ИРН AP08956260 «Разработка состава и технологии оригинальных лекарственных средств растительного происхождения для лечения и профилактики *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваний»

Актуальность

Helicobacter pylori – особый вид патогенных бактерий, которые инфицируют желудок и двенадцатиперстную кишку, приводят к воспалениям и развитию гастрита, язвы и впоследствии к раку. Эта бактерия признана Международным агентством по исследованию рака (IARC) и Всемирной организацией здравоохранения как канцер I класса. Снижение эффективности стандартной терапии антибиотиками для ликвидации *H. pylori* зафиксировано более чем у 80% пациентов из-за развития устойчивости к антибактериальным препаратам. Поэтому все больше исследований посвящено поиску более эффективных и альтернативных терапевтических подходов, например, фитомедицина.

Впервые в мировой практике, по результатам исследования установлено, что сухой ультразвуковой экстракт тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.) обладает выраженным антибактериальным действием в отношении *Helicobacter pylori* и является перспективной субстанцией для создания лекарственных средств для лечения и профилактики *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваний.

Экспериментально установлено, что все опытные образцы фармацевтических композиций, при минимальной концентрации субстанций «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и «Тимьяна частолистого экстракт сухой» обладают выраженным антибактериальным действием и ингибируют рост эталонного штамма *Helicobacter pylori* ATCC43504 на 100%, при этом проявляют дозозависимый эффект.

Поэтому разработка оптимального состава и технологий получения жидких лекарственных форм в виде сиропов, суспензий и эмульсий, содержащих субстанцию «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и субстанцию «Тимьяна частолистого экстракт сухой», исследование их антибактериального действия в отношении контрольного и клинических штаммов *Helicobacter pylori* в эксперименте *in vitro* и изучение фармакологического действия в эксперименте на животных, определение эффективной и терапевтической дозы, схемы лечения, является актуальной задачей.

Цель: Разработка оптимального состава и технологии получения оригинальных лекарственных средств на основе отечественного растительного сырья для лечения и профилактики *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваний.

Ожидаемые результаты:

1. Будет разработан оптимальный состав жидких лекарственных форм в виде сиропов, суспензий и эмульсий, содержащих субстанцию «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и субстанцию «Тимьяна частолистого экстракт сухой» в различных концентрациях. Будут наработаны опытные образцы сиропов, суспензий и эмульсий для изучения антибактериального действия в отношении клинических штаммов *Helicobacter pylori*.

2. Будет изучено антибактериальное действие опытных образцов сиропов, суспензий и эмульсий, содержащих различные концентрации субстанций «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и «Тимьяна частолистого экстракт сухой», в отношении контрольного и клинических штаммов *Helicobacter pylori* в эксперименте *in vitro*. Будет произведен отбор образцов жидких лекарственных форм, проявляющих сравнительно высокий антибактериальный эффект в отношении тест-штаммов при минимальной концентрации субстанций «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и «Тимьяна частолистого экстракт сухой».

3. Будет изучено антибактериальное действие оригинальных лекарственных средств растительного происхождения в эксперименте *in vivo* в отношении клинических штаммов

Helicobacter pylori, будут определены эффективная доза, терапевтическая доза и схема лечения.

4. Будет разработана технология получения оригинальных лекарственных средств растительного происхождения для лечения и профилактики *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваний. Будут разработаны нормативные документы на оригинальные лекарственные средства в виде проектов АНД и лабораторных регламентов на получение.

Исследовательская группа

Ивасенко С.А. – доктор фармацевтических наук по специальностям: 15.00.01 – «Технология лекарств и организация фармацевтического дела» и 15.00.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», ассоциированный профессор. Номер ID Scopus: 6506096984. ORCID 0000-0003-3074-5719. Индекс Хирша: Web of Science - 3, Scopus - 3, РИНЦ - 5.

Шакаримова К.К. - магистр химии, окончила докторантуру PhD по специальности «Технология фармацевтического производства». Автор 28 научных трудов: положительное решение о выдаче Евразийского патента, патент РК, 2 свидетельства о гос. регистрации прав интеллектуальной собственности, статьи в научных журналах, рекомендованных ККСОН МОН РК и ВАК РФ, тезисы докладов на международных и республиканских конференциях.

Бокаева А.Б. - магистр физики, окончила докторантуру PhD по специальности «Технология фармацевтического производства». Автор 7 публикаций: патент РК, статьи в научных журналах, рекомендованных КОКСОН и ВАК РФ, тезисы докладов на международных зарубежных и республиканских конференциях.

Лавриненко А.В. - магистр медицинских наук, докторант PhD 2-го года обучения по специальности «Медицина». ORCID 0000-0001-9436-8778. Индекс Хирша: Scopus - 1, РИНЦ – 3, Google scholar – 2. Оценка RG 19,85.

Колесниченко С.И. - врач клинико-лабораторной диагностики лаборатории коллективного пользования НАО МУК, автор более 20 публикаций, в отечественных и зарубежных изданиях. ORCID 0000-0001-9436-8778. RG 8,6.

Список публикаций

1. Патент РК № 34162 на изобретение от 11.02.2020. Применение сухого экстракта тимьяна частолистого (*Thymus crebrifolius* Klok.) в качестве антимикробного средства широкого спектра действия // Ахметалимова А.М., Бокаева А.Б., Ивасенко С.А., Ахметова С.Б., Лосева И.В.

2. Патент РК № 34245 на изобретение от 26.03.2020. Способ получения ультразвукового экстракта из тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.), обладающего антибактериальным действием в отношении *Helicobacter pylori* // Оразбаева П.З., Шакаримова К.К., Ивасенко С.А., Ахметова С.Б., Лосева И.В.

3. Положительное решение о выдаче Евразийского патента от 06.04.2020 по заявке № 201800259/28. Способ получения ультразвукового экстракта из тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.), обладающего антибактериальным действием в отношении *Helicobacter pylori* // Оразбаева П.З., Шакаримова К.К., Ивасенко С.А., Ахметова С.Б., Лосева И.В.

4. Adekenova A.S., Sakenova P.Y., Ivasenko S.A., Khabarov I.A., Adekenov S.M., Berthod A. Gram-Scale Purification of Two Sesquiterpene Lactones from *Chartolepsis Intermedia* Boiss. // Chromatographia. – 2016. – V. 79. – P. 37-43.

5. Marchenko A.B., Ivasenko S.A., Laryushina Y.A., Turgunova L.G., Turmukhambetova A.A., Moraru D., Chesca A. Relationship between trimethylamine N-oxide and total cardiovascular risk in the population of Central Kazakhstan // Acta Medica Mediterranea. – 2018. – № 34. – P. 59-63.

6. Kultanov B.Z., Dosmagambetova R.S., Ivasenko S.A., Tatina Ye.S., Kelmyalene A.A., Assenova L.H. The Study of Cellular and Molecular Physiological Characteristics of Sperm in Men Living in the Aral Sea Region // Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. – 2016. – V. 4, № 1. – P. 5-8.

7. Lavrinenko A., Azizov I., Solomadin M., Kolesnichenko S. Molecular-genetic features of MSSA, isolated in Kazakhstan // International Journal of Infectious Diseases. – 2018. - V. 73. - P. 159.

8. Akhmaltdinova L., Lavrinenko A. Antifungal susceptibility testing by flow cytometry // International Journal of Infectious Diseases. – 2018. - V. 73. – P.173–174.

9. Lavrinenko A.V., Kolesnichenko S.I., Amanova D.E. Antibiotic resistance of *A. baumannii* in Kazakhstan // European Surgical Research. - 2019. - V. 60(2). - P. 75.

10. Akhmetalimova A.M., Ivasenko S.A., Marchenko A.B., Ishmuratova M.Yu., Poleszak E., Ludwiczuk A., Loseva I.V. The study of the chemical composition of *Thymus eremita* Klok. and *Thymus rasitatus* Klok. from the Karaganda region // News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan-Series Chemistry and Technology. - 2018. – V.5, № 431. - P. 20–25.

Достигнутые результаты

1. Наработаны опытные партии субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» в количестве 500 г и субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» 500 г, для разработки оптимального состава и технологии получения жидких лекарственных форм на их основе. Показатели качества полученных субстанций соответствуют всем требованиям аналитических нормативных документов.

2. Впервые разработан оптимальный состав жидких лекарственных форм на основе субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой». Наработаны опытные образцы сиропов, суспензий и эмульсий, содержащих субстанцию «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и субстанцию «Тимьяна ползучего экстракт сухой» в концентрациях 20, 50, 100 и 150 мг/мл для изучения антибактериального действия в отношении клинических штаммов *Helicobacter pylori*.

3. Впервые создана коллекция клинических штаммов *Helicobacter pylori*. Одиннадцать штаммов *Helicobacter pylori* выделены из биоптатов слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта, собранных у 50 пациентов. По результатам изучения чувствительности полученных клинических штаммов *Helicobacter pylori* к антибиотикам, устойчивы к амоксициллину 18,2% штаммов, к кларитромицину -18,2%, к метронидазолу – 100%, к тетрациклину – 27,3 % и левофлоксацину – 45,5%. Двойная антибиотикорезистентность *Helicobacter pylori* была зарегистрирована к левофлоксацину и метронидазолу у 18,2% штаммов. Устойчивость *Helicobacter pylori* к трем антибиотикам установлена у 18,2% штаммов и к четырем антибиотикам у 18,2% штаммов.

4. Впервые установлено, что все исследуемые опытные образцы сиропов, суспензий и эмульсий, содержащие субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» и «Тимьяна частолистого экстракт сухой» в концентрациях 20 мг/мл, 50 мг/мл, 100 мг/мл и 150 мг/мл, обладают антибактериальным действием в отношении контрольного и клинических штаммов *Helicobacter pylori*, независимо от их устойчивости к антибиотикам. При этом, все исследуемые образцы проявляют дозозависимый эффект. Сравнительно более высоким антибактериальным действием в отношении контрольного и клинических штаммов *Helicobacter pylori* обладают сироп ТР № 1, при минимальной концентрации субстанции «Тимьяна ползучего экстракт сухой» (20 мг/мл) и сироп ТС № 1, при минимальной концентрации субстанции «Тимьяна частолистого экстракт сухой» (20 мг/мл).

5. Впервые установлено, что сироп ТР № 1 и сироп ТС № 1, после лечения животных на протяжении 7 дней в концентрации 125 мг/кг, обладает выраженной антибактериальной активностью *in vivo* против *H. pylori*, превышающей действие препаратов сравнения, принимаемых по стандартной схеме. Сироп ТР № 1 и сироп ТС № 1 рекомендуются в

качестве перспективных отечественных лекарственных средств для лечения и профилактики *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваний.

6. Впервые разработаны технологии получения оригинальных лекарственных средств «Тимьяна ползучего сироп 100 мл» и «Тимьяна частолистого сироп 100 мл» для лечения и профилактики *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваний. Технологии получения «Тимьяна ползучего сироп 100 мл» и «Тимьяна частолистого сироп 100 мл» внедрены на базе Научно-исследовательского центра НАО «МУК».

7. Впервые разработаны и утверждены лабораторные регламенты на получение «Тимьяна ползучего сироп 100 мл» (ЛР-005491-МК-02-21) и «Тимьяна частолистого сироп 100 мл» (ЛР-005491-МК-03-21). На базе Научно-исследовательского центра НАО «МУК» организован выпуск опытных партий лекарственных средств для фармакологических исследований. Разработаны проекты аналитических нормативных документов (АНД) для контроля производства и оценки качества «Тимьяна ползучего сироп 100 мл» и «Тимьяна частолистого сироп 100 мл».

Информация для потенциальных пользователей

Изобретение относится к области медицины, а именно, к способу получения средств растительного происхождения, обладающего выраженным антибактериальным действием в отношении *Helicobacter pylori*, которое может быть использовано в качестве субстанции для создания лекарственных средств и препаратов для лечения и профилактики *Helicobacter pylori* – ассоциированных заболеваний.

Научные публикации в рамках проекта

1. Евразийский патент № 036266 от 20.10.2020 г. Способ получения ультразвукового экстракта из тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.), обладающего антибактериальным действием в отношении *Helicobacter pylori* // Оразбаева П.З., Шакаримова К.К., Ивасенко С.А., Ахметова С.Б., Лосева И.В. (ККСОН)

2. Ivasenko S.A., Shakarimova K.K., Bokayeva A.B., Marchenko A.B., Lavrinenko A.V., Kolesnichenko S.I. Study of the phenolic compounds of the dry extract of *Thymus crebrifolius* using a combined HPLC–UV and HPLC-ESI-MS/MS method // Bulletin of the University of Karaganda – Chemistry. – 2021. - V. 102, № 2. – P. 18-23. (ККСОН, Web of Science, Scopus) https://doi.org/10.31489/2021Ch2/18-23.

3. Ivasenko S., Shakarimova K., Bokayeva A., Lavrinenko A., Kolesnichenko S., Rakhimova B., Orazbayeva P., Poleszak E., Korona-Glowniak I., Ishmuratova M. *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of extracts of *Thymus serpyllum* L. of Central Kazakhstan // Pharmaceutics. – 2021. - подана.

4. Ivasenko S., Bokayeva A., Shakarimova K., Lavrinenko A., Kolesnichenko S., Orazbayeva P., Poleszak E., Korona-Glowniak I., Ishmuratova M. *In vitro* anti-*Helicobacter activity* of aqueous-alcoholic extracts of *Thymus crebrifolius* Klok. // Pharmaceutics. – 2021. - подана.