики *объектами исследования* являлись производственные процессы в фармацевтических организациях, направленные на обеспечение населения иммуномодулирующими средствами.

Материалами исследования послужили данные ДЛО и МТ МЗ КР о регистрации фармацевтической продукции в КР (Государственный реестр ЛС и ИМН, 2016 г.), прайс-листы оптовых фармацевтических компаний (г. Бишкек).

Физико-химическую характеристику сухого экстракта *Radus Graynae Maxim* и определение содержания в нем основных групп действующих веществ выполняли в соответствии с фармакопейными требованиями и рекомендациями по фитохимическому анализу лекарственного растительного сырья [ГФ СССР 1968; ГФ СССР 1989; European Pharmacopoeia 6.0 2010].

Изучение содержания рутина, кверцетина и аскорбиновой кислоты в экстракте *Radus Grayanae Maxim* проводилось методом обращеннофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием на приборе Aligent 1200 (Agilent Technologies, США).

Идентификация и количественное определение хлорогеновой и кофейной кислот в сухом экстракте *Radus Grayanae Maxim* проводились методом ВЭЖХ.

Определение содержания химических элементов в сухом экстракте *Radus Grayanae Maxim* производили атомно-абсорбционным методом на атомно-эмиссионном спектрометре Optima 5300 DV.

Определение сахаров проводился по способу Бертрена с использованием реактива Фелинга [Жданова Ю.А., 1973].

Изучение микробиологической чистоты сухого экстракта *Radus Graynae Maxim* проводилось в соответствии с требованиями к микробиологической чистоте лекарственных препаратов и субстанций, описанных в ОФС 42-0067-07 Государственной Фармакопеи РФ XII изд. 2008.

Доклиническое изучение сухого экстракта *Radus Graynae Maxim* проводилось в соответствии с «Правилами доклинической оценки безопасности

фармакологических средств (GLP)», «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [Миронова А.Н., 2012].

Объектом исследования служил сухой экстракт *Radus Grayanae maxim*, полученный методом лиофильной сушки и стабилизированный лактозы моногидратом (1 часть лактозы / 2 части сухого экстракта *Radus Grayanae maxim*).

При проведении доклинических исследований в эксперименте были использованы 196 аутбредных крыс и 164 аутбредных мышей обоих полов. Масса тела крыс к началу исследования составляла $155 \text{ г} \pm 10\%$, мышей - $20 \text{ г} \pm 10\%$.

Острая токсичность. Опыты проводились на 84 интактных белых аутбредных мышах и 84 белых аутбредных крысах, полученных из одного питомника и прошедших двухнедельный карантин в виварии по месту выполнения исследований.

Хроническая токсичность. Изучение токсичности сухого экстракта *Radus Grayanae maxim* в условиях хронического эксперимента проводилось на 112 аутбредных крысах массой 125 – 200 г. Животные были разделены на 8 групп:

I – контрольные животные; II – животные, которым вводился сухой экстракт в дозе 300 мг/кг массы тела в течение 1 месяца; III – крысы данной группы получали сухой экстракт в дозе 600 мг/кг массы тела в течение 1 месяца; IV – крысы данной группы получали сухой экстракт в дозе 900 мг/кг массы тела в течение 1 месяца; V – контрольные животные; VI – животные, получавшие сухой экстракт в дозе 300 мг/кг массы в течение 3 месяцев; VII – крысы, которым вводился сухой экстракт в дозе 600 мг /кг массы в течение 3 месяцев; VIII – крысы, которым вводился сухой экстракт в дозе 900 мг /кг массы в течение 3 месяцев. Водный раствор изучаемого препарата и вода очищенная вводились крысам в желудок 1 раз в сутки утром за 2 часа до приема пищи с помощью зонда.

Мутагенная активность. При изучении мутагенности сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* была использована культура клеток из Т-клеточной лимфомы *Mus musculus L5178Y*, полученная из Американской коллекции типовых культур (ATCC).

Специфическая активность сухого экстракта Radus Grayanae Maxim. Изучение специфической активности сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* проводили на 80 аутбредных мышах обоего пола массой $20 \text{ г} \pm 10\%$ в два этапа.

Изучение влияния сухого экстракта Radus Grayanae Maxim на неспецифическую резистентность проводили на экспериментальной модели стафилококковой инфекции, вызванной клиническим изолятом *Staphylococcus aureus* при введении изучаемого фитоэкстракта по профилактической и лечебной схеме.

Противовоспалительная активность сухого экстракта Padus Grayanae Maxim in vitro изучалась по влиянию исследуемого фитоэкстракта на способность индуцировать ИФН- γ и противовоспалительного цитокина IL-4 мононуклеарными клетками человека (МНК). Изучение ингибирования продукции IL-1 β и TNF- α стимулированных липополисахаридом (LPS) грамотрицательных бактерий МНК при воздействии сухого экстракта Padus Grayanae Maxim проводили по методу Hougee S. (2005).

Противоопухолевую активность сухого экстракта Padus Grayanae Maxim in vitro оценивали по цитотоксичности МТТ-методом. Среднюю цитотоксическую концентрацию исследуемых веществ рассчитывали в программе GraphPad Prism версии 6.00 для Windows (GraphPad Software, La Jolla California USA).

Антиоксидантная активность сухого экстракта Padus Grayanae Maxim изучалась в серии экспериментов in vitro методом DPPH на спектрофотометре Beckman coulter DU-520 UV-Visible (Scanning Spectrophotometer, США). В качестве препарата сравнения использовался иммуномодулятор растительного происхождения Иммунал (Сандоз д.д. Любляна, Словения).

Морфологические методы исследования. После завершения экспериментов по изучению острой и хронической токсичности животных умерщвляли цервикальной дислокацией. Животные были подвергнуты полной некропсии с оценкой поверхности тела, мест инъекций, черепной, грудной, брюшной полостей и их содержимого. Внутренние органы: печень, селезёнку, желудок, кишечник, сердце, почки и легкие фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Из фиксированных органов готовили гистологические препараты, которые окрашивали гематоксилин-эозином и микроскопировали.

Статистические методы исследования. Статистическую обработку данных, полученных при проведении технологических, физических, химических, микробиологических исследований проводили общепринятыми методами, изложенными в ГФ СССР X, XI; ГФ РФ XII и Европейской фармакопеи.

Данные доклинических исследований представлены в виде средних значений и их стандартных отклонений. Проверку гипотезы о различии между средними значениями осуществляли общепринятыми статистическими методами с использованием критерия Стьюдента при $p < 0,05$ [Акынбеков К.У., 2006] с помощью программного обеспечения Статистика 6.0 (StatSoft Inc, USA).

Глава 3. Анализ фармацевтического рынка иммуномодуляторов в Кыргызской Республике. Проведенный анализ номенклатуры ЛС из группы иммуномодуляторов показал, что на фармацевтическом рынке Кыргызстана к середине 2016 г. было зарегистрировано 32 препарата из группы

иммуномодуляторов, из них 14 – брендовые ЛП, в т.ч. 3 ЛС растительного происхождения (Иммунал, Иммунал плюс, Эхинацея); 18 – генерики. С учетом лекарственных форм, дозировок и разновидностей стандартных упаковок ЛС всего в Кыргызстане зарегистрированы 56 наименований иммуномодуляторов. Наибольшую часть ассортимента препаратов, внесенных в Государственный реестр ЛС и разрешенных к медицинскому применению в КР, составляют препараты из группы «L03AX Иммуностимуляторы другие» – представленная 16 торговыми наименованиями, и группа «L03AB Интерфероны», представленная 6 торговыми наименованиями ЛС.

Следует отметить, что в Перечень жизненно необходимых ЛС КР в редакции 2012 г. включены 3 ЛС из группы иммуномодуляторов под МНН: интерферон альфа-2b человеческий рекомбинантный, левамизол, филграстим.

В перечень основных ЛС ВОЗ в редакции 2015 года входят 2 ЛС из группы иммуномодуляторов под МНН: левамизол, филграстим. В перечень основных ЛС ВОЗ для детей (2015 г.) включены также 2 ЛС из группы иммуномодуляторов под МНН: левамизол, филграстим.

Сегментирование рынка иммуномодуляторов в КР по признаку стран-производителей производилось по рыночной доле. Установлено, что в структуре поставок по признаку страны – производителя преобладают лекарственные средства из стран ближнего зарубежья – 71,43% и оставшаяся часть - это препараты, произведенные в странах дальнего зарубежья – 28,57%. Среди них по количеству ЛП первое место занимает Россия – 60,71% (34 ЛП), второе - Словения, Грузия, Германия и Китай – по 5,36% (по 3 ЛП). Иммуномодулирующие препараты поставляются также из Франции, Швейцарии, Румынии, Испании, Украина и Узбекистана.

Анализ лекарственных форм иммуномодуляторов, представленных на фармацевтическом рынке КР, показал, что 26,79% зарегистрированных торговых наименований иммуномодуляторов представлены в форме таблеток, 23,21% - растворы, лиофилизаты – 10,71%, суппозитории – 8,93%, порошки - 7,14%, капсулы – 7,14, спреи и капли – по 5,66%, мази – 3,57% и драже -1,89%. Анализ рынка показал, что среди других твердых лекарственных форм иммуномодуляторов на фармацевтическом рынке КР преобладают таблетированные лекарственные формы.

При анализе *ценовой сегментации* иммуномодуляторов изучали среднюю оптовую цену 1 условной упаковки иммуномодулятора. За 1 условную упаковку принимали 10 ед. лекарственной формы. Ценовая сегментация иммуномодулирующих препаратов проводилась под торговыми наименованиями в ценах конечного потребителя. Все препараты были условно разбиты на 3 ценовых сегмента. В сегмент ЛС со стоимостью до 500 сом (7,5\$) за условную упаковку вошли 10 препаратов, 7 из них были представлены

твердыми лекарственными формами. Средняя стоимость условной упаковки составила 187 сом (2,8\$). В сегмент препаратов с ценой от 500 до 1500 сом (7,5\$ - 22,5\$) за условную упаковку вошло 7 торговых наименований. В этом сегменте были представлены твердые, мягкие и жидкие лекарственные формы примерно в равных долях. Средняя стоимость условной упаковки в этом сегменте составила 845 сом (12,6\$). Сегмент дорогих препаратов со средней ценой 3480 сом (более 50\$) за условную упаковку был представлен 9 препаратами для парентерального применения.

Анализ оборачиваемости иммуномодуляторов. С целью объективной оценки потребления препаратов-иммуномодуляторов нами установлены коэффициенты скорости движения их в аптеках г. Бишкека. Среди лекарственных средств из группы иммуномодуляторов нет препаратов, относящихся к средствам с замедленной скоростью движения. Лекарственные средства «Галавит», «Интерферон человеческий» относятся к препаратам с постоянной скоростью движения. Все остальные иммуномодулирующие средства, включенные в анализ, имеют коэффициент оборачиваемости $K < 0,25$ и относятся к препаратам с высокой скоростью движения. Препараты Альтевир, Рибомунил, Полиоксидоний, Иммунал, Генферон Лайт имеют коэффициент оборачиваемости $K < 0,1$, что свидетельствует о высоком спросе на данные препараты. Кыргызстанский рынок фармацевтических препаратов недостаточно насыщен препаратами-иммуномодуляторами: в аптеках имеется в продаже только около 50% от зарегистрированных в Кыргызстане препаратов из группы иммуномодуляторов.

Полученные данные позволяют констатировать, что для фирм, поставляющих ЛС на рынок Кыргызстана, существует возможность ввоза новых препаратов, регулирующих иммунитет. Особое значение приобретает разработка и внедрение иммуномодуляторов растительного происхождения с учетом практических возможностей и наличия сырьевых запасов в КР, позволяющих решить проблемы импортозамещения.

Глава 4. Разработка технологии получения сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* и его стандартизация. Способ получения сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* включает в себя основные стадии: экстрагирование, упаривание, очистку, сушку и стабилизацию. Для сушки сгущенного жидкого водно-спиртового извлечения *Radus Grayanae maxim* использовался метод лиофильной сушки. Выход сухой субстанции из сгущенного водно-спиртового извлечения *Radus Grayanae maxim* составлял от 6 до 7%.

Для стабилизации по показателю гигроскопичности и обеспечения сыпучести, в соответствии с рекомендацией статьи (Экстракты) ГФ СССР X издания (1968), к полученному сухому экстракту *Radus Grayanae maxim* был добавлен лактозы моногидрат в соотношении 1:2 соответственно.

Содержания флавоноидов и аскорбиновой кислоты в сухом экстракте *Padus Grayanae Maxim* определялось методом ВЭЖХ. Содержание в образцах экстракта *Padus Grayanae Maxim* рутина составило $5,96 \pm 0,01$ мг/г; кверцетин - $3,24 \pm 0,01$ мг/г; аскорбиновой кислоты - $19,17 \pm 0,02$ мг/г.

Определение содержания хлорогеновой и кофейной кислот в экстракте *Padus Grayanae Maxim* методом ВЭЖХ. В результате проведенных исследований было установлено, что в образцах сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* содержится: хлорогеновая кислота - $10,7 \pm 0,01$ мг/г; кофейная кислота – $0,95 \pm 0,007$ мг/г.

Определение содержания моно-, олиго- и полисахаридов в сухом экстракте *Padus Grayanae Maxim*. Результаты анализа: в 1 г сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* содержится моносахаридов составило 5,8%, олигосахаридов - 8,2% и полисахаридов - 13%.

В результате исследования содержания химических элементов сухом экстракте *Padus Grayanae Maxim* установлено, что в нем присутствует 26 химических элементов. В фитоэкстракте *Padus Grayanae Maxim* выявлено наибольшее содержание биогенных микроэлементов **Mn, B, Zn** и **Fe**. Гигиеническая оценка содержания тяжелых металлов в сухом экстракте *Padus Grayanae Maxim* выявила отсутствие превышения ПДК тяжелых металлов, принятых для лекарственных средств и биологически активных добавок на растительной основе [Бушуев Н.Н., 2011; СанПиН 2.3.2.1078-01, 2002].

Микробиологическая чистота, как показатель качества сухого экстракта из надземных частей *Padus Grayanae Maxim*. Результаты исследования микробиологической чистоты сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* выявили их соответствие требованиями ОФС 42-0067-07 Государственной Фармакопеи РФ XII изд. и могут быть использованы для обеспечения качества субстанции – сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* для изготовления нестерильных форм лекарственных средств для приема внутрь.

Таблица 1– Регламентируемые показатели качества сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*

Наименование показателя	Значение показателя
Органолептические показатели	
Описание	Сыпучий порошок светло-бежевого цвета со слабым специфическим запахом. При хранении допускается незначительное комкование, образовавшиеся комочки рассыпаются при слабом нажатии.
Физико-химические показатели	
Потеря массы при высушивании (%)	не более 6%
Содержание тяжелых металлов (%)	не более 0,01%.
Содержание хлорогеновой кислоты(%)	не менее 0,24%
Содержание кофейной кислоты (%)	не менее 0,025%.

Стандартизация полученного сухого экстракта (субстанции) по регламентируемым показателям. Стандартизация полученного сухого экстракта (субстанции) проводилась согласно требованиям монографии Европейской Фармакопеи 6-го издания (2007-2010). Для стандартизации исследованы три партии сухих экстрактов, полученных из надземных частей *Radus Grayanae Maxim*, собранные с разницей по времени в пятнадцать дней: 15 июля, 30 июля и 1 августа.

Глава 5. «Фармако-токсикологическая характеристика сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim*». Изучаемое вещество внутрижелудочно вводили в дозах 500 мг/кг; 1000 мг/кг, 1500 мг/кг и 2000 мг/кг - в самой высокой дозе, технически достижимой для этого вида экспериментальных животных. Оценка результатов эксперимента проводилась через одни сутки после введения сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* - учитывалось количество погибших животных. В дальнейшем наблюдение за подопытными животными производилось еще в течение 2 недель от момента введения исследуемого вещества.

При оценке токсичности ежедневно учитывались следующие интегральные показатели: общее состояние животных; интенсивность и характер двигательной активности; состояние кожного покрова и слизистых оболочек; тонус скелетных мышц, наличие и характер судорог; реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители; частота и глубина дыхательных движений; количество и консистенция фекальных масс; частота мочеиспускания и окраска мочи; потребление корма и воды.

Через 24 часа после введения сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* во всех изучаемых дозах была выявлена 100% выживаемость экспериментальных животных как контрольных, так и опытных групп. Результаты некропии внутренних органов мышей и крыс у животных экспериментальных и контрольных групп отличий не имели.

Таким образом, изучение острой токсичности сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* на мышах и крысах при внутрижелудочном пути введения не позволило установить средней смертельной дозы (ЛД₅₀) поскольку в максимальной дозе 2000 мг/кг не приводило к смертности и не обладало токсичностью. По результатам изучения острой токсичности согласно международной системе классификации токсичности веществ GHS (2017) сухой экстракт *Radus Grayanae Maxim* можно отнести 5 классу токсичности.

*Изучение хронической токсичности сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim*.* Исследования проведены на 112 половозрелых аутбредных крысах массой 155г ± 10% в трех экспериментальных дозах при введении в течение 1 и 3 месяцев.

Способ введения и выбор доз. Изучаемое вещество вводили животным внутривентриально с помощью зонда 1 раз в сутки за 2 часа до приема пищи один раз в сутки. Продолжительность эксперимента составляла: 30 суток (субхроническая токсичность) и 90 суток (хроническая токсичность) (табл. 2).

Таблица 2 - Дизайн исследования субхронической и хронической токсичности сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim*

Сроки исследования	№ гр.	Пол	Количество животных			Исследуемое вещество	Доза препарата (мг/кг)
			Всего	Некропсия на 31-й день	Некропсия на 91-й день		
1 месяц	1	m	7	7		Вода очищенная	4 мл/особь
		f	7	7			
	2	m	7	7		Сухой экстракт <i>Radus Grayanae Maxim</i>	300
		f	7	7			
	3	m	7	7			600
		f	7	7			
	4	m	7	7			900
		f	7	7			
3 месяца	5	m	7		7	Вода очищенная	4 мл/особь
		f	7		7		
	6	m	7		7	Сухой экстракт <i>Radus Grayanae Maxim</i>	300
		f	7		7		
	7	m	7		7		600
		f	7		7		
	8	m	7		7		900
		f	7		7		

Для изучения субхронической и хронической токсичности изучаемое вещество вводили в дозах 900 мг/кг, 600 мг/кг и 300 мг/кг. В ходе эксперимента учитывались следующие показатели: масса тела и общее состояние животных, количество гемоглобина, лейкоцитов, СОЭ, а также некоторые биохимические показатели, характеризующие состояние белкового, углеводного и липидного обменов.

*Влияние сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* на массу тела* выявило, что вес животных равномерно увеличивался на протяжении всего исследования, как в контрольной, так и в опытных группах.

*Влияние сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* на гематологические показатели крови.*

Статистический обсчет данных, представленных в таблицах 3 и 4, показал, что при сравнении гематологических показателей экспериментальных животных групп, получавших сухой экстракт *Radus Grayanae Maxim* в дозах 300мг/кг, 600 мг/кг и 900 мг/кг, с контрольной группой экспериментальных животных выявлено недостоверное увеличение количества гемоглобина и эритроцитов в периферической крови.

Таблица 3. - Влияние сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* на гематологические показатели крови у крыс после месячного внутрижелудочного введения (M±m)

Исследуемые показатели	Контроль (n=10)	Фитоэкстракт 300 мг/кг (n=10)	Фитоэкстракт 600 мг/кг (n=10)	Фитоэкстракт 900 мг/кг (n=10)
Гемоглобин, г/л	117,4 ± 0,31	117,6 ± 0,31	118,8 ± 0,57	119,0 ± 0,63
	118,5 ± 0,37	124,9 ± 0,50	125,3 ± 0,56	124,8 ± 0,85
Гематокрит, %	42,3 ± 1,11	41,3 ± 0,7	43,5 ± 1,0	44,1 ± 1,3
	41,7 ± 1,5	44,1 ± 1,31	42,4 ± 1,05	42,8 ± 0,95
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,6 ± 0,1	7,59 ± 0,09	7,91 ± 0,11	7,55 ± 0,11
	7,8 ± 0,05	8,7 ± 0,09	8,37 ± 0,11	8,5 ± 0,10
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,05 ± 0,08	7,28 ± 0,14	7,45 ± 0,14	7,37 ± 0,14
	7,34 ± 0,10	8,4 ± 0,14*	8,4 ± 0,18**	8,9 ± 0,19***
Лимфоциты, %	62,20 ± 1,05	66,50 ± 1,2	64,30 ± 1,08	63,70 ± 1,4
	63,8 ± 1,25	66,50 ± 1,7	67,8 ± 1,5	67,70 ± 1,6
СОЭ, мм/час	1,6 ± 0,1	1,9 ± 0,3	1,7 ± 0,7	1,75 ± 0,4
	1,75 ± 0,17	1,8 ± 0,15	1,9 ± 0,12	1,62 ± 0,2
Цветной показатель	0,904 ± 0,003	0,905 ± 0,004	0,911 ± 0,005	0,912 ± 0,005
	0,914 ± 0,004	0,919 ± 0,005	0,92 ± 0,005	0,917 ± 0,005

Примечание: * – достоверность различий между контрольной и 2 группой <0,05; ** – достоверность различий между контрольной и 3 группой <0,05; *** – достоверность различий между контрольной и 4 группой <0,05.

Таблица 4 - Влияние сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* на гематологические показатели крови у крыс после трехмесячного внутрижелудочного введения (M±m)

Исследуемые показатели	Контроль (n=10)	Фитоэкстракт 300 мг/кг (n=10)	Фитоэкстракт 600 мг/кг (n=10)	Фитоэкстракт 900 мг/кг (n=10)
Гемоглобин, г/л	118,6 ± 0,65	121,2 ± 0,96	120,8 ± 0,81	120,7 ± 0,79
	120,8 ± 0,77	123,5 ± 0,83	123,5 ± 0,90	125,1 ± 0,86
Гематокрит, %	41,3 ± 1,1	40,3 ± 0,5	42,5 ± 1,6	42,1 ± 1,8
	42,7 ± 1,05	43,2 ± 1,1	42,4 ± 1,05	43,8 ± 0,75
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,61 ± 0,10	7,95 ± 0,12	8,03 ± 0,16	8,11 ± 0,20
	8,06 ± 0,08	8,6 ± 0,11	8,65 ± 0,15	8,62 ± 0,19
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,07 ± 0,15	7,84 ± 0,09	7,79 ± 0,05	7,78 ± 0,08
	8,31 ± 0,11	8,54 ± 0,08	8,99 ± 0,14**	9,94 ± 0,13***
Лимфоциты, %	60,27 ± 1,5	64,57 ± 1,4	62,3 ± 1,15	61,6 ± 1,15
	62,5 ± 1,3	66,70 ± 1,35	68,8 ± 1,05	67,55 ± 1,5
СОЭ, мм/час	1,5 ± 0,15	1,7 ± 0,34	1,8 ± 0,95	1,65 ± 0,7
	1,65 ± 0,1	1,8 ± 0,4	1,8 ± 0,05	1,7 ± 0,5
Цветной показатель	0,899 ± 0,004	0,900 ± 0,006	0,899 ± 0,008	0,893 ± 0,01
	0,905 ± 0,004	0,911 ± 0,006	0,915 ± 0,006	0,97 ± 0,008

Примечание: * – достоверность различий между контрольной и 6 группой <0,05; ** – достоверность различий между контрольной и 7 группой <0,05; *** – достоверность различий между контрольной и 8 группой <0,05.

Месячное введение изучаемого фитоекстракта в дозах 300 мг/кг, 600 мг/кг и 900 мг/кг привело к достоверному увеличению количества лейкоцитов в периферической крови. При введении фитоекстракта в течение трех месяцев также было выявлено достоверное увеличение количества лейкоцитов (табл. 4).

Влияние сухого экстракта Radus Grayanae Maxim на основные биохимические показатели сыворотки крови

Таблица 5 - Влияние сухого экстракта Radus Grayanae Maxim на биохимические показатели крови у крыс после месячного внутрижелудочного введения (M±m)

Исследуемые показатели	Контроль (n=10)	Фитоекстракт 300 мг/кг (n=10)	Фитоекстракт 600 мг/кг (n=10)	Фитоекстракт 900 мг/кг (n=10)
Общий белок, г/л	68,6±0,37	80,67±0,57*	80,6±0,45**	80,94±0,35***
Холестерин общий, ммоль/л	2,2± 0,007	1,91± 0,04	1,72± 0,04**	1,59 ± 0,04***
Глюкоза, ммоль/л	4,97±0,13	3,30±0,12	3,85±0,07**	3,63±0,1***
Мочевина, ммоль/л	8,16±0,11	7,35±0,11	6,9±0,1	6,89±0,09
Креатинин, мг/дл	0,48 ± 0,004	0,5± 0,004	0,5 ± 0,001	0,5 ± 0,004

Примечание: * – достоверность различий между контрольной и 2 группой; ** – достоверность различий между контрольной и 3 группой; *** – достоверность различий между контрольной и 4 группой.

Таблица 6. - Влияние сухого экстракта Radus Grayanae Maxim на биохимические показатели крови у крыс после трехмесячного внутрижелудочного введения (M±m)

Исследуемые показатели	Контроль (n=10)	Фитоекстракт 300 мг/кг (n=10)	Фитоекстракт 600 мг/кг (n=10)	Фитоекстракт 900 мг/кг (n=10)
Общий белок, г/л	68,84±0,5	82,21±0,85*	81,91±0,59**	82,33±0,66***
Холестерин общий, ммоль/л	2,12± 0,007	1,81± 0,05	1,72± 0,04**	1,61 ± 0,05***
Глюкоза, ммоль/л	4,91±0,05	3,99±0,06	3,69±0,07**	3,79±0,06***
Мочевина, ммоль/л	8,08±0,09	7,13±0,06	7,76±0,01	7,77±0,08
Креатинин, мг/дл	0,47 ± 0,01	0,49± 0,004	0,5 ± 0,01	0,5 ± 0,005

Примечание: * – достоверность различий между контрольной и 6 группой; ** – достоверность различий между контрольной и 7 группой; *** – достоверность различий между контрольной и 8 группой.

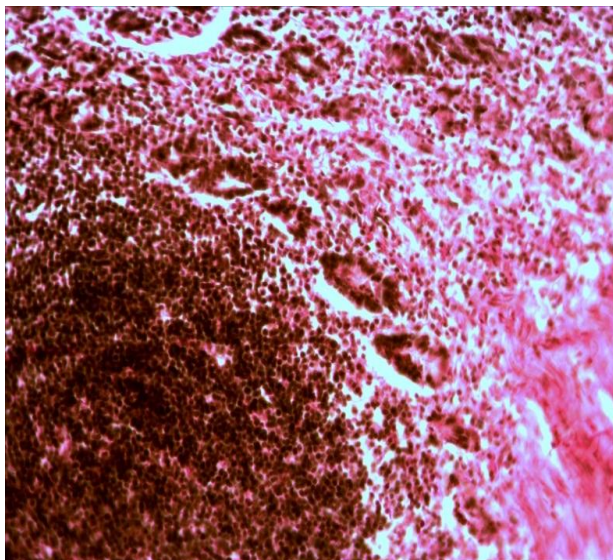
Таким образом, установлено, что при введении фитоекстракта Radus Grayanae Maxim в изучаемых дозах в течение 30 и 90 суток в сравнении с контролем увеличивалось количество общего белка в сыворотке крови и уменьшались содержание глюкозы и холестерина. При этом следует отметить, что изменения количеств указанных метаболитов не выходили за пределы физиологической нормы для данного вида животных [Макаров В.Г., 2013; Трахтенберг И.Н., 1993].

*Результаты изучения влияния сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на морфо-функциональное состояние внутренних органов экспериментальных животных при введении 300, 600 и 900 мг/кг в течение 1 месяца показали, что воздействие на животных изучаемого фитоэкстракта в дозе 300 мг/кг в течение одного месяца не вызывало особых изменений в структурах изученных органов. Исключение составили органы, где имелась лимфоидная ткань (легкие, селезенка и тимус), в которых имело место увеличение количества лимфоцитов в структурах. Введение экспериментальным животным сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в дозе 600 мг/кг в течение 1 месяца выявило значительную активность лимфоидной ткани, которая выражалась в увеличении лимфоидных узелков в толще пищеварительной трубки, инфильтрации лимфоцитами стромы слизистой оболочки кишечника, увеличении белой пульпы селезенки, активации реактивных центров лимфоидных узелков и стирания границы слоев (коркового и мозгового) в тимусе. Во всех изученных органах наблюдалось расширение кровеносных сосудов и наполнение их кровью. При гистологическом исследовании строения органов экспериментальных животных, получавших сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* в дозе 900 мг/кг, в сердце, печени, почках, надпочечниках выявлялись расширенные кровеносные сосуды, заполненные кровью. Нарушений морфологического строения в указанных органах не выявлено.*

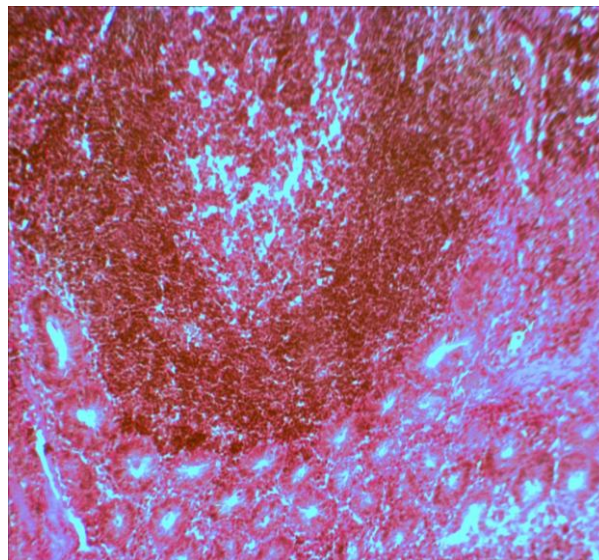
У животных, получавших изучаемый фитоэкстракт в дозе 300 мг/кг в течение 3 месяцев, в органах пищеварительной, дыхательной и кроветворной систем отмечалось увеличение лимфоидной ткани, инфильтрация лимфоцитами стромы органов. В селезенке лимфоидные узелки увеличивались в размерах, реактивные центры были раздражены. В тимусе граница коркового и мозгового слоев не определялась. В желудке выявлено утолщение слизистой оболочки, в тонком кишечнике уменьшение глубины крипт и истончение ворсинок. Изучение морфо-функционального состояния внутренних органов у животных, которым сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* вводили в дозе 600 мг/кг в течение 3 месяцев позволило установить, что в исследованных органах патологических изменений не обнаружено. В органах, содержащих лимфоидные фолликулы, наблюдалось увеличение их объема и появление активных реактивных центров. В органах пищеварительной системы, в желудке было отмечено утолщение слизистой оболочки, а в тонком кишечнике - истончение слизистой. В отделах тонкого и толстого кишечника наблюдалось увеличение лимфоидной ткани и инфильтрация лимфоцитами собственной пластинки слизистой. В тимусе выявлялась стертая граница слоев. Во всех исследованных органах наблюдалось значительное расширение кровеносных сосудов. В селезенке отмечались огромные лимфоидные узелки с реактивными центрами, уменьшение площади красной пульпы.

При микроскопическом исследовании внутренних органов экспериментальных животных, которым вводили сухой экстракт *Radus Grayanae Maxim* в дозе 900 мг/кг в течение 3 месяцев, показало, что в исследованных органах патологических изменений также не обнаружено.

При морфологическом исследовании стимулирующее действие изучаемого фитоэкстракта на функцию лимфоидной ткани лучше всего проявилось у животных, получавших его в дозе 600 мг/кг в течение 1 месяца.



Микрофото 1. Лимфоидный фолликул в слизистой оболочке тонкого кишечника интактной крысы. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.Ок.7.Об.20.



Микрофото 2. Огромный лимфоидный узелок в толще стенки тонкого отдела кишечника крысы опытной группы. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.Ок.7.Об.10.

Изучение мутагенных свойств сухого экстракта Radus Grayanae Maxim проводили с помощью метода учета образования микроядер (7, 8).

В качестве позитивного контроля использовали известный мутаген – митомицин С. Частота образования микроядер при этом составляет 7,5 на 1000 проанализированных клеток, а разница статистически достоверна при проверке гипотезы двумя критериями – по Фишеру и Стьюденту.

По оценке способности индуцировать образование микроядер следует, что сухой экстракт *Radus Grayanae Maxim* в микроядерном тесте без метаболической активации генотоксичностью не обладает (табл. 7).

В результате проведения микроядерного анализа сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* в условиях *in vitro* с метаболической активацией фракцией S9 в культуре клеток L5178Y было установлено, что и после метаболической активации изучаемого фитоэкстракта исследование его мутагенного потенциала дало также отрицательный результат (табл. 8).

Таблица 7 – Результаты микроядерного анализа сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в условиях *in vitro* без метаболической активации в культуре клеток L5178Y

Исследуемое вещество	Концентрация	Среднее кол-во микроядер на 1000 клеток	P _F	P _S
Вода очищенная	0	0	-	-
Митомицин	0,1 мкг/мл	7,5±0,7	0,015*	0,04*
Сухой экстракт <i>Padus Grayanae Maxim</i>	0,039 мг/мл	0,7±0,5	1	0,5
	0,078 мг/мл	1±0	1	0,5
	0,156 мг/мл	0,5±0,7	1	0,5
	0,312 мг/мл	0,5±0,7	1	1
	0,625 мг/мл	0,5±0,7	1	1
	1,25 мг/мл	1±0	1	0,5

Примечание: * $p < 0,05$; P_F – значение p по Фишеру, P_S – значение p по Стьюденту.

Таблица 8 – Результаты микроядерного анализа сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в условиях *in vitro* с метаболической активацией фракцией S9 в культуре клеток L5178Y

Исследуемое вещество	Концентрация	Среднее кол-во микроядер на 1000 клеток	P _F	P _S
Вода очищенная	0	0	-	-
Циклофосфамид	10 мкг/мл	12,0±1,4	0,0004*	0,05**
Сухой экстракт <i>Padus Grayanae Maxim</i>	0,039 мг/мл	3,0±1,4	0,25	0,02
	0,078 мг/мл	3±0	0,25	1
	0,156 мг/мл	3,5±0,7	0,25	0,5
	0,312 мг/мл	1,5±0,7	1	0,1
	0,625 мг/мл	2,0±1,4	0,5	0,7

Примечание: * $p < 0,0001$; ** $p \leq 0,05$; P_F – значение p по Фишеру, P_S – значение p по Стьюденту.

Как видно из таблицы 8, исключение составила минимальная концентрация фитоэкстракта в 0,039 мг/мл. В результате проверки достоверности полученных результатов критериям Фишера и Стьюдента, последний показал достоверность с $p = 0,02$. Принимая во внимание результаты проверки результатов критерием Фишера со значением $p = 0,25$, можно с определенной уверенностью утверждать, что мутагенная активность после метаболической активации изучаемого фитоэкстракта фракцией S9 отсутствует.

При этом в позитивном контроле с циклофосфамидом, известным алкилирующим ДНК-агентом, количество микроядер на 1000 проанализированных клеток составляет 12, что статистически достоверно отличается, как от негативного контроля, так и опытных образцов изучаемого фитоэкстракта.

Таким образом, результаты изучения мутагенной активности фитоэкстракта микроядерным тестом на культуре клеток L5178Y как в условиях метаболической активации цитохромами микросомальной фракции печени крыс, так и без таковой, позволяют сделать заключение об отсутствии способности сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* вызывать нарушения в хромосомном аппарате клеток.

Глава 6. «Изучение фармакологической активности сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*». Изучение специфической активности сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* проводили в двух направлениях. *Первое направление* включало оценку влияния сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на неспецифическую резистентность у 40 мышей на инфекционной модели. Сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* в этой серии опытов вводили экспериментальным животным по профилактической схеме. *Второе направление* исследований - сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* применяли в терапии стафилококковой генерализованной инфекции у 40 мышей, вызванной клиническим изолятом *Staphylococcus aureus*. При этом изучался лечебный противовоспалительный эффект на септической модели.

*Оценка влияния сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на неспецифическую резистентность у мышей.* На первой стадии эксперимента животным всех 4-х групп в течение трёх суток внутрижелудочно однократно с помощью металлической иглы с оливой вводили изучаемый фитоэкстракт в дозах – 10 мг/кг, 100 мг/кг и 200 мг/кг. На второй стадии эксперимента (на 4-е сутки) мышей заражали клиническим вирулентным изолятом *Staphylococcus aureus* в дозе $1,5 \times 10^9$ КОЕ/ на особь путем введения внутривентрально взвеси изолята в стерильной воде в объеме 0,2 мл. Далее за животными наблюдали в течение 10 дней: отмечали смертность, динамику массы тела и клинические признаки развития стафилококковой инфекции.

Анализ результатов наблюдения показал, что на вторые сутки после заражения у животных контрольной группы, а также у животных, получавших изучаемый фитоэкстракт в дозах доз 10 мг/кг и 100 мг/кг, отмечалась ярко-выраженная картина развития инфекционного процесса. Уже через 3-4 часа после заражения животные становились малоподвижными, отказывались от еды, сбивались в кучу, большую часть суток спали, шерсть становилась сероватой и взъерошенной. На 2-6 сутки эксперимента отмечалась гибель животных (табл. 9).

В группе мышей, получавших 200 мг/кг исследуемого фитоэкстракта, также наблюдался падеж, однако клинические признаки инфекции были выраженными гораздо в меньшей степени: мыши плохо поедали корм, были малоподвижны, много спали.

Таблица 9 – Влияние сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* на течение стафилококковой инфекции у мышей при введении по профилактической схеме (n=10)

Группа	Сутки наблюдения									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Контроль	0/10	3/10	4/10	3/10	-	-	-	-	-	-
10 мг/кг	0/10	2/10	3/10	4/10	1/10	-	-	-	-	-
100 мг/кг	0/10	1/10	3/10	3/10	2/10	1/10	-	-	-	-
200 мг/кг	0/10	0	1/10	2/10	1/10	-	-	-	-	-

Исследуемый фитоэкстракт в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг не оказал существенного влияния на смертность экспериментальных животных. К концу 5 суток все животные этих групп погибли. Хотя результаты клинического наблюдения выявили у животных этих групп более сглаженные симптомы развития стафилококковой инфекции.

В группе животных, получавших сухой экстракт *Radus Grayanae Maxim* в дозе 200 мг/кг массы смертность мышей была снижена на 60 % по сравнению с контрольной группой (рис. 3).

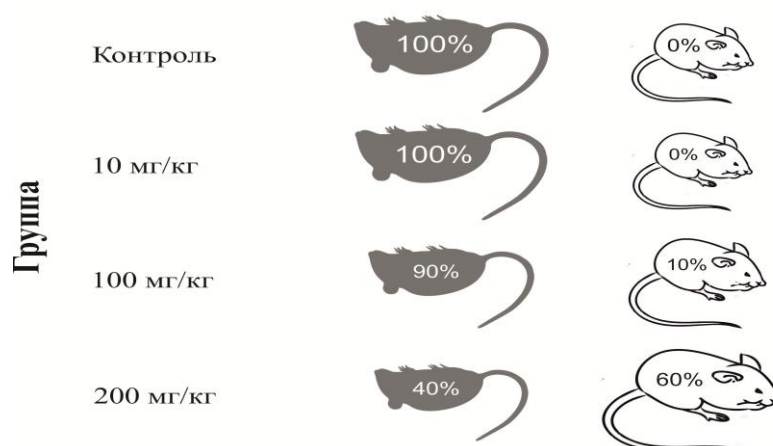


Рис. 3. Смертность мышей при стафилококковой инфекции при введении сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* по профилактической схеме (n=10)

Из представленных в таблице 10 данных видно, что в контрольной и 1-й группе к концу 4 суток все животные погибли. Снижение массы тела мышей в группе животных, получавших изучаемый фитоэкстракт в дозе 100 мг/кг, на 5 сутки наблюдения после заражения было катастрофическим и составило более 30% от исходных значений. К 7 дню в этой группе выжила только одна мышь. Исходя из принципов гуманности, в тот же день она была умерщвлена цервикальной дислокацией.

В группе животных, получавших изучаемый фитоэкстракт в дозе 200 мг/кг, снижение массы тела мышей на 5 сутки наблюдения после заражения составляло около 21% от исходных значений. На 10 сутки наблюдения у 6 выживших мышей уже наблюдалось увеличение массы тела с $15,9 \pm 1,9$ г до $17,2 \pm 2,2$ г, хотя и не достигающее исходных значений.

Таблица 10. – Динамика массы тела мышей со стафилококковой инфекцией при введении сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* по профилактической схеме (n=10)

Группа	Сутки наблюдения			
	За 3 суток до заражения	В день заражения	5	10
Контроль	20,1±1,2	20,2±1,1	-	-
10 мг/кг	19,8±0,9	19,5±1,2	-	-
100 мг/кг	20,8±1,3	20,2±0,8	14,4±2,1	-
200 мг/кг	20,3±1,4	20,5±1,2	15,9±1,9	17,2±2,2

Полученные результаты позволяют заключить, что профилактическое введение экспериментальным животным сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* в дозе 200мг/кг массы привело к снижению смертности на 60% и облегчению клинических симптомов течения стафилококковой инфекции у мышей, что и явилось обоснованием для продолжения исследования терапевтической активности изучаемого фитоэкстракта.

Оценка противовоспалительной активности сухого экстракта Radus Grayanae Maxim при стафилококковой генерализованной инфекции у мышей.

Одной из удобных и хорошо изученных экспериментальных моделей патологических состояний является бактериемия у мышей, вызванная внутривенным введением вирулентного штамма *S. aureus*. При использовании этой модельной патологии у экспериментальных животных наблюдается широкий спектр реакций и клинических признаков. Определенный прогностический интерес представляют лейкоцитоз или лейкопения, а также выработка провоспалительных цитокинов – ФНО- α , ИЛ-6, С-реактивный белок [De Oliveira T.H.C.,2015]. Перед началом основного эксперимента предварительно была установлена заражающая доза *S. aureus* в концентрации 12×10^9 КОЕ/мл, которая вызывала гибель 90 % мышей к 7 суткам с момента заражения. В серии экспериментов по изучению влияния фитоэкстракта на течение стафилококковой инфекции при применении его по лечебной схеме были использованы 40 аутбредных белых мышей. Заражение животных производили однократным введением мышам в хвостовую вену 0,2 мл взвеси золотистого стафилококка в 0,9 % стерильном растворе хлористого натрия.

Эффективность воспроизведения инфекционного процесса у экспериментальных животных была подтверждена наличием клинических симптомов и достоверным снижением массы тела мышей в 1,2 раза через 3 суток после заражения. На 4 сутки после развития генерализованной стафилококковой инфекции мышам было начато введение раствора сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* в дозах 20 мг/кг и 200 мг/кг в течение 7 дней.

Контролем служили зараженные, но нелеченые животные. Заражённые и нелеченые животные стали погибать уже на 3 сутки эксперимента.

К 7 дню наблюдения все животные в этой группе погибли. При этом в группах животных, получавших изучаемых фитоэкстракт, смертность снизилась, а продолжительность жизни увеличилась. Так, в группе животных, получавших фитоэкстракт в дозе 20 мг/кг, к 7 дню эксперимента смертность достигла 40%. У мышей получавших раствор сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* по лечебной схеме в дозе 200 мг/кг массы уровень выживаемости мышей к 7 дню эксперимента составил уже 80 % (рис. 4).

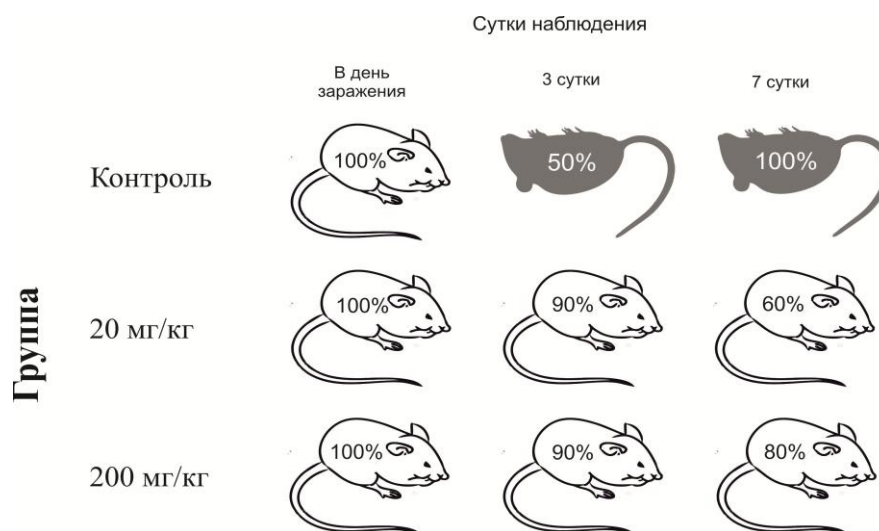


Рис. 4. Выживаемость мышей при стафилококковой инфекции при введении сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* по лечебной схеме (n=10)

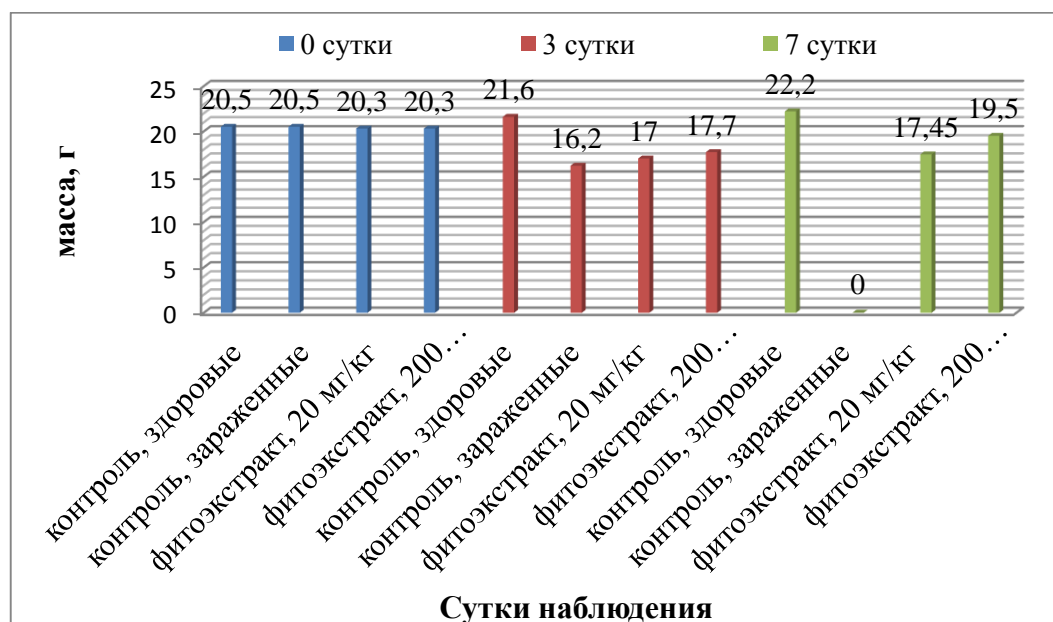


Рис. 5. Динамика массы тела мышей со стафилококковой инфекцией при введении сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* по лечебной схеме (n=10)

Как видно на рисунке 5, после заражения мышей масса их тела стала стремительно снижаться. Ухудшался аппетит, животные отказывались от корма и воды.

Масса тела мышей к 3 дню во всех группах зараженных животных была достоверно ниже, чем у здоровых животных.

К 7 дню терапии изучаемым фитоэкстрактом, у мышей, получавших изучаемое вещество в дозе 20 мг/кг масса тела увеличилась на 18,8%, а в группе животных, получавших сухой экстракта *Padus Grayanae Maxim* в дозе 200 мг/кг наблюдалось достоверное увеличение массы тела. Следовательно, изучение динамики массы тела мышей выявило прямую зависимость массы тела от применяющейся дозы сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*.

Гематологические изменения при септических инфекциях имеют большое прогностическое значение. Лейкоцитоз (более $12 \times 10^9/\text{л}$) или лейкопения (менее $4 \times 10^9/\text{л}$) с нейтрофилезом являются одним из критериев синдрома системной воспалительной реакции организма (systemic inflammatory response syndrome, SIRS).

После введения зараженным животным сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в дозе 20 мг/кг у самок наблюдался моноцитоз и тромбоцитопения. Однако другие показатели не имели существенных отличий от показателей животных контрольной группы (табл. 11).

Таблица 11 – Гематологические показатели мышей - самок с воспроизведенной стафилококковой инфекцией после введения раствора сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в течение 7 суток

Показатель	Здоровые (n=10)	Сухой экстракт <i>Padus Grayanae Maxim</i> , 20 мг/кг(n=10)	Сухой экстракт <i>Padus Grayanae Maxim</i> , 200 мг/кг(n=10)
Эритроциты	10,2±1,3	8,4±0,1	10,5±1,3
Лейкоциты	4,5±1,4	8,45±1,8	5,5±0,8
Лимфоциты	3,7±1,5	5,5±0,4	4,6±0,6
Гранулоциты	2,2±0,6	1,45±0,40	1,6±0,5
Моноциты	1,05±0,40	2,6±0,1**	1,0±0,4
Тромбоциты	1041,0±59,0	552,5±137,9*	965,5±138,0

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Напротив, у самцов было отмечено достоверное увеличение количества лейкоцитов ($p < 0,01$), но без сдвига лейкоцитарной формы влево или вправо. Это говорит о том, что период острой фазы развития инфекционного процесса прошел, и наблюдается формирование защитной реакции организма, направленной на нейтрализацию микроба, а также восстановление гомеостаза.

У зараженных животных, получавших в течение 7 суток сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* в дозе 200 мг/кг по лечебной схеме, все гематологические показатели приходили к значениям, не отличающимся от показателей животных контрольной группы (табл. 12).

Нормализация количества лейкоцитов и восстановление уровня тромбоцитов у зараженных животных, получавших изучаемый фитоэкстракт в

дозе 200 мг/кг, является важнейшим позитивным признаком при синдроме системной воспалительной реакции, когда наблюдается дисфункция многих органов и систем организма.

Таблица 12 – Гематологические показатели мышей - самцов с воспроизведенной стафилококковой инфекцией после введения раствора сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в течение 7 суток

Показатель	Здоровые (n=10)	Сухой экстракт <i>Padus Grayanae Maxim</i> , 20 мг/кг (n=10)	Сухой экстракт <i>Padus Grayanae Maxim</i> , 200 мг/кг (n=10)
Эритроциты	10,58±1,0	9,05±1,6	10,4±1,7
Лейкоциты	4,52±1,3	12,2±0,4**	4,9±1,2
Лимфоциты	2,82±1,0	5,3±0,8	5,0±1,6
Гранулоциты	2,86±0,6	1,85±0,60	1,9±0,7
Моноциты	1,18±0,4	2,45±0,4	1,4±0,3
Тромбоциты	1005,4±110,0	654,0±185,3	892,3±117,8

Примечание: ** p<0,01

Полученные результаты согласуются с имеющимся литературными данными, согласно которым многие полифенольные соединения, содержащиеся в фитоэкстрактах, обладают выраженной противовоспалительной и иммуностимулирующей активностью. Они подавляют секрецию провоспалительных цитокинов IL-1, TNF-α и усиливают фагоцитоз [Tang N.Y., 2006; Nair, M. P., 2006].

Некропсия животных, проведенная на 8 сутки течения эксперимента, показала сохранение очагов инфекционного процесса в легких и почках во всех группах зараженных животных. При этом наименее выраженными эти очаги были у животных, получавших изучаемый фитоэкстракт в дозе 200 мг/кг.

Таким образом, сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* дозозависимо подавляет гипертрофическую реакцию при септической стафилококковой инфекции у экспериментальных животных, при введении его по лечебной схеме увеличивает выживаемость мышей до 80 % и нормализует показатели периферической крови.

На экспериментальной септической модели у мышей, индуцированной клиническим изолятом *Staphylococcus aureus*, установлено, что сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* обладает иммуномодулирующим действием.

Нами изучалось влияние сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на способность индуцировать ИФН-γ и противовоспалительного цитокина IL-4 мононуклеарными клетками человека (МНК). В таблице 13 представлены результаты определения продукции цитокинов в супернатантах МНК крови *in vitro*, как без стимуляции, так и со стимуляцией, что обеспечивает надежную оценку способности клеток продуцировать цитокины. Для этого был

использован универсальный Т-клеточный индуктор конканавалин А (КонаА) в концентрации 5 мкг/мл. Результаты исследований показали, что под воздействием сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на МНК *in vitro* не наблюдается увеличения продукции ни ИЛ-4, ни ИФН- γ .

Таблица 13 – Продукция цитокинов под воздействием сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в течение 24 часов *in vitro*

Концентрация сухого экстракта <i>Padus Grayanae Maxim</i> , мг/мл	Концентрация цитокинов, пг/мл			
	ИФН- γ		ИЛ-4	
	Кона «-»	Кона «+»	Кона «-»	Кона «+»
Контроль	9,4±2,5	7,4±5,4	2,8±0,8	5,7±0,8
0,625	7,8±1,6	8,7±2,9	3,6±1,2	6,0±1,2
0,312	13,1±2,6	14,1±1,9	4,3±2,9	6,3±1,5
0,156	10,3±0,8	9,5±0,8	5,1±2,5	4,5±1,7
0,078	-	10,1±2,1	4,5±2,5	5,9±1,5

Это согласуется с литературными данными, что некоторые флавоноиды, например, кверцетин, подавляют продукцию ИЛ-4 [Nair M.P., 2002].

Таким образом, можно утверждать, что сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* не влияет на баланс провоспалительного/противовоспалительного иммунитета. Отсутствие индукции ИЛ-4 является хорошим прогностическим признаком, так как ИЛ-4 активирует не только В-клетки, но и повышает уровень продукции IgE. Кроме того, он обладает антиапоптотическим свойством и является фактором выживания опухолевых клеток. Хотя плеiotропный эффект ИЛ-4 не позволяет однозначно трактовать полученные результаты в сторону ингибирования продукции ИЛ-4 [Hougee S., 2005].

Следует принять во внимание, что противовоспалительный эффект флавоноидов может также достигаться за счёт ингибирования продукции МНК провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 β , ИЛ-8, TNF- α [Oh Y.C., 2009; Yamanaка A., 2004]. Известно, что ИЛ-1 β является индуцибельным цитокином и в нестимулированных нейтрофилах ни mRNA ИЛ-1 β , ни внутриклеточный белок ИЛ-1 β не определяются. При этом основными индукторами синтеза ИЛ-1 β являются компоненты клеточных стенок бактерий, в частности, LPS.

Как видно из данных таблицы 14, сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* в концентрациях от 0,312 мг/мл до 0,039 мг/мл статистически значимо ($p < 0,05$) ингибирует продукцию симулированными МНК ключевого провоспалительного цитокина – ИЛ-1 β . Как и ИЛ-1, TNF- α играет ведущую роль в иммунном ответе и патогенезе заболеваний различной этиологии, включая аутоиммунные процессы [Postal. M., 2011; Dinarello, C.A. 2000]. Эти оба цитокина индуцируют продукцию адгезивных молекул эндотелия сосудистой стенки. В результате запускается каскад реакций, приводящих к изменению проницаемости микрососудов, продукции других цитокинов, транспорта

веществ, высвобождается внутриклеточный кальций и повышается активность НАДН-оксидазы, что приводит к окислительному «взрыву». В результате между IL-1 и TNF- α проявляется синергетический эффект [Wang J., 2002].

Таблица 14 – Влияние сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на индукцию IL-1 β МНК в течение 24 часов *in vitro*

Концентрация сухого экстракта <i>Padus Grayanae Maxim</i> , мг/мл	Концентрация IL-1 β , пг/мл
Контроль (вода)	80,5 \pm 25,1
Контроль (только LPS – 0,005)	952,5 \pm 70,3
0,625	640,8 \pm 68,8
0,312	561,3 \pm 42,1*
0,156	515,0 \pm 34,3*
0,078	421,2 \pm 85,2*
0,039	489,5 \pm 68,7*

Примечание: * $p < 0,05$ против контроля

В экспериментальных моделях по изучению роли TNF- α в повреждающей активности клеток печени используют лектин КонаА, который стимулирует пролиферацию макрофагов, Т- и В-лимфоцитов [Herath Н.М., 2003]. В следующей серии опытов для стимуляции продукции TNF- α использовался LPS. Сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* добавляли в различных концентрациях к активированным МНК человека, инкубировали с LPS в течение 24 и 48 часов и иммуноферментным анализом (ИФА) определяли содержание TNF- α в супернатанте (рис. 6).

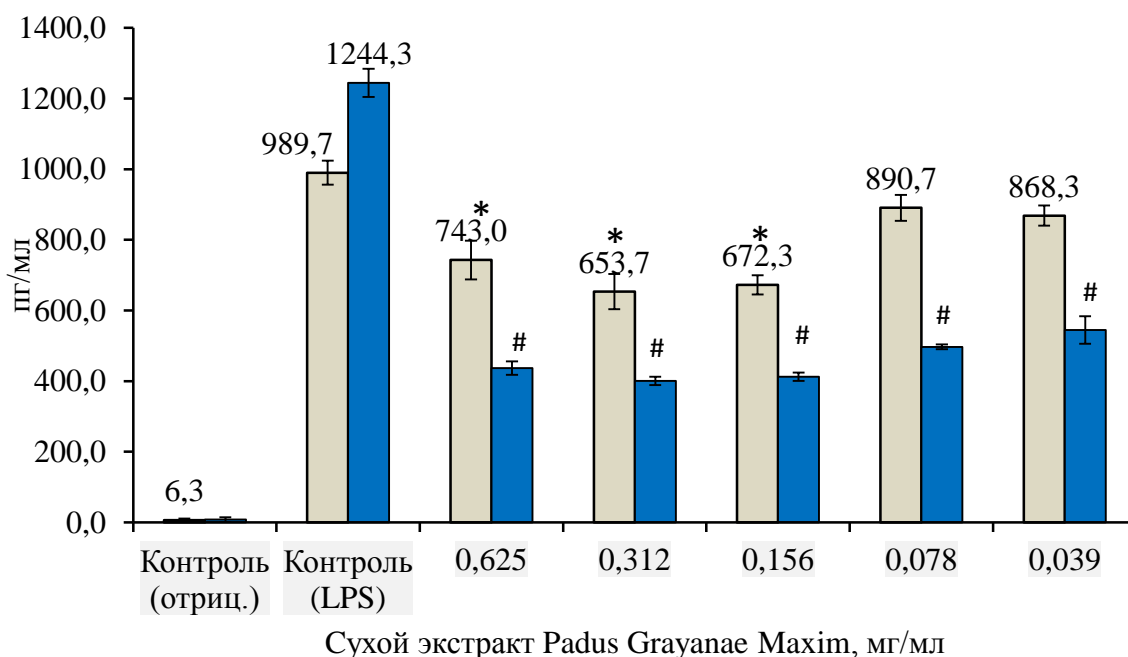


Рис. 6 – Ингибирование продукции TNF- α под воздействием сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* в течение 24 и 48 часов

Примечание: * $p < 0,05$ против контроля с LPS – 24 ч, # $p < 0,05$ против контроля с LPS – 48 ч

В этой серии экспериментов было выявлено, что сухой экстракт *Radus Grayanae Maxim* ингибирует индукцию TNF- α под действием LPS на МНК в концентрациях от 625 мг/мл до 0,156 мг/мл при воздействии в течение 24 часов ($p < 0,05$). Кроме того, установлено, что увеличение времени обработки изучаемым фитоэкстрактом МНК до 48 часов, приводит к росту его ингибирующей активности ($p < 0,05$).

Согласно литературным данным, природные полифенолы, антоцианы и флавоноиды обладают различной активностью в отношении TNF- α – некоторые ингибируют, а некоторые стимулируют продукцию этого цитокина [Hwang S.J., 2014]. Одним из важнейших компонентов полифенольной фракции фитоэкстрактов является хлорогеновая кислота, которая дозозависимо снижает продукцию IL-1 β и TNF- α в модели макрофагов мышей при стимуляции LPS [Sak K., 2014].

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований в условиях *in vitro*, удалось установить отсутствие активации ИФН- γ и подавление продукции IL-1 β и TNF- α стимулированных МНК липополисахаридом грамотрицательных бактерий, как основных факторов воспалительного процесса, что прямо указывает на противовоспалительную активность сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim*.

Изучение противоопухолевой активности сухого экстракта Radus Grayanae Maxim in vitro проводили на культуре MDCK (эпителиальные клетки почки собаки), а также на следующих опухолевых клеточных линиях: HeLa (цервикальная аденокарцинома человека), AGS (аденокарцинома желудка), RD (рабдомиосаркома мышей), HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома человека) и MiaPaCa2 (панкреатическая карцинома человека).

Все культуры опухолевых клеток были получены из Американской коллекции типированных культур (АТСС). Условия культивирования соответствовали рекомендациям АТСС для каждой культуры отдельно. Перед началом эксперимента каждую культуру проверяли на жизнеспособность трипановым синим. Во всех экспериментах использовали суспензию опухолевых клеток с процентом жизнеспособности более 90 %.

Доксорубин в наших исследованиях выступал в качестве позитивного контрольного препарата. Однако сравнивать противоопухолевую активность изучаемого фитоэкстракта с ним было бы не вполне корректно, так как эти вещества имеют различную химическую природу, и, по всей видимости, различные механизмы действия. Важно отметить, что все линии опухолевых клеток проявили схожую однонаправленную чувствительность к обоим веществам. Средние цитотоксические концентрации для сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* и позитивного контрольного препарата - доксорубина представлены в таблице 15.

Таблица 15 – ЦТК₅₀ для сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* и доксорубицина для культур различных опухолевых клеток

Клеточная линия	Сухой экстракт <i>Padus Grayanae Maxim</i> (мг/мл)	Доксорубицин (мг/мл)
MDCK	2,20±0,08	0,103±0,012
HeLa	0,55±0,10	0,006±0,001
AGS	0,65±0,06	0,0004±0,0001
RD	0,50±0,10	0,0048±0,0015
НерG2	2,06±0,10*	0,006±0,002
MiaPaCa2	0,51±0,07	0,0028±0,0011

Примечание: * $p < 0,05$ против клеток AGS

Установлено, что сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* специфически и эффективно подавляет пролиферацию опухолевых клеток цервикальной аденокарциномы человека, аденокарциномы желудка, панкреатической карциномы человека и рабдомиосаркомы мышей в концентрациях 0,50 – 0,65 мг/мл, что статистически достоверно ниже, чем ЦТК₅₀ для нормальных клеток MDCK в 3,4 раза.

Изучение антиоксидантной активности сухого экстракта Padus Grayanae Maxim in vitro определяли по значению величины IC₅₀ (концентрация экстракта, при которой PI=50%, при данной начальной концентрации радикала DPPH и фиксированном соотношении объемов разведенных растворов). В качестве препарата сравнения использовали разрешенный к медицинскому применению ЛП растительный иммуностимулятор Иммунал, 1 мл которого содержит 0,8 мл сока, полученного из свежесобранной травы эхинацеи пурпурной. К 0,5 мл фитопрепарата *Echinaseae purpurea* добавили 4,5 мл 70% этанола для получения исходного раствора. Далее тестируемые образцы разбавляли в соотношении 1:10, 1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100 для определения значения величины IC₅₀.

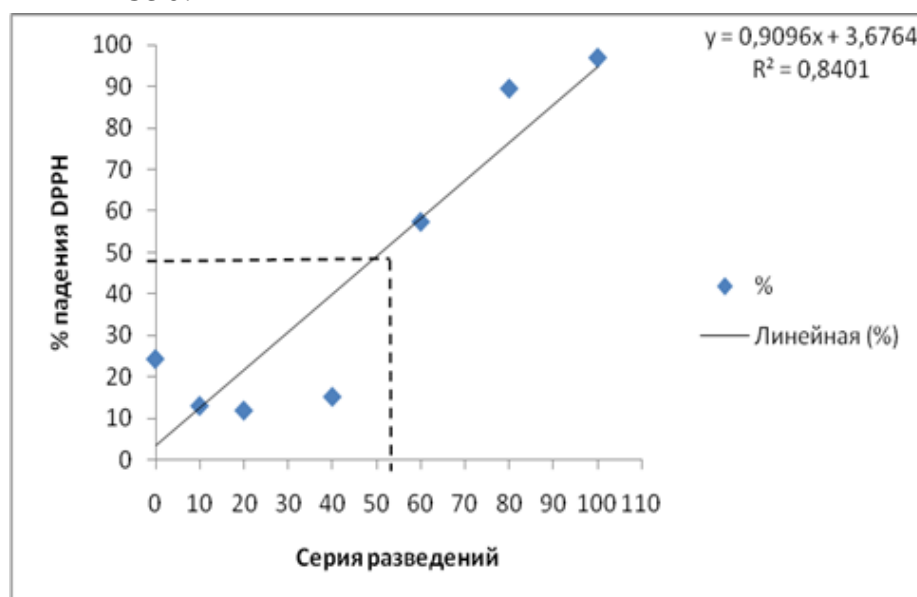


Рис. 7. Среднее значение IC₅₀^{DPPH} для сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*

Полученные данные позволили установить, что средняя антиоксидантная активность сухого экстракта *Padus Grayne Maxim* равна $IC_{50} DPPH = 51,2$ мкг/мл.

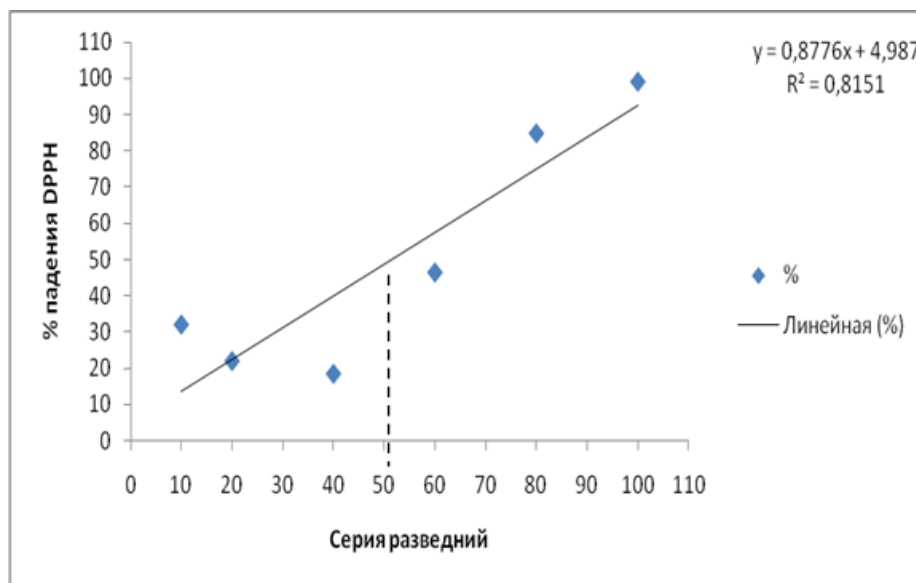


Рис. 8. Среднее значение IC_{50}^{DPPH} для фитопрепарата Иммунал

Как видно из представленных данных, средняя антиоксидантная активность растительного иммуностимулятора Иммунал равна $IC_{50} DPPH = 52,33$ мкг/мл.

Таким образом, результаты экспериментов в условиях *in vitro* с использованием метода DPPH показали, что средние значения IC_{50}^{DPPH} фитопрепарата Эхинацеи пурпурной (Иммунал) и сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* сопоставимы и существенных отличий не имеют. Оба изучаемых фитоэкстракта обладают умеренно выраженными антиоксидантными свойствами.

Глава 7. «Разработка твердых лекарственных форм сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* и их стандартизация. Для получения твердой лекарственной формы с сухим экстрактом из надземных частей *Padus Grayanae Maxim* использована технология получения таблеток методом прямого прессования с использованием вспомогательных веществ, специально разработанных для прямого прессования.

Ингредиенты:

1. *Padus Grayanae Maxim* экстракт сухой - сыпучий порошок светло-желтого, желтого или светло-коричневого цвета со слабым специфическим запахом.
2. *Super Tab 30 GR* – гранулированный лактозы моногидрат, наполнитель. Соответствует требованиям Фармакопеи США – Национального Формуляра, Европейской фармакопеи и Японской фармакопеи. Производитель - DMV-Fonterra Excipients GmbH & Co.KG, Nörten Hardenberg, Германия.

3. *Pharmacel 102* – микрокристаллическая целлюлоза, наполнитель. Соответствует требованиям Фармакопеи США – Национального Формуляра, Европейской фармакопеи и Японской фармакопеи. Производитель - DMV-Fonterra Excipients GmbH & Co.KG, Nörten Hardenberg, Германия.
4. *Aerosil 200* – кремния диоксид коллоидный, гидрофильный высокодисперсный, (50-60 г/л), глидант. Соответствует требованиям Фармакопеи США – Национального Формуляра и Европейской фармакопеи. Производитель - Evonik Degussa GmbH, Германия.
5. *Магния стеарат*, смазывающее. Соответствует требованиям Европейской фармакопеи. Производитель – Vega Pharma Limited, КНР.

Отвешивание активного вещества и вспомогательных веществ производилось в отдельные чашечки из полимерного материала на аналитических весах A&D GR202 d=0.01/0.1mg, максимальная нагрузка на весы 210 г (Япония). Условия окружающей среды в помещении весовой: температура - 21°C, относительная влажность - 65-70%. Дополнительного измельчения и просеивания ингредиенты не требуют.

Смешивание. Около половины отвешенного количества лактозы моногидрата (Super Tab 30GR) помещали в чистый полиэтиленовый пакет (с примерной вместимостью до 5 кг), добавляли отвешенное количество Radus Graupae Maxim экстракта сухого. Затем производили ручное смешивание в течение 5-7 минут, предварительно плотно закрыв полиэтиленовый пакет. Затем в пакет со смесью добавляли оставшееся количество лактозы моногидрата, отвешенные количества микрокристаллической целлюлозы (Pharmacel 102) и кремния диоксида (Aerosil 200) и повторно производили ручное смешивание в течение 7-10 минут. Далее к полученной смеси добавляли отвешенное количество магния стеарата и вновь производили смешивание в течение 3-4 минут. Учитывая то, что данная смесь приготовлена с использованием специальных вспомогательных веществ, предназначенных для прямого прессования, влажная грануляция не требуется.

Прессование. Полученная смесь загружалась в бункер роторного таблет-пресса ZP1100 (КНР), предварительно подготовленного и оснащенного пуансонами и матрицами для прессования таблеток диаметром 9 мм. Пуансоны плоские, с краями для фаски, верхние пуансоны имеют выпуклую линию для риски на таблетках. Прессование таблеток производилось под давлением 3,8 тонн. Давление предварительного прессования – 0,8-1,0 тонн. На первых 100-200 таблетках произведена регулировка глубины заполнения матриц таким образом, чтобы получились таблетки со средней массой 300 мг. После полной регулировки таблет-пресса осуществлен процесс таблетирования и получены плоскоцилиндрические таблетки с риской с одной стороны и фаской, бежевого цвета с вкраплениями от светло-коричневого до коричневого цвета. Далее

производилось обеспыливание полученных таблеток путем пропускания через специальное устройство «обеспыливатель таблеток» (TEDD02, КНР). Полученные таблетки помещались в полиэтиленовые пакеты, которые плотно закрыты и вложены в коробку.

Оценка качества полученных таблеток с сухим экстрактом *Radus Graynae Maxim* проводилась по следующим показателям: внешний вид; подлинность; средняя масса; прочность на истирание; распадаемость; растворение; количественное содержание БАВ; микробиологическая чистота (после упаковывания таблеток).

Описание. Плоскоцилиндрические таблетки с риской с одной стороны и фаской, бежевого цвета с вкраплениями от светло-коричневого до коричневого цвета.

Подлинность. Подлинность полученных таблеток оценивали путем сравнения времени удерживания основных пиков хлорогеновой и кофейной кислот на хроматограммах раствора испытуемого препарата и растворов стандартных образцов с использованием метода ВЭЖХ.

Примечание: Подлинность препарата устанавливается в одном испытании одновременно с количественным определением биологически активных веществ (хлорогеновой и кофейной кислот). Методика проведения испытания на подлинность описана в разделе «количественное определение».

Средняя масса. Для определения средней массы таблеток использовались аналитические весы A&D GR202 d=0.01/0.1mg, максимальная нагрузка на весы 210 г (Япония). Средняя масса таблеток 300 мг. Фактическое отклонение от средней массы таблеток составляет $\pm 2,5$ %, что входит в пределы (± 5 %), установленные Европейской Фармакопеей шестого издания (2007-2010).

Прочность на истирание полученных таблеток исследовалась в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи шестого издания (2007-2010) в приборе для определения истираемости таблеток (TAR20, ERWEKA, Германия). Истираемость полученных таблеток составила 0,6 % что соответствует установленным Европейской Фармакопеей пределам (не более 1,0 %).

Распадаемость полученных таблеток изучалась в соответствии с требованиями ГФ X (1968) в приборе для определения распадаемости таблеток (ZT31, ERWEKA, Германия). Распадаемость полученных таблеток составила $6 \pm 0,2$ минут, что соответствует установленным в ГФ X пределам (не более 15 мин).

Изучение растворимости полученных таблеток проводилось в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи шестого издания (2007-2010) в приборе для определения растворимости таблеток (LID 6D, Vanguard Pharmaceutical Machinery, LLC, США, прибор 2 «Лопастная мешалка»).

Растворимость таблеток оценивалась по содержанию в одной таблетке биологически активного вещества – хлорогеновой кислоты, перешедшей в раствор.

Среда растворения – ацетатный буферный раствор с рН 4,5, объем среды растворения – 500 мл, скорость вращения корзинки – 50 об/мин, время растворения – 45 мин. В каждый сосуд помещали по одной таблетке.

Испытуемый раствор. Через 45 мин отбирали 50 мл из центра сосуда для растворения, фильтровали через мембранный фильтр (0,22 μm), отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

Стандартный раствор хлорогеновой кислоты. 5,0 мг (точная навеска) хлорогеновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл подвижной фазы. Обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 10 минут. Доводят объем раствора до метки 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты и перемешивают. 2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводят до метки подвижной фазой. Фильтруют через мембранный фильтр (0,22 μm). Определение проводят методом ВЭЖХ.

Количество хлорогеновой кислоты, перешедший в раствор через 45 мин, должно быть не менее 75% от заявленного содержания хлорогеновой кислоты в одной таблетке.

Количественное содержание БАВ действующих веществ в препарате оценивалось методом ВЭЖХ по двум биологически активным веществам, содержащимся в активной субстанции: хлорогеновой и кофейной кислот.

Содержание хлорогеновой и кофейной кислот в одной таблетке не менее 0,15 мг и 0,01 мг соответственно.

Микробиологическая чистота. Испытания на микробиологическую чистоту показали, что полученные таблетки соответствуют требованиям ГФ РФ XII, Часть 1, с. 160.

Упаковка. После проведения оценки качества, таблетки упакованы по 10 таблеток в контурную ячейковую упаковку (блистер), состоящую из фольги алюминиевой толщиной 20 микрон, (покрытой термолаком со стороны, подлежащей термосвариванию, с печатью с другой стороны) и поливинилхлоридной (ПВХ) пленки толщиной 250 микрон. По 5 блистеров помещены в индивидуальную коробку из картона для потребительской тары по ГОСТ 7933-89.

Маркировка. На первичной упаковке указаны: название препарата, доза, лекарственная форма, номер серии (лабораторная). На коробке индивидуальной указаны: название препарата, доза, лекарственная форма, номер серии (лабораторная), название экспериментальной площадки, где проведены работы по технологии получения таблеток из сухого экстракта *Radus Grayanae maxim.*

Для получения *капсулированной формы* сухого экстракта *Radus Graynae Maxim* использовалась классическая технология путем наполнения твердых желатиновых капсул активным ингредиентом и подходящими вспомогательными веществами в качестве наполнителей и скользящих.

Ингредиенты:

- *сухой экстракт Radus Graynae Maxim* - порошок светло-желтого, желтого или светло-коричневого цвета со слабым специфическим запахом, гигроскопичен. Гигроскопичность стабилизирована с помощью лактозы моногидрата в соотношении 1 : 2.
- *лактозы моногидрат*, наполнитель. Соответствует требованиям европейской фармакопеи. Поставщик – Vega Pharma Limited, Китай.
- *pharmacel 102* – целлюлоза микрокристаллическая, наполнитель. Соответствует требованиям Фармакопеи США, Европейской фармакопеи и Японской фармакопеи. Производитель – DMV - Fonterra Excipients GmbH & Co.KG, Nörten Hardenberg, Германия.
- *магния стеарат*, смазывающее. Соответствует требованиям европейской фармакопеи. Поставщик – Vega Pharma Limited, Китай.

Подготовка активной субстанции и вспомогательных веществ

Отвешивание активного вещества и вспомогательных веществ произведено на аналитических весах производства A&D GR202 d=0.01/0.1mg, максимальная нагрузка на весы 210 г (Япония). Условия окружающей среды в помещении весовой: температура 18-22°C, относительная влажность 65-70%. Ингредиенты отвешены в отдельные чашечки из полимера.

Примечание: ингредиенты не требуют дополнительного измельчения и просеивания.

Смешивание ингредиентов проведено следующим образом: около половины отвешенного количества лактозы моногидрата помещено в чистый полиэтиленовый пакет (с примерной вместимостью до 5 кг), добавлено отвешенное количество сухого экстракта *Radus Grayanae maxim*. Затем произведено ручное смешивание в течение 5-7 мин, предварительно плотно закрыв полиэтиленовый пакет. Затем в пакет со смесью добавлено оставшееся количество лактозы моногидрата, отвешенные количества микрокристаллической целлюлозы (*Pharmacel 102*) и повторно произведено ручное смешивание в течение 7-10 минут. К полученной смеси добавлено отвешенное количество магния стеарата и произведено смешивание (опудривание) в течение 3-4 минут.

Наполнение капсул производилось на ручном капсуляторе. Твердые желатиновые капсулы размером №1 размещены в ручной капсулятор и через механические приемы (согласно инструкции по использованию ручного капсулятора) тела капсул расположены вертикально в ячейки капсулятора, с

открытым концом вверх таким образом, что верхняя часть капсул лежала в одном горизонте с поверхностью ручного капсулятора.

Полученная смесь по частям загружена в капсулятор и шпателем капсулятора аккуратно заполнена в открытые тела капсул. Затем, через механические процедуры крышки капсул закрыты. Процедура наполнения капсул повторена до тех пор, пока полностью не использовалась смесь ингредиентов для капсулирования. Проведено обеспыливание полученных капсул путем пропускания через специальное устройство «обеспыливатель капсул» марки TEDD02, КНР. Полученные наполненные твердые желатиновые капсулы помещены в полиэтиленовый пакет, плотно закрыть и вложить в коробку.

Оценка качества полученных капсул сухого экстракта *Padus Grayanae* *maxim* проведена по следующим показателям.

Описание. Твердые желатиновые капсулы № 1 цилиндрической формы с закругленными концами, белого цвета с красной крышкой. Содержимое капсул – порошок почти белого цвета с коричневыми и светло-коричневыми частицами.

Подлинность содержимого капсул проводили с использованием метода ВЭЖХ путем сравнения времени удерживания основных пиков хлорогеновой кислоты и кофейной кислоты на хроматограмме раствора испытуемого препарата и времени удерживания пиков хлорогеновой кислоты и кофейной кислоты на хроматограмме растворов стандартных образцов соответственно.

Примечание: Методика проведения испытания на подлинность описаны в разделе «количественное определение». Подлинность препарата устанавливается в одном испытании одновременно с количественным определением биологически активных веществ (хлорогеновой кислоты и кофейиновой кислоты).

Средняя масса содержимого капсул составила 250 мг. Фактическое отклонение от средней массы содержимого капсул составляет $\pm 3,36$ %, что входят в пределы (± 10 %), установленные Европейской фармакопеей седьмого издания (2007-2010). Средняя масса содержимого капсул определена путем индивидуального взвешивания 20 капсул, сначала наполненных, затем после удаления содержимого и вычислением массы содержимого как разницы двух взвешиваний.

Исследование распадаемости полученных капсул проведено в соответствии с требованиями Европейской фармакопеи седьмого издания (2007-2010) в приборе для определения распадаемости таблеток и капсул (ZT31, ERWEKA, Германия). Фактическая распадаемость полученных капсул составляет не более 10 минут, что входят в пределы норм, установленных в Европейской фармакопее VII издания (не более 30 мин).

Изучение растворимости полученных капсул проводилось в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи VII издания (2007-2010) в приборе для определения растворимости капсул (LID 6D, Vanguard Pharmaceutical Machinery, LLC, США, прибор 2 «Лопастная мешалка»). Растворение изучалось по содержанию в одной капсуле биологически активного вещества – хлорогеновой кислоты. Среда растворения – ацетатный буферный раствор с pH 4,5, объем среды растворения – 500 мл, скорость вращения корзинки – 50 об/мин, время растворения – 45 мин. В каждый сосуд помещают по одной капсуле.

Количество хлорогеновой кислоты, перешедший в раствор через 45 мин, должно быть не менее 75% от заявленного содержания хлорогеновой кислоты в одной капсуле.

Микробиологическая чистота - испытание проведено в соответствии с требованиями ГФ РФ XII.

- Общее число аэробных бактерий менее чем 10^4 в 1 г;
- Общее число грибов менее чем 10^2 в 1 г;
- Энтеробактерий и других грамотрицательных менее чем 10^2 в 1 г;
- *Escherichia coli*, *Salmonella* и *Staphylococcus* отсутствуют в 1 г препарате.

Количественное определение действующих веществ в препарате проведено методом ВЭЖХ по двум БАВ, содержащимся в активной субстанции: хлорогеновой и кофейной кислот. Содержание хлорогеновой и кофейной кислот в одной капсуле не менее 0,15 мг и 0,01 мг соответственно.

Упаковка. После проведения оценки качества, капсулы упакованы по 10 капсул в блистер, состоящей из фольги алюминиевой толщиной 20 микрон (покрытой термолаком со стороны, подлежащей термосвариванию, с печатью с другой стороны) и ПВХ (поливинилхлорид) пленки толщиной 250 микрон. По 5 блистеров помещены в индивидуальную коробку из картона для потребительской тары по ГОСТ 7933-89.

Маркировка. На первичной упаковке указаны: название препарата, доза, лекарственная форма, номер серии (лабораторная). На коробке индивидуальной указаны: название препарата, доза, лекарственная форма, номер серии (лабораторная), название экспериментальной площадки, где проведены работы по технологии получения капсул с экстрактом *Radus Grayanae Maxim*.

Для получения *гранул сухого экстракта Radus Grayanae Maxim* для *саше* использована технология влажной грануляции с использованием легколетучего растворителя для быстрой сушки гранулята при невысокой температуре.

Ингредиенты:

1. *Сухой экстракт Radus Grayanae Maxim*, полученной сублимационной сушкой этанолового (40%) жидкого экстракта *Radus Grayanae Maxim*, порошок светло-желтого, желтого или светло-коричневого цвета со слабым

специфическим запахом, гигроскопичен. Гигроскопичность стабилизирована с использованием лактозы моногидрата. Соотношение сухого экстракта и лактозы моногидрата 1:2, соответственно.

2. *Лактозы моногидрат, наполнитель.* Соответствует требованиям европейской и американской фармакопеи. Поставщик – Vega Pharma Limited, Китай.
3. *Сорбитол – наполнитель.* Соответствует требованиям европейской и американской фармакопеи. Поставщик – Vega Pharma Limited, Китай.
4. *Коллидон CL-M – дезинтегрант и стабилизатор.* Соответствует требованиям европейской и американской фармакопеи. Поставщик (производитель) – компания BASF, Германия.
5. *Аспартам – подсластитель.* Соответствует требованиям европейской фармакопеи. Поставщик – Panteley Toshev Ltd., Китай.
6. *Ароматизатор лимонный – ароматизатор.* Соответствует требованиям технического регламента ЕАЭС 021/2011 и FCC (Food Chemical Codex). Поставщик – ОсОО «Техника и Логистика», Кыргызстан.
7. *Натрия цитрат – корректор вкуса.* Соответствует требованиям европейской и американской фармакопеи. Поставщик – Vega Pharma Limited, Китай.
8. *Лимонная кислота (безводная) – регулятор кислотности.* Соответствует требованиям европейской и американской фармакопеи. Поставщик – Vega Pharma Limited, Китай.
9. *Коллидон 90 F – связующее.* Соответствует требованиям европейской и американской фармакопеи. Поставщик (производитель) – компания BASF, Германия.
10. *Этанол (спирт этиловый) – растворитель.* Соответствует требованиям европейской и американской фармакопеи. Поставщик – ОсОО «Аю», Кыргызстан.

Отвешивание активного вещества и вспомогательных веществ (за исключением сорбитола) производилось на аналитических весах (A&D GR202 d=0.01/0.1mg Япония). Условия окружающей среды в помещении весовой: температура 18-22°C, относительная влажность 65-70%. Ингредиенты отвешены в отдельные чашечки из полимера и полиэтиленовые пакеты. В мерный цилиндр отмерен 500 мл этанола 96%.

Примечание: ингредиенты не требуют дополнительного измельчения и просеивания.

Смешивание. Около 1/5 часть отвешенного количества сорбитола помещали в чистый полиэтиленовый пакет (с примерной вместимостью до 5 кг), далее были добавлены отвешенные количества всех ингредиентов, кроме коллидона 90 F и этанола. Затем произведено ручное смешивание в течение 7-10 минут, предварительно плотно закрыв полиэтиленовый пакет. Затем в пакет со смесью,

добавлено оставшееся количества сорбитола и повторно произведено ручное смешивание в течение 7-10 мин.

Грануляция. Подготовка увлажнителя. В емкость из нержавеющей стали вместимостью около 1000 мл вливали отмеренное количество этанола 96%, затем добавляли отвшенное количество коллидона 90 F и после смешивания получили раствор увлажнителя. *Влажная грануляция.* В емкость из нержавеющей стали вместимостью около 7 кг помещали смесь порошков, добавляли к ней $\frac{1}{2}$ часть увлажнителя и проводили грануляцию ручным смешиванием, предварительно надев стерильные перчатки. По мере смешивания порциями добавляли оставшуюся часть увлажнителя до тех пор, пока не получится влажная масса, которая хорошо комкается при сжатии, но не прилипает к рукам. Полученную влажную массу пропускали через сито из нержавеющей стали с размерами ячеек 1,5 мм.

Сушка гранулята. Полученные влажные гранулы помещали на противни из нержавеющей стали с толщиной слоя около 1 см и сушили при температуре 55°C до остаточной влажности 0,5%, периодически перемешивая. *Сухая грануляция.* Высушенные гранулы пропускали через сито из нержавеющей стали с размерами ячеек 0,8 мм и собирали в полиэтиленовый пакет для дальнейшей оценки качества и расфасовки.

Оценка качества полученных гранул сухого экстракта *Radus Graynae Maxim* проводилась по следующим показателям: описание (внешний вид содержимого саше); подлинность; средняя масса содержимого саше; количественное содержание хлорогеновой и кофейной кислот; микробиологическая чистота (после проведения первичной упаковки).

Описание. Содержимое саше – гранулы почти белого цвета с коричневыми и светло-коричневыми вкраплениями со слабым характерным запахом.

Подлинность гранул установлена путем сравнения времени удерживания основных пиков хлорогеновой и кофейной кислот на хроматограмме раствора испытуемого препарата и времени удерживания пиков хлорогеновой и кофейной кислот на хроматограмме растворов стандартных образцов соответственно с использованием метода ВЭЖХ.

Примечание: Методика проведения испытания на подлинность описаны в разделе «количественное определение». Подлинность препарата устанавливается в одном испытании одновременно с количественным определением биологически активных веществ (хлорогеновой и кофейной кислот).

Средняя масса содержимого саше определена путем индивидуального взвешивания содержимого 20 саше. Средняя масса содержимого одного составила саше 3,0 г. Фактическое отклонение от средней массы содержимого саше составляло $\pm 3,50$ % что входит в пределы ($\pm 7,5$ %), установленные Европейской фармакопеей седьмого издания (2007-2010).

Для определения средней массы содержимого саше использовались аналитические весы A&D GR202 d=0.01/0.1mg (Япония), максимальная нагрузка на весы 210 г.

Микробиологическая чистота. Испытанию на микробиологическую чистоту показали, что полученные гранулы соответствуют требованиям ГФ РФ XII, Часть 1, с. 160.

Количественное определение действующих веществ в препарате проводилось по двум БАВ, содержащихся в активной субстанции: хлорогеновой и кофейной кислот с использованием метода ВЭЖХ. Содержание хлорогеновой и кофейной кислот в одно саше не менее 0,15 мг и 0,01 мг соответственно.

Упаковка. После проведения оценки качества гранулы расфасованы по 3,0 г в саше, состоящее из трехслойного материала (бумага, фольга алюминиевая, полиэтиленовый слой для термосваривания). Стороны саше закрывали путем термического сваривания в аппарате для расфасовки порошков и гранул в саше.

По 10 саше помещали в индивидуальную коробку из картона для потребительской тары по ГОСТ 7933-89.

Маркировка. На первичной упаковке указаны: название препарата, доза, лекарственная форма, номер серии (лабораторная). На коробке индивидуальной указаны: название препарата, доза, лекарственная форма, номер серии (лабораторная), название экспериментальной площадки, где проведены работы по технологии получения гранул сухого экстракта *Radus Graynae Maxim* для приготовления раствора для приема внутрь.

ВЫВОДЫ

1. На фармацевтическом рынке КР наибольшую часть ассортимента иммуномодуляторов составляют группа «L03AX Иммуностимуляторы другие» – представленная 16 торговым наименованием ЛС, и группа «L03AB Интерфероны», представленная 6 торговыми наименованиями ЛС. В структуре поставок иммуномодуляторов лидирующую позицию занимает Россия (60,71%). Наиболее экономически доступные иммуномодуляторы на фармрынке Кыргызской Республики представлены твердыми лекарственными формами (53,57%).
2. Разработаны технологические параметры эффективного и экологически безопасного получения сухого экстракта из надземных частей *Radus Graynae maxim* с выходом сухой субстанции от 6 до 7% и регламентируемые показатели для его стандартизации согласно фармакопейным требованиям.

3. Установлен качественный и количественный состав БАВ сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*: аскорбиновая кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, рутин, кверцетин, олиго-, моно- и полисахариды, макро- и микроэлементы, разработаны и валидированы методики их определения для его стандартизации.
4. При изучении острой токсичности сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на мышах и крысах при внутрижелудочном пути введения не удалось установить средней смертельной дозы (ЛД₅₀), поскольку в максимальной дозе 2000 мг/кг не приводило к гибели животных, что позволяет отнести сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* к 5 классу токсичности по международной системе классификации токсичности веществ GHS.
5. Изучение хронической токсичности при введении фитоэкстракта *Padus Grayanae Maxim* в дозах 300, 600 и 900 мг/кг в течение 30 и 90 суток не выявило отрицательного влияния изучаемого фитоэкстракта на общее состояние, массу тела, показатели периферической крови, биохимические параметры сыворотки крови и морфологическую картину внутренних органов экспериментальных животных.
6. Установлено, что сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* дозозависимо подавляет гипервоспалительную реакцию при септической стафилококковой инфекции у экспериментальных животных, увеличивает выживаемость мышей до 80 % и нормализует показатели периферической крови. На экспериментальной септической модели у мышей, индуцированной клиническим изолятом *Staphylococcus aureus*, установлено, что сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* обладает иммуномодулирующим действием.
7. В исследованиях *in vitro* установлено отсутствие активации ИФН- γ и подавление продукции ИЛ-1 β и TNF- α стимулированных МНК липополисахаридом грамотрицательных бактерий, что прямо указывает на противовоспалительную активность сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*.
8. Установлено, что сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* в условиях *in vitro* обладает противоопухолевым действием в отношении линий опухолевых клеток аденокарциномы желудка человека, цервикальной аденокарциномы человека, панкреатической карциномы человека и рабдомиосаркомы мышей.
9. В условиях *in vitro* показано, что сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim* обладает умеренно выраженными антиоксидантными свойствами, сопоставимыми с фитопрепаратом Эхинацеи пурпурной (Иммунал).
10. Разработанные готовые твердые лекарственные формы с сухим экстрактом *Padus Grayanae Maxim* для перорального приема в форме таблеток, капсул и саше, соответствуют фармакопейным требованиям.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные о противовоспалительном, иммуномодулирующем и противоопухолевом действии сухого экстракта *Radus Grayanae Maxim* уточняют спектр фармакологической активности и механизм его действия, что позволяют рекомендовать дальнейшее изучение его клинической эффективности и безопасности в качестве иммуномодулирующего средства.

Разработанная технология и методы стандартизации твердых лекарственных форм сухого экстракта из надземных частей *Radus Grayanae Maxim* являются экспериментально-теоретическим обоснованием внедрения в производственный процесс для получения опытно-промышленных партий фитопрепарата *Radus Grayanae Maxim*.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Исмаилов, И.З. Разработка и применение иммуномодуляторов на современном этапе: проблемы и перспективы [Текст] / И.З. Исмаилов, А.З. Зурдинов, Т.С. Сабирова // Науч. журн. – 2017. – № 1 (14). – С. 83-87.
2. Исмаилов, И.З. Определение содержания флавоноидов и аскорбиновой кислоты в экстракте *Radus Grayanae Maxim* методом ВЭЖХ [Текст] / И.З. Исмаилов // Modern Science. – 2016. - № 9. – Р. 78 – 80.
3. Исмаилов, И.З. Изучение биологически активных веществ *Radus Grayanae Maxim* и их антиоксидантные свойства ВЭЖХ [Текст] / И.З. Исмаилов // Вестник науки и образования. – 2017. - № 4 (28). – С.105-109.
4. Исмаилов, И.З. Анализ количественного определения содержания моно-, олиго- и полисахаридов в сухом экстракте *Radus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов // Изв. Вузов. – Бишкек, 2017. - № 7. – С. 45-47.
5. Исмаилов, И.З. Острая токсичность карбоксиполиацетала [Текст] / И.З. Исмаилов, А.З. Зурдинов, А.А. Зурдинова // Известия ВУЗов. – 2006. - № 3-4. – С. 28-29.
6. Острая токсичность среднеокисленных производных целлюлозы [Текст] / И.З. Исмаилов, А.З. Зурдинов, А.А. Зурдинова // Наука и новые технологии. – 2006. - № 3-4. – С. 106-107.
7. Исмаилов, И.З. О новом фитопрепарате «ИММУНАЗ» [Текст] / И.З. Исмаилов, А.З. Зурдинов, А.А. Зурдинова // Вестник Авиценны.- Душанбе, 2006. – С. 206 - 211.
8. Исмаилов, И.З. Новый растительный иммуномодулятор [Текст] / И.З. Исмаилов, А.А. Зурдинова // Медицинские кадры XXI века. – 2007. - №1. – С. 33-35.
9. Исмаилов, И.З. Исследование содержания химических элементов в фитоэкстракте *Radus Grayana Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов // Междунар. журн. прикл. и фундам. исслед. – 2017. – № 7. – С. 117-120.

- 10.Исмаилов, И.З. Микробиологическая чистота как показатель качества сухого экстракта из надземных частей *Padus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов, А.А. Кравцов // Наука и образование сегодня. – 2017. – № 1 (12). – С. 94-99.
- 11.Исмаилов, И.З. Изучение острой токсичности сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов, А.З. Зурдинов // Изв. вузов. – Бишкек, 2017. – № 7. – С. 38-40.
- 12.Исмаилов, И.З. Изучение антиоксидантных свойств сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов, Т.С. Сабирова // Достижения науки и образования. – 2017. – № 1 (14). – С. 62-67.
- 13.Исмаилов, И.З. Разработка технологии получения таблеток из сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов // Наука и новые технологии. – Бишкек, 2017. – № 7. – С. 119-122.
- 14.Исмаилов, И.З. Анализ фармацевтического рынка иммуномодуляторов в Кыргызской Республике [Текст] / И.З. Исмаилов, А.З. Зурдинов, Т.С. Сабирова // EUROPAISCHE FACHTHOCHSCHULE Издательство: ORT Publishing (Штутгарт). – 2016. - №7. – С. 11 – 16.
- 15.Исмаилов, И.З. Маркетинговые исследования лекарственных препаратов группы иммуномодуляторов в Кыргызской Республике [Текст] / И.З. Исмаилов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 8,-часть 5. – С. 764-766.
- 16.Исмаилов, И.З. Разработка технологии получения сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов // Наука, техника и образование. – 2016. – № 10 (28). – С.100-102.
17. Оценка влияния сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* на показатели периферической крови и биохимические параметры у экспериментальных животных как составляющая этапа его доклинического исследования [Текст] / И.З. Исмаилов, Зурдинов А.З., Сабирова Т.С., Ануварбекова А.А. // *Intrinsic Activity*, 2017; Riga, Latvia, vol. 5 (Suppl. 2) P. 26-27
- 18.Исмаилов, И.З. Технологическая разработка и стандартизация капсулированной формы сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов // Вестник Кырг. гос. мед. акад. им. И.К. Ахунбаева. – 2017. – № 5. – С. 53-55.
- 19.Патент № 20170100.1 Способ получения сухого экстракта из надземных частей *Padus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов А.З. Зурдинов, Т.С. Сабирова. Заявл. 28.09.2017
- 20.Патент № 20170104.1 Лекарственное средство в виде таблеток на основе сухого экстракта из надземных частей *Padus Grayanae Maxim* [Текст] / И.З. Исмаилов, А.З. Зурдинов, Т.С. Сабирова Заявл. 28.09.2017

РЕЗЮМЕ

диссертации Исмаилова И.З. на тему «Научно-технологическое и экспериментальное обоснование технологии получения готовых лекарственных форм фитопрепарата на основе надземных частей *Padus Grayanae Maxim*, изучение их фармацевтических и фармакологических свойств» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология и 14.04.01 – технология получения лекарств

Ключевые слова: иммуномодуляторы, сухой экстракт *Padus Grayanae Maxim*, фармакологическая активность, фармацевтическая характеристика, готовые лекарственные формы.

Объект исследования: 196 аутбредные крысы и 164 аутбредные мыши обоих полов. Масса тела крыс к началу исследования составляла $155 \text{ г} \pm 10\%$, мышей - $20 \text{ г} \pm 10\%$.

Предмет исследования - разработка состава и оптимальной технологии получения твердых лекарственных форм из сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*.

Цель исследования: обоснование и разработка технологии получения готовых лекарственных форм фитопрепарата *Padus Grayanae Maxim* и исследование их фармацевтических и фармакологических свойств.

Методы исследования: фармакологические, органолептические, физико-химические, микробиологические, биохимические, технологические, морфологические, гистологические, статистические.

Полученные результаты и их новизна. Впервые теоретически обоснован и экспериментально подтвержден способ получения сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim*, разработаны показатели качества полученного фитоэкстракта, получены данные о фармако-токсикологических свойствах сухого экстракта *Padus Grayana Maxim*. Впервые теоретически и экспериментально обоснованы схемы рациональной рецептуры и технологии готовых лекарственных форм фитопрепаратов из сухого экстракта *Padus Grayanae Maxim* для перорального приема – таблетки, капсулы и саше, экономически доступных, удобных в применении и стабильных при хранении. Разработаны технология и методы стандартизации опытно-промышленного производства твердых лекарственных форм фитопрепарата из сухого экстракта *Padus Grayana Maxim*. По результатам исследований разработаны проекты фармакопейной статьи предприятия (ФСП) на готовые лекарственные формы фитопрепарата *Padus Grayanae Maxim* и получены опытные серии разработанных готовых лекарственных форм.

Область применения: фармакология, фармация, здравоохранение.

И.З. Исмаиловдун «Padus Grayanae Maximдин жер үстүнкү бөлүгүнүн негизиндеги фитопрепараттын даяр дарылык формасын алуунун технологиясынын илимий технологиялык жана эксперименталдык негиздемеси, фармацевтикалык жана фармакологиялык касиеттерин изилдөө» деген темадагы 14.03.06 – фармакология, клиникалык фармакология жана 14.04.01 – дары жасоонун технологиясы адистиктери боюнча фармацевтика илимдеринин доктору илимий даражасын изденип алуу үчүн жазылган диссертациясынын
КОРТУНДУСУ

Негизги сөздөр: иммуномодуляторлор, Padus Grayanae Maxim кургак экстракты, фармакологиялык активдүүлүк, фармацевтикалык мүнөздөмөсү, даяр дары формалары.

Изилдөөнүн объектиси: эки башка жыныстагы 196 аутбреддүү келемиштер жана 164 аутбреддүү чычкандар. Келемиштердин изилдөөнүн башталышындагы салмагы $155 \text{ г} \pm 10\%$, чычкандардыкы - $20 \text{ г} \pm 10\%$ болгон.

Изилдөөнүн предмети. Padus Grayanae Maxim кургак экстрактынан алынган катуу дары формаларды алуунун оптималдык технологиясын жана курамын иштеп чыгуу.

Изилдөөнүн максаты: Padus Grayanae Maxim фитопрепаратынын даяр дары формасын алуунун технологиясын иштеп чыгуу жана алардын фармацевтикалык жана фармакологиялык касиеттерин изилдөө.

Изилдөөнүн ыкмалары: фармакологиялык, органолептикалык, физика-химиялык, микробиологиялык, биохимиялык, технологиялык, морфологиялык, гистологиялык, статистикалык.

Алынган натыйжалар жана алардын жанылыгы. Биринчи жолу Padus Grayanae Maxim кургак экстрактын алуунун ыкмасы теориялык жактан негизделди жана тажрыйбалык жактан тастыкталды, алынган фитоэкстракттын сапаттык көрсөткүчтөрү иштелип чыкты, Padus Grayanae Maxim кургак экстрактынын фармако-токсикологиялык касиеттери жөнүндөгү маалыматтар алынды. Ошондой эле Padus Grayanae Maxim кургак экстрактынан алынган даяр дары формаларынын экономикалык жактан женил, колдонууга ыңгайлуу жана сактоого туруктуу болгон ичүүгө арналган таблеткалар, капсулдар жана сашелердин технологияларынын жана рационалдык рецептурасынын схемалары теориялык жана тажрыйбалык жактан негизделди. Padus Grayanae Maxim кургак экстрактынан алынган фитопрепараттын катуу дарылык формасынын тажрыйбалык-өндүрүштүк өндүрүшүн стандартташтыруу методдору жана технологиялары иштелип чыкты. Изилдөөнүн жыйынтыгы боюнча Padus Grayanae Maxim фитопрепаратынын даяр дары формасына ишкананын фармакопиялык статьясынын долбоорлору иштелип чыкты жана даяр дары формалардын тажрыйбалык сериялары алынды.

Колдонуу тармагы: фармакология, фармация, саламаттыкты сактоо.

SUMMARY

of dissertation of Ismailov I.Z. on the topic «Scientific - technological and experimental substantiation of the technology for the preparation of ready-made medicinal forms of phytopreparation on the basis of overground parts of *Padus Grayanae Maxim*, the study of their pharmaceutical and pharmacological properties» for attainment of a scientific degree of Doctor of Pharmaceutical Sciences in 14.03.06 - Pharmacology, Clinical Pharmacology and 14.04.01 - Technology of obtaining medicines

Keywords: immunomodulators, *Padus Grayanae Maxim* dry extract, pharmacological activity, pharmaceutical characteristics, ready-made dosage forms.

The object of the study: 196 outbred rats and 164 outbred mice of both sexes. The body weight of rats at the beginning of the study was $155 \text{ g} \pm 10\%$, mice - $20 \text{ g} \pm 10\%$.

The subject of the study is the development of the composition and optimal technology for the preparation of solid dosage forms from dry extract of *Padus Grayanae Maxim*.

The purpose of the study: the rationale and development of technology for the preparation of ready-made dosage forms of phytopreparations of *Padus Grayanae Maxim* and the research of their pharmaceutical and pharmacological properties.

Research methods: pharmacological, organoleptic, physicochemical, microbiological, biochemical, technological, morphological, histological and statistical.

Results of the study and their scientific novelty. For the first time, the method of obtaining the dry extract of *Padus Grayanae Maxim* was theoretically substantiated and experimentally confirmed, the quality indices of the obtained phytoextract were developed, and the pharmacological and toxicological properties of the *Padus Grayanae Maxim* dry extract were obtained. The schemes of rational formulation and technology of ready-made dosage forms of phytopreparations from dry extract *Padus Grayanae Maxim* for oral application - tablets, capsules and sachets, economically accessible, convenient to use and stable during storage, are theoretically and experimentally proved for the first time.

The technology and methods for standardizing the experimental industrial production of solid dosage forms of phytopreparation from the dry extract of *Padus Grayanae Maxim* have been developed. Based on the results of the research, the manufacturer's monograph for ready-made dosage forms of phytopreparation of *Padus Grayanae Maxim* were developed and experimental series of developed ready-made dosage forms were obtained.

Field of application: pharmacology, pharmacy, health.