



003 166683

На правах рукописи

Зилфикаров Ифрат Назимович

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ В РАЗРАБОТКЕ И СТАНДАРТИЗАЦИИ
ФИТОПРЕПАРАТОВ ИЗ ЭФИРНОМАСЛИЧНОГО СЫРЬЯ**

15 00 02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

1 0 А П Р 2008

Пятигорск – 2008

На правах рукописи

Зилфикаров Ифрат Назимович

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ В РАЗРАБОТКЕ И СТАНДАРТИЗАЦИИ
ФИТОПРЕПАРАТОВ ИЗ ЭФИРНОМАСЛИЧНОГО СЫРЬЯ**

15 00 02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени

доктора фармацевтических наук

Пятигорск – 2008

Диссертационная работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пятигорская государственная фармацевтическая академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный консультант: - доктор фармацевтических наук, профессор
Челомбитько Вячеслав Александрович

Официальные оппоненты: - доктор фармацевтических наук, профессор
Куркин Владимир Александрович
ГОУ ВПО «Самарский государственный
медицинский университет Росздрава»

- доктор фармацевтических наук, профессор
Компанцев Владислав Алексеевич
ГОУ ВПО «Пятигорская государственная
фармацевтическая академия Росздрава»

- доктор фармацевтических наук, профессор
Сампиев Абдулмуталип Магаметович
ГОУ ВПО «Кубанский государственный
медицинский университет Росздрава»

Ведущая организация: ГОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет Росздрава»

Защита диссертации состоится 29 апреля 2008 г в 9⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 208 069 01 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пятигорская государственная фармацевтическая академия Росздрава» (357533, г Пятигорск, пр Калинина, 11)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО Пятигорская ГФА Росздрава

Автореферат разослан 26 марта 2008 г

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор фармацевтических наук, профессор



Е.В. Компанцева

ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Лекарственные препараты растительного происхождения имеют важное значение в терапии многих заболеваний. В настоящее время сложилась сложная ситуация с проблемой рационального использования культивируемого эфирномасличного лекарственного растительного сырья, которая связана с реализацией новых подходов в создании фитопрепаратов, внедрением современных физико-химических методов для их стандартизации.

В современной фармацевтической науке создалась противоречивая ситуация. С одной стороны, далеко продвинутые химические исследования биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения свидетельствуют о больших возможностях по созданию лекарственных и лечебно-профилактических средств с различной фармакологической активностью. С другой стороны, используемая технология переработки растительного сырья, как правило, ориентирована на получение одного целевого продукта и в большинстве случаев исключает комплексное использование сырья. Иначе говоря, сложившийся на сегодняшний день опыт промышленной переработки эфирномасличного сырья очень часто не отражает степени изученности всех БАВ используемого растения. Преодоление этого противоречия, на наш взгляд, возможно только путем внедрения новых подходов в оценке качества сырья и предусматривающих его комплексное использование при ресурсосберегающей технологии. Предпосылкой для внедрения такой технологии является изучение не только химического состава лекарственных растений, но и основных физико-химических свойств его БАВ.

Примером нерационального использования сырья являются эфирномасличные растения. Сопоставление химического состава таких растений с используемой технологией их переработки наглядно подтверждают указанное выше противоречие. Технологические процессы, в которых оно участвует, нередко связаны или с потерей летучих компонентов эфирного масла или с полным удалением липофильных веществ в ходе, так называемой,

стадии обезжиривания Недооценка роли липофильного комплекса растения, включающего, кроме эфирного и жирного масел, еще большой спектр малополярных веществ, приводит к тому, что он почти полностью остается невостребованным В то же время, высокая биодоступность этих соединений и наличие выраженной разносторонней фармакологической активности делают обоснованными и актуальными исследования по созданию новых лекарственных препаратов на основе липофильного комплекса эфирномасличного сырья

Внедрение новых подходов к оценке качества исходного растительного сырья и разработке комплексной технологии его переработки требует установления таких взаимосвязей, как состав - технология, технология - фармакологическое действие По нашему мнению, совершенствование технологии переработки лекарственного растительного сырья может привести к изменению не только качественного и количественного состава, но и фармакологического действия конечного продукта Несомненно, что развитие новых технологий требует разработки и использования новых методов анализа для стандартизации сырья и целевых лекарственных препаратов

Поэтому фармакогностическое обоснование на основе глубокого химического исследования состава и физико-химических свойств биологически активных веществ (БАВ) самого сырья, как и внедрение новых технологий комплексной переработки эфирномасличного сырья, является актуальной проблемой для фармацевтической науки и практики

Цель и задачи исследований

Целью настоящей работы является обоснование новых подходов к созданию лекарственных препаратов из эфирномасличного сырья на примере листьев шалфея лекарственного, эвкалипта прутовидного и травы полыни эстрагон при их комплексной промышленной переработке с учетом современных требований стандартизации

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие основные задачи

1 Проанализировать современное состояние исследований в области фармакогностического анализа видов эфирномасличного сырья, используемых в отечественной фармацевтической практике, и методов стандартизации лекарственных препаратов, разработанных на их основе

2 Провести фармакогностическое исследование трех видов эфирномасличного сырья, найти новые подходы для стандартизации исследуемых видов сырья и разработанных на их основе лекарственных препаратов. Обосновать возможности применения сырья шалфея лекарственного и полыни эстрагон, выращиваемых в культуре в различных регионах Северного Кавказа, и сырья эвкалипта прутовидного, широко используемого в фармацевтической практике, для получения лекарственных препаратов

3 Предложить новые или модифицированные методики для стандартизации сырья шалфея, эвкалипта, полыни эстрагон и лекарственных препаратов, разработанных на их основе, определить показатели и нормы качества для проектов фармакопейных статей

4 Провести сравнительное исследование химического состава липофильных комплексов из сырья шалфея, эвкалипта и полыни эстрагон, полученных различными методами, изучить использование сжиженного углерода (IV) оксида как экстрагента для комплексной ресурсосберегающей переработки сырья

5. Усовершенствовать технологию и стандартизацию лекарственных препаратов, разработанных на основе изучаемых видов лекарственного растительного сырья. Привести в соответствие с современными требованиями нормативную документацию, необходимую для их внедрения в производственную практику

НАУЧНАЯ НОВИЗНА И ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

На основании экспериментальных исследований в работе впервые предложены подходы к решению основных проблемных направлений по

рациональному использованию, совершенствованию и унификации методов стандартизации сырья и разработанных на его основе фитопрепаратов

На основании химического изучения терпеноидов и сопутствующих им БАВ эфирномасличных растений шалфея лекарственного, полыни эстрагон и эвкалипта прутовидного, доказано, что существующие в настоящее время технологии их переработки не учитывают физико-химические свойства веществ из различных классов соединений, вносящих вклад в биологическую активность суммарных препаратов, и поэтому не могут быть признаны рациональными. Впервые для стандартизации сырья шалфея и эвкалипта предложены характерные для них классы соединений (для сырья шалфея – дитерпеновые кислоты, для сырья эвкалипта – фенолоальдегиды), которые позволяют более объективно оценивать качество лекарственного растительного сырья (ЛРС), так как именно они вносят наибольший вклад в фармакологическую активность и определяют стабильность большинства лекарственных препаратов шалфея и эвкалипта

Проведенные фармакогностические исследования изучаемых видов эфирномасличного сырья впервые показали значение соединений других классов, помимо эфирного масла, в развитии новых ресурсосберегающих технологий комплексного использования сырья при его промышленной переработке. Это позволило обосновать новые пути комплексной переработки эфирномасличного сырья

Фракционное изучение терпеновых соединений шалфея лекарственного показало, что основной группой веществ в их составе являются дитерпеновые кислоты. Установлено, что сырье шалфея лекарственного, выращенного в различных регионах Северного Кавказа, содержит от 3,13 % до 8,89 % суммы дитерпеновых кислот и может служить источником липофильных лекарственных препаратов. На основании результатов фитохимического исследования предложен новый фитопрепарат – экстракт шалфея лекарственного жидкий, для стандартизации которого определены основные показатели и нормы качества

На основании фармакогностического исследования полыни эстрагон, культивируемого в Республике Дагестан, выявлены некоторые закономерности накопления и распределения основных БАВ в растении, определен их качественный и количественный состав в сырье. Данные фармакологического скрининга и фитохимического анализа послужили обоснованием для разработки нового лекарственного препарата «Экстракт полыни эстрагон жидкий», для стандартизации которого определены нормы качества и предложена рациональная технология.

На основании фитохимического анализа сырья и лекарственных препаратов эвкалипта прутовидного, доказано, что существующая в настоящее время оценка качества по содержанию эфирного масла не достаточна для стандартизации промышленного сырья эвкалипта, используемого для получения лекарственных препаратов «Хлорофиллит, экстракт густой» и «Эвкалимин». Впервые для стандартизации листьев эвкалипта прутовидного предложено проводить качественный и количественный анализ фенолоальдегидов, как наиболее стабильных в химическом отношении соединений и приносящих наибольший вклад в биологическую активность суммарных препаратов. Для стандартизации лекарственного препарата «Хлорофиллит, экстракт густой», предложено осуществлять качественный и количественный анализ фенолоальдегидов. Установлено, что их содержание в данном лекарственном препарате составляет более 40 % в пересчете на ГСО эвкалимина.

Одним из современных и прогрессивных методов промышленной переработки эфирномасличного сырья является экстракция сжиженными газами. В исследованиях, посвященных использованию данного метода, очень важным направлением является изучение химического состава извлечений и оценка их эквивалентности известным лекарственным препаратам. В проведенных нами исследованиях впервые изучен компонентный состав CO₂-экстрактов, полученных из сырья шалфея, полыни эстрагон и эвкалипта сверхкритическим флюидным углерода (IV) оксидом. В экстракте шалфея

лекарственного обнаружено 59 соединений, относящихся преимущественно к монотерпенам, сесквитерпенам и дитерпенам, в экстракте полыни эстрагон идентифицировано 45 соединений, из которых значительная часть относится к ароматическим производным, в экстракте эвкалипта прутовидного обнаружено 58 индивидуальных соединений, главным образом моно- и сесквитерпенов. Проведенные сравнительные исследования химического состава эфирных масел и CO_2 -экстрактов полыни эстрагон и эвкалипта прутовидного позволили оценить влияние технологии на химический состав извлечения. Установлено, что качественный состав эфирного масла и CO_2 -экстракта, полученного из одного сырья, практически одинаковый, а основные отличия между ними заключаются в соотношении компонентов. В частности, обнаружено, что в составе CO_2 -экстрактов увеличивается содержание сесквитерпенов, дитерпенов и насыщенных углеводородов, что повышает их фармакологическую активность.

Впервые, в целях реализации комплексного подхода в промышленной технологии лекарственных препаратов эвкалипта прутовидного, предложена схема глубокой переработки сырья, которая включает две основные стадии: первая – получение CO_2 -экстракта с последующим фракционированием лекарственного препарата «Эфирное масло эвкалипта», вторая – выделение из оставшегося шрота суммы фенолоальдегидов с получением лекарственных препаратов «Хлорофиллипт, экстракт густой» или «Эвкалимин».

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

Экспериментально подтверждены новые подходы к созданию лекарственных препаратов из эфирномасличного сырья.

Исследована и усовершенствована технология лекарственного препарата «Сальвин, экстракт густой». Предложены новые технологические схемы, позволяющие в одном случае полностью удалять остатки экстрагента (ацетона) из готового продукта, без термического воздействия на лекарственный препарат, в другом – заменить ацетон на спирт этиловый 95 %. На основании

фитохимического исследования БАВ листьев эвкалипта прутовидного усовершенствована технология лекарственного препарата «Хлорофиллипт, экстракт густой» Переработана существующая нормативная и техническая документация на лекарственные препараты сальвина и хлорофиллипта разработаны проекты фармакопейных статей предприятия (ФСП), опытно-промышленный регламент и промышленные регламенты Результаты исследований внедрены на фармацевтическом предприятии ЗАО «Вифитех» (Моск обл, п Оболенск)

МАТЕРИАЛЫ ВНЕДРЕНИЯ

- 1 ФСП 42-0129-8556-07 «Хлорофиллипт, экстракт густой» (Регистрационное удостоверение ЛСР 000132 08 от 22 01 2008 г.),
- 2 Проект ФС «Листья эвкалипта прутовидного» (на согласовании в ГУ ВИЛАР),
- 3 Проект ФСП «Хлорофиллипт, раствор для приема внутрь и местного применения спиртовой 1 %» (находится на экспертизе в ФГУ «НЦ ЭСМП»),
- 4 Проект ФСП «Сальвин, экстракт густой» (находится на экспертизе в ФГУ «НЦ ЭСМП»),
- 5 Проект ФСП «Хлорофиллипт, раствор для местного применения масляный 2 %» (находится на экспертизе в ФГУ «НЦ ЭСМП»),
- 6 Проект ФСП «Сальвин-ВИФ, раствор для местного и наружного применения спиртовой 1 %» (находится на экспертизе в ФГУ «НЦ ЭСМП»),
- 7 Проект ФСП «Шалфея лекарственного экстракт жидкий 1 л» (на согласовании в ОАО «МФФ»),
- 8 Промышленный регламент на производство хлорофиллипта (утвержден ВИЛАР, используется в производстве ЗАО «Вифитех»),
- 9 Промышленный регламент на производство сальвина (утвержден в ГУ ВИЛАР используется в производстве ЗАО «Вифитех»),

10 Промышленный регламент на производство хлорофиллипта раствора масляного 2% (утвержден в ГУ ВИЛАР, используется в производстве ЗАО «Вифитех»),

11 Опытно-промышленный регламент на производство сальвина раствора спиртового 1% (на согласовании в ГУ ВИЛАР)

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ И ПУБЛИКАЦИИ

Основные положения диссертационной работы были доложены на следующих конференциях региональные научно-практические конференции по фармакологии, фармации и подготовке кадров (I Пятигорск, 1997 – 2002 гг.), Международная конференция «Фазовые переходы и нелинейные явления в конденсированных средах» и IV Междунар семинар «Физика магнитных фазовых переходов» (Дагестанский НЦ РАН, г. Махачкала, 2001 г.), 1 и 2 Всероссийские научно-практические конференции «Химия в технологии и медицине» (Дагестанский госуниверситет, г. Махачкала, 2001 - 2002 гг.), 16 Научно-практическая конференция по охране природы Дагестана (Махачкала, 2001), 8, 9 и 10 Международные съезды «Фитофарм» «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения» (Миккели, Финляндия – С-Пб, 2004 - 2006 гг.), 7 Междунар симпозиум по химии природных соединений (16-18 октября 2007, Ташкент)

Основные положения работы изложены в 42 печатных работах, из которых 1 монография, 10 статей в журналах, рекомендуемых ВАК

СВЯЗЬ ЗАДАЧ ИССЛЕДОВАНИЯ С ПРОБЛЕМНЫМ ПЛАНОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ НАУК

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия» (номер государственной регистрации 01200112164)

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ:

- 1 Обоснование разработки ресурсосберегающих технологий при создании фитопрепаратов из эфирномасличного лекарственного растительного сырья с учетом химического состава БАВ и современных принципов стандартизации
- 2 Теоретическое и экспериментальное обоснование исследования лекарственных растений, содержащих эфирные масла, в том числе уже используемых в медицинской практике, с целью снижения эксплуатационной нагрузки на природные ресурсы, более глубокой их промышленной переработки
- 3 Результаты исследования зависимости химического состава липофильных извлечений от метода экстракции, показывающие возможность применения сжиженных газов при разработке лекарственных препаратов из эфирномасличного сырья
- 4 Оценка технологических параметров предложенных для получения лекарственных препаратов шалфея лекарственного и эвкалипта прутовидного при рассмотрении дитерпеновых производных в качестве целевых веществ на примере лекарственных препаратов сальвин и хлорофиллипт
- 5 Материалы фармакогностических и фитотехнологических исследований сырья шалфея лекарственного и полыни эстрагон, выращиваемых в культуре в различных регионах Северного Кавказа
- 6 Результаты сравнительных исследований компонентного состава эфирных масел и CO₂-экстрактов, полученных из исследуемых растительных объектов, экспериментальные данные по усовершенствованию технологии фитопрепаратов из эфирномасличного сырья
- 7 Усовершенствованные методы, используемые в промышленной технологии и для стандартизации липофильных лекарственных препаратов – сальвина, получаемого из листьев шалфея и хлорофиллипта, получаемого из листьев эвкалипта прутовидного

8 Разработанная новая нормативная и техническая документация на растительное сырье и лекарственные препараты, содержащие дитерпеновые кислоты и фенолоальдегиды

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Диссертационная работа изложена на 290 страницах машинописного текста, содержит 60 таблиц, 57 рисунков, список литературы, включающий 278 источников, в том числе 103 на иностранных языках. Диссертация состоит из введения, 7 глав, выводов и приложений

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследования являлось лекарственное растительное сырье, содержащее эфирные масла: листья шалфея лекарственного [*Salvia officinalis* L., сем *Lamiaceae*], трава полыни эстрагон [*Artemisia dracunculus* L., сем *Asteraceae*] и листья эвкалипта прутовидного [*Eucalyptus viminalis* Mill., сем *Myrtaceae*], достоверные образцы карнозоловой кислоты, олеаноловой кислоты, эвкалимина, эстрагола (метилхавикола) и анетола. Исследовались также извлечения водные, водно-спиртовые, спиртовые, ацетоновые и др., полученные из исследуемых видов сырья, CO₂-экстракты, эфирные масла (полученные перегонкой с водяным паром), лекарственные препараты сальвин, хлорофиллипт и эвкалимин, полученные традиционным и усовершенствованным способами, а также шрот листьев эвкалипта прутовидного после гидродистилляции и CO₂-экстракции. Фитохимические исследования проводились с использованием современных физико-химических методов: хроматография колоночная тонкослойная (ТСХ), газо-жидкостная (ГЖХ), фотоэлектроколориметрия, УФ- и ИК- спектрофотометрия, атомно-адсорбционная спектрофотометрия и др. Скрининговые микробиологические и фармакологические исследования включали изучение антибактериальной, противовоспалительной, антигипоксической и др. видов специфической активности промежуточных и конечных продуктов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫРЬЯ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО И ПОЛЫНИ ЭСТРАГОН

Проведены фармакогностические исследования образцов сырья шалфея лекарственного, выращенного в специализированных хозяйствах различных регионов Северного Кавказа (в Ставропольском и Краснодарском краях, Республиках Кабардино-Балкария и Дагестан), полыни эстрагон, выращенной в культуре в Республике Дагестан

Фармакогностическое исследование листьев шалфея лекарственного

Основными направлениями при изучении сырья шалфея лекарственного были сравнительные фитохимические исследования и оценка возможности использования сырья шалфея, выращенного на Северном Кавказе, для получения лекарственных препаратов. Стандартизация сырья, проведенная нами в объеме предварительных испытаний, показала, что качество всех исследуемых образцов соответствовало требованиям ГФ XI. Результаты фитохимического анализа, представленные в таблице 1, показали, что, исследованные образцы можно отнести к подгруппам со сравнительно высоким содержанием дитерпеновых кислот (образцы, выращенные в Республике Дагестан и в Краснодарском крае) и низким их содержанием (образцы, выращенные в Ставропольском крае и Республике Кабардино-Балкария). Установлено также, что в листьях шалфея лекарственного, выращенного в горных условиях Гунибского плато Республики Дагестан (Горный ботанический сад ДНЦ РАН (ГорБС ДНЦ РАН)) содержание основных БАВ (дитерпеновых кислот и флавоноидов) больше, чем в сырье из других регионов. Причиной этому может быть генетическая принадлежность шалфея лекарственного к нагорным ксерофитам, и на опытных участках ГорБС ДНЦ РАН он выращивался в благоприятных для него условиях.

Таблица 1 - Результаты сравнительного фитохимического анализа листьев шалфея лекарственного выращенных в культуре в различных регионах Северного Кавказа

| № п/п | Анализируемые вещества | Содержание, % | | | |
|-------|------------------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|
| | | РД | КБР | СК | КК |
| 1 | Эфирное масло | 1,20 ± 0,20 | 1,10 ± 0,15 | 1,10 ± 0,15 | 1,50 ± 0,18 |
| 2 | Дитерпеновые кислоты | 8,89 ± 0,30 | 3,67 ± 0,13 | 3,13 ± 0,18 | 8,68 ± 0,22 |
| 3 | Флавоноиды | 5,89 ± 0,08 | 4,74 ± 0,11 | 3,94 ± 0,05 | 4,44 ± 0,12 |
| 4 | Водорастворимые полисахариды | 9,89 ± 0,26 | 9,79 ± 0,25 | 7,55 ± 0,22 | 7,85 ± 0,20 |

Примечание РД – Республика Дагестан, КБР – Кабардино-Балкарская Республика
СК – Ставропольский край КК – Краснодарский край

При изучении возможности использования исследуемого сырья для получения лекарственных препаратов мы провели анализ фракций дитерпеновых кислот, выделенных и очищенных нами из сырья. Присутствие дитерпеновых соединений исследовали также в извлечениях, полученных водно-спиртовыми смесями различной концентрации и сжиженным углерода (IV) оксидом. Анализ фракций, который осуществлялся с использованием достоверного образца карнозоловой кислоты, показал, что карнозоловая кислота, как основной представитель дитерпеновых кислот шалфея лекарственного, присутствует во всех проанализированных образцах. Было также обнаружено совпадение УФ-спектров поглощения у растворов выделенных фракций и раствора карнозоловой кислоты (максимумы при 285 ± 5 нм, 315 ± 5 нм и 408 ± 5 нм). В ходе исследования физико-химических свойств карнозоловой кислоты и полученных извлечений, были разработаны методики количественного определения суммы дитерпеновых кислот в сырье шалфея и его лекарственных препаратах. Подобранные условия выделения и очистки фракции дитерпеновых кислот позволяют достоверно и точно устанавливать их содержание УФ-спектрофотометрическим методом. Расчет предлагается проводить с помощью установленного нами с использованием стандартного образца карнозоловой кислоты удельного показателя поглощения ($E_{1\%}^{1\text{см}} - 40,92$). Оценка основных валидационных параметров предлагаемой методики позволяет сделать вывод о ее соответствии критериям линейности,

селективности, правильности (отсутствие систематической ошибки) и воспроизводимости ($t_{расч} < t_{табл}$). В результате проведенных исследований нами предложено осуществлять стандартизацию сырья шалфея лекарственного наряду с определением эфирного масла, по содержанию дитерпеновых кислот (Таблица 2)

Таблица 2 – Показатели и нормы качества листьев шалфея лекарственного

| Разделы ФС | Метод анализа | Нормы |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Внешние признаки | Раздел оставлен без изменений (ст 22 ГФ XI) | |
| Микроскопия | Раздел оставлен без изменений | |
| Качественные реакции | | |
| <i>Дитерпеновые кислоты</i> | Качественная реакция | С ванилиновым реактивом (ГФ XI) должно наблюдаться красно-коричневое окрашивание |
| | Спектрофотометрия | Испыгуемый раствор, приготовленный для колич. определения суммы дитерпеновых кислот, должен иметь максимум поглощения при 285 ± 3 нм |
| <i>Карнозоловая кислота (дитерпеновая кислота)</i> | ТСХ | На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться пятно синего цвета с Rf около 0,5. Допускается наличие других пятен |
| Числовые показатели | Раздел дополнен нормой содержания суммы дитерпеновых кислот | |
| Количественное определение | | |
| <i>Эфирное масло %</i> | Метод I ГФ XI | Не менее 1,0 |
| <i>Сумма дитерпеновых кислот, %, в пересчете на карнозоловую к-ту</i> | Спектрофотометрия | Не менее 3,0 |

Примечание жирным шрифтом в таблице выделены показатели и нормы которые для данного вида лекарственного растительного сырья предложены впервые

Фармакогностическое исследование травы полыни эстрагон

В образцах травы полыни эстрагон (выращивается в Дагестанской зональной опытной станции ВИР), заготовленных в период массового цветения (основная заготовка) и на различных фазах вегетации, мы определяли основные числовые показатели, химический состав накопление БАВ по фазам развития, а также их распределение по различным надземным органам. Результаты

фитохимического анализа показывают, что листья и соцветия полыни эстрагон характеризуются высоким содержанием эфирного масла, кумаринов, флавоноидов и водорастворимых полисахаридов (Таблица 3)

Таблица 3 - Содержание биологически активных веществ в надземных органах полыни эстрагон, выращиваемой в культуре в Республике Дагестан

| № п/п | Группа веществ | Содержание % | | |
|-------|-------------------------|-----------------|------------------|------------------|
| | | стебли | листья | соцветия |
| 1 | Эфирное масло | * | $0,91 \pm 0,10$ | $1,20 \pm 0,12$ |
| 2 | Кумарины | $0,24 \pm 0,01$ | $1,44 \pm 0,04$ | $1,53 \pm 0,04$ |
| 3 | Флавоноиды | $1,82 \pm 0,05$ | $2,14 \pm 0,10$ | $2,86 \pm 0,11$ |
| 4 | Аскорбиновая кислота | – | 0,38 | 0,38 |
| 5 | Каротиноиды | – | 0,14 | 0,14 |
| 6 | Водораств. полисахариды | $6,29 \pm 0,10$ | $18,48 \pm 0,12$ | $16,28 \pm 0,08$ |

Примечание * - показатель не определялся, – вещества не обнаружены

Изучение динамики распределения БАВ в траве полыни эстрагон показало, что наибольшее содержание флавоноидов и кумаринов, выбранных нами в качестве анализируемых групп веществ, происходит в фазу массового цветения, высокий уровень их содержания сохраняется и в фазу плодоношения (Рисунок 1)

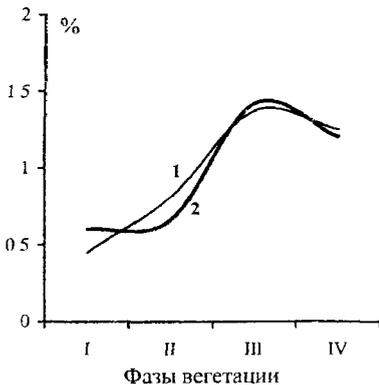


Рисунок 1 - Содержание биологически активных веществ – флавоноидов (1) и кумаринов (2), в траве полыни эстрагон в различные фазы вегетации

Условные обозначения I – стрелкование (апрель), II – бутонизация (май-июнь), III – массовое цветение (июль-август), IV – плодоношение (август-сентябрь)

Установлено также, что на стадиях массового цветения и плодоношения содержание эфирного масла в траве составляет не менее 10%. Для сырья полыни эстрагон подобраны оптимальные условия заготовки, сушки и

предварительной обработки. Для листа и стебля изучены анатомо-диагностические признаки (железки секреторные вместилища и др.), позволяющие подтверждать подлинность данного вида сырья.

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ ЭВКАЛИПТА ПРУТОВИДНОГО

В настоящее время известно несколько видов сырья эвкалипта прутовидного: листья высушенные (ГФ XI), побеги свежие, предназначенные для получения эфирного масла и побеги высушенные, предназначенные для получения липофильного лекарственного препарата «Эвкалимин». Для производства другого липофильного препарата – хлорофиллипта, используют листья высушенные, поэтому они явились основным сырьем эвкалипта в наших исследованиях. Основным результатом проведенных фитохимических исследований является экспериментальное обоснование стандартизации листьев эвкалипта прутовидного, предназначенных для производства хлорофиллипта, по содержанию целевых действующих веществ, а именно суммы фенолоальдегидов, что нашло отражение в разработанном нами проекте ФС «Листья эвкалипта прутовидного» (взамен ст 15, ГФ XI).

Для подтверждения подлинности и доброкачественности сырья мы предлагаем ввести в ФС раздел «Качественные реакции», включающий метод ТСХ для обнаружения фенолоальдегидов. В раздел «Количественное определение» включена методика определения суммы фенолоальдегидов УФ-спектрофотометрическим методом в пересчете на ГСО эвкалимина. Разработанные методики анализа содержат стадию пробоподготовки, в которой предусмотрена очистка суммы фенолоальдегидов от сопутствующих веществ. Эти методики были апробированы на образцах листьев эвкалипта прутовидного, отобранных из архива ЗАО «Вифитех» от нескольких промышленных партий сырья (Таблица 4).

Таблица 4 - Результаты количественного определения суммы фенолоальдегидов в листьях эвкалипта прутовидного

| Номер партии сырья | Содержание фенолоальдегидов, % | Метрологические характеристики | | | |
|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|------|--------|------|
| | | f | P | S | ε, % |
| 010605 | 5,56 ± 0,20 | 5 | 0,95 | 0,0778 | 3,65 |
| 020805 | 5,63 ± 0 22 | 5 | 0,95 | 0,0856 | 3,84 |
| 030106 | 3,08 ± 0 10 | 5 | 0,95 | 0,0389 | 3,36 |
| 040406 | 6,21 ± 0 21 | 5 | 0,95 | 0,0817 | 3,45 |
| 050706 | 6,11 ± 0,23 | 5 | 0,95 | 0,0895 | 3,80 |

В таблице 5 представлены основные показатели и нормы качества листьев эвкалипта прутовидного цельных, предлагаемые в проекте новой ФС

Таблица 5 – Показатели и нормы качества листьев эвкалипта прутовидного

| Разделы ФС | Метод анализа | Нормы |
|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Внешние признаки | Раздел оставлен без изменения (ст 15, ГФ XI) | |
| Микроскопия | Раздел дополнен рисунком | |
| Качественные реакции | | |
| <i>Терпеноиды</i> | Качественная реакция | С ванилиновым реактивом (ГФ XI) должно наблюдаться красно-коричневое окрашивание |
| <i>Фенолоальдегиды</i> | ТСХ | На хроматограмме испытуемого раствора должны наблюдаться пятна розового цвета, принадлежащие фенолоальдегидам, с R _f около 0,4 и R _f около 0,8, совпадающие по расположению и цвету с пятнами на хроматограмме раствора ГСО эвкалимина. Допускается наличие других пятен |
| | Спектрофотометрия | УФ-спектр поглощения испытуемого раствора, приготовленного по разделу «Количественное определение», в области от 240 до 320 нм должен иметь максимум при длине волны (278 ± 3) нм |
| Числовые показатели | Раздел дополнен нормой содержания суммы фенолоальдегидов | |
| Количественное определение | | |
| <i>Эфирное масло, %</i> | Метод 1. ГФ XI | Не менее 1 0 |
| <i>Сумма фенолоальдегидов, %, в пересчете на эвкалимин</i> | Спектрофотометрия | Не менее 3,0 |

Примечание жирным шрифтом в таблице выделены показатели и нормы которые для данного вида лекарственного растительного сырья предложены впервые

Оценка основных валидационных параметров методики количественного определения фенолоальдегидов, проведенная нами с использованием ГСО эвкалимина, позволяет сделать вывод о ее соответствии критериям линейности, селективности, правильности (отсутствие систематической ошибки) и воспроизводимости ($t_{\text{расч.}} < t_{\text{табл.}}$).

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО, ПОЛЫНИ ЭСТРАГОН И ЭВКАЛИПТА ПРУТОВИДНОГО

Из литературных данных известно, что экстракция сжиженными газами – процесс интенсивный, позволяющий уже на второй ступени извлекать экстрактивных веществ от 80 % до 90 % и более от их исходного содержания. Также известно, что на динамику процесса и состав извлечений большое влияние оказывают условия экстракции, в основном давление и температура. Исследование липофильных извлечений, полученных из исследуемых видов сырья, проводилось с целью оценить влияние метода экстракции на состав извлечений и включало анализ эфирных масел и CO_2 -экстрактов.

Сравнительный анализ фракций CO_2 -экстракта шалфея

Экстракция листьев шалфея сверхкритическим углерода (IV) оксидом была проведена в три ступени при температуре $+31,5^\circ\text{C}$ и давлениях 10 МПа (фракция 1), 20 МПа (фракция 2) и 30 МПа (фракция 3). Динамика выхода экстрактивных веществ, представлена на рисунке 2.



Рисунок 2 - Динамика экстракции листьев шалфея сверхкритическим флюидным углерода (IV) оксидом

Химический анализ полученных фракций проводился методом газожидкостной хроматографии с масс-спектральной детекцией. Химический анализ показал, что в качественном составе фракций различий практически нет, основное различие между фракциями наблюдается в количественном соотношении компонентов. В составе фракции 1 доминируют моно- и сесквитерпены (суммарно около 63 %). Фракция 2 характеризуется примерно равным соотношением терпенов и высокомолекулярных спиртов. Во фракции 3, наряду с терпенами и спиртами, заметно возрастает количество насыщенных углеводородов. В составе исследуемых образцов идентифицировано 59 соединений, основные из них представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Фракционный состав основных компонентов CO_2 -экстракта шалфея

| № п/п | Соединение | Содержание, % | | |
|-------|--------------------------|---------------|-----------|-----------|
| | | Фракция 1 | Фракция 2 | Фракция 3 |
| 1 | α -Туйон | 17,615 | 9,857 | 7,443 |
| 2. | Камфора | 9,099 | 6,520 | 5,418 |
| 3 | Кариофиллен | 4,722 | 3,842 | 3,322 |
| 4 | 1,8-Цинеол (Эвкалиптол) | 4,334 | 3,282 | 2,243 |
| 5 | β -Туйон | 3,834 | 2,667 | 2,001 |
| 6 | Борнеол | 2,569 | 2,307 | 1,963 |
| 7 | α -Пинен | 1,804 | 0,978 | 1,117 |
| 8 | Борнилацетат | 1,238 | 0,851 | 0,808 |
| 9 | Камфен | 1,209 | 0,364 | 0,106 |
| 10 | Лимонен | 0,642 | 0,297 | 0,132 |
| 11 | β -Пинен | 0,602 | 0,190 | 0,072 |
| 12 | 1-Циклопропилазулен-4-ол | 6,145 | 7,365 | 6,314 |
| 13 | Азулен | 5,936 | 4,865 | 4,186 |
| 14 | Тотарол | 0,546 | 1,171 | 1,438 |
| 15 | Кариофиллен-оксид | 0,544 | 0,501 | 0,466 |
| 16 | Манол | 17,726 | 22,256 | 20,734 |
| 17 | Насыщенные углеводороды | 8,042 | 17,838 | 22,043 |

Из представленных на рисунке 2 в таблице 6 данных видно, что значительного выхода экстрактивных веществ удастся достичь уже в две ступени экстракции (более 90 %), в процессе экстракции наблюдается постадийное снижение количества монотерпенов (туйона, камфоры, цинеола и др.) и увеличение массовой доли насыщенных углеводородов. Доля сескви-

дитерпенов выше во второй фракции, чем в первой и третьей. Таким образом, экстракцию липофильного комплекса шалфея, состоящего преимущественно из терпеноидов, сверхкритическим флюидным углерода (IV) оксидом необходимо осуществлять в две ступени при температуре +31,5 °С и давлении 20 МПа. Полученные результаты показывают преимущество использования метода извлечения моно- и сесквитерпенов сжиженным газом по сравнению с традиционными методами перегонкой с водяным паром (более длительным и энергоемким) и экстракцией органическим растворителем, включающим стадию отгона экстрагента.

Исследование эфирного масла и СО₂-экстракта полыни эстрагон

Важнейшими классами БАВ в траве полыни эстрагон являются эфирное масло, кумарины и флавоноиды, но основное внимание исследователей уделяется эфирному маслу, динамике его накопления и изменчивости состава. СО₂-экстракты пищевых растений, к которым относится полынь эстрагон, нередко используются как заменители эфирного масла, что определяет необходимость их сравнительного анализа, который также позволяет оценить влияние метода экстракции на состав липофильных извлечений. Анализ СО₂-экстракта и эфирного масла полыни эстрагон проводился методом хромато-масс-спектрографии. Основные компоненты исследованных образцов представлены в таблице 7, всего в их составе идентифицировано 45 соединений. Доминирующими соединениями в составе исследуемых извлечений являются ароматические производные (суммарно в эфирном масле 56,5 %, в СО₂-экстракте 44,1 %). Как видно из данных таблицы, в составе эфирного масла полыни эстрагон преобладающими соединениями являются метилэвгенол и фелландрен, в СО₂-экстракте преобладающими являются метилэвгенол, азарон и 6,7-диметоксикумарин. Анализ также показал, что в СО₂-экстракте значительная часть (почти 80 %), принадлежит условно «тяжелой» (смолистой) фракции, включающей сесквитерпены, сквален, насыщенные углеводороды, высшие кислоты и сложные эфиры. В составе

эфирного масла этой фракции принадлежит только около 25 %. В CO_2 -экстракте содержится более 16 % суммы кумаринов, которые в эфирном масле отсутствуют. Еще одним отличием CO_2 -экстракта является присутствие в его составе сравнительно легко окисляемых альдегидов.

Таблица 7 – Основные компоненты CO_2 -экстракта и эфирного масла травы полыни эстрагон

| № п/п | Соединение | Содержание, % | |
|-------|----------------------------|---------------|-------------------------|
| | | Эфирное масло | CO_2 -экстракт |
| 1. | Фелландрен | 12,561 | 1,773 |
| 3 | Терпинолен | 0,603 | 0,148 |
| 4 | Лимонен | 0,555 | 0,514 |
| 5 | γ -Терпинен | 1,154 | 0,584 |
| 6 | Оцимен | 1,398 | – |
| 7 | Цимол | 0,310 | 0,111 |
| 8 | 4-Терпинеол | 3,218 | 0,380 |
| 9 | Метилхавикол (Эстрагол) | 1,023 | 0,280 |
| 10 | Метилэвгенол | 46,550 | 13,774 |
| 11 | Метилизоэвгенол | 2,029 | 1,747 |
| 12 | Изоэлемицин | 1,919 | 6,478 |
| 13. | Азарон | 4,949 | 21,693 |
| 14 | 3,4,5-Триметилбензальдегид | – | 0,885 |
| 15 | 7-Метоксикумарин | – | 0,637 |
| 16 | Сквален | 1,976 | 8,604 |
| 17 | 3,4,7-Триметоксикумарин | – | 3,887 |
| 18 | 6,7-Диметоксикумарин | – | 12,067 |
| 19 | Насыщенные углеводороды | 15,021 | 4,884 |

Таким образом, метод экстракции травы полыни эстрагон сверхкритическим флюидным углерода (IV) оксидом позволяет получать липофильный комплекс, состоящий преимущественно из тех компонентов, которые обнаруживаются в составе эфирного масла. Однако наличие в составе CO_2 -экстракта кумаринов, обладающих выраженной биологической активностью в отношении системы свертывания крови, определяет необходимость его фракционирования.

Исследование эфирного масла и CO_2 -экстракта эвкалипта

Сравнительный анализ компонентного состава эфирного масла и CO_2 -экстракта эвкалипта прутовидного осуществлялся в образцах, полученных из

одной партии сырья промышленной заготовки Сырье измельчалось непосредственно перед обработкой до размера частиц 1-3 мм, выход эфирного масла составил 2,5 %, выход CO₂-экстракта - около 5 % Сразу после получения образцы герметично упаковывались и далее анализировались методом ГЖХ с масс-спектральной детекцией В составе исследованных образцов идентифицировано 58 соединений Основные из них представлены в таблице 8

Таблица 8 – Основные компоненты эфирного масла и CO₂-экстракта листьев эвкалипта прутовидного

| № п/п | Соединение | Содержание, % | |
|-------|---------------------------|---------------|---------------------------|
| | | Эфирное масло | CO ₂ -экстракт |
| 1. | α – Пинен | 7,026 | 4,683 |
| 2 | α - Фелландрен | 0,115 | 0,202 |
| 3 | Лимонен | 3,08 | 1,676 |
| 4 | 1,8 – Цинеол (Эвкалиптол) | 71,083 | 15,639 |
| 5 | Цимол | 3,21 | 1,549 |
| 6 | Изоледен | 0,021 | 0,505 |
| 7 | Δ - Аристолен | 2,537 | 1,498 |
| 8 | Аллоаромадендрен | 1,897 | 18,099 |
| 9 | Эремофилен | – | 1,042 |
| 10 | Аромандендрен | 0,294 | 3,076 |
| 11 | Валенсен | 0,832 | 0,487 |
| 12 | Эликсен | 1,732 | 1,755 |
| 13 | Цис-гераниол (нерол) | 0,212 | 0,889 |
| 14. | Дегидроаромадендрен | 0,023 | 0,548 |
| 15 | Кубенол | – | 1,115 |
| 16 | Спагуленол | 0,081 | 0,405 |
| 17 | Δ - Селинен | 0,061 | 0,966 |
| 18 | Агароспирол | 0,055 | 1,701 |
| 19 | γ - Эудесмол | 0,177 | 3,893 |
| 20 | Эудесмол | 0,471 | 5,755 |
| 21 | Сквален | 0,391 | 0,726 |
| 22 | Насыщенные углеводороды | 4,497 | 24,502 |

Распределение идентифицированных соединений по основным классам показало, что метод извлечения влияет, главным образом, на соотношение компонентов (Таблица 9). В эфирном масле эвкалипта более 85 % составляют монотерпены Основным по содержанию является моноциклический монотерпен цинеол (более 71 %) Кроме монотерпенов, в эфирном масле

содержится значительное количество сесквитерпенов и насыщенных углеводов (в сумме более 13 %)

Таблица 9 – Основные классы соединений в составе эфирного масла и CO_2 -экстракта эвкалипта прутовидного

| Класс соединений | Содержание, % | |
|-------------------------|---------------|-------------------------|
| | Эфирное масло | CO_2 -экстракт |
| Монотерпены | 85,700 | 26,248 |
| Сесквитерпены | 8,691 | 47,097 |
| Дитерпены | – | 0,552 |
| Тритерпены | 0,391 | 0,726 |
| Сложные эфиры | 0,039 | 0,157 |
| Органические кислоты | 0,683 | 0,685 |
| Насыщенные углеводороды | 4,497 | 24,502 |

В составе CO_2 -экстракта содержится около 50 % сесквитерпенов и примерно по 25 % монотерпенов и насыщенных углеводов. Поскольку качественный состав извлечений почти не отличается, из CO_2 -экстракта эвкалипта прутовидного возможно получение лекарственного препарата «Эфирное масло эвкалипта» фракционированием. Для фракционирования эфирных масел из CO_2 -экстрактов, как правило, используются известные методы – адсорбция, вымораживание и др. Полученные результаты позволяют считать метод обработки листьев эвкалипта прутовидного сверхкритическим флюидным углерода (IV) оксидом пригодным для извлечения липофильной фракции, представляющей интерес для исследования, так как она содержит в своем составе эфирное масло эвкалипта и сопутствующие вещества, не перегоняемые с водяным паром.

Исследование шрота листьев эвкалипта, полученных методами перегонки с водяным паром и сверхкритической флюидной CO_2 -экстракции

Образцы шрота листьев эвкалипта, полученные разными методами, отличаются по некоторым физико-химическим и технологическим параметрам. Шрот после перегонки эфирного масла с водяным паром представляет собой влажную массу, которая требует сушки до остаточной влажности 10-14 %. Шрот после сверхкритической флюидной CO_2 -экстракции остается с

влажностью ниже, чем в исходном сырье, так как часть воды переходит в экстракт. Для шрота, остающегося после экстракции, характерна большая, чем в исходном сырье, сыпучесть, он легко порошкуются и даже пылится, вследствие чего несколько затрудняется его дальнейшая переработка. Одновременно с этим он легче смачивается полярными экстрагентами, так как в нем сведено к минимуму мешающее влияние малополярных веществ.

Фитохимический анализ образцов шрота, а также исходного сырья, проводился по содержанию фенолоальдегидов. На хроматограммах ТСХ всех испытуемых объектов наблюдали пятна, совпадающие по расположению и цвету с пятнами на хроматограмме раствора ГСО эвкалимина. Количественное определение суммы фенолоальдегидов проводили УФ-спектрофотометрическим методом в пересчете на эвкалимин. Содержание фенолоальдегидов в исходном сырье составило $(5,36 \pm 0,20) \%$, в шроте после перегонки эфирного масла с водяным паром – $(5,42 \pm 0,21) \%$. в шроте после CO_2 -экстракции – $(5,58 \pm 0,21) \%$ в пересчете на сухое сырье, то есть содержание фенолоальдегидов в шроте возрастает пропорционально количеству извлечения. Таким образом, шрот листьев эвкалипта после извлечения липофильной фракции может служить сырьем для получения суммы фенолоальдегидов. Чтобы оценить такую возможность, мы провели переработку образцов шрота по технологии эвкалимина (ГУ ВИЛАР) и технологии хлорофиллипта (ЗАО «Вифитех»). Образцы лекарственных препаратов, полученные из шрота, сравнивали с промышленными образцами, полученными из исходного сырья. Данные сравнительного фитохимического анализа, представленные в таблице 10, показывают соответствие между сравнимыми образцами лекарственных препаратов по всем нормированным показателям. Результаты испытаний показывают, что промышленную переработку листьев эвкалипта, используя методы перегонки с водяным паром или сверхкритической флюидной CO_2 -экстракции, можно осуществлять с получением нескольких лекарственных препаратов эфирного масла и хлорофиллипта (или эвкалимина).

Таблица 10 – Сравнительный анализ образцов фитопрепаратов «Хлорофиллит» и «Эвкалимин», полученных из шрота листьев эвкалипта после перегонки с водяным паром (I) и CO₂-экстракции (II) в сравнении с промышленными образцами (III)

| Показатели и нормы качества | Хлорофиллит | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------|-------|
| | I | II | III |
| Описание густая масса изумрудно-зеленого цвета со специфическим запахом, практ нераств в воде | Соотв | Соотв | Соотв |
| - Качественная реакция на терпеноиды | Полож | Полож | Полож |
| - ТСХ (обнаружение фенолоальдегидов) | Полож | Полож | Полож |
| - УФ-спектр ($\lambda_{\max} = 278 \pm 2$ нм) | 278,2 | 278,2 | 277,8 |
| Содержание суммы фенолоальдегидов (не менее 40%) | 44 | 48 | 45 |
| Содержание катионов меди (II), % | 0,17 | 0,16 | 0,16 |
| Антибактериальная активность (не более 12,5 мкг/мл) | Соотв | Соотв | Соотв |
| | Эвкалимин | | |
| | I | II | III |
| Описание аморфный порошок серовато-кремового цвета, со специфич запахом, практ нераств в воде, умеренно – в спирте этиловом 95 % | Соотв | Соотв | Соотв |
| - Качественная реакция на фенольные вещества | Полож | Полож | Полож |
| - ТСХ (обнаружение фенолоальдегидов) | Полож | Полож | Полож |
| - УФ-спектр ($\lambda_{\max} = 278 \pm 3$ нм, $\lambda_{\min} = 243 \pm 3$ нм) | Соотв | Соотв | Соотв |
| Содержание суммы фенолоальдегидов (не менее 40%) | 42,5 | 42,0 | 43,0 |

Примечание Соотв – соответствие требованиям нормативной документации на лекарственные препараты «Хлорофиллит» (ФСП) и «Эвкалимин» (ФС)

РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЭКСТРАКЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО И ПОЛЬНИ ЭСТРАГОН

Разработка и стандартизация экстракта шалфея лекарственного

Фитохимический анализ и оценка антибактериальных свойств водно-спиртовых извлечений из листьев шалфея, послужили основанием разработки нового экстракционного лекарственного препарата «Экстракт шалфея лекарственного жидкий», для местного и наружного применения. Процесс экстракции изучался по динамике извлечения 40% спиртом этиловым основных БАВ (дитерпеновых кислот, флавоноидов и дубильных веществ). Было установлено, что, несмотря на сравнительно низкую концентрацию этилового спирта, экстрагент извлекает значительное количество

малополярных веществ, в частности, дитерпеновых кислот. Исследование пяти экспериментальных серий разработанного лекарственного препарата позволило установить для него основные показатели и нормы качества (Таблица 11)

Таблица 11 - Показатели и нормы качества нового лекарственного препарата «Экстракт шалфея лекарственного жидкий»

| Раздел | Метод анализа | Нормы |
|--------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Описание | Визуальный | Жидкость красно-бурого цвета с характерным запахом. В процессе хранения допускается образование мелкодисперсного осадка. |
| Подлинность <i>Дитерпеновые кислоты</i> | Качественная реакция | С ванилиновым реактивом (ГФ XI) должно наблюдаться красно-коричневое окрашивание. |
| | Спектрофотометрия | Испытуемый раствор, приготовленный для количественного определения суммы дитерпеновых кислот, должен иметь максимум поглощения при 285 ± 3 нм. |
| <i>Дубильные вещества</i> | Качественная реакция | С раствором желатина 1 % должен образовываться аморфный осадок. |
| <i>Флавоноиды</i> | Качественная реакция | Оранжево-красное окрашивание в результате цианидиновой реакции. |
| Сухой остаток, % | ГФ XI | Не менее 18,0 |
| Спирт, % | ГФ XI | Не менее 33,0 |
| Количественное определение | | |
| <i>Суммы дитерпеновых кислот, %, в пересчете на карнозоловую кислоту</i> | Спектрофотометрия | Не менее 8,0 |
| <i>Дубильных веществ, %, в пересчете на танин</i> | Титриметрический | Не менее 10,0 |
| <i>Суммы флавоноидов, %, в пересчете на рутин</i> | Спектрофотометрия | Не менее 1,0 |

При изучении стабильности лекарственного препарата установлено, что все показатели качества при его хранении во флаконах из темного стекла и при комнатной температуре остаются в норме в течение 2 лет и 6 месяцев.

Разработка и стандартизация экстракта полыни эстрагон жидкого

При разработке технологии жидкого экстракта полыни эстрагон мы исходили из того, что в скрининговых фармакологических исследованиях

наиболее выраженные антигипоксическое и противовоспалительное свойства проявило извлечение, полученное 70 % спиртом этиловым. В соответствии с этим нами была разработана технология жидкого экстракта методом реперколяции в батарее из четырех диффузоров и предложены методы его стандартизации (Таблица 12)

Таблица 12 - Показатели и нормы качества нового лекарственного препарата «Экстракт полыни эстрагон жидкий»

| Раздел | Метод анализа | Нормы |
|--------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Описание | Визуальный | Прозрачная жидкость от желтовато-коричневого до коричневого с зеленоватым оттенком цвета с характерным запахом |
| Подлинность Фенольные вещества | Качественная реакция | С раствором железа (III) хлорида 1 % должно наблюдаться зеленовато-коричневое окрашивание и образование осадка |
| Метилхавикол (ароматическое соединение) | ГЖХ | На хроматограмме ГЖХ, полученной по разделу «Количественное определение» должен обнаруживаться пик, принадлежащий метилхавиколу и имеющий характеристики удерживания, соотносимые с таковыми стандарта |
| Кумарины | Спектро- фотометрия | УФ-спектр поглощения раствора, приготовленного для количественного определения суммы кумаринов, должен иметь максимум при 280 ± 4 нм |
| Флавоноиды | Спектро- фотометрия | УФ-спектр поглощения раствора, приготовленного для количественного определения суммы флавоноидов, должен иметь максимум при 405 ± 5 нм |
| Сухой остаток, % | ГФ XI | Не менее 4,0 |
| Спирт, % | ГФ XI | Не менее 63,0 |
| Количественное определение Метилхавикол, % | ГЖХ | Не менее 0,1 |
| Кумарины, % | Спектро- фотометрия | От 1,0 до 1,3 |
| Сумма флавоноидов, %, в пересчете на рутин | Спектро- фотометрия | Не менее 0,5 |

При изучении стабильности лекарственного препарата установлено, что все показатели качества при его хранении во флаконах из темного стекла и при комнатной температуре остаются в норме в течение 2 лет и 6 месяцев

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ И ТЕХНОЛОГИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА САЛЬВИН

Совершенствование методов стандартизации сальвина

По существующей, и в настоящее время устаревшей, ФС на лекарственный препарат «Сальвин» показатели качества, устанавливаемые химическими методами, включали в себя только качественные реакции на дитерпеновые кислоты и полифенолы. Количественная оценка лекарственного препарата проводилась по антимикробной активности. Поскольку современные требования к стандартизации лекарственных препаратов предусматривают применение физико-химических методов, мы провели исследования по разработке методики химического анализа сальвина. На основании результатов фитохимических исследований листьев шалфея лекарственного, нами была разработана методика количественного определения суммы дитерпеновых кислот методом УФ-спектрофотометрии, апробация которой была осуществлена на промышленных образцах лекарственного препарата «Сальвин, экстракт густой» (Таблица 13)

Таблица 13 - Результаты количественного определения суммы дитерпеновых кислот в лекарственном препарате «Сальвин, экстракт густой» (ЗАО «Вифитех»)

| Серия лекарственного препарата | X_{cp} | Метрологические характеристики | | | | |
|--------------------------------|----------|--------------------------------|------|-------|------------|----------------|
| | | f | P | S | Δx | $\epsilon, \%$ |
| 010705 | 64,27 | 5 | 0,95 | 0,672 | 1,73 | 2,69 |
| 020805 | 62,38 | 5 | 0,95 | 0,538 | 1,38 | 2,21 |
| 030805 | 65,01 | 5 | 0,95 | 0,766 | 1,97 | 3,03 |

Для подтверждения подлинности лекарственного препарата сальвин нами предложена методика обнаружения карнозоловой кислоты методом ТСХ

Основные показатели и нормы качества лекарственного препарата «Сальвин, экстракт густой» представлены в таблице 14

Таблица 14 - Основные показатели и нормы качества лекарственного препарата «Сальвин, экстракт густой»

| Раздел | Метод анализа | Нормы |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Описание | Визуальный | Смолистая масса зеленовато-коричневого цвета со специфическим запахом шалфея |
| Растворимость | ГФ XI | Практически нерастворим в воде, растворим в 95% спирте, ацетоне |
| Подлинность <i>Дитерпеновые кислоты</i> | Качественная реакция | С ванилиновым реактивом (ГФ XI) должно наблюдаться красно-коричневое окрашивание |
| | Качественная реакция | 0,01 г препарата смешивают с уксусным ангидридом и прибавляют несколько капель концентрированной серной кислоты, должно появляться розовое, затем фиолетовое и зеленое окрашивание |
| | Спектрофотометрия | Испытуемый раствор, приготовленный для количественного определения суммы дитерпеновых кислот, должен иметь максимум поглощения при 285 ± 3 нм |
| <i>Карнозоловая кислота (дитерпеновая кислота)</i> | ТСХ | На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться пятно синего цвета с Rf около 0,5. Допускается наличие других окрашенных пятен |
| Полифенолы | Качественная реакция | 1% спиртовой раствор при добавлении раствора железа (III) хлорида должен образовывать темно-зеленое окрашивание |
| Потеря в массе при высушивании, % | ГФ XI | Не более 23,0 |
| Антимикробная активность | Микробиологический | Препарат должен оказывать бактериостатическое действие в отношении тест - культуры золотистого стафилококка при концентрации не выше 40 мкг/мл |
| Количественное определение Сумма дитерпеновых кислот, %, в пересчете на карнозоловую кислоту | Спектрофотометрия | Не менее 60,0 |

Примечание жирным шрифтом в таблице выделены показатели и нормы, которые для данного лекарственного препарата предложены впервые

Разработанные методики нашли отражение в проектах ФСП на лекарственные препараты «Сальвин, экстракт густой» и «Сальвин-ВИФ, раствор спиртовой 1 %» (ЗАО «Вифитех»)

Совершенствование технологии лекарственного препарата сальвин

В литературе, посвященной шалфею лекарственному, технология сальвина отражена неполно. Известно, что она заключается в исчерпывающей экстракции БАВ из листьев шалфея ацетоном. из ацетонового извлечения после очистки сорбентом и упаривания выделяют целевой продукт. Технологические исследования мы проводили, проверяя получаемые образцы на соответствие требованиям ФС. Они включали изучение экстракционных свойств различных растворителей – ацетона, водно-ацетоновых и водно-спиртовых смесей. В результате было установлено, что внедрение в масштабное промышленное производство ацетона, как экстрагента, затруднительно вследствие его высокой летучести, пожаро-, взрывоопасности и токсичности, поэтому основной задачей в усовершенствовании технологии сальвина явился выбор оптимального экстрагента для извлечения суммы дитерпеновых кислот. Исследования показали возможность замены ацетона 95 % спиртом этиловым, так как сальвин, полученный при этом, полностью соответствует требованиям ФС. Преимуществами 95 % спирта этилового является меньшая летучесть и значительно большая безопасность при регенерации из шрота. Усовершенствование технологии сальвина происходило с одновременной разработкой химических методов оценки качества промежуточных продуктов, так как до настоящего времени она проводилась только по описанию и остаточной влажности, а соответствие лекарственного препарата по антимикробной активности из-за длительности метода осуществлялось только в конце процесса. Результаты проведенных исследований нашли отражение в опытно-промышленном регламенте на производство лекарственного препарата «Сальвин, экстракт густой».

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ И ТЕХНОЛОГИИ
ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ХЛОРОФИЛЛИПТ**

Антибактериальные свойства сырья и лекарственных препаратов эвкалипта прутовидного традиционно связываются с эфирным маслом или цинеолом, входящим в состав эфирного масла что нашло отражение в соответствующей нормативной документации Вместе с тем, технология хлорофиллипта и эвкалимина, которые по степени антимикробных свойств могут быть отнесены к природным антибиотикам, включает в себя ряд стадий очистки и исключает значительное присутствие эфирного масла в конечном продукте По аналогии с сальвином, технология хлорофиллипта в литературе была приведена очень кратко и не могла служить основой для понимания природы действующих веществ в составе лекарственного препарата Это затрудняло совершенствование методов контроля его производства и стандартизации

Хлорофиллипт, согласно литературным данным, является суммой хлорофиллов а и b Специфика технологии хлорофиллипта состоит в том, что в ней используется раствор меди (II) сульфата, который, по мнению разработчиков, осуществляет химическую очистку хлорофиллов Считается также, что активность хлорофиллов эвкалипта усиливается присутствием примеси эфирного масла (цинеола), что верно лишь отчасти Отсутствие более точных данных о действующих веществах хлорофиллипта, а также необходимость усовершенствования технологии и нормативной документации на хлорофиллипт и его лекарственные препараты вызвали необходимость соответствующих фитохимических и технологических исследований

Анализ литературных данных послужил основанием для сравнительного исследования лекарственных препаратов хлорофиллипт и эвкалимин (разработан ГУ ВИЛАР из листьев эвкалипта прутовидного) Исследование хлорофиллипта было проведено в соответствии с данными, относящимися к составу и физико-химическим свойствам эвкалимина Предпосылкой к этому явилось, прежде всего, принципиальное сходство в технологиях эвкалимина и

хлорофиллипта на стадиях экстракции сырья и удаления нежелательных примесей сопутствующих веществ

Сравнительный анализ химического состава лекарственных препаратов хлорофиллипт и эвкалимин

Эвкалимин является очищенной суммой веществ дитерпеновой природы, производных флороглюцина, объединенных под названием фенолоальдегиды (или зуглобали) Допуская, что в составе хлорофиллипта могут присутствовать вещества той же природы, что и в составе эвкалимина, мы провели сравнительный химический анализ хлорофиллипта и эвкалимина, который показал, что, несмотря на различия в нормированных физико-химических показателях, у них практически совпадают УФ-спектры растворов (10 мкг/мл, спирт этиловый 95 %), которые имеют максимум при 278 ± 2 нм и минимум при 243 ± 3 нм Для того чтобы количественно оценить содержание эвкалимина в хлорофиллипте, мы использовали образец лекарственного препарата «Хлорофиллипт, экстракт густой» в качестве промежуточного полупродукта в технологии лекарственного препарата «Эвкалимин» В результате был получен аморфный порошок серовато-кремового с зеленоватым оттенком цвета, соответствующий эвкалимину по описанию, подлинности, растворимости и УФ-спектральным характеристикам, а его массовая доля в составе лекарственного препарата «Хлорофиллипт» составила около 45 % Сравнительный ИК-спектральный анализ выделенной из хлорофиллипта фракции и ГСО эвкалимина показали полное совпадение основных полос поглощения Полученные результаты позволяют сделать вывод, что основными действующими веществами хлорофиллипта являются фенолоальдегиды, то есть он является фармакологическим и химическим аналогом лекарственного препарата «Эвкалимин» Особенностью технологии хлорофиллипта является применение на одной из промежуточных стадий катионов меди (II), остаточное количество которых определяет характерный внешний вид лекарственного препарата

Совершенствование методов стандартизации хлорофиллипта

Для хлорофиллипта, также как для сальвина, потребовалось разработать новые методики химического анализа, используемых в стандартизации лекарственного препарата по разделам «Подлинность» и «Количественное определение». С учетом установленной природы основных действующих компонентов хлорофиллипта была предложена методика подтверждения подлинности лекарственного препарата по обнаружению фенолоальдегидов методом ТСХ. Для определения оптимальной хроматографической системы, пригодной для наилучшего разделения веществ, мы провели сравнительную оценку нескольких составов подвижной фазы, применяемых в анализе терпеноидов. Одновременно с выбором системы оценивалась возможность использования ГСО эвкалимина в качестве достоверного образца.

При разработке методики количественного анализа хлорофиллипта и его лекарственных препаратов также учитывалось то, что он содержит фенолоальдегиды и может анализироваться с применением ГСО эвкалимина методом УФ-спектрофотометрии. Расчет содержания суммы фенолоальдегидов в лекарственных препаратах хлорофиллипта можно осуществлять с применением ГСО эвкалимина (ГУ ВИЛАР), а также по удельному показателю поглощения ($E_{1\%}^{1\text{см}} = 417$), установленному нами в условиях методики. Результаты апробации методики количественного определения суммы фенолоальдегидов в промышленных образцах препарата «Хлорофиллипт, экстракт густой», представлены в таблице 15.

Таблица 15 - Результаты количественного определения суммы фенолоальдегидов в лекарственном препарате «Хлорофиллипт экстракт густой» (ЗАО «Вифител»)

| Серия лекарственного препарата | $\lambda_{\text{ср}}$ | Метрологические характеристики | | | | |
|--------------------------------|-----------------------|--------------------------------|------|-------|-----------------|-----------------|
| | | f | P | S | $\Delta\lambda$ | ε % |
| 011105 | 44,83 | 5 | 0,95 | 0,234 | 0,60 | 1,34 |
| 020206 | 42,34 | 5 | 0,95 | 0,228 | 0,59 | 1,39 |
| 030206 | 45,07 | 5 | 0,95 | 0,256 | 0,91 | 2,02 |

Основные показатели и нормы качества лекарственного препарата «Хлорофиллипт, экстракт густой» представлены в таблице 16.

Таблица 16 - Основные показатели и нормы качества лекарственного препарата «Хлорофиллит, экстракт густой»

| Раздел | Метод анализа | Нормы |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Описание | Визуальный | Смолистая масса изумрудно-зеленого цвета со специфическим запахом |
| Растворимость | ГФ XI | Практически нерастворим в воде растворим в 95% спирте, хлороформе бензоле и других органических растворителях |
| Подлинность <i>Хлорофиллы</i> | Визуальный | 1 % раствор препарата в спирте этиловом 95% в слое световых лучей от лампы медицинской синей должен приобретать рубиново-красную окраску |
| Фенолоальдегиды | Качественная реакция | С ванилиновым реактивом (ГФ XI) должно наблюдаться малиново-красное окрашивание |
| | ТСХ | На хроматограмме испытуемого раствора должны наблюдаться пятна розового цвета, принадлежащие фенолоальдегидам, с R _f около 0,4 и R _f около 0,8, совпадающие по расположению и цвету с пятнами на хроматограмме раствора ГСО эвкалимина. Допускается наличие других пятен |
| | Спектрофотометрия | УФ-спектр поглощения испытуемого раствора, при оловленном по разделу «Количественное определение», в области от 240 до 320 нм должен иметь максимум при длине волны (278 ± 3) нм |
| Потеря в массе при высушивании, % | ГФ XI | Не более 20,0 |
| Антибактериальная активность | Микробиологический | Препарат должен подавлять рост тест – культуры Staphylococcus aureus штамма 209-Р в концентрации не выше 12,5 мкг в 1 мл питательной среды №1 (ГФ XI) |
| Количественное определение <i>Суммы фенолоальдегидов, %, в пересчете на эвкалимин</i> | Спектрофотометрия | Не менее 40,0 |

Примечание жирным шрифтом в таблице выделены показатели и нормы, которые для данного лекарственного препарата предложены впервые

Разработанные методики нашли отражение в проектах ФСН на лекарственные препараты «Хлорофиллипт, экстракт густой», «Хлорофиллипт, раствор спиртовой 1 %» и «Хлорофиллипт, раствор масляный 2 %»

Совершенствование технологии лекарственного препарата «Хлорофиллипт, экстракт густой».

Технология лекарственного препарата «Хлорофиллипт», предложенная НИИ микробиологии им И Мечникова (г Харьков), была практически без изменений реализована в масштабах промышленного производства. Однако она имеет ряд недостатков, среди которых основными являются следующие: используемый для экстракции целевого продукта органический растворитель (бензол) и неточная оценка роли катионов меди (II) в технологии лекарственного препарата. На практике это приводило к перерасходу меди (II) сульфата, образованию больших объемов жидких отходов, содержащих органический растворитель и медь. Отсутствие точной информации о действующих веществах хлорофиллипта и роли технологических факторов нередко приводило к получению лекарственного препарата, не соответствующего показателю «Антибактериальная активность».

В ходе исследований нами было установлено, что количество меди (II) сульфата, участвующего в технологическом процессе, имеет основное значение для достижения необходимого уровня очистки конечного продукта. Было обнаружено, что катионы меди выполняют в технологии и свойствах хлорофиллипта несколько функций. Они, как было отмечено выше, участвуют в химической очистке действующих веществ от значительного количества нежелательных сопутствующих примесей, затем некоторое количество катионов меди (II), переходящих в виде комплексов в хлорофиллипт, потенцируют его антибактериальную активность и образуя достаточно прочные комплексы с компонентами хлорофиллипта, придают лекарственному препарату насыщенный изумрудно-зеленый цвет.

На основании исследований проведенных в производственных условиях, мы предлагаем очистку хлорофиллипта осуществлять в две стадии в соответствии со схемой II на рисунке 3. Сначала экстракт эвкалипта обрабатывается в соотношении *катионы меди (II) / экстрактивные вещества* – 1/150, производится экстракция хлорофиллипта, промывание органической фазы водой от нерастворимых солей. Затем хлорофиллипт подвергается повторной обработке раствором меди сульфата в соотношении *катионы меди (II) / экстрактивные вещества* – 1/500, что позволяет достичь более полной очистки, одновременно происходит т.н. «насыщение» лекарственного препарата катионами меди.



Рисунок 3 - Фрагменты технологии хлорофиллипта по известной (I) и усовершенствованной (II) схемам

Примечание $Cu^{2+} / ЭВ$ – соотношение между катионами меди (II) и экстрактивными веществами, извлекаемыми из листьев эвкалипта спиртом этиловым 90 %

Предлагаемая новая схема носит характер усовершенствования, которое позволяет многократно сократить расход меди (II) сульфата, заметно уменьшить объемы органического растворителя, воды и получать препарат со значительно большей активностью, выдерживающий испытания по всем показателям Бензол предлагается заменить хлороформом Результаты данных исследований позволили в условиях промышленного производства получить сначала экспериментальные, а затем промышленные серии лекарственного препарата «Хлорофиллинт экстракт густой» и легли в основу нового промышленного регламента, внедренного в производство фармацевтической компании ЗАО «Вифитех»

ВЫВОДЫ

1 Анализ отечественного опыта промышленной переработки эфирномасличного сырья показал, что производство фитопрепаратов зачастую происходит без учета степени изученности БАВ, содержащихся в сырье. и поэтому не может быть конкурентоспособным на фармацевтическом рынке Современное фармацевтическое производство нуждается в выборе для стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) наиболее стабильных в химическом отношении классов соединений, вносящих наибольший вклад в биологическую активность суммарных препаратов, а также в безотходном использовании ЛРС, благодаря ресурсосберегающей технологии

2 Проведен фитохимический анализ листьев шалфея лекарственного, листьев эвкалипта прутовидного и травы полыни эстрагон, который показал, что содержащееся в них эфирное масло не является единственной группой БАВ, которая может быть использована для стандартизации сырья и препаратов Наряду с этим, для последовательной (т.н. «сквозной») стандартизации сырья и лекарственных препаратов необходимо определять и другие классы соединений, которые могут различаться по своей химической природе в зависимости от вида эфирномасличного сырья

3 Впервые предложено наряду с определением эфирного масла проводить стандартизацию сырья шалфея лекарственного, выращенного в культуре в различных регионах Северного Кавказа, по содержанию дитерпеновых кислот. Установлено, что их содержание в исследованных образцах сырья шалфея составляет от 3,13 % до 8,89 % в пересчете на карнозоловую кислоту. Впервые разработаны методики химического анализа дитерпеновых кислот для оценки качества лекарственных препаратов «Сальвин, экстракт густой», «Сальвин-ВИФ, раствор спиртовой 1 %» и нового лекарственного препарата «Экстракт шалфея лекарственного жидкий».

4 Обосновано проведение стандартизации сырья эвкалипта прутовидного, наряду с определением эфирного масла, по содержанию суммы фенолоальдегидов. В ходе фитохимического исследования установлено, что содержание суммы фенолоальдегидов в листьях эвкалипта прутовидного находится в пределах от 3,08 % до 6,21 %. Разработаны методики химического анализа суммы фенолоальдегидов для контроля качества лекарственных препаратов «Хлорофиллипт, экстракт густой», «Хлорофиллипт, раствор спиртовой 1 %» и «Хлорофиллипт, раствор масляный 2 %».

5 Установлены в ходе фармакогностических исследований некоторые закономерности накопления и распределения БАВ по органам и фазам развития полыни эстрагон, культивируемой в Республике Дагестан и в настоящее время не используемой для получения фитопрепаратов, экспериментально обоснованы сроки сбора сырья (июль-сентябрь) и нормируемые показатели качества (содержание эфирного масла, кумаринов и флавоноидов). Для листа и стебля полыни эстрагон изучены анатомо-диагностические признаки (железки, секреторные вместилища и др.), позволяющие подтвердить подлинность этого вида сырья. Разработаны методики анализа нового лекарственного препарата «Экстракт полыни эстрагон жидкий», для которого установлены в качестве основных показателей качества: содержание метилхавикола – не менее 0,1 %, суммы кумаринов – от 1,0 % до 1,3 %, суммы флавоноидов – не менее 0,5 %.

6 Проведены сравнительные фитохимические исследования компонентного состава липофильных извлечений из сырья шалфея полученных методом сверхкритической флюидной экстракции углерода (IV) оксидом, позволяющим извлекать более 90 % экстрактивных веществ в две стадии экстракции. что намного эффективнее известных и традиционных методов В составе CO₂-экстрактов шалфея методом хромато-масс-спектрологии идентифицировано 59 соединений, которые представлены, в основном, монотерпенами, сесквитерпенами и дитерпенами

7 Проведены сравнительные исследования компонентного состава эфирного масла и CO₂-экстракта полыни эстрагон В их составе идентифицировано 45 соединений Установлено, что по качественному составу они близки, основные различия заключаются в соотношении компонентов В CO₂-экстракте, помимо компонентов, входящих в состав эфирного масла, содержатся кумарины и альдегиды

8 Проведено сравнительное исследование компонентного состава липофильных извлечений из листьев эвкалипта прутовидного, которые позволяют сделать вывод о возможности использования сверхкритического флюидного углерода (IV) оксида для получения липофильного фитокомплекса, содержащего эфирное масло CO₂-экстракт и эфирное масло, в составе которых идентифицировано 58 соединений, имеют близкий качественный состав, но отличаются соотношением компонентов Доминирующей группой веществ в эфирном масле являются монотерпены (более 85 %), в составе CO₂-экстракта эвкалипта преобладают сесквитерпеновые соединения

9 Разработаны новые лекарственные препараты «Экстракт шалфея лекарственного жидкий» и «Экстракт полыни эстрагон жидкий» Определены оптимальные условия процессов экстракции (реперколяция в батарее диффузоров), основные физико-химические показатели и нормы качества по содержанию основных БАВ На экспериментальных сериях, полученных в производственных условиях, изучена стабильность нормированных показателей в процессе хранения (установлен срок годности - 2 года при

хранении лекарственных препаратов во флаконах из темного стекла при комнатной температуре)

10 Усовершенствованы и апробированы в промышленных условиях технологии липофильных препаратов «Сальвин, экстракт густой» и «Хлорофиллипт, экстракт густой» Установлено, что основными действующими, а потому целевыми веществами в технологии лекарственного препарата «Хлорофиллипт, экстракт густой» следует считать сумму фенолоальдегидов, содержащихся в липофильной фракции листьев эвкалипта прутовидного На исследованные лекарственные препараты разработаны проекты ФСП и промышленные регламенты которые внедрены в производство фармацевтического предприятия ЗАО «Вифитех»

11 Впервые предложена схема комплексной промышленной переработки листьев эвкалипта прутовидного, в которой сначала из сырья извлекается CO_2 -экстракт, фракционирование которого позволяет получать лекарственный препарат «Эвкалиптовое масло», затем из шрота выделяется сумма фенолоальдегидов для получения лекарственных препаратов «Хлорофиллипт, экстракт густой» или «Эвкалимин»

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

- 1 Природные и синтетические лекарственные средства в терапии стоматологических заболеваний // Южно-Рос мед журнал – 2001 – №1-2 – С 87-98 (Соавторы Магомедова С Р , Степанова Э Ф , Меджидов М Н)
- 2 Разработка и исследование нового стоматологического препарата – жидкого экстракта шалфея лекарственного // Южно-Рос мед журнал – 2003 – №3 – С 71-74 (Соавторы Магомедова С Р , Степанова Э Ф , Меджидов М Н)
- 3 Сравнительный анализ эфирного масла и CO_2 -экстрактов полыни эстрагон // Фармация – 2006 - №3 - С 12-14 (Соавтор Агларова А М)
- 4 Фармакологические свойства извлечений из травы полыни эстрагон // Фармация – 2006 – №4 – С 37-39 (Соавтор Агларова А М)

- 5 Определение дитерпеновых кислот в сырье и препаратах шалфея лекарственного // Фармация – 2007 - №2 – С 7-9 (Соавтор Жилин А В)
- 6 Вопросы стандартизации препарата «Хлорофиллипта раствор в масле 2%» // Фармация – 2007 - №3. – С 7-9 (Соавтор Гунар О В)
- 7 Совершенствование технологии и методик стандартизации препаратов эвкалипта прутовидного // Известия высших учебных заведений Сев - Кавк регион Серия Естественные науки – 2007 №3 С 60-62
- 8 Ресурсосберегающие технологии в фитофарминдустрии как фактор рационального использования эфирномасличного сырья // Научная мысль Кавказа – 2007 – №3 – С 44 - 49
- 9 Дитерпены и полифенолы шалфея лекарственного перспективы медицинского применения (обзор литературы) // Вестн Санкт-Пстерб унта Сер 11. – 2007-Вып 3 – С 149 - 158
- 10 Определение в листьях эвкалипта прутовидного фенолоальдегидов // Фармация – 2007 – №8 – С 17-18
- 11 Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами монография – Пятигорск, 2007 – 244 с (Соавторы Челомбитько В А , Алиев А М)
- 12 Рациональное использование и комплексная переработка вторичных сырьевых ресурсов агропромышленного комплекса // Промышленность России – 2000 – Вып 7 – С 48-63 (Соавторы Дадашев М Н , Г В Степанов, Сефиханов М С , Магомедмирзаев А М)
- 13 Возможности использования CO₂-экстрактов пряно-ароматического сырья в фармации и медицине // Химия в технологии и медицине материалы Всероссийской научно-практической конференции 25-26 июня 2001 г – Махачкала Изд-во ДГУ, 2001 – С 1-8
- 14 Фитохимический анализ исходного сырья, шрота и CO₂-экстракта лавра благородного // Химия в технологии и медицине материалы Всероссийской научно-практической конференции 25-26 июня 2001 г – Махачкала Изд-во ДГУ, 2001 – С 127-130 (Соавтор Раджабов Г К)

- 15 Фитохимический анализ листьев шалфея лекарственного из различных регионов Северного Кавказа // Химия в технологии и медицине материалы Всероссийской научно-практической конференции 25-26 июня 2001 г – Махачкала Изд-во ДГУ, 2001 – С 133 – 136 (Соавторы Магомедова С Р , Гусейнова З А)
- 16 Обоснование технологии жидкого экстракта шалфея лекарственного и его стандартизация // Химия в технологии и медицине материалы Всероссийской научно-практической конференции 25-26 июня 2001 г - Махачкала Изд-во ДГУ, 2001 – С 136 – 139 (Соавторы Магомедова С Р , Степапова Э Ф)
- 17 Определение флавоноидов в надземной части полыни эстрагон, культивируемой в Дагестане // Химия в технологии и медицине материалы Всерос науч -практ конф – Махачкала ИПЦ ДГУ, 2002 – С 89-91 (Соавторы Агларова А М , Абдуллаев К М)
- 18 Изучение динамики накопления кумаринов в надземной части полыни эстрагон // Химия в технологии и медицине материалы Всерос. науч -практ конф – Махачкала ИПЦ ДГУ, 2002 – С 91-93 (Соавторы Агларова А М., Яковлев Г П)
- 19 Анализ осадка из экстракта шалфея лекарственного // Химия в технологии и медицине. материалы Всерос науч -практ конф – Махачкала ИПЦ ДГУ, 2002 – С 100-102 (Соавтор Магомедова С Р.)
- 20 Оценка эффективности экстракта шалфея лекарственного при консервативном лечении гингивита // Химия в технологии и медицине материалы Всерос науч -практ конф – Махачкала ИПЦ ДГУ – 2002 – С 102-104 (Соавторы Меджидов М Н , Магомедова С Р , Алисултанов Б А)
- 21 Разработка мягких и сухих лекарственных форм с экстрактами шалфея // Химия в технологии и медицине материалы Всерос науч -практ конф – Махачкала ИПЦ ДГУ, 2002 – С 125-129 (Соавторы Меджидов М Н , Магомедова С Р)

- 22 Сравнительная оценка терапевтического воздействия аппликаций десен экстрактом и отваром шалфея лекарственного при гингивите и пародонтите // Химия в технологии и медицине материалы Всерос науч-практ конф – Махачкала ИПЦ ДГУ, 2002 – С 129-130 (Соавторы Магомедова С Р, Степанова Э Ф)
- 23 Применение геля с CO₂-экстрактами гвоздики и эвкалипта в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита // Химия в технологии и медицине материалы Всерос науч-практ конф – Махачкала ИПЦ ДГУ, 2002 – С 131-132 (Соавторы Меджидов М Н, Беловолова Е А)
- 24 Исследование динамики экстрагирования листьев шалфея лекарственного методом реперколяции // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения материалы VIII Междунар съезда «Фитофарм – 2004» 21-23 июня 2004 г – СПб, 2004 – С 657-659
- 25 Перспективы сверхкритических флюидных технологий в фармацевтической практике // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции сб науч тр – Пятигорск, 2005. – Вып 60 – С 105-109 (Соавторы Алиев А М, Северцев В А, Челомбитько В А)
- 26 Фракционирование и анализ сверхкритического флюидного CO₂-экстракта шалфея лекарственного // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения материалы IX Междунар съезда «Фитофарм – 2005» 22-25 июня 2005 г – СПб, 2005 – С 743-747 (Соавторы Алиев А М, Северцев В А, Жилин А В, Гусейнова З М)
- 27 Основные действующие вещества и полезные свойства полыни эстрагон – *Artemisia dracunculifolia* L // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения материалы X Междунар съезда «Фитофарм – 2006» 27-30 июня 2006 г – СПб, 2006 –

- С 7-9 (Соавторы Агларова А М , Еникеева Р А , Северцева О В , Кривошапкина Л Г , Абейдулина С А , Макаров И Ю)
- 28 Технология и стандартизация хлорофиллипта // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения материалы X Междунар съезда «Фитофарм – 2006» 27-30 июня 2006 г – СПб , 2006 – С 109-111 (Соавторы Северцева О В , Абейдулина С А , Еникеева Р А , Северцев В А , Макаров И Ю)
- 29 Обоснование технологии фитопрепаратов при комплексной промышленной переработке листьев шалфея лекарственного // Фармацевтические технологии и упаковка – 2006 – №2 – С 43-45 (Соавторы Жилин А В , Челомбитько В А , Самылина И А , Попов Д М)
- 30 Совершенствование стандартизации сырья и фитопрепаратов эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L , сем Myrtaceae) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции сб науч тр – Пятигорск, 2007 – Вып 62 – С 57–59
- 31 Перспективы использования сверхкритических флюидов в экстракционных процессах // Фазовые переходы и нелинейные явления в конденсированных средах материалы Междунар конф 6-9 сентября 2000 г – Махачкала 2000. – С 189 (Соавторы Алиев А М , Дадашев М Н , Магомедмирзаев А М , Сефиханов М С , Степанов Г В)
- 32 Экспериментальная установка для исследования процессов сверхкритической флюидной экстракции // Фазовые переходы и нелинейные явления в конденсированных средах материалы Междунар конф 6-9 сентября 2000 г – Махачкала, 2000 – С 208 (Соавторы Алиев А М , Дадашев М Н , Магомедмирзаев А М , Сефиханов М С , Степанов Г В)
- 33 Исследование влияния термодинамических параметров на растворяющую способность диоксида углерода // Фазовые переходы и нелинейные явления в конденсированных средах материалы Междунар конф 6-9 сентября 2000

- г – Махачкала, 2000 – С 209 – 210 (Соавторы Алиев А М , Дадашев М Н , Магомедмирзаев А М , Сефиханов М С , Степанов Г В)
- 34 Экспериментальная установка для исследования фазовых превращений сложных смесей в условиях, близких к критическим // Фазовые переходы и нелинейные явления в конденсированных средах материалы Междунар конф 6-9 сентября 2000 г – Махачкала, 2000 – С 211 – 212 (Соавторы Алиев А М , Дадашев М И , Сефиханов М С , Степанов Г В)
- 35 Технология лекарственных форм шалфея лекарственного для стоматологии и отоларингологии // Актуальные медико-биологические проблемы в современных условиях материалы межвузовской конф молодых ученых и студентов – Ижевск Экспертиза, 2001 – С 167-168 (Соавторы Магомедова С Р , Степанова Э Ф , Ващенко Т Н)
- 36 Технология растительных биологически активных веществ методом сверхкритической флюидной экстракции // Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины материалы II Российской конференции молодых ученых 24-28 апреля 2001 г – М., 2001. – С 259 (Соавторы Алиев А М , Сефиханов М С , Раджабов Г К).
- 37 Фитохимический анализ и технология лекарственных форм из сырья и отходов эфирномасличного производства // Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины материалы II Росс конф молодых ученых 24-28 апреля 2001 г – М , 2001. – С. 261
- 38.Разработка технологии препаратов шалфея лекарственного при комплексной переработке сырья // Материалы 16 научно-практ. конф по охране природы Дагестана. – Махачкала, 2001 – С 121-122 (Соавтор Магомедова С Р)
- 39 Фитохимический анализ сырья и разработка комплексных препаратов шалфея лекарственного // Современные проблемы органической химии, экологии и биотехнологии материалы I Междунар науч конф июнь 2001 г – Луга, 2001 – С 53-54 (Магомедова С Р , Степанова Э Ф)

- 40 Исследование полыни эстрагон (*Artemisia dracunculus* L. сем Asteraceae), интродуцированной в Дагестане // Регион конф по фармации, фармакологии и подготовке кадров (57 2002 Пятигорск) – Материалы - Пятигорск, 2002 – С 7-8 (Соавтор Агларова А М)
- 41 Технология лекарственных форм шалфея (*Salvia officinalis* L) для отоларингологии // Регион конф по фармации, фармакологии и подготовке кадров (57, 2002, Пятигорск) – Материалы . – Пятигорск, 2002 – С 50-51 (Соавтор Магомедова С Р)
- 42 Химический анализ и стандартизация препаратов *Eucalyptus viminalis* (Chemical analysis and standardization of the *Eucalyptus viminalis* medical preparations) // Материалы 7 Международ симпозиума по химии природных соединений 16-18 октября 2007 г – Ташкент, 2007 – С. 344 (Соавтор Челомбитько В А)

ЗИЛФИКАРОВ ИФРАТ НАЗИМОВИЧ

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ В РАЗРАБОТКЕ И СТАНДАРТИЗАЦИИ
ФИТОПРЕПАРАТОВ ИЗ ЭФИРНОМАСЛИЧНОГО СЫРЬЯ**

15.00 02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

Подписано к печати «24» марта 2008 г Формат 60x84/16
Бумага книжно-журнальная Печать ротاپринтная Усл печ л 2,0
Тираж 100 экз Заказ № 387.

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ПЯТИГОРСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ»
357533, г Пятигорск, пр Калинина, 11