

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ДРУЖБЫ НАРОДОВ ИМЕНИ ПАТРИСА ЛУМУМБЫ»

*На правах рукописи*



Хажжар Фади

**Разработка и стандартизация комплексных лекарственных растительных  
средств седативного действия**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

**Научные руководители:**  
доктор фармацевтических наук  
Потанина Ольга Георгиевна  
доктор фармацевтических наук, доцент  
Абрамович Римма Александровна

Москва – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	8
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	18
1.1 Обоснование выбранного состава, комбинированного лекарственного растительного седативного средства.....	18
1.1.1 Обзор лекарственных средств на основе плодов боярышника, травы пустырника и травы синюхи голубой .....	20
1.1.2 Фармакогностическая характеристика плодов боярышника, травы пустырника и травы и корневищ с корнями синюхи голубой .....	25
1.1.3 Фармакологическая активность и применение в медицине плодов боярышника, травы пустырника, корневищ с корнями и травы синюхи голубой .....	30
1.2 Современные методы стандартизации фитопрепаратов, содержащих флавоноилы и сапонины.....	37
1.2.1 Методы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных средств на его основе, содержащих флавоноиды .....	37
1.2.2 Методы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных средств на его основе, содержащих сапонины.....	40
1.3 Особенности технологии и стандартизации лекарственных средств, содержащих густые экстракты растительного происхождения.....	42
1.3.1 Экстракты из лекарственного растительного сырья .....	42
1.3.2 Твердые лекарственные формы: твердые желатиновые капсулы с тиксотропной жидкостью.....	46
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1 .....	51
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	53
2.1 Оборудование .....	53
2.2 Стандартные образцы, реактивы и вспомогательные вещества .....	54
2.2.1 Стандартные образцы .....	54
2.2.2 Реактивы.....	54
2.2.3 Вспомогательные вещества.....	55

2.3	Технология получения густых экстрактов .....	55
2.4	Статистическая обработка.....	57
2.5	Определение показателей качества густых экстрактов .....	57
2.5.1	Описание .....	57
2.5.2	Определение потери в массе при высушивании .....	57
2.5.3	Определение остаточных органических растворителей .....	57
2.5.4	Изучение химического состава биологических активных веществ густых экстрактов .....	58
2.5.5	Определение содержания неомыляемой фракции в густых экстрактах .....	59
2.5.6	Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в густых экстрактах.....	60
2.5.7	Определение содержания макро и микроэлементов в густых экстрактах .....	60
2.5.8	Идентификация полифенольных соединений и сапонинов в густых экстрактах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией .....	60
2.5.9	Определение содержания суммы флавоноидов в густых экстрактах спектрофотометрическим методом .....	62
2.5.10	Определение содержания суммы тритерпеновых сапонинов в густом экстракте синюхи голубой и в комбинированном густом экстракте спектрофотометрическим методом.....	64
2.5.11	Определение реологических свойств комбинированного густого экстракта и капсульной массы .....	65
2.5.12	Определение температуры плавления и температуры затвердевания комбинированного густого экстракта и капсульной массы .....	65
2.5.13	Определение растворимости комбинированного густого экстракта.....	66
2.6	Стандартизация твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью «Седокомб» .....	66
2.6.1	Описание .....	66

2.6.2 Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата ...	66
2.6.3 Однородность дозированных единиц .....	67
2.6.4 Распадаемость капсул «Седокомб» .....	67
2.6.5 Испытание на растворение для твердых дозированных лекарственных форм .....	67
2.6.6 Микробиологическая чистота капсул «Седокомб» .....	68
2.6.7 Количественное определение биологических активных веществ в капсулах «Седокомб».....	68
2.7 Сроки годности.....	69
<b>ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ГУСТЫХ ЭКСТРАКТОВ ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА, ТРАВЫ ПУСТЫРНИКА, ТРАВЫ СИНЮХИ ГОЛУБОЙ И КОМБИНИРОВАННОГО ЭКСТРАКТА.....</b>	
3.1 Изучение химического состава густых экстрактов.....	70
3.1.1 Изучение элементного состава густых экстрактов.....	70
3.1.2 Определение неомыляемой фракции в густых экстрактах методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией.....	71
3.1.3 Идентификация полифенольных и терпеноидных соединений в густых экстрактах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией .....	75
3.2 Стандартизация густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника, травы синюхи голубой и комбинированного густого экстракта.....	80
3.2.1 Описание .....	80
3.2.2 Идентификация.....	81
3.2.3 Потеря в массе при высушивании .....	86
3.2.4 Изучение остаточных органических растворителей .....	87
3.2.5 Изучение тяжелых металлов и мышьяка .....	90
3.2.6 Определение микробиологической чистоты.....	90

3.2.7 Количественное определение биологических активных веществ в густых экстрактах спектрофотометрическим методом.....	91
3.2.8 Спецификация показателей качества густых экстрактов.....	103
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3 .....	111
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ТВЕРДЫХ ЖЕЛАТИНОВЫХ КАПСУЛ С ТИКСОТРОПНОЙ ЖИДКОСТЬЮ НА ОСНОВЕ КОМБИНИРОВАННОГО ГУСТОГО ЭКСТРАКТА.....	113
4.1 Разработка состава и технологии твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью .....	113
4.2 Обоснование состава твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью .....	113
4.2.1 Обоснование выбора концентрации биологических активных веществ в составе .....	113
4.2.2 Обоснование выбора вспомогательных веществ при разработке твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью, содержащих комбинированный густой экстракт .....	115
4.3 Разработка технологии твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью комбинированного густого экстракта.....	122
4.4 Исследование кинетики растворения ( <i>in vitro</i> ) лекарственного препарата «Седокомб» .....	130
4.5 Определение показателей качества лекарственного препарата «Седокомб» .....	134
4.5.1 Описание .....	135
4.5.2 Качественный анализ флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб» методом тонкослойной хроматографии.....	135
4.5.3 Качественный анализ флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб» спектрофотометрическим методом .....	137

4.5.4 Качественный анализ сапонинов в лекарственном препарате «Седокомб» методом тонкослойной хроматографии.....	137
4.5.5 Качественный анализ сапонинов в лекарственном препарате «Седокомб» спектрофотометрическим методом.....	139
4.5.6 Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата.....	139
4.5.7 Однородность дозированных единиц.....	140
4.5.8 Распадаемость твердых желатиновых капсул.....	141
4.5.9 Определение микробиологической чистоты.....	142
4.5.10 Количественное определение биологических активных веществ в лекарственном препарате «Седокомб» спектрофотометрическим методом .....	143
4.6 Установление срока годности - исследование стабильности .....	144
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4 .....	149
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ .....	151
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	153
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	154
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	155
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	156
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	158
ПРИЛОЖЕНИЕ А .....	187
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	207
ПРИЛОЖЕНИЕ В .....	209
ПРИЛОЖЕНИЕ Г .....	225
ПРИЛОЖЕНИЕ Д .....	242
ПРИЛОЖЕНИЕ Е.....	244
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж.....	246
ПРИЛОЖЕНИЕ И .....	247
ПРИЛОЖЕНИЕ К .....	248

ПРИЛОЖЕНИЕ Л .....	250
ПРИЛОЖЕНИЕ М.....	251
ПРИЛОЖЕНИЕ Н .....	254

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность темы исследования**

Лекарственные растения и лекарственные средства (ЛС) на их основе включают в свой состав сочетание различных биологически активных веществ (БАВ), которые благодаря синергизму обеспечивают воздействие даже в небольших дозах, при этом нежелательные эффекты проявляются значительно меньше и реже по сравнению с синтетическими ЛС. Использование растительных лекарственных препаратов в медицине было и остается популярным на протяжении многих веков во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), 80% населения мира отдает предпочтение растительным ЛС [1]. Токсичные побочные эффекты современных ЛС и их нехватка при лечении многих хронических заболеваний ведут к популярности и востребованности фитотерапии. Растительные ЛС обычно применяют в комплексной терапии заболеваний и для профилактики. По существующим оценкам 20000 видов растений из 250000 видов используются в качестве лекарственных растений по всему миру [2].

Согласно сообщениям ВОЗ, более 45% заболеваний современного человека тем или иным образом связаны с постоянным стрессом, а одной из основных причин смертности во всем мире указаны сердечно-сосудистые заболевания, чаще всего возникающие при постоянном стрессовом напряжении. Также известно, что длительный стресс негативно влияет на работу иммунных клеток: подавляет их активность, повышает подверженность инфекционным заболеваниям. Ведущую роль при лечении стресса играют седативные лекарственные препараты. Таким образом, седативные ЛС в современном мире приобретают все большее значение [3-5].

Сапонины, входящие в состав синюхи голубой, оказывают седативное действие, снижают рефлекторную возбудимость. Экспериментальными данными доказано, что седативное действие синюхи голубой в 8-10 раз превышает активность валерианы лекарственной [6]. Препараты пустырника, БАВ которого



являются флавоноиды и иридоиды, используют в основном как седативное средство. В сборах с другими растениями трава пустырника успешно применяется при лечении повышенной нервной возбудимости, нарушении сна и других нервных расстройствах. Отмечено, что успокаивающее свойство пустырника превосходит таковое валерианы лекарственной в два раза. Препараты боярышника, которые содержат сумму флавоноидов и сапонинов, проявляют кардиотоническое, седативное и спазмолитическое действие.

Таким образом, стандартизация комбинированного густого экстракта (КГЭ), включающего густые экстракты (ГЭ) травы синюхи голубой, плодов боярышника и травы пустырника, и разработка лекарственного препарата на его основе, обладающих седативным действием, является востребованной задачей в современном мире.

### **Степень ее разработанности**

Предлагаемая композиция синюхи голубой (*Polemonium caeruleum* L.), боярышника (*Crataegus* spp.) и пустырника (*Leonurus quinquelobatus* Gilib., *Leonurus cardiaca* L.) ранее нигде не описывалась.

В качестве седативных ЛС указанные компоненты использовались по отдельности или двухкомпонентными комбинациями, где чаще всего одним из компонентов применялась валериана (к которой может возникать привыкание).

Трава пустырника, плоды боярышника и корневища с корнями синюхи голубой являются фармакопейными, включены в Государственной фармакопее (ГФ) XIV. Однако синюха голубая в некоторых регионах Российской Федерации отнесена к спискам краснокнижных видов, в связи с чем реализация через аптечную сеть корневищ с корнями синюхи голубой почти прекратилась. Поэтому сотрудники Сеченовского университета изучили и продемонстрировали возможность использования травы синюхи голубой в качестве растительного сырья [7].

### **Цель и задачи исследования**

Целью исследования является стандартизация ГЭ травы пустырника, ГЭ плодов боярышника и ГЭ травы синюхи голубой; разработка технологии КГЭ (из травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой) и лекарственной формы твёрдых желатиновых капсул (ТЖК) с тиксотропной жидкостью «Седокомб» седативного действия на основе КГЭ и проведение их стандартизации.

Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Провести информационно-аналитическое изучение научной литературы и патентной документации, необходимой для создания и стандартизации ГКЭ из травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой; получения ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе разработанного экстракта;
2. Изучить химический состав ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника и ГЭ плодов боярышника и КГЭ; установить показатели качества и провести стандартизацию ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника, ГЭ плодов боярышника и КГЭ;
3. Разработать методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин и гиперозид в исследуемых экстрактах спектрофотометрическим методом; количественного определения суммы сапонинов в пересчете на эсцин в ГЭ травы синюхи голубой и в КГЭ спектрофотометрическим методом. Провести валидацию разработанных методик. Подготовить проекты Нормативной документации;
4. Изучить технологические свойства КГЭ с целью дальнейшей разработки лекарственной формы. Разработать состав и технологию получения ТЖК на основе КГЭ «Седокомб». Подготовить лабораторный регламент на разработанный лекарственный препарат;

5. Провести стандартизацию и подготовить проект нормативной документации для ТЖК на основе КГЭ из травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой.

### **Научная новизна**

Впервые предложен состав комбинированного трехкомпонентного густого растительного экстракта «Седокомб», содержащего ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника и ГЭ плодов боярышника в соотношении 70:20:10 соответственно, и обладающего седативным эффектом благодаря сочетанному действию флавоноидов и сапонинов.

Проведено изучение химического состава, включая микро- и макроэлементы, ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника, ГЭ плодов боярышника и КГЭ с применением ряда современных инструментальных методов (спектрофотометрия, тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС), газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ-МС), газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД), атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) и электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия (ЭТААС).

Впервые проведено фармацевтическое исследование и стандартизация ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника, ГЭ плодов боярышника (полученных на производственной площадке и по технологии ООО «Росбио») и КГЭ; подобраны оптимальные условия качественного и количественного анализа БАВ. Проведена разработка методик количественного определения флавоноидов и сапонинов для всех изучаемых ГЭ; подтверждена возможность использования исследованных методик посредством их валидации.

Изучены впервые физико-химические и биофармацевтические показатели капсульной массы в виде тиксотропной жидкости, содержащей КГЭ со вспомогательными веществами, что позволило снизить количество

вспомогательных ингредиентов с целью уменьшения массы и размера ТЖК и обеспечения стабильности активных веществ. Предложены состав и технология получения ТЖК на основе КГЭ, включающего ГЭ синюхи голубой, ГЭ боярышника и ГЭ пустырника. Разработаны технологические параметры наполнения ТЖК, подтверждена стабильность лекарственного препарата в течение двух лет.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные результаты проведенных экспериментальных исследований раскрывают новые сведения о химическом составе и фармакологической активности ГЭ синюхи голубой, ГЭ боярышника и ГЭ пустырника и их комбинации. На основании полученных данных предложены методики качественного и количественного анализа основных БАВ ГЭ синюхи голубой, ГЭ боярышника, ГЭ пустырника и их комбинации, которые включены в проекты НД. Продемонстрировано использование ГЭ в технологии ЛС в удобной для подобных экстрактов лекарственной форме – ТЖК с тиксотропной жидкостью. Предложены результаты изучения технологических свойств КГЭ и технология получения лекарственной формы - ТЖК с тиксотропной жидкостью на его основе. Установлена седативная активность разработанного КГЭ и ТЖК с тиксотропной жидкостью на его основе (Отчет о доклинических исследованиях лекарственного препарата «Седокомб», выполненных в НОРЦ «Фармация» РУДН (приложение А)).

Таким образом, представлена возможность расширения ассортимента лекарственных растительных средств, обладающих седативной активностью.

### **Методология и методы исследования**

Методология исследования построена на анализе данных российской и иностранной литературы, оценке степени научной изученности и разработанности данной темы, постановке цели и задач по теме исследования. В ходе работы были применены следующие методы анализа, включая прецизионные: ТСХ, ВЭЖХ-МС,

ГХ-МС, ГХ-ПИД, спектрофотометрия и математические методы обработки результатов.

Проведенное исследование базируется на рекомендациях ГФ XIV и XV изд и Фармакопея Евразийского экономического союза (ФЕАЭС). Статистическая обработка результатов выполнена согласно требованиям ГФ XV изд и ФЕАЭС с использованием программного обеспечения «Microsoft Excel 2021».

В настоящей работе использованы ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника и ГЭ плодов боярышника, полученные по технологии, предоставленной ООО «Росбио»; обоснована и разработана технология КГЭ и ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе КГЭ.

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

- Результаты анализа поисково-информационных данных, необходимых для создания ГКЭ из травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой; получения ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе разработанного ГКЭ;
- Результаты изучения химического состава ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника и ГЭ плодов боярышника и КГЭ; показатели качества и результаты стандартизации ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника, ГЭ плодов боярышника и КГЭ; технология получения КГЭ;
- Методики количественного определения основных действующих веществ: суммы флавоноидов в пересчете на рутин и гиперозид в исследуемых экстрактах спектрофотометрическим методом; количественного определения суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин в экстракте травы синюхи голубой и в КГЭ спектрофотометрическим методом; результаты валидации разработанных методик; проекты Нормативной документации на исследуемые экстракты;
- Технологические свойства КГЭ, включающего ГЭ синюхи голубой, ГЭ боярышника и ГЭ пустырника; состав и технология получения лекарственной формы ТЖК на основе КГЭ; основные данные лабораторного регламента на разработанный лекарственный препарат;

- Результаты стандартизации и проект нормативной документации для ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе КГЭ, включающего ГЭ трпвы синюхи голубой, ГЭ плодов боярышника и ГЭ травы пустырника.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспортам научных специальностей 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия по пунктам 2, 3, 5, 6, 7 и 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств по пункту 2.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов подтверждена проведением достаточного количества экспериментальных исследований с использованием физико-химических методов анализа на поверенном оборудовании приборного парка ЦКП (НОЦ) РУДН. Полученные результаты статистически обработаны, методики валидированы согласно ГФ XV. В работе также исследован максимально доступный объём литературных научных источников (российских и зарубежных авторов).

Основные положения работы и результаты исследования доложены на международной научной конференции «90 лет – от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы» ФГБНУ ВИЛАР, Москва, 2021; на международной научной конференции молодых учёных «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» ФГБНУ ВИЛАР, Москва, 2020; на международной научно-практической конференции: «The 23th international congress phytopharm 2019» Санкт-Петербург, 2019 г; на II и III международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» Москва, 2019, 2020 г; на VII научной конференции с международным участием «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» ФГБНУ ВИЛАР, Москва, 2019.

Апробация работы проведена на заседании кафедры общей фармацевтической и биомедицинской технологии ФГАОУ ВО РУДН, протокол № 8 от 01.03.2024 г.

### **Внедрение результатов в практику**

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, внедрены в учебные программы дополнительного профессионального образования ЦКП (НОЦ) РУДН (акт внедрения от 07.02.2022), кафедры фармации медицинского института Северо-Восточного федерального университета имени М. К. Аммосова (акт внедрения № 05–322 от 29.09.2023). Разработанные методики количественного анализа флавоноидов и сапонинов внедрены в лабораторную практику лаборатории изучения инновационных способов доставки лекарственных средств и метаболомики НОРЦ «Фармация» РУДН (акт внедрения от 07.02.2022). Разработаны проекты нормативных документов на ГЭ синюхи голубой, ГЭ боярышника и ГЭ пустырника, КГЭ и на ТЖК на основе комплексного растительного экстракта «Седокомб». Разработан лабораторный регламент на ТЖК на основе комплексного растительного экстракта «Седокомб». Получено Свидетельство о регистрации коммерческой тайны (ноу-хау) РУДН «Фармацевтическая композиция седативного действия (КГЭ из травы пустырника, травы синюхи голубой и плодов боярышника)» № 017–06/03-01-21-5.

### **Личный вклад автора**

Автор диссертационного исследования принимал участие в постановке целей и задач, в выборе объектов и заготовке материалов для исследования, в получении всех исследуемых густых экстрактов на производственной площадке ООО «Росбио» и ЦКП (НОЦ) РУДН. Химико-фармацевтический инструментальный анализ на всех используемых в работе приборах и технологические виды работ на технологическом оборудовании, описанном в диссертации, проведены лично автором работы; сопровождал и ассистировал проведение доклинического изучения препарата «Седокомб», проводимого в НОРЦ «Фармация» РУДН. Вклад

автора является определяющим на всех этапах фармакогностического и технологического исследования. В работах, проводимых с соавторами, принимал непосредственное участие в аналитической и экспериментальной работах, в научном аргументировании и резюмировании полученных результатов.

### **Публикации по теме диссертации**

По материалам диссертации автором опубликовано 12 печатных работ: 2 научные статьи в журналах, входящих в международную базу данных (Scopus и Ch Abc); 2 научные статьи - в рецензируемых научных журналах, входящих в Перечень ВАК при Минобрнауки России; 7 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций; 1 свидетельство о регистрации коммерческой тайны (ноу-хау) РУДН. (приложение Е).

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 256 страницах. машинописного текста, содержит 79 таблиц, 22 рисунков и состоит из введения, обзора литературы (первая глава), описания характеристики материалов и методов исследования (вторая глава), результатов стандартизации ГЭ плодов боярышника, ГЭ травы пустырника и ГЭ травы синюхи голубой и КГЭ, включающего ГЭ плодов боярышника, ГЭ травы пустырника и ГЭ травы синюхи голубой (третья глава), результатов разработки состава и технологии ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе КГЭ (четвертая глава), общих выводов, списка литературы, включающего 249 источников, из которых 148 иностранных и 12 приложений. В приложение вынесены данные по отчету о доклиническом исследовании седативного действия лекарственного препарата «Седокомб» (приложение А), Заключение комиссии по биоэтике (приложение Б), проекты нормативной документации (приложение В и Г), акты о внедрении результатов диссертационного исследования (приложение Д), свидетельство о регистрации коммерческой тайны (приложение Е), лабораторный регламент (приложение Ж), сертификаты качества вспомогательных веществ



«твердый жир, полисорбат 80 и твердые желатиновые капсулы» (приложения И, К и Л) и данные по стабильности лекарственного препарата без консерванта и с консервантом «Седокомб» в естественных условиях в течение двух лет (приложения М и Н).

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Обоснование выбранного состава, комбинированного лекарственного растительного седативного средства

Согласно сообщениям ВОЗ, более 45% заболеваний современного человека тем или иным образом связаны с постоянным стрессом, а одной из основных причин смертности во всем мире указаны сердечно-сосудистые заболевания, чаще всего возникающие при постоянном стрессовом напряжении. Также известно, что длительный стресс негативно влияет на работу иммунных клеток: подавляет их активность, повышает подверженность инфекционным заболеваниям. Ведущую роль при лечении стресса играют седативные лекарственные препараты, которые в современном мире приобретают все большее значение. Седативные лекарственные препараты не имеют ярко выраженного снотворного эффекта, но при этом облегчают наступление засыпания и улучшают качество сна.

По данным Всемирной организации здравоохранения, более 350 миллионов человек за год страдают бессонницей, которая мешает нормальной жизнедеятельности [8]. ВОЗ поставила здоровый сон в один ряд с такими важнейшими показателями, как состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем, уровень иммунной защиты, сопротивляемость организма и др. [9]. По данным исследований 2021 года в мире 40% людей страдают бессонницей из-за пандемии коронавируса. В октябре 2021 года Plus-one.ru рассказывал об опросе, в ходе которого свыше 30% россиян признались, что страдают от недосыпания и бессонницы. Примерно 39 % респондентов заметили, что их сон ухудшился за последние полтора года [10]. Бессонница характеризуется трудностью засыпания, проблемой поддержания сна, ранним пробуждением или невозможностью восстановить силы организма сном. От 10% до 30% взрослых страдают бессонницей в любой момент времени, и до половины людей страдают бессонницей в течение определенного года, что делает ее наиболее

распространенным нарушением сна. Около 6% людей страдают бессонницей, которая не связана с другой проблемой и длится более месяца. Люди старше 65 лет болеют чаще, чем молодые люди. Женщины болеют чаще, чем мужчины. Бессонница у женщин встречается на 40% чаще, чем у мужчин. Бессонница является ступенькой к повышенному риску гипертонии, сердечно-сосудистых заболеваний, беспокойства и депрессии, а также к ухудшению качества жизни, прогулам на работе, несчастным случаям на работе, низкой эффективности работы и дисфункциям в семье [11].

Некоторые люди могут обратиться к назначенным лекарствам, таким как бензодиазепины, антагонисты рецепторов орексина и антагонисты гистамина (селективные антагонисты H<sub>1</sub>, такие как доксепин), которые чаще всего назначаются для лечения бессонницы [12, 13]. Тем не менее, есть некоторые опасения по поводу использования этих лекарств, например, зависимость.

Побочные эффекты также распространены. Бензодиазепины, например, могут вызывать головные боли, ночные кошмары, дневную усталость, тошноту, спутанность сознания и падения [14, 15]. Антагонисты рецепторов орексина могут вызывать у пациентов сонливость, утомляемость и сухость во рту. Антагонисты гистамина (селективные антагонисты H<sub>1</sub>) могут вызывать тошноту, рвоту, слабость, головокружение, сухость во рту и язвы во рту [16, 17]. Фитотерапия представляет собой одно из наиболее часто используемых дополнительных/альтернативных средств лечения бессонницы. Эмпирические данные показывают, что растения могут помочь в лечении бессонницы за счет сокращения латентного периода сна и увеличения продолжительности сна [18], возможно, за счет взаимодействия с декарбоксилазой глутаминовой кислоты [19] или за счет модуляции гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и 5-аминомасляной кислоты. рецепторы гидрокситриптофана (5-НТ) [18]. Это говорит о том, что использование фитотерапии для лечения бессонницы является биологически правдоподобным.

### 1.1.1 Обзор лекарственных средств на основе плодов боярышника, травы пустырника и травы синюхи голубой

Группа седативных препаратов растительного происхождения, представленных на современном российском лекарственном рынке, очень широка, и это связано с тем, что растительные препараты считаются безопасными, эффективными и имеют минимальные побочные эффекты [20]. Зарегистрированы комбинированные растительные лекарственные средства, обладающие седативным действием: «Корвалол», «Кардиовален», «Валемидин», «Броменвал», «Релаксозан», «Персен» и др. Однако большинство из них включают настойку или экстракт валерианы, к которой у некоторых людей бывает непереносимость или привыкание. Ряд прописей содержат компоненты синтетического происхождения [21].

В настоящее время на фармацевтическом рынке применяются следующие лекарственные средства на основе боярышника, пустырника, синюхи голубой, зарегистрированные в России и представленные в таблице 1.1 [22].

Таблица 1.1 – Лекарственные препараты на основе боярышника, пустырника, синюхи голубой

Название	Состав/Активные субстанции	Лекарственная форма
Корвалол Фитокомфорт	Экстракт Melissa, масло мяты перечной листьев и экстракт травы пустырника	Таблетки
Корвалол Нео	Масло мяты перечной листьев, экстракт травы пустырника, этилбромизовалерианат и дифенгидрамин	Капли для приема внутри
Корвалол Фито	Масло мяты перечной листьев, экстракт травы пустырника и этилбромизовалерианат	
Корвалол Фито		Таблетки
Бальзам МОСКОВИЯ®	Душицы обыкновенной трава, пустырника трава, тысячелистника обыкновенного трава	Эликсир

Продолжение таблицы 1.1

<b>Название</b>	<b>Состав/Активные субстанции</b>	<b>Лекарственная форма</b>
Кедровит	Аронии черноплодной плоды, березы почки, боярышника плоды, боярышника цветки, сосны кедровой сибирской орех и мед	
Кардиовален	Адонизид, экстракт боярышника, настойка валерианы, экстракт травы желтушника и камфора рацемическая	Капли для приема внутри
Валемидин	Валерианы настойка, пустырника настойка, боярышника настойка и мяты перечной настойка	
Броменвал	Настойка боярышника, настойка валерианы и ментол рацемический	
Рела ксозан	Экстракт валерианы, экстракт мяты и экстракт мелиссы	Таблетки
Персен		

Зарегистрированные в России БАДы на основе боярышника, пустырника, синюхи голубой включены в таблицу 1.2 [23].

Таблица 1.2 – Биологически активные добавки к пище на основе боярышника, пустырника, синюхи голубой

<b>Название</b>	<b>Состав/Активные субстанции</b>	<b>Лекарственная форма</b>
Сироп боярышника с пустырником и мелиссой форте"	Водный экстракт мелиссы, экстракт боярышника плодов, экстракт пустырника, экстракт шлемника	Сироп
Комплекс экстрактов боярышника и красного винограда	Экстракты боярышника и красного винограда	Капсулы
Сироп из плодов боярышника и рябины с витамином С фруктозой	Плоды боярышника, плоды рябины, витамин С, фруктоза	Сироп

Продолжение таблицы 1.2

Название	Состав/Активные вещества	Лекарственная форма
Сироп из плодов шиповника и боярышника с витамином С	Плоды шиповника, плоды боярышника, витамин С	Сироп
Сироп боярышника с шиповником	Плоды боярышника, плоды шиповника	Сироп
Комплекс экстрактов валерианы и пустырника	Экстракт валерианы, экстракт пустырника	Капсулы
Бальзам безалкогольный серии "Сибирский прополис" "Серебряный"	Мед горный, прополис, экстракт мелонеллы, трава эхинацеи, цветки календулы, курительский чай, плоды шиповника, трава чабреца, плоды брусники, красный корень, плоды облепихи, корни синюхи, лист смородины, хвоя кедра, корень дягиля.	Бальзам
Напиток безалкогольный - бальзам "Серебряный"	Мед горный, прополис, экстракт мелонеллы, трава шиповника, трава чабреца, плоды брусники, красный корень, плоды облепихи,	Бальзам
серии "Сибирский прополис"	корни синюхи, лист смородины, хвоя кедра, корень дягиля, трава герани луговой.	
Бальзам а/д норма" ("a/d norma")	Трава и корни астрагала шерстистоцветкового, плоды рябины черноплодной, плоды, цветки и листья боярышника кроваво-красного, цветки, листья лабазника вязолистого, трава, корни с корневищами синюхи голубой; водная вытяжка: трава и корни астрагала шерстистоцветкового, трава сушеницы болотной; вода; рутин; дигидрокверцетин	Бальзам
"Нерво-вит"	Корневища с корнями валерианы лекарственной, порошок корневищ с корнями	Таблетки

## Продолжение таблицы 1.2

Название	Состав/Активные субстанции	Лекарственная форма
	синюхи, экстракт пустырника пятилопастного, экстракт Melissa лекарственной, кислота аскорбиновая.	
«Здоровый сон»	Экстракт синюхи голубой (трава), экстракт ромашки аптечной (цветки), экстракт пиона степного (корень), экстракт пустырника пятилопастного, экстракт мяты перечной, экстракт хмеля обыкновенного (соплодия).	Капсулы
"Стресс релиф (stress relief)"	Экстракт корней синюхи голубой, l-тирозин, витамин pp (никотинамид), таурин, инозит (витамин в8), экстракт травы пустырника пятилопастного, калия хлорид, экстракт шишек хмеля обыкновенного, экстракт корневищ с корнями валерианы лекарственной, экстракт травы Melissa лекарственной, фосфатидилхолин (из соевого лецитина), витамин а (ретинола ацетат), витамин в5 (кальция пантотенат), экстракт цветков ромашки аптечной, экстракт корней солодки голой, витамин в12 (цианокобаламин), витамин в6 (пиридоксина гидрохлорид), витамин в2 (рибофлавин), витамин в 1 (тиамина гидрохлорид), витамин д (холекальциферол), витамин в9 (фолиевая кислота), d-биотин (витамин в7).	Капсулы
«Кордексин» («cordexin»)	Экстракты корня и травы синюхи голубой, экстракт плодов барбариса обыкновенного, экстракт листьев малины, экстракт исландского мха (цетрария исландская), экстракт мать-и-мачехи, экстракт сосновых почек, экстракт цветков гвоздики, экстракт	Бальзам

Продолжение таблицы 1.2

Название	Состав/Активные субстанции	Лекарственная форма
	корня имбиря, экстракт семян кардамона, экстракт травы манжетки обыкновенной, экстракт листьев стевии, экстракт семян черного тмина, экстракт костуса (saussurea).	
"Ночной"	Корневища с корнями валерианы лекарственной, триптофан, корневища с корнями синюхи голубой, листья мяты перечной, трава Melissa лекарственной.	Таблетки

Комплексные растительные лекарственные препараты, включающие лекарственные растения такие как валериана, пустырник, боярышник, мята и зверобой применяют для лечения бессонницы. В патенте RU 2298413, А61К 36/734, опубл. 10.05.2007, описан растительный препарат для профилактики и лечения нервных заболеваний. Препарат содержит смесь спиртовых экстрактов пустырника, донника, цикория, зверобоя, боярышника, Melissa, валерианы, вереска и хмеля. Аналогичные по действию составы содержат композиции, отраженные в заявках и патентах RU № 2008128716, А61К 36/8968, опубл. 27.01.2010, 2174005, 2185847, 2195951, А61К 35/78.

На основе представленных данных с учетом имеющихся композиций и с целью получения эффективной комбинации растительных лекарственных средств была предложена комбинация для дальнейшего получения седативного лекарственного растительного средства: плоды боярышника, трава пустырника и трава синюхи голубой.

Трава пустырника, плоды боярышника и корневища с корнями синюхи голубой являются фармакопейными, включены в ГФ XIV. Однако синюха голубая в некоторых регионах Российской Федерации отнесена к спискам краснокнижных видов, в связи с чем реализация через аптечную сеть корневищ с корнями синюхи



голубой почти прекратилась [24]. Поэтому сотрудники Сеченовского Университета изучили и продемонстрировали возможность использования травы синюхи голубой в качестве растительного сырья [7].

С целью рационального применения ценного официального растения в настоящей работе предусмотрены использование травы синюхи голубой, культивируемой ООО «Росбио», и разработка ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе густых экстрактов перечисленных выше видов лекарственного растительного сырья.

Для дальнейшего обоснования выбранного состава необходимо рассмотреть более подробно каждый компонент отдельно, чтобы определить вклад каждого компонента в общую фармакологическую активность, а также обеспечить возможность дальнейшего проведения исследования по разработке комбинированного растительного лекарственного средства седативного действия на основе густых экстрактов травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой и его стандартизации.

### **1.1.2 Фармакогностическая характеристика плодов боярышника, травы пустырника и травы и корневищ с корнями синюхи голубой**

Фармакогностическая характеристика плодов боярышника, травы пустырника и травы и корневищ с корнями синюхи голубой представлены в таблице 1.3.

Таблица 1.3 – Фармакогностическая характеристика

Синюхи голубой корневища с корнями <i>Polemonii caerule rhizomata cum radicibus</i> [ГФ XIV, ФС.2.5.0039.15]	Источник тритерпеновых сапонинов и флавоноидов
Синюха голубая – <i>Polemonium caeruleum</i> L.	
Сем. Синюховые – <i>Polemoniaceae</i>	

## Продолжение таблицы 1.3

<p>Пустырника трава <i>Leonuri herba</i> [ГФ XIV, ФС.2.5.0034.15]  Пустырника пятилопастного – <i>Leonurus quinquelobatus</i> Gilib.  Пустырника сердечного (Пустырника обыкновенного) –  <i>Leonurus cardiaca</i>  Сем. яснотковых – <i>Lamiaceae</i>.</p>	<p>Источник  флавоноидов и  ирридоидов</p>
<p>Боярышника плоды <i>Crataegi fructus</i> [ГФ XIV, ФС.2.5.0061.18]  Боярышника (<i>Crataegus</i>): боярышника сглаженного – <i>C. laevigata</i> (Poir.). (Боярышника колючего – <i>C. oxyacantha</i> sensu Rojark.), боярышника Королькова – <i>C. korolkovii</i> L., Henry, боярышника желтого – <i>C. chlorocarpa</i> Lenne et <i>C. koch</i> (боярышника алтайского – <i>C. altaica</i> (Lond.) Lange), боярышника даурского – <i>C. dahurica</i> Koehne ex Schneid., боярышника однопестичного – <i>C. monogina</i> Jacq., боярышника германского – <i>C. alemanniensis</i> Cin., боярышника пятипестичного – <i>C. pentagyna</i> Waldst. et Kit., боярышника восточно-балтийского – <i>C. orientobaltica</i> Cin., боярышника отогнуточашелистикowego – <i>C. curvisepala</i> Lindm., боярышника курземского – <i>C. x curonica</i> Cin., боярышника даугавского – <i>C. x dunensis</i> Cin., Сем. розоцветные – <i>Rosaceae</i>.</p>	<p>Источник  флавоноидов и  сапонинов</p>

**Плоды боярышника.** Относится к семейству Розоцветные (*Rosaceae*).

**Описание сырья.** Плоды боярышника яблокообразные, от шаровидной до эллипсоидальной формы, твердые, морщинистые, длиной 6–14 мм, шириной 5–11 мм, сверху с кольцевой оторочкой, образованной ссохшимися чашелистиками. В мякоти плода находятся 1–5 деревянистых косточек, имеющих неправильную треугольную, овальную или сжатую с боков форму. Поверхность косточек ямчато-морщинистая или бороздчатая по спинке. Цвет плодов от желто-оранжевого и

коричневато-красного до темно-коричневого или черного, иногда с беловатым налетом выкристаллизовавшегося сахара. Запах отсутствует [25].

**Химический состав.** Главными биологическими активными соединениями являются полифенолы - флавоноиды (производные лютеолина, производные апигенина, производные кверцетина, производные кемпферола и диосмина), антоцианидины, проантоцианидины и их производные, тритерпеновые сапонины (олеаноловая кислота, урсоловая кислота, и другие), органические кислоты, фитостеролы, такие как кампестерол, стигмастерол и ситостерол [28]. Подробно плоды и цветки боярышника были изучены Т.В. Морозова [29]. В цветках боярышников содержатся флавоноиды (гиперозид, кверцетин и кверцитрин), органические кислоты, холин, ацетилхолин, триметилхолин и эфирные масла [30, 31].

**Трава пустырника.** Принадлежит к семейству растений Яснотковые.

**Описание сырья.** Стебли пустырника длиной до 40 см с цветками и листьями, могут встречаться отдельные листья, цветки, части соцветий и стеблей. Стебель четырехгранный, опушенный, или опушение только по ребрам, полый, толщиной до 0,5 см. Листья супротивные, нижние – трех – пятилопастные или раздельные, в соцветиях – трехлопастные или ланцетовидные, зубчатые или цельнокрайние с клиновидным основанием, длиной до 14 см, шириной до 10 см. Соцветия колосовидные, прерванные; цветки и бутоны собраны в мутовки по 10 – 20 в пазухах листьев. Чашечка трубчато-колокольчатая с 5 шиловиднозаостренными зубцами, коническая, колючая. Венчик длиной до 0,12 см, двугубый, длиннее чашечки, верхняя губа цельнокрайняя, нижняя – трехлопастная; тычинок 4; завязь нижняя. Стебли, листья, чашечки цветков опушены волосками. Цвет стеблей серовато-зеленый, коричневато-зеленый, листьев – темнозеленый, серовато-зеленый, чашелистиков – зеленый, венчиков – серовато розовый или розовато-фиолетовый. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый [32].

**Химический состав.** Терпены представлены монотерпеноидами (иридоиды: леонурид, аюгозид, галиридозид и рептозид) и тритерпенами (урсоловая кислота, олеаноловая кислота, коросоловая кислотой и эускафовая кислота) [33, 35]. Другие составляющие включают флавоноиды, особенно кверцетин и кемпферол, О-гликозиды: рутин, гиперозид, кверцитрин, изокверцитрин, астрагалин, а также апигенин: 4'-п-кумароил-апигенин-7-глюкозид; флавоноидные С-гликозиды: витексин и изовитексин; агликоны (кверцетин, кемпферол, генкванин) [36, 37]. К фенольным соединениям относятся фенилпропаноидные гликозиды: лавандуфолиозид (арабинозид вербаскосида) и фенольные кислоты: хлорогеновая, розмариновая, кофейная, п-кумаровая, п-гидроксибензойная, ванилиновая, феруловая кислоты, а также фенольные гликозиды: кофейная кислота 4-рутинозид [38]. Эфирные масла в основном содержат сесквитерпены: гермакрен D, эпицедрол,  $\beta$ -кариофиллен,  $\alpha$ -ариофиллен, спатуленол; и монотерпены:  $\alpha$ -пинен, дегидро-1,8-цинеол. Стерины представлены  $\beta$ -ситостеролом и стигмастеролом, а структурная формула дубильных веществ не установлена [39, 40].

**Корневища с корнями и трава синюхи голубой.** Семейство Синюховые включает 18 родов и около 330 видов [41].

**Описание сырья (корневища с корнями).** Цельные или разрезанные вдоль корневища с корнями. Корневища горизонтальные, прямые или слегка изогнутые, иногда ветвящиеся, с многочисленными придаточными корнями; длина корневищ 0,5–5 см, толщина 0,3–2 см. Поверхность корневищ морщинистая, излом ровный или зернистый. В центре корневищ часто имеется полость вследствие разрушения сердцевины. Корни тонкие, длиной 7–35 см, толщиной 1–2 мм, мелкие, шероховатые, цилиндрические, узловатые, ломкие. Цвет корневищ с поверхности сероватый, на изломе желтовато-белый или белый. Корни снаружи желтовато-белые, на изломе – белые. Запах слабый, характерный. Вкус водного извлечения горьковатый [42].

**Описание сырья (*трава*).** Цельное сырье «трава синюхи» представляла собой высушенные, цельные или частично измельченные стебли, листья и цветки. Стебли прямые, полые, несколько ребристые, опушены железистыми волосками. Борозды стебля ассиметричные, при основании стебля они выглядят в виде двух пар сближенных ребер и одного одиночного ребра, расположенных (при рассмотрении на срезе) приблизительно под углом  $120^\circ$  [43, 45]. В молодой зеленой части стебля различимы два сближенных ребра, на их поверхности имеются небольшие шипики. Листья очередные, сложные, непарноперистые, гладкие, голые. Нижние листья короткочерешковые, верхние - сидячие. Отдельные листочки в числе 15–25 яйцевидно-ланцетовидные, заостренные, голые, цельнокрайние, длиной 1,5–2 см, с выступающей жилкой на обратной стороне. У верхних листьев доли при основании спаянные [46, 48]. Цвет стеблей и листьев зеленый [49]. Цветки, собранные в соцветие, рыхлая кисть, правильные, обоеполые, актиноморфные [50]. Чашечка ширококолокольчатая, пятилопастная, лопасти яйцевидные, равные по длине трубке чашечки. Венчик, широко раскрытый колесовидно-колокольчатый с 5-лопастным отгибом, длиной 15–18 см, в 2–2,5 раза больше чашечки, синевато-голубого или синевато-лилового цвета. Трубка венчика беловатая с кольцом волосков в зеве. Тычинок 5, они прикреплены к трубке венчика и расположены между его лопастями. Пестик с верхнегнездовой завязью и трехраздельным рыльцем [51]. Плод - трехгнездовая многосемянная, почти шаровидная коробочка, равная окружающей ее чашечке, которая остается при плодах. Запах слабый ароматный, вкус горьковатый.

Измельченная трава представляет собой смесь кусочков стеблей, листьев и цветков различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет зеленоватый с голубыми вкраплениями. Запах слабый ароматный, вкус горьковатый. [7, 52].

**Химический состав корневищ с корнями:** Главными биологическими активными соединений являются сапонины (20–30%), флавоноиды, органические

кислоты, жирное и эфирное масло, смолы (до 1,3%) и следы эфирного масла [53, 54]. Также обнаружены в синюхе железо, серебро, цинк, барий, кадмий, алюминий [55].

**Химический состав травы.** Основными биологическими активными соединениями являются тритерпеновые сапонины - производные олеанана (полемониозид С [56], полемониумгенин А [57], полемониогенин [58], камелиагенин Е [59], теасапогнеол А [60], деацилполемониумгенин В [61], баррингтогенол С [62] и R-1-баригенол [63] и полемониумсапонин 1, 2, 3 [64]), флавоноидные гликозиды с преобладанием производных акацетина [65], сложные эфиры жирных кислот (метил пальмитат, метиллинолеат и метилолеат) [66, 67], аминокислоты (аланин и пролин) [68, 70], карбоновые кислоты [71,73] и углеводы ( $\alpha$ -D-метилфуранозид,  $\alpha$ -фруктофураноза,  $\beta$ -фруктофураноза,  $\alpha$ - глюкопираноза,  $\beta$ - глюкопираноза и сахароза) [74, 75].

### **1.1.3 Фармакологическая активность и применение в медицине плодов боярышника, травы пустырника, корневищ с корнями и травы синюхи голубой**

Фармакологическая эффективность исследуемых растений обусловлена тем, что они содержат флавоноиды и сапонины.

Флавоноиды обладают рядом лечебных свойств, включая противораковые [76], антиоксидантные [77], противовоспалительные и противовирусные свойства [78]. Они также обладают нейропротекторным и кардиопротекторным действием.

Эта биологическая активность зависит от типа флавоноида, способа его действия и биодоступности.

Фармакологическая активность, связанная с сапонинами, включает противоопухолевую [79], антимуtagenную, противовоспалительную [80], противовирусную и сердечную активность [81].

## Фармакологические свойства и применение в медицине плодов боярышника

Лекарственные средства на основе плодов боярышника, которые зарегистрированы в России, представлены в таблице 1.4 [22].

Таблица 1.4 – Лекарственные средства на основе плодов боярышника, зарегистрированные в России

Название	Состав/Активные субстанции	Лекарственная форма
Боярышника настойка	Боярышника плодов настойка	Настойка
Боярышника плоды	Плоды цельные	Отвар
Боярышника цветки	Боярышника цветки	Настойка
Боярышника экстракт	экстракт плодов боярышника жидкий.	Капли для приема внутри
Кардиовален	Экстракт боярышника, настойка валерианы, экстракт травы желтушника	Капли для приема внутри
Кедровит	Аронии черноплодной плоды, березы почки, боярышника плоды, боярышника цветки, сосны кедровой сибирской орех	Эликсир
Валемидин	Боярышник, пустырник, валериана, мята	капли для приема внутри

Кроме того, существуют БАДы, зарегистрированные в России, которые приведены в таблице 1.5 [23].

Таблица 1.5 – БАДы на основе плодов боярышника, зарегистрированные в России

Название	Состав/Активные субстанции	Лекарственная форма
"Боярышник, плоды - "Фарм-Продукт"	Плоды боярышника кроваво-красного	Отвар

Продолжение таблицы 1.5

Название	Состав/Активные субстанции	Лекарственная форма
"БОЯРЫШНИК, ПЛОДЫ "Сила российских трав"	Плоды боярышника кроваво-красного	Отвар
Фито-чай "Сердечный"	Плоды боярышника, пустырник пятилопастый трава, боярышник цветки, ноготки лекарственные цветки	Настой
фиточай "Гипертонический"	Плоды боярышника, пустырник трава, мята трава, хвощ трава, каркаде	Настой
"ТРИОСОН"	Зверобой, трава, боярышник, плоды, хмель, шишки	Таблетки

Плоды боярышника оказывают кардиотоническое, спазмолитическое и умеренное седативное действие, проявляют гипотензивные свойства и нормализуют показатели свертываемости крови [82, 85]. Кроме того, лекарственные формы плодов боярышника устраняют нарушение ритма сердца при различных экспериментальных моделях, например, на модели аконитиновой аритмии [86]. Лекарственные препараты на основе плодов боярышника усиливают сокращение сердечной мышцы, регулируют сердцебиение, способствуют нормализации уровня холестерина в крови, усиливают кровообращение венечных сосудов сердца и сосудов мозга [86, 87].

Активные ингредиенты боярышника плодов являются основой широкого спектра его применения. Например, полифенольные соединения являются хорошими антиоксидантами [88] и иммуномодуляторами [89], наличие флавоноидов обладает гипотензивным действием, антиатерогенной активностью [89] и антиоксидантной активностью [90], а тритерпеновые соединения обладают спазмолитическими свойствами. Как кардиотоническое и регулирующее кровообращение средство боярышник рекомендуется при недостаточности кровообращения у людей в пожилом возрасте, особенно при болезнях климактерического периода,



атеросклерозе и сердечных неврозах [91]. Седативная активность лекарственных формы плодов боярышника также была доказана в эксперименте. Препараты растения малотоксичны, побочные явления в эксперименте не выявлены [92, 93]. Лекарственные препараты, содержащие плоды боярышника, безопасны и эффективны при лечении многих заболеваний сердечно-сосудистой системы (гипертонической болезни, стенокардии, мерцательной аритмии) и заболеваний ЦНС (неврозы и бессонница). Это эффективность обусловлена тем, что боярышник усиливает кроветворение, кровообращение в венозных сосудах сердца и в сосудах мозга [86, 87].

### **Фармакологические свойства и применение в медицине травы пустырника**

Лекарственные средства на основе травы пустырника, зарегистрированные в России, представлены в таблице 1.6 [22].

Таблица 1.6 – Лекарственные средства на основе травы пустырника, зарегистрированные в России

<b>Название</b>	<b>Состав/Активные субстанции</b>	<b>Лекарственная форма</b>
Пустырника экстракт Фарм ВИЛАР	Пустырника травы экстракт	Таблетки
Пустырника трава	Пустырника трава (измельченная трава)	Настой
Пустырника экстракт	Пустырника травы экстракт	Таблетки
Пустырник Форте Эвалар	Пустырника трава, магния аспарагинат, пиридоксин	Таблетки
Бальзам Московия	Пустырника травы, душицы травы, тысячелистника травы	Эликсир
Валемидин	Боярышник, пустырник, валериана, мята, димедрол	Капли для приема внутрь
Корвалол плюс Форте	Пустырника травы настойка; фенобарбитал; мяты перечной листьев масло	Капли для приема внутрь

Продолжение таблицы 1.6

<b>Название</b>	<b>Состав/Активные субстанции</b>	<b>Лекарственная форма</b>
Корвалол Нео	Пустырника травы настойка, этилбромизовалерианат, мяты перечной листьев масло	Капли для приема внутри
Корвалол ФИТО	Пустырника травы настойка, этилбромизовалерианат, мяты перечной листьев масло	Таблетки

Кроме того, существуют БАДы на основе травы пустырника, зарегистрированные в России и представленные в таблице 1.7 [23].

Таблица 1.7 - БАДы на основе травы пустырника, зарегистрированные в России

<b>Название</b>	<b>Состав/Активные субстанции</b>	<b>Лекарственная форма</b>
Концентрат фиторастворов для приготовления кислородных коктейлей №1	Экстракт (корня солодки, травы мяты, корня девясила, листьев крапивы, травы пустырника)	Экстракт
"Пустырник"	Измельченная трава пустырника пятилопастного	Настой
Пустырника трава	Экстракт травы пустырника.	Экстракт
Пустырник Таежный	Экстракт пустырника	Капсулы
"Пустырник-Сесана"	Экстракт пустырника сухой, масло мяты перечной	Экстракт
"Пустырника сер дечного экстракт - ВИС"	Трава пустырника обыкновенного, экстракт пустырника, витамин В6, карбонат магния	Капсулы
фито-чай "Белла" - "Пустырник"	Трава пустырника	Настой
Пустырника экстракт	Пустырника экстракт сухой	Таблетки

Экстракт травы пустырника обладает кардиопротекторным [94, 95], гипотензивным [96, 98] и нейропротекторным действием [99, 102]. Сердечно-сосудистые заболевания часто связаны с изменением митохондрий сердечной мышцы, и агентами, которые поддерживают митохондриальную функцию, сохраняющие функцию сердца и защищающие от сердечно-сосудистой патологии [103, 107].

Лекарственные препараты, содержащие траву пустырника, использовали для лечения заболеваний ЦНС, таких как депрессия, тревога или стресс [108, 112]. Это связано с тем, что содержащиеся биологические активные вещества (изолеозибирин, 7R-хлор-6-дезоксигарпагид, лавандулифолиозид, стахидрин и леонуриин) воздействуют на нейрональный рецептор гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) [113, 114].

В исследовании 2011 года были включены 50 человек с высоким артериальным давлением и сопутствующими тревожными расстройствами, и нарушениями сна. После 28 дней лечения лекарственным препаратом травы пустырника у 32% участников наблюдалось значительное улучшение симптомов тревоги и депрессии, а у 48% участников наблюдалось умеренное улучшение этих симптомов. Интересно, что также наблюдалось улучшение артериального давления [115].

### **Фармакологические свойства и применение в медицине синюхи голубой**

В Государственном реестр лекарственных средств лекарственные препараты на основе синюхи голубой отсутствуют, тем не менее корневища с корнями синюхи голубой включены в ГФ XIV.

Существуют БАДы на основе синюхи голубой, зарегистрированные в России и представленные в таблице 1.8 [23].

Таблица 1.8 – БАДы на основе синюхи голубой, зарегистрированные в России

Название	Состав/Активные субстанции	Лекарственная форма
"Синюха голубая, корень (Rhizomata cum radicibus Polemonii coerulei)"	Корневище с корнями синюхи голубой	Отвар
"Фиточай "Байкальский" "Синюха голубая (трава)"	Трава синюхи голубой	Настой
"Синюха голубая (трава)"	Трава синюхи голубой	Настой
«Лесной край» «Синюха»	Трава синюхи голубой	Настой
"Фиточай "Байкальский" "Синюха голубая (трава)"	Трава синюхи голубой.	Настой
"Гинкос - гинкго билоба с синюхой голубой"	Порошок листьев гинкго билоба, синюха, корневища с корнями	Настой

Терапевтическая эффективность травы синюхи голубой обусловлена тем, что она содержит большое количество сапонинов (тритерпеновых гликозидов) [116, 118], так как было показано, что она обладает явными седативными свойствами, в десять раз превышают аналогичный эффект валерианы лекарственной. Сапонины синюхи голубой снижает двигательную активность и нервную возбудимость [119, 120]. Было проведено исследование на 50 добровольцах, страдающих бессонницей и прерывистым сном, которые в течение двух недель принимали настой травы синюхи голубой. Было замечено, что около 80% стали спокойнее, время сна увеличилось [121]. Препараты экстракта травы синюхи голубой безопасны при длительном применении, не вызывают привыкания по сравнению с валерианой, не имеют побочных эффектов [122].

Таким образом данные литературы показали, что флавоноиды, тритерпеновые сапонины обеспечивают значительный вклад в фармакологические эффекты препаратов из ЛРС боярышника, пустырника, и синюхи голубой. Согласно данным литературы, экстракты из этих растений имеют сходную фармакологическую

активность (особенно в отношении седативного действия), что позволяет рекомендовать их совместное использование, в одной лекарственной форме.

Сравнительное фармакогностическое изучение плодов боярышника, пустырника и синюхи голубой показало, что для дальнейшей стандартизации комплексного лекарственного препарата на их основе целесообразно использовать флавоноиды и сапонины. Все выбранные объекты являются фармакопейными или имеют проект фармакопейной статьи, что значительно упростит дальнейшую стандартизацию планируемых к получению густых экстрактов и комплексного лекарственного препарата – КГЭ и ТЖК с тиксотропной жидкостью на его основе.

## **1.2 Современные методы стандартизации фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и сапонины**

### **1.2.1 Методы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных средств на его основе, содержащих флавоноиды**

Метод идентификации флавоноидных соединений может осуществляться с использованием химических реакций, хроматографических методов и спектрометрического метода.

#### **Химические реакции**

Методы определения флавоноидов включают следующее [123, 125], представлены в таблице 1.9.

Таблица 1.9 – Методы определения флавоноидов

<b>Тест</b>	<b>Процедура</b>	<b>Результат</b>
Тест Шинода	К спиртовому экстракту добавляли небольшой кусочек магния, несколько капель	Красное или оранжевое окрашивание, обусловленное образованием антоцианидинов

Продолжение таблицы 1.9

Тест	Процедура	Результат
	концентрированной HCl и нагревали на водяной бане.	
Тест с треххлорным железом	К небольшому количеству спиртового экстракта добавляли несколько капель нейтрального хлорного железа.	Коричневая (3-ОН-группа) или зеленая (5-ОН-группа) или синя (3 4 5 ОН-группы) окраски
Тест Вильсона	К спиртовому экстракту добавляли несколько капель борной кислотой в присутствии лимонной кислоты.	Ярко-желтое окрашивание с желтовато-зеленой флуоресценцией (3- и 5-гидрокси флавоны и 3- и 5-гидрокси флавонолы)
Тест с хлористым цирконием	К спиртовому экстракту добавляли несколько капель хлористого циркония	Ярко-желтая окраска и желто-зеленая флуоресценция

## Хроматографические методы

### Тонкослойная хроматография

Анализ проводили на хроматографической пластинке со слоем силикагеля. Использовали следующие смеси растворителей [126, 127], представлены в таблице 1.10.

Таблица 1.10 – Смесь растворителей

№	Смесь растворителей	Соотношение
1	Этилацетат: метанол: вода	75:15:10
2	Этилацетат: муравьиная кислота: уксусная кислота: вода	65:10:10:25
3	Хлороформ: метанол: вода	70:25:5
4	Толуол: этилацетат: диэтиламин	70:20:10
5	Этилацетат: метанол: вода: уксусная кислота	65:15:15:10

Когда фронт растворителей прошёл 80–90 % от линии старта пластинки, высушивали до удаления следов растворителей. Пластинку опрыскивали реактивом  $AlCl_3$  для обнаружения флавоноидов. Сразу после высушивания просматривали в УФ при 254 нм и 366 нм [126, 127].

### **Высокоэффективная жидкостная хроматография**

В последние годы ВЭЖХ широко используется для идентификации и количественного анализа флавоноидов и их препаратов благодаря высокому разрешению, высокой селективности и высокой чувствительности. ВЭЖХ в сочетании с различными детекторами стала основным методом анализа флавоноидов; потенциальные комбинации включают матричный УФ/диодный детектор и масс-спектрометрический детектор (МС). ВЭЖХ связан с этими детекторами для качественного или количественного анализа флавоноидов в сложных лекарственных материалах и их препаратах.

### **Спектрофотометрический метод**

Идентификация флавоноидных соединений также может быть выполнена на основе удельного поглощения при длине волны УФ-света. Все флавоноиды имеют ароматические хромофоры, что видно в их УФ-спектрах по УФ-поглощению в диапазоне 250 нм. Эти вещества способны испытывать  $\pi, \pi^*$ -возбуждение и реагировать из  $\pi, \pi^*$ -возбужденных состояний. Для флавонов, флавонолов и соответствующих гликозидов он обычно обнаруживается при 254–280 нм или 340–360 нм, 520–540 нм для антоцианидинов и 250 нм для хромонов [128, 129]. Российская государственная фармакопея регламентирует использование ТСХ для качественного определения флавоноидов в траве пустырника и плодах боярышника [26] для количественного определения суммы флавоноидов в указанных растениях – дифференциальный спектрофотометрический метод (основанный на реакции комплексообразования с алюминия хлоридом),

определяющий сумму флавоноидов в пересчете на рутин (для травы пустырника) и в пересчете на гиперозид (для плодов боярышника) [26].

### 1.2.2 Методы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных средств на его основе, содержащих сапонины

Метод идентификации сапонинов может осуществляться с использованием химической реакции, хроматографического метода и спектроскопического метода.

#### Химические реакции

Методы определения сапонинов включают следующее [130, 132], представлены в таблице 1.11.

Таблица 1.11 – Методы определения сапонинов

Тест	Процедура	Результат
Тест на пенообразование	К водному экстракту добавляли воду и нагревали, затем охлаждали и фильтровали, потом фильтрат помещали в пробирку и сильно встряхивали	Образуется пена, равная по объёму и устойчивости
Тест осаждения	К водному экстракту добавляли несколько капель гидроксида бария или магния	Сапонины осаждаются
Тест Саль-ковкого	К хлороформному экстракту несколько капель концентрированной $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ и $\text{H}_2\text{SO}_4$	Органический слой приобретает оранжевое окрашивание
Тест Лафона	К водному экстракту добавляли несколько капель концентрированной $\text{H}_2\text{SO}_4$ и 10% раствора $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	Сине-зелёное окрашивание
Тест с $\text{H}_2\text{SO}_4$	К водному экстракту добавляли несколько капель концентрированной $\text{H}_2\text{SO}_4$	Красное или краснофиолетовое окрашивание



## Хроматографические методы

### Тонкослойная хроматография

На хроматографической пластинке со слоем силикагеля можно использовать следующие смеси растворителей [133,135], представлены в таблице 1.12.

Таблица 1.12 – Смесь растворителей

№	Смесь растворителей	Соотношение
1	н-Бутанол, спирт 96 %, аммиак	7:2:5
2	н-Бутанол, вода и уксусная кислота	65:35:10
3	Хлороформ, метанол и вода	65:15:20

Когда фронт растворителей прошёл 80–90 % от линии старта пластинки, высушивали до удаления следов растворителей. Пластинку опрыскивали концентрированной серной кислотой или раствором 25% фосфорновольфрамовой кислоты, выдерживали при температуре 100 -105 °С для обнаружения сапонинов.

### Высокоэффективная жидкостная хроматография

Метод ВЭЖХ в сочетании с различными детекторами используется для идентификации и количественного анализа сапонинов и их препаратов, а также в сложных лекарственных смесях [136].

### Спектрофотометрическая методика

Идентификация сапонинов также может быть выполнена спектрофотометрическим методом по удельному поглощению при длине волны 283 нм после добавления раствора серной кислоты, концентрированной (серная кислота используется в качестве окислителя, в результате реакции появляется фиолетовое окрашивание) [137]. Российская Государственная фармакопея регламентирует для качественного определения тритерпеновых сапонинов в траве

синюхи голубой метод ТСХ и качественную реакцию (реакцию пенообразования) [42], для количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов используется спектрофотометрическая методика в пересчете на  $\beta$ -эсцин [42].

### **1.3 Особенности технологии и стандартизации лекарственных средств, содержащих густые экстракты растительного происхождения**

#### **1.3.1 Экстракты из лекарственного растительного сырья**

Густые экстракты (*Extracta spissa*) представляют собой концентрированные извлечения из лекарственного растительного сырья с содержанием влаги не более 25 % [138, 141].

Экстракция — это процесс, при котором соединение переходит из одного растворителя в другой за счет разницы в растворимости или коэффициенте распределения между этими двумя несмешивающимися (или малорастворимыми) растворителями. По сравнению с другими методами разделения он дает лучший эффект разделения, чем химическое осаждение, более высокую степень селективности, более быстрый массообмен, чем метод ионного обмена. По сравнению с дистилляцией экстракция растворителем имеет такие преимущества, как низкое энергопотребление, большая производственная мощность, быстрота действия, простота непрерывной работы и простота автоматизации [142].

Свойства растворителя, используемого для экстракции [143]:

1. Растворитель должен хорошо смешиваться с экстрагируемой жидкостью.
2. Растворитель не должен смешиваться с другими компонентами смеси или реагировать с растворенным веществом.
3. Температура кипения растворителя должна быть достаточно низкой (намного ниже точки кипения растворенного вещества), чтобы его можно было легко испарить после проведения экстракции.
4. Он должен иметь благоприятный температурный коэффициент.

5. Растворитель должен растворять хотя бы один компонент в большей степени, чем остальные компоненты.
6. Соединение, образовавшееся после реакции, должно легко отделяться от экстрагированного соединения, чтобы его можно было использовать повторно.
7. Он должен быть недорогим и рентабельным.
8. Растворитель не должен быть токсичным или вызывать коррозию, поскольку он может повредить инструменты для экстракции.
9. Другими важными факторами при выборе растворителя являются вязкость, температура кипения, воспламеняемость и т. д.

В таблице 1.13 представлены различные растворители, которые используются в процедурах экстракции:

Таблица 1.13 - Растворители, которые используются в процедурах экстракции

<p><b>1. Вода</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Универсальный растворитель, используемый для экстракции растительных продуктов с антимикробной активностью.</li> <li>- Водорастворимые флавоноиды (в основном антоцианы) не имеют антимикробного значения, а водорастворимые фенолы важны только как антиоксидантное соединение [144].</li> </ul>
<p><b>2. Ацетон</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ацетон растворяет многие гидрофильные и липофильные компоненты из растений, смешивается с водой, является летучим и имеет низкую токсичность для используемого биоанализа, он является очень полезным экстрагентом, особенно для антимикробных исследований, когда требуется экстрагировать больше фенольных соединений.</li> </ul>
<p><b>3. Этанол</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Этанол более эффективен, чем вода, для проникновения через клетки растений, способствует высвобождению большего количества полифенолов в этанольных экстрактах по сравнению с водными экстрактами. [145].</li> <li>- Этанол 70% более полярен, чем чистый этанол, поэтому его рекомендуется использовать при экстрагировании флавоноидов. [146,148]</li> </ul>

## Продолжение таблицы 1.13

<p>- Метанол является более полярным, чем этанол, но из-за его цитотоксической природы он не подходит для экстракции в определенных видах исследований, поскольку может привести к неверным результатам.</p>
<p><b>4. Хлороформ</b></p> <p>- Терпеноидные лактоны были получены путем последовательных экстракций лекарственного растительного сырья гексаном, хлороформом и метанолом с наибольшей концентрацией терпеноидных лактонов в хлороформной фракции [149].</p>
<p><b>5. Эфир</b></p> <p>- Эфир обычно используется избирательно для экстракции кумаринов и жирных кислот [150].</p>
<p><b>6. Дихлорметан</b></p> <p>- Это еще один растворитель, используемый для проведения экстракции. Специально используется для селективного извлечения только терпеноидов [151].</p>

Экстракция, как этот термин используется в фармации, включает отделение активных в медицинском отношении биологических веществ от неактивных или инертных компонентов лекарственного растительного сырья с использованием селективных растворителей в стандартных процедурах экстракции. Продукты, полученные таким образом из растений, представляют собой относительно нечистые жидкости, полутвердые вещества или порошки, предназначенные только для перорального или наружного применения [140]. Цель экстракции неочищенных лекарственных средств состоит в том, чтобы получить терапевтически желаемую часть и удалить инертный материал путем обработки селективным веществом. Таким образом, полученный экстракт может быть готов к использованию в качестве лекарственного средства в виде настоек, жидких экстрактов или дополнительно обработан для включения в любую лекарственную форму (таблетки и капсулы) [142]. Таким образом, стандартизация процедур экстракции вносит значительный вклад в конечное качество лекарственного растительного сырья. Для получения экстрактов применяются различные методы экстрагирования, представленные в таблице 1.14.

Таблица 1.14 - Методы экстракции лекарственных растений

<p><b>1. Мацерация</b></p> <p>- Образец помещают в закупоренный контейнер с растворителем и выдерживают при комнатной температуре в течение не менее 3 дней при частом перемешивании, далее извлечение процеживают, сырье отжимают. Полученное извлечение декантируют или отстаивают [152].</p>
<p><b>2. Настаивание</b></p> <p>- Готовят путем настаивания растительного сырья в течение короткого периода времени холодной или кипящей водой [153].</p>
<p><b>3. Приготовление отвара</b></p> <p>- Лекарственное растительное сырье кипятят в определенном объеме воды в течение определенного времени; затем охлаждают и процеживают или фильтруют [154].</p>
<p><b>4. Перколяция</b></p> <p>- Это процедура, наиболее часто используемая для извлечения активных ингредиентов при приготовлении настоек и жидких экстрактов. Заключается в процеживании экстрагента через растительный материал для извлечения растворимых в экстрагенте веществ. Растительное сырье сначала смачивают соответствующим количеством экстрагента и оставляют на определенное время (например, 4 часа) для набухания, далее сливают полученное извлечение, а к исходному сырью снова добавляют экстрагент. Процедуру повторяют 2-4 раза. Полученное извлечение фильтруют или отстаивают с последующим декантированием.</p>
<p><b>5. Горячая непрерывная экстракция (по Сокслету)</b></p> <p>- В этом методе лекарственное растительное сырье экстрагируют в аппарате Сокслета. Данный метод позволяет использовать меньшее количество растворителя, обеспечивает огромную экономию времени, энергии и, следовательно, финансовых затрат [155].</p>
<p><b>6. Водно-спиртовая экстракция путем ферментации</b></p> <p>- Процедура экстракции включает замачивание лекарственного растительного сырья в течение определенного периода времени, в процессе которого он подвергается ферментации и образует спирт, что облегчает извлечение активных компонентов, содержащихся в растительном материале. Также полученный таким образом спирт служит консервантом [156, 157].</p>
<p><b>7. Противоточная экстракция</b></p>

### Продолжение таблицы 1.14

<p>- При противоточной экстракции влажное сырье измельчается с помощью дезинтеграторов с зубчатыми дисками для получения мелкодисперсной суспензии. В этом процессе экстрагируемый материал перемещается в одном направлении (обычно в виде мелкодисперсной суспензии) внутри цилиндрического экстрактора, где он вступает в контакт с экстрагентом. Чем дальше движется исходный материал, тем более концентрированным становится экстракт. Таким образом, полная экстракция возможна, когда оптимизированы количества экстрагента и сырья, а также скорость их потока. Этот процесс очень эффективен, требует мало времени и не представляет риска, связанного с высокой температурой. Наконец, достаточно концентрированный экстракт выходит с одного конца экстрактора, а шрот (практически не содержащий экстрагент) выпадают с другого конца [158].</p>
<p><b>8. Ультразвуковая экстракция (ультразвуковая обработка)</b></p> <p>- Процедура предполагает использование ультразвука частотой от 20 кГц до 2000 кГц; это увеличивает проницаемость клеточных стенок и вызывает кавитацию. Хотя в некоторых случаях этот процесс эффективен, например, при экстракции корней раувольфии, его крупномасштабное применение ограничено из-за более высоких затрат. Одним из недостатков процедуры является известное вредное воздействие ультразвуковой энергии (более 20 кГц) на активные компоненты лекарственных растений посредством образования свободных радикалов и, как следствие, нежелательных изменений в молекулах.</p>
<p><b>9. Микроволновая экстракция</b></p> <p>- В этом методе используется микроволновая энергия для облегчения разделения аналитов из матрицы (растительного сырья) образца в экстрагент [160, 162].</p>

Для густых экстрактов, содержащих флавоноиды и тритерпеновые сапонины оптимальным экстрагентом является этанол.

### 1.3.2 Твердые лекарственные формы: твердые желатиновые капсулы с тиксотропной жидкостью

Лекарственная форма определяется как физическая форма дозы химического соединения, используемого в качестве лекарственного препарата для введения и

получения терапевтического эффекта. Чаще всего экстракты применяют в твердых и жидких лекарственных формах [163].

При изучении видов лекарственных форм, которыми представлены современные седативные растительные препараты, выявлено, что большинство препаратов выпускается в виде настоек (42,63%). Остальные лекарственные формы доступны на российском фармацевтическом рынке, но в меньшем количестве, чем настойки [163]. Результаты представлены на рисунке 1.1.

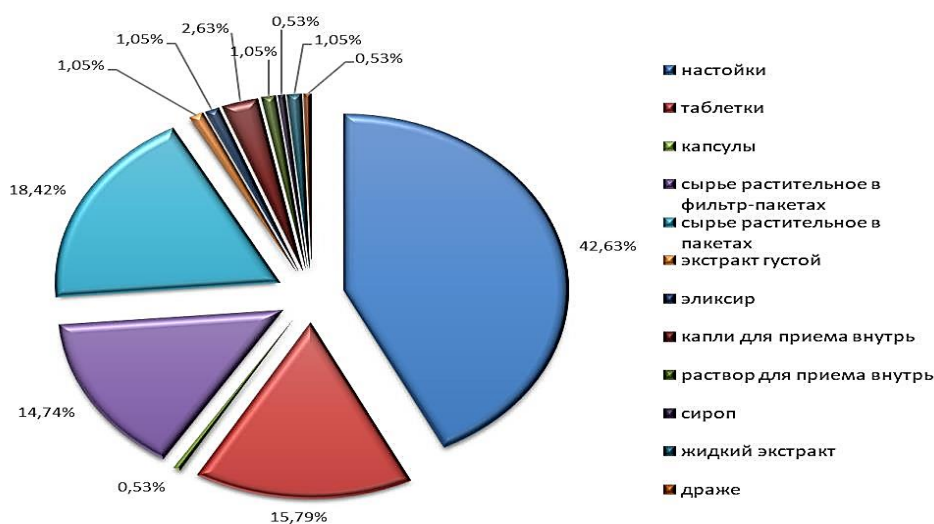


Рисунок 1.1 – Доля седативных препаратов растительного происхождения различных лекарственных форм на Российском фармацевтическом рынке

### **Общая характеристика лекарственной формы «твердые желатиновые капсулы с тиксотропной жидкостью»**

ТЖК с тиксотропной жидкостью – оральная фармацевтическая лекарственная форма, представляющая собой капсулу и содержащая терапевтически эффективное количество активной субстанции; состоит из желатиновой оболочки и заполнена жидким веществом (тиксотропной жидкостью), которое загустевает при добавлении наполнителей, таких как коллоидный диоксид кремния, воскообразное

или жирное вещество, требующее заполнения ТЖК составом в виде расплава [164,165].

Твёрдые капсулы — это удобный способ принимать порошкообразные АФС, потому что они скрывают неприятный вкус или консистенцию. Недостатком является то, что даже большие капсулы могут содержать только от 300 до 600 мг порошкообразных АФС, а это означает, что иногда необходимо принимать много капсул для достижения адекватных доз [166].

Концентрированные экстракты можно использовать в капсулах вместо порошка из лекарственного растительного сырья. В зависимости от средней вместимости их выпускают восьми размеров от «000» (наибольшего) до «5» (наименьшего) [167], размеры и вместимости представлены в таблице 1.15.

Таблица 1.15 – Размеры и вместимости твердых желатиновых капсул

Номер	000	00	0	1	2	3	4	5
Средняя вместимость капсулы, мл	1,37	0,95	0,68	0,50	0,37	0,30	0,21	0,13

### **Преимущества твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью**

Тиксотропная жидкость на основе комплексного густого экстракта представляла собой жидкость, вязкость которой изменялась при разных температурах, что обеспечило наполняемость ТЖК. Выбор тиксотропной жидкости для наполнения ТЖК обусловлен рядом получаемых преимуществ [168]:

1. Для улучшения биодоступности плохо растворимых лекарств.
2. Реализация простого состава с использованием небольшого количества вспомогательных веществ, способных выполнять комбинированные функции наполнителя, разбавителя, дезинтегранта, смазочного материала и др.
3. Для использования густых экстрактов в твёрдой лекарственной форме.
4. Чтобы избежать проблем с переработкой, связанных с лекарствами с низкой температурой плавления.



5. Для обеспечения однородности содержимого.
6. Улучшить стабильность и изменить скорость высвобождения препарата.

### **Разработка твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью**

Для разработки ТЖК с густыми растительными экстрактами необходимо изучить влияние выбранных вспомогательных веществ на эффективность, безопасность и стабильность растительных экстрактов. В состав массы вводят вспомогательные вещества для улучшения технологических свойств, например, для контроля консистенции массы [169].

При наполнении ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе ГЭ требуются подобранные вспомогательные вещества для достижения стабильности при хранении, обеспечения быстрой распадаемости и соответственно достижение фармакологического эффекта. Среди наполнителей следует отметить такие вещества, как гидрогенизированные масла, масло какао, глицерин-желатина, жидкие полиэтиленгликоли и др [170].

При приеме растительных экстрактов возникают проблемы, связанные с обеспечением приемлемых вкуса и запаха этих экстрактов. Чтобы решить эту проблему, растительные экстракты помещают в ТЖК с последующей упаковкой в блистер. Упаковка обеспечивает защиту препарата от света, воздуха и влаги, а также маскирует неприятный вкус и запах [171, 172].

### **Испытания твердых желатиновых капсул в соответствии с Государственной фармакопеей XV**

Все испытания, которые необходимо провести для капсул подробно описаны в фармакопейной статье ОФС.1.4.1.0005 «Капсулы» ГФ XV [173]. Подводя итог, использование технологии получения дозированной лекарственной формы - твёрдые желатиновые капсулы с тиксотропной жидкостью, является оптимальным способом, позволяющим дозировать такие субстанции, как густые экстракты, при

этом увеличивая биодоступность действующих веществ, а также обеспечивая их стабильность к воздействию внешних факторов окружающей среды.

### **Твердые желатиновые капсулы с тиксотропной жидкостью на фармацевтическом рынке**

В настоящее время на фармацевтическом рынке применяются следующие твердые желатиновые капсулы с тиксотропной жидкостью, зарегистрированные в России и представленные в таблице 1.16. [22].

Таблица 1.16 – Твердые желатиновые капсулы с тиксотропной жидкостью, зарегистрированные в России

<b>Название</b>	<b>Состав/Активные субстанции</b>	<b>Производитель</b>
Фосфолипиды	Фосфолипиды 300 мг	Биофармкомбинат, ООО
Фосфоглив® Форте	Фосфолипиды 400 мг (в пересчете на основной компонент - фосфатидилхолин 300 мг), натрия глицирризинат 65 мг	ОАО "Фармстандарт-Лексредства"
Эссенциальные фосфолипиды	Липоид ППЛ-400 400 мг	ОЗОН ФАРМ, ООО
Фосфонци а ле®	Липоид С100 200 мг (в пересчете на фосфатидилхолин 188 мг), экстракт плодов расторопши пятнистой 70 мг и в т. ч. сумма флаволигнанов в пересчете на силибинин 50 мг	КАНОНФАРМА ПРОДАКШН, ЗАО
Фосфоглицерр	Фосфолипиды 0,065 г натрия глицирризинат 0,035 г	ВИФИТЕХ, ЗАО
Фосфоглив®	Фосфолипиды (липоид С80) (в пересчете на основной компонент - фосфатидилхолин 73–79%) 65 мг мгнатрия глицирризинат	ФАРМСТАНДАРТ АО

Продолжение таблицы 1.16

Название	Состав/Активные субстанции	Производитель
	(тринатриевая соль глицирризиновой кислоты) 35 мг	
Этосуксимид-натив	Этосуксимид 250 мг	ООО "Натива"
СУКСИЛЕП®	Этосуксимид 250 мг	Мибе ГмбХ Арцнаймиттль

Как видно, из представленных данных в таблице 1.16 на фармацевтическом рынке практически нет твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью на основе растительного происхождения. Имеются комбинированные гепатопротекторные составы, где используются сухой экстракт плодов расторопши пятнистой и глицирризиновая кислота (натрия глицирризинат).

## ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. Проведен информационно-литературный поиск и проанализированы найденные данные, на основе которых был предложен состав седативного лекарственного растительного средства, включающего КГЭ на основе густых экстрактов травы пустырника, травы синюхи голубой и плодов боярышника, патентный поиск подтвердил возможность предлагаемой комбинации.
2. Анализ фармакогностических и фармакологических данных показал, что основными биологически активными веществами потенциального состава лекарственного средства являются флавоноиды и сапонины, которые будут обеспечивать седативную активность, а также благоприятно воздействовать на сердечно-сосудистую систему.
3. Стандартизация лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды и сапонины, достаточно разработана. Все предлагаемые виды лекарственного растительного сырья для дальнейшей работы являются фармакопейными или имеют проект фармакопейной статьи и для них имеются разработанные методы

качественного и количественного анализа. Перспективными методами для анализа указанных групп БАВ являются спектрофотометрические и ВЭЖХ.

4. Получение экстрактов из лекарственного растительного сырья является оптимальной и ресурсосберегающей технологией, предоставляющей в дальнейшем возможность удобно дозировать и получать ТЖК с тиксотропной жидкостью, позволяющие использовать в составе густые экстракты.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Оборудование

1. Высокоэффективный жидкостной хроматограф с масс-спектрометрией (Agilent Technologies., США), включающий градиентный насос, дегазатор, автосэмплер, диодноматричный детектор и тройной квадрупольный масс-спектрометрический детектор Agilent 6430 (Agilent Technologies., США);
2. Хроматографическая колонка Brownlee C18 (2,1×150 мм×2,7 мкм);
3. Центрифуга с охлаждением Minispin Plus (Eppendorf, Германия);
4. Шейкер Vortex 2 (ИКА, США);
5. Газовый хроматограф (Agilent Technologies., США), включающий градиентный насос, автосэмплер, пламенно-ионизационный детектор Agilent 7683 (Agilent Technologies., США);
6. Headspace Agilent 7694E (Agilent Technologies., США);
7. Весы ATL-220d4-I (Acculab, США);
8. Хроматографическая колонка Zebtron ZB-624 (30×0,32 мм×1,80 мкм);
9. Ультразвуковая водяная баня LOIP LB- 162 (Advantage Lab, Бельгия);
10. Газовый хроматограф (Varian 3900 Saturn 2100T., США), включающий градиентный насос, автосэмплер, масс-спектрометрический детектор Saturn 2100T;
11. Система микроволновой подготовки растворов (Milestone ETHOS-1);
12. Атомно-абсорбционный спектрометр (Varian AA 240, GTA 120., США), включающий систему пламенной и электротермической атомизации;
13. Атомно-эмиссионный спектрометр (Varian 720-ES., США), включающий систему индуктивно-связанной плазмы;
14. Спектрофотометр (CARY-100 VARIAN, США);
15. Тестер для определения распадаемости твердых дозированных лекарственных препаратов Sotax «DT 2»;

16. Система контроля растворения твердых лекарственных форм DISTEK «EVOLUTION 6100»;
17. Капсулонаполняющая машина Harro Höfliger «Modu C LS» с модулями для наполнения порошками, пеллетами и вязкими жидкостями;
18. Ротационный вискозиметр «Реотест-2».

## 2.2 Стандартные образцы, реактивы и вспомогательные вещества

### 2.2.1 Стандартные образцы

Стандартные образцы, представленные в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Стандартные образцы

Наименование	Производитель	CAS номер
Рутин	Sigma-Aldrich	207671-50-9
Гиперозид		482-36-0
В-эсцин		6805-41-0
Магний		7439-95-4
Мышьяк		7440-38-2
Свинец		7439-92-1
Кадмий		7440-43-9
Мульти- элементный	TraceCERT® Supelco	-

### 2.2.2 Реактивы

Реактивы, представленные в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Стандартные образцы

<b>Наименование</b>	<b>Производитель</b>	<b>Каталожный номер</b>
Ацетонитрил ВЭЖХ-МС	LiChrosolv®	1.00029.2500
Метанол ВЭЖХ-МС	ОПТИМА®	A456-212
Муравьиная кислота	Merck	1.11670.0250
Этилацетат	Sigma-Aldrich	319902
Ethanol absolute	Supelco	107017
Алюминий хлористый безводный	Химмед	19578
Вода ВЭЖХ-МС	ОПТИМА®	L-16979

### 2.2.3 Вспомогательные вещества

Вспомогательные вещества, представленные в таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Вспомогательные вещества

<b>Наименование</b>	<b>Производитель</b>	<b>Номер партии</b>
ТЖХ	Капсугель	3617363
Твердый жир	Bunge Loders Crokla	-
Полисорбат 80	GUANGDONG RUNHUA CHEMISTRY CO., LTD	D1024FH115

### 2.3 Технология получения густых экстрактов

Лекарственное растительное сырье для получения экстрактов предоставлено ООО «Росбио», которое проводит культивирование лекарственных растений и получает лекарственное растительное сырье в Тульской области. Предоставленное лекарственное растительное сырье было проанализировано

согласно требованиям ГФ XIV изд. (плоды боярышника и трава пустырника), а также в соответствии с требованиями нормативной документации ООО «Росбио» и с использованием разработанных методик и показателей качества, предложенных в диссертационной работе А.А. Мальцевой [7] (трава синюхи голубой).

Получение ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника и ГЭ плодов боярышника проводили на производственной площадке и по технологии, предоставленной ООО «Росбио», на лабораторной модели вакуумного роторного испарителя Simax (Чехия).

Воздушно сухое сырье измельчали и экстрагировали (соотношение сырье: экстрагент (этанол) 1:5) при постоянном перемешивании. Нагревали при температуре 40°C в течение двух часов. Полученное извлечение отстаивали в прохладном месте в течение 2–3 суток и фильтровали. Полученное таким образом извлечение подвергали вакуумному сгущению при температуре 40°C (давление - 0,09- (-0,095) Мпа) в течение 24 часов. При получении извлечения из травы синюхи, поскольку сырье содержит сапонины, использовали пеногаситель – нерафинированное подсолнечное масло. Произведенные указанным способом густые экстракты представляли собой: густую массу темно-коричневого цвета с характерным запахом (трава синюхи голубой), темно-зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом (трава пустырника), темно-зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом (плоды боярышника).

КГЭ получали путем смешивания ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника, ГЭ плодов боярышника в соотношении 70:20:10 (получили густую массу темно-коричневого цвета, с характерным запахом). Подбранное соотношение ГЭ должно обеспечивать наилучшее седативное действие и является результатом анализа данных литературы.



## **2.4 Статистическая обработка**

Статистическая обработка данных производилась с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2021. Достоверность различий между группами с уровнем значимости не менее 95% оценивали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента.

## **2.5 Определение показателей качества густых экстрактов**

### **2.5.1 Описание**

Исследования проводили в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС.1.4.1.0021 «Экстракты» [174]. Указывают консистенцию, цвет, запах (при наличии) экстракта.

### **2.5.2 Определение потери в массе при высушивании**

Определение потери в массе при высушивании в объектах исследования проводили в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС.1.4.1.0021 «Экстракты» [174], ОФС.1.2.1.0010 «Потеря в массе при высушивании» [175], ФЕАЭС 2.1.8.16 «Потеря в массе при высушивании экстрактов» [176].

### **2.5.3 Определение остаточных органических растворителей**

Испытание проводят для экстрактов, при производстве которых используют органические растворители в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС.1.4.1.0021 «Экстракты» [174], ОФС.1.1.0008 «Остаточные органические растворители» [177] ФЕАЭС 2.3.2.0 «Остаточные органические растворители».

[178] ФС.1.2.1.2.0004 «Газовая хроматография» [179] и ФЕАЭС 2.1.2.27. Газовая хроматография [180].

Пробоподготовка и методика анализа проведены в соответствии с требованиями нормативной документации, приведенной выше, и на основе опубликованных данных «Quantitative determination content for the Residual Organic Solvents in a combined drug based on Jacob's Ladder herbs, motherwort herbs and hawthorn fruit by GC- FID» [224].

#### **2.5.4 Изучение химического состава биологических активных веществ густых экстрактов**

##### **Качественное определение флавоноидов методом тонкослойной хроматографии**

Определение флавоноидов в густых экстрактах проводили в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС.1.2.1.2.0003 «Тонкослойная хроматография» [181]. Пробоподготовка и методика анализа разработаны на основе данных, опубликованных в монографиях: «Основы тонкослойной хроматографии» [182], «Использование ТСХ для идентификации биологически активных веществ в некоторых видах лекарственного сырья» [183], «Сорбционные и хроматографические процессы» [184], «Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии» [185].

##### **Качественное определение тритерпеновых сапонинов методом тонкослойной хроматографии**

Пробоподготовка и методика анализа выполнены на основе ГФ XIV ОФС.2.5.0039.15 «Синюхи голубой корневища с корнями» [186].

### 2.5.5 Определение содержания неомыляемой фракции в густых экстрактах

Пробоподготовка и методика анализа разработаны на основе данных «Установление подлинности растительных масел путем определения их стеринового состава методом ГХ-МС» [187].

#### Хроматографические условия

Хроматографические условия, представленные в таблице 2.4.

Таблица 2.4 – Хроматографические условия

Колонка:	Капиллярная колонка DB-5, длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина фазы 0,25 мкм
Газ-носитель	Гелий
Скорость потока	1,0 мл/мин
Деление потока:	1:10
Температура колонки:	Температура термостата колонки начальная 60°C в течение 3 мин, подъем температуры до 290 °C со скоростью 20 °C/мин выдержка в течение 20 мин
Температура инжектора:	290 °C
Детектор:	Масс-спектрометрия

## **2.5.6 Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в густых экстрактах**

Определение тяжелых металлов в густых экстрактах проводили в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС.1.5.3.0009 «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [188] и ФЕАЭС 2.1.4.8 «Тяжелые металлы» [189].

### **Метод атомно-абсорбционной спектрометрии**

Пробоподготовка и методика анализа взяты из статьи «комбинированная методика определения элементного состава лекарственного растительного сырья» [190].

## **2.5.7 Определение содержания макро и микроэлементов в густых экстрактах**

Пробоподготовка и методика анализа разработаны на основе «Особенности экспресс-определения микроэлементов в лекарственных и неофициальных растениях» [191].

## **2.5.8 Идентификация полифенольных соединений и сапонинов в густых экстрактах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией**

Идентификация полифенольных и сапониновых соединений в объектах исследования проводили в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.2.0005 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» и ОФС.1.2.1.1.0008 «Масс-спектрометрия» [192,194] и ФЕАЭС 2.1.2.28. «Высокоэффективная жидкостная

хроматография» [195]. Пробоподготовка и методика анализа разработаны на основе данных «Химический состав и биологическая активность сухого экстракта «розматин» из травы змееголовника Молдавского» [223].

### Хроматографические условия

Хроматографические условия, представленные в таблице 2.5.

Таблица 2.5 – Хроматографические условия

Колонка	Brownlee SPP C18 2.1 мм×150 мм, 2.7 мкм или аналогичная		
Тип элюирования	Градиентное элюирование:		
	Время, мин	ПФ А, %	ПФ Б, %
	0	95	5
	5	95	5
	30	70	30
	40	30	70
	45	10	90
	47	95	5
	50	95	5
Скорость потока	0,25 мл/мин		
Температура колонки	(25±2)°С		
Детектор	квадрупольный масс-спектрометрический (МС/МС) и УФ- на длинах волн, 290,0 и 340,0 нм		
Объем вводимой пробы	10 мкл		
Время хроматографирования	50 мин		

### Условия МС и МС/МС детектирования

Условия МС и МС/МС детектирования, представленные в таблице 2.6.

Таблица 2.6 – Условия МС и МС/МС детектирования

Ионизация	(ESI+) и (ESI-);
Детектирование	регистрация полного ионного тока в диапазоне m/z 100-2000;
Температура источников ионов	400 °С;
Температура испарения	300 °С;
Газ-осушитель и газ-распылитель	азот;
Скорость газа-осушителя	2,0 л/мин;
Скорость газа-распылителя	10,0 л/мин;
Напряжение на капилляре	4,0 кВ;
Напряжение на детекторе	4,5 кВ;
Напряжение на конверсионном диноде	6,0 кВ;
Газ столкновений (CID gas)	аргон;
Давление газа столкновений (CID gas)	220 кПа.

#### 2.5.9 Определение содержания суммы флавоноидов в густых экстрактах спектрофотометрическим методом

За основу взяты методики анализа ГФ XIV ОФС.2.5.0034.15 «Пустырника трава» [197], и подробно изложены в приложении В «Нормативные документы по качеству».

Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» по параметрам:

специфичность, линейность, правильность, повторяемость, прецизионность [199].

### Результаты определения параметров валидации

Результаты определения параметров валидации, представленные в таблице 2.7.

Таблица 2.7 – Результаты определения параметров валидации

№	Параметр валидации	Методика определения
1	Специфичность	УФ- спектры раствора «плацебо», стандартного раствора и испытуемых растворов в диапазоне от 300 до 600 нм.
2	Линейность	Построение калибровочной кривой в диапазоне от 10 до 120 %, определение коэффициентов корреляции и Y-intercept.
3	Правильность	Определение открываемости с прибавлением точного количества стандартного образца рутина к плацебо при количественном определении (при 3-х различных концентрациях при 9 испытаниях) в диапазоне 10–120%.
4	Повторяемость (сходимость)	Количественное определение суммы флавоноидов в пробе ( $n \geq 6$ ).

### 2.5.10 Определение содержания суммы тритерпеновых сапонинов в густом экстракте синюхи голубой и в комбинированном густом экстракте спектрофтомметрическим методом

Методики анализа разработаны на основе методик ГФ XIV ОФС.2.5.0039.15 «Синюхи голубой корневища с корнями» [200], ход определения представлен в приложении В «Нормативные документы по качеству».

Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» по параметрам: специфичность, линейность, правильность, повторяемость, прецизионность, [199].

#### Результаты определения параметров валидации

Результаты определения параметров валидации, представленные в таблице 2.8.

Таблица 2.8 – Результаты определения параметров валидации

№	Параметр валидации	Методика определения
1	Специфичность	УФ- спектры раствора «плацебо», стандартного раствора и испытуемых растворов в диапазоне от 200 до 500 нм.
2	Линейность	Построение калибровочной кривой в диапазоне от 10 до 120 %, определение коэффициентов корреляции и Y-intercept.
3	Правильность	Определение открываемости с прибавлением точного количества стандартного образца β-эсцина к плацебо при количественном



Продолжение таблицы 2.8

№	Параметр валидации	Методика определения
		определении (при 3-х различных концентрациях при 9 испытаниях) в диапазоне 10–120%.
4	Повторяемость (сходимость)	Количественное определение суммы флавоноидов в пробе ( $n \geq 6$ ).

### 2.5.11 Определение реологических свойств комбинированного густого экстракта и капсульной массы

Испытания реологических свойств проводили с помощью ротационного вискозиметра «Реотест-2» с цилиндрическим устройством при температуре от 40 °С до 35 °С. Навеску образца от 10,0 до 20,0 ( $\pm 0,5$ ) г (в зависимости от цилиндра, используемого в определении) помещали в емкость внешнего неподвижного цилиндра, устанавливали необходимую температуру опыта, время термостатирования - 30 мин.

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС, 2.1.2.8. «Вязкость» [201,202] и ГФ XV ОФС. 1.2.1.0015 «Вязкость» [203].

### 2.5.12 Определение температуры плавления и температуры затвердевания комбинированного густого экстракта и капсульной массы

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС, 2.1.2.14. «Температура плавления - капиллярный метод» [204], 2.1.2.17. «Температура затвердевания» [205] и ГФ XV ОФС.1.2.1.0011 «Температура плавления» [206], ОФС.1.2.1.0012 «Температура затвердевания» [207].

### **2.5.13 Определение растворимости комбинированного густого экстракта**

Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС. 1.2.1.0005 «Растворимость» [208].

## **2.6 Стандартизация твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью «Седокомб»**

Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС. 1.4.1.0005 «Капсулы» [174], готовую ЛФ стандартизовали по следующим показателям: описание, однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата, однородность дозированных единиц, распадаемость, испытание на растворение для твердых дозированных лекарственных форм, микробиологическая чистота и количественное определение БАВ.

### **2.6.1 Описание**

Определяли визуально, как описано в ГФ XV ОФС. 1.4.1.005 «Капсулы» [174].

### **2.6.2 Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата**

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС, 2.1.9.5. «Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата» [209] и ГФ XV ОФС. 1.4.2.009 «Однородность массы дозированных лекарственных форм» [210].

### 2.6.3 Однородность дозированных единиц

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.9.14. «Однородность дозированных единиц» [211] и ГФ XV ОФС. 1.4.2.008 «Однородность дозирования» [212] по способу 2 – точным определением массы нетто отобранной для испытания единицы препарата.

### 2.6.4 Распадаемость капсул «Седокомб»

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.9.1. «Распадаемость таблеток и капсул» [213] и ГФ XV ОФС 1.4.2.0013 «Распадаемость таблеток и капсул» [214] на приборе Sotax «DT2», методика изложена в приложении Г «Нормативные документы по качеству».

### 2.6.5 Испытание на растворение для твердых дозированных лекарственных форм

Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС. 1.4.2.0014 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» [215] или ФЕАЭС 2.1.9.3. «Испытание на растворение для твердых дозированных лекарственных форм» [216] на приборе DISTEK «EVOLUTION 6100». Пробоподготовка и методика описаны в приложении Г «Нормативные документы по качеству». Методика - условия тестирования, представленные в таблице 2.9.

Таблица 2.9 – Условия тестирования

Аппарат:	лопастная мешалка;
Скорость вращения:	50 об/мин;
Среды растворения:	вода очищенная и 3 среды растворения

Продолжение таблицы 2.9

	(среды со значениями рН 1,2; 4,5 и 6,8). «Буферные растворы» - Буферный раствор рН 1,2 – это 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты с доведённым значением рН=1,2; - Ацетатный буферный раствор рН 4,5; - Фосфатный буферный раствор рН 6,8;
Объем среды растворения:	900 мл;
Температура среды:	(37 ± 0,5) °С;
Время точек отбора проб:	10, 15, 20, 30, 45 и 60 минут

### 2.6.6 Микробиологическая чистота капсул «Седокомб»

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.3.1.2. «Требования к микробиологической чистоте лекарственных препаратов, фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ для их производства»; ФЕАЭС 2.1.6.6 «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество жизнеспособных аэробных микроорганизмов [217]; ФЕАЭС 2.1.6.7. «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств на наличие отдельных видов микроорганизмов» [218] и ГФ XV ОФС. 1.2.4.0002 «Микробиологическая чистота» [219].

### 2.6.7 Количественное определение биологических активных веществ в капсулах «Седокомб»

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия, а ультрафиолетовой и видимой областях»

[220] и ГФ XV ОФС 1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» [221].

### **Количественное определение суммы флавоноидов в капсулах «Седокомб» спектрофотометрическим методом**

Пробоподготовка и методика изложены в приложении Г «Нормативные документы по качеству».

### **Количественное определение суммы сапонинов в капсулах «Седокомб» спектрофотометрическим методом**

Пробоподготовка и методика изложены в приложении Г «Нормативные документы по качеству».

## **2.7 Сроки годности**

На основании экспериментального изучения стабильности лекарственного препарата «Седокомб» в соответствии с рекомендациями НД и в соответствии с ГФ XV издания был установлен срок годности лекарственного препарата «Седокомб» [222,223]. Стабильность лекарственного препарата «Седокомб» изучали систематически и периодически контролируя показатели качества.

## ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ГУСТЫХ ЭКСТРАКТОВ ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА, ТРАВЫ ПУСТЫРНИКА, ТРАВЫ СИНЮХИ ГОЛУБОЙ И КОМБИНИРОВАННОГО ЭКСТРАКТА

### 3.1 Изучение химического состава густых экстрактов

#### 3.1.1 Изучение элементного состава густых экстрактов

Состав макро и микроэлементов, входящих в фитопрепараты, вносит вклад в общее фармакологическое действие [120,240]. в связи с чем, целесообразно было определение элементного состава полученных густых экстрактов для оценки возможности их дальнейшего использования. В результате проведенного анализа было установлено, что в плодах боярышника, в траве пустырника и в траве синюхи голубой содержатся эссенциальные элементы: Fe, Ca, K, Mg, Mn, Al, Ba, Cu, Ni, Sr, Zn.

Таблица 3.1– Содержание макро и микроэлементов густых экстрактов методом (АЭС - ИСП)

Название объекта	Элемент (PPM)										
	Fe	Ca	K	Mg	Mn	Al	Ba	Cu	Ni	Sr	Zn
ГЭ травы синюхи голубой	59,72	2085,24	25881,60	988,89	7,10	13,14	6,56	5,38	3,06	7,85	37,59
ГЭ травы пустырника	31,03	1544,06	31008,23	1146,73	5,68	10,05	5,50	11,25	1,63	6,57	28,85
ГЭ плодов боярышника	29,12	1685,75	4344,36	538,20	6,41	12,56	6,65	6,87	0,63	7,57	45,41
КГЭ	39,64	1766,11	20188,86	890,65	6,42	12,56	6,25	7,86	1,87	7,30	37,39

Таким образом, в результате проведенного исследования были обнаружены в образцах густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника, травы синюхи голубой макро и микроэлементы, являющиеся жизненно важными элементами (Ca,

K, Mg), остальные элементы (Al, Ba, Cu, Ni, Sr, Zn) было незначительное количество. Наибольшее содержание макро- и микроэлементов наблюдается в траве синюхи голубой. Состав минеральных компонентов исследуемых густых экстрактов вносит вклад в терапевтическую активность суммарного густого экстракта и позволяет использовать данные субстанции в дальнейшем для их комплексного применения с целью создания лекарственных средств, обогащая их фармакологическое действие [224].

### **3.1.2 Определение неомыляемой фракции в густых экстрактах методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией**

Для соединений неомыляемой фракции использовали стандартные образцы индивидуальных соединений и масс-спектральную базу данных NIST'14. В случае отсутствия в используемой базе данных масс-спектров обнаруженных компонентов установление структуры проводилось на основе характеристичных процессов фрагментации и данных о хроматографических свойствах изучаемых соединений. При определении количественного содержания токоферолов, стеринов и тритерпеновых спиртов в пересчете на внутренний стандарт их коэффициенты ионизации приравнивались [225, 228].

Состав неомыляемой фракции представлен токоферолами, стеринами и жирными спиртами. Общее содержание токоферолов - 4,6 мг/100,0 г в плодах боярышника, 4 мг/100,0 г в траве пустырника и 8,6 мг/100,0 г в траве синюхи голубой, причем большее относительное содержание из них показали формы  $\delta$ -токоферола в плодах боярышника и формы  $\alpha$ -токоферола в траве пустырника и траве синюхи голубой. Общее содержание стеринов в пересчете на внутренний стандарт составило 155,7 мг/100,0 г в плодах боярышника, 592,7 мг/100,0 г в траве пустырника и 95,9 мг/100,0 г в траве синюхи голубой; из них большее относительное содержание показал  $\beta$ -ситостерин в плодах боярышника и траве

пустырника, его содержание составило 83,8 мг/100,0 г и 303,9 мг/100,0 г соответственно.  $\Delta$ 7-Стигмастерин не был обнаружен в траве пустырника и в плодах боярышника, в то же время данное вещество является главным компонентом фракции в траве синюхи голубой, его содержание составило 47,4 мг/100,0 г.

Таблица 3.2 – Токоферолы и стерины, входящие в состав густых экстрактов

№	Название	Относит. Время удерживания	Содержание компонента. мг/100г		
			ГЭ плодов боярышника	ГЭ травы пустырника	ГЭ травы синюхи голубой
1	$\delta$ -Токоферол	0,88	3,6	1,1	0,1
2	$\beta$ -Токоферол + $\gamma$ - Токоферол	0,92	0,5	0,5	0,7
3	$\alpha$ -Токоферол	0,99	0,5	2,4	7,8
4	Холестанол (ВС)	1,00			
5	Кампестерин	1,06	Н/О	64,3	0,9
6	Кампестанол	1,06	Н/О	1,7	Н/О
7	Стигмастерин	1,07	Н/О	123,4	Н/О
8	Неидентифицированный компонент, ММ = 414 Да	1,08	Н/О	2,2	Н/О
9	Неидентифицированный компонент, ММ = 400 Да	1,08	Н/О	Н/О	1,5
10	$\Delta$ 7-Кампестерин	1,10	Н/О	Н/О	2,6
11	Клеростерин	1,11	Н/О	2,8	Н/О
12	$\beta$ -Ситостерин	1,12	83,8	303,9	Н/О
13	$\Delta$ 7-Стигмастерин	1,12	Н/О	Н/О	47,4



Продолжение таблицы 3.2

№	Название	Относит. Время удерживания	Содержание компонента. мг/100г		
			ГЭ плодов боярышника	ГЭ травы пустырника	ГЭ травы синюхи голубой
14	$\Delta 5$ –Авен астерин	1,13	Н/О	14,1	Н/О
15	$\beta$ –Амирин	1,14	Н/О	8,5	7,1
16	Неидентифицированный компонент, ММ = 426 Да	1,14	Н/О	Н/О	1,3
17	Грамистерин	1,15	Н/О	1,9	Н/О
18	Обтусифолиол	1,17	Н/О	5,7	Н/О
19	$\alpha$ –Амирин + $\Delta 7$ – Ситостерин	1,17	0,7	14,2	0,6
20	Циклоартебол	1,17	9,1	5,7	Н/О
21	$\Delta 7$ –Авенастерин	1,18	Н/О	5,5	1,8
22	24–Метиленициклоартанол	1,23	2,6	13,8	Н/О
23	Неидентифицированный компонент, ММ = 426 Да	1,25	0,0	1,7	Н/О
24	Эритродниол	1,26	2,5	4,0	Н/О
25	Цитростадиенол	1,27	Н/О	4,2	Н/О
26	Уваол	1,30	20,1	7,2	Н/О
27	Неидентифицированный компонент, ММ = 424 Да	1,33	12,0	Н/О	Н/О
*	Неидентифицированный компонент, ММ = 386 Да	1,03	Н/О	Н/О	2,5
*	Неидентифицированный компонент, ММ = 410 Да	1,04	Н/О	2,8	Н/О
*	Неидентифицированный компонент, ММ = 400 Да	1,05	2,9	Н/О	Н/О
*	Неидентифицированный компонент, ММ = 412 Да	1,07	Н/О	Н/О	21,5
*	Неидентифицированный компонент, ММ = 410 Да	1,08	2,7	Н/О	Н/О

Продолжение таблицы 3.2

№	Название	Относит. Время удерживания	Содержание компонента. мг/100г		
			ГЭ плодов боярышника	ГЭ травы пустырника	ГЭ травы синюхи голубой
*	Неидентифицированный компонент, ММ = 410 Да	1,10	2,2	Н/О	Н/О
*	Неидентифицированный компонент, ММ = 410 Да	1,13	7,8	Н/О	Н/О
*	Неидентифицированный компонент, ММ = 410 Да	1,15	4,7	Н/О	Н/О
Всего стеринов и тритерпеновых спиртов			155,7	592,7	95,9

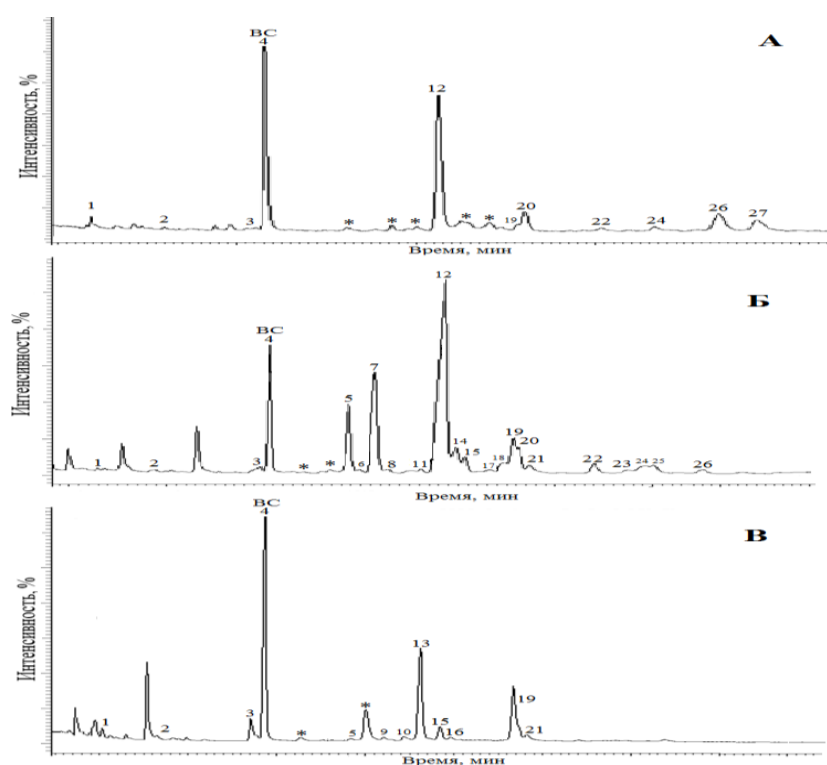


Рисунок 3.1 – Хроматограммы по полному ионному току неомыляемой фракции ГЭ плодов боярышника (А), травы пустырника (В) и травы синюхи голубой (С), область элюирования токо феролов и стеринов (нумерация пиков соответствует нумерации веществ в таблице 3.2)

Таким образом, полученные результаты расширяют информацию о компонентном составе токоферолов и стеринов в исследуемых густых экстрактах. Содержание витамина Е в каждом из трех густых экстрактов способствует тому, что КГЭ содержит значительный процент витамина Е, приносящий вклад в общую фармакологическую активность, и который играет важную роль в защите флавоноидов и сапонинов от окисления.

Содержание стеринов в КГЭ обогащает состав биологически активных веществ и вносит свой вклад в суммарное фармакологическое действие.

### **3.1.3 Идентификация полифенольных и терпеноидных соединений в густых экстрактах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией**

Идентификацию соединений на хроматограммах густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника и травы синюхи голубой осуществляли путем сравнения значений времен удерживания и масс-спектров исследуемых веществ с аналогичными, найденными в опубликованных научных работах, посвященных исследованию подобным образцам методом ВЭЖХ–МС [229].

Анализ густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника и травы синюхи голубой методом ВЭЖХ–МС позволил определить в составе данных субстанций 8, 12, и 12 полифенольных соединений соответственно, проявляющихся на хроматограмме при УФ–детекции, при длине волны 340 нм (Рисунок 3.2). Проведена их ориентировочная идентификация по литературным данным [230, 231]. Полученные данные сведены в таблицу 3.2 (нумерация соединений в таблице соответствует последовательности выхода соединений на хроматограмме).

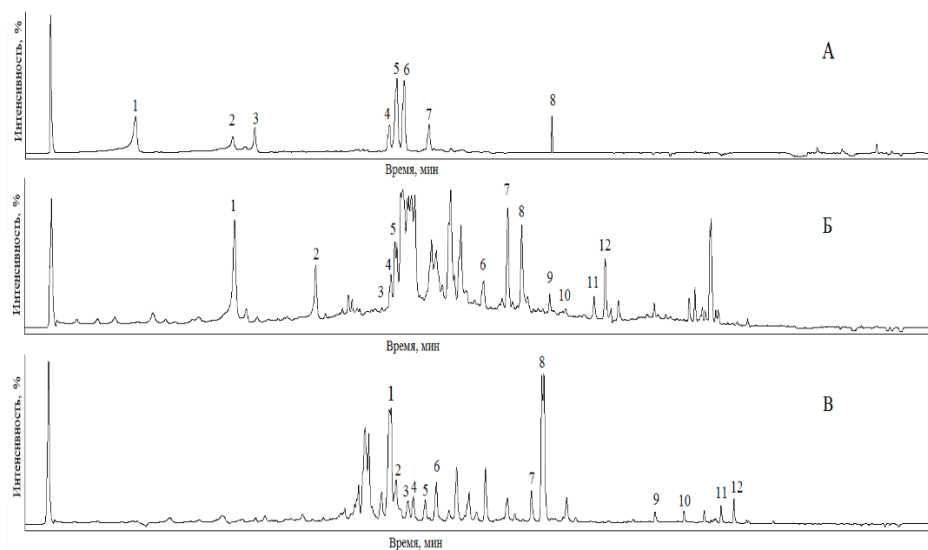


Рисунок 3.2 – Типичные хроматограммы при УФ–детекции (длина волны 340 нм) густых экстрактов: (А) плодов боярышника, травы пустырника (В) и травы синюхи голубой (С)

Таблица 3.3 – Компонентный состав густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника и травы синюхи голубой, установленный методом ВЭЖХ-МС

№	Соединение	Время выхода, мин	Структурная формула	m/z, регистрация положительных ионов	m/z, регистрация отрицательных ионов	Молярная масса, г/моль
<b>ГЭ плодов боярышника</b>						
1	Неохлорогеновая кислота (5–О–кофейноилхиновая кислота)	5,97	$C_{16}H_{18}O_9$	163, 355, 377, 731	191, 353, 729	354
2	Хлорогеновая кислота (3–О–кофейноилхиновая кислота)	11,36	$C_{16}H_{18}O_9$	163, 355, 377, 731	191, 353, 589, 707	354
3	Идеин (Цианидин 3–О–галактозид)	12,50	$C_{21}H_{20}O_{11}$	287, 409, 449, 471	169, 447	448

Продолжение таблицы 3.3

№	Соединение	Время выхода, мин	Структурная формула	m/z, регистрация положительных ионов	m/z, регистрация отрицательных ионов	Молярная масса, г/моль
4	Рутин (кверцетин-3-O-рамнозилглюкозид)	19,89	$C_{27}H_{30}O_{16}$	303, 611, 633, 1243	301, 609, 1219	610
	Гиперозид (кверцетин-3-O-галактозид)		$C_{21}H_{20}O_{12}$	249, 303, 465	301, 463	464
5	Кверцетин-3-O-робинобиозид	20,40	$C_{27}H_{30}O_{16}$	303, 611, 633	301, 609	611
6	Изокверцетин (Кверцетин-3-O-глюкозид)	20,83	$C_{21}H_{20}O_{12}$	303, 465, 487, 951	301, 463	464
7	Неидентифицированное соединение (производное кверцетина)	22,37	–	303, 405, 551, 771, 1139	169, 301	–
8	Кверцетин	28,81	$C_{15}H_{10}O_7$	167, 303	169, 301	302
<b>ГЭ травы пустырника</b>						
1	Хлорогеновая кислота (3-O-кофейноилхиновая кислота)	11,42	$C_{16}H_{18}O_9$	163, 355, 377, 731	191, 353, 589, 707	354
2	Неидентифицированное соединение	15,60	–	319, 447, 514, 755	225, 473, 613, 753	–
3	Лавандулифолиозид	18,70	$C_{34}H_{44}O_{19}$	466, 628, 756	–	755
4	Рутин (кверцетин-3-O-рамнозилглюкозид)	19,89	$C_{27}H_{30}O_{16}$	303, 611, 633, 1243	301, 609, 1219	610
	Гиперозид (кверцетин-3-O-галактозид)		$C_{21}H_{20}O_{12}$	249, 303, 465	301, 463	464
5	Вербаскозид	21,09	$C_{29}H_{36}O_{15}$	163, 325, 471, 642	169, 441, 624, 837, 1249	625
6	Гарпагид	26,02	$C_{15}H_{24}O_{10}$	365	–	364

Продолжение таблицы 3.3

№	Соединение	Время выхода, мин	Структурная формула	m/z, регистрация положительных ионов	m/z, регистрация отрицательных ионов	Молярная масса, г/моль
7	Аджуголь	26,30	$C_{15}H_{24}O_9$	349	–	348
8	Галиридозид	27,20	$C_{15}H_{22}O_9$	347	–	346
9	Ацетат Гарпагида	28,84	$C_{17}H_{26}O_{11}$	407	–	406
10	Аджугозид	30,81	$C_{17}H_{26}O_{10}$	391	–	390
11	Ройфолин (Апигенин 7-О-неогесперидозид)	31,64	$C_{27}H_{30}O_{14}$	271, 454, 579	269, 495, 577, 1155	578
12	Апигенин 7-О-рутинозид	32,38	$C_{27}H_{30}O_{14}$	271, 454, 579	269, 495, 577, 1155	578
<b>ГЭ травы синюхи голубой</b>						
1	Рутин (кверцетин-3-О-рамнозилглюкозид)	19,89	$C_{27}H_{30}O_{16}$	303, 611, 633, 1243	301, 609, 1219	610
	Гиперозид (кверцетин-3-О-галактозид)		$C_{21}H_{20}O_{12}$	249, 303, 465	301, 463	464
	Изокарлинозид (лютеолин 6-С-арабинозид 8-С-глюкозид)		$C_{26}H_{28}O_{15}$	287, 449, 581, 1183	285, 579, 1159	580
2	лютеолин 6-С-(2"-О-бета-D-глюкозил-альфа-L-арабинозид)	20,87	–	287, 449, 581, 603	285, 579	580
3	Лютеолин-5-О-бета-рутинозид	21,16	$C_{27}H_{30}O_{15}$	287, 449, 595, 617	285, 593	594
4	Неидентифицированное соединение (производный Лютеолин)	21,78	–	287, 471, 707	285, 717	–
5	Апигенин 7-О-(6"-О-р-з-кумароил-бета-D-глюкопиранозид)	22,40	–	271, 395, 579, 707	269, 465, 577, 1155	578

Продолжение таблицы 3.3

№	Соединение	Время выхода, мин	Структурная формула	m/z, регистрация положительных ионов	m/z, регистрация отрицательных ионов	Молярная масса, г/моль
6	Диосметин 7-неогесперидозид	23,53	$C_{28}H_{32}O_{15}$	301, 463, 609, 707	299, 607	608
7	Акацетин-О-рамнозилглюкозид – ацетилSoph-глюкозидс	27,68	–	285, 447, 959	168, 254, 957	958
8	Акацетин-8-С-неогесперидозид	28,35	$C_{28}H_{32}O_{14}$	285, 447, 593, 1207	283, 591, 637, 805	592
9	Полемониумсапонин 2/3 изомер	34,56	–	433, 468, 805, 1099	536, 991, 1097, 1312	1098
10	Полемониумсапонин 1 изомер	36,17	–	511, 523, 631, 705, 939, 1101	547, 611, 1033, 1099	1100
11	Полемониумсапонин 2/3 изомер	37,07	–	433, 468, 805, 1099	536, 991, 1097, 1312	1098
12	Полемониумсапонин 1 изомер	37,93	–	511, 523, 631, 705, 939, 1101	547, 611, 1033, 1099	1100

Таким образом, полученные результаты подтвердили данные литературы по содержанию в химическом составе исследуемых густых экстрактов полифенольных соединений и тритерпеновых сапонинов: в густом экстракте травы пустыrnика найдены оксикоричные кислоты, флавоноиды (преимущественно флавонолгликозиды), иридоиды (гарпагид, вербаскозид и др.); в густом экстракте плодов боярышника обнаружены оксикоричные кислоты, флавоноиды (преимущественно флавонолгликозиды); в густом экстракте травы синюхи голубой подтверждено содержание флавоноидов (флавонол гликозидов и флавоногликозидов), а также тритерпеновых сапонинов.

Таким образом, в полученных густых экстрактах максимально переходят биологически активные вещества из сырья, обуславливающие их фармакологическую активность.

### **3.2 Стандартизация густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника, травы синюхи голубой и комбинированного густого экстракта**

Выбранные густые экстракты для получения в дальнейшем комбинированного лекарственного средства было необходимо стандартизировать, разработать для них проекты нормативной документации согласно требованиями ГФ XV и ФЕАЭС для фармацевтических субстанций растительного происхождения.

#### **3.2.1 Описание**

В таблице 3.4 представлено описание густых экстрактов.

Таблица 3.4 – Описание густых экстрактов

<b>Наименование экстракта</b>	<b>Описание</b>
ГЭ травы синюхи голубой	Густая масса темно-коричневого цвета, с характерным запахом.
ГЭ травы пустырника	Густая масса темно-зеленовато-коричневого цвета, с характерным запахом
ГЭ плодов боярышника	Густая масса красновато-коричневого цвета, с характерным запахом.
КГЭ	Густая масса темно-коричневого цвета, с характерным запахом



### 3.2.2 Идентификация

Определение подлинности проводили качественными реакциями на основные действующие вещества густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника, травы синюхи голубой и КГЭ, а также методом ТСХ. Результаты представлены ниже.

#### Качественный анализ флавоноидов в густых экстрактах (качественные реакции)

Качественный анализ флавоноидов в густых экстрактах, представленные в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Качественный анализ флавоноидов

	Цианидиновая проба	Реакция с алюминия хлоридом	Реакция с раствором аммиака
Стандартный образец (рутин)	Розовое окрашивание	Зеленое окрашивание	Желтое окрашивание
ГЭ травы синюхи голубой			
ГЭ травы пустырника			
ГЭ плодов боярышника			
КГЭ			

#### Качественный анализ флавоноидов в густых экстрактах методом тонкослойной хроматографии

Результаты хроматографического анализа флавоноидов густых экстрактов представлены на рисунке 3.3 и в таблице 3.6.

#### Для ГЭ травы синюхи голубой и КГЭ

На хроматограмме испытуемых растворов обнаруживаются следующие зоны адсорбции: зона желтого цвета на уровне зоны СО рутина ( $R_f = 0,64 \pm 0,02$ ), зона

светло-зеленого выше уровня зоны СО рутина ( $R_f = 0,85 \pm 0,02$ ) и зона светло-синего ниже уровня зоны СО рутина ( $R_f = 0,31 \pm 0,02$ ).

### Для ГЭ плодов боярышника и КГЭ

На хроматограмме испытуемых растворов обнаруживаются следующие зоны адсорбции: зона желтого на уровне зоны СО гиперозида ( $R_f = 0,58 \pm 0,02$ ), зона синего выше уровня зоны СО гиперозида ( $R_f = 0,79 \pm 0,02$ ) и зона желтозеленого ниже уровня зоны СО гиперозида ( $R_f = 0,37 \pm 0,02$ ).

### Для ГЭ травы пустырника и КГЭ

На хроматограмме испытуемых растворов обнаруживаются следующие зоны адсорбции: зона желтого на уровне зоны СО рутина ( $R_f = 0,64 \pm 0,02$ ), зона желтозеленого выше уровня зоны СО рутина ( $R_f = 0,80 \pm 0,02$ ) и зона светло-коричневого ниже уровня зоны СО рутина ( $R_f = 0,41 \pm 0,02$ ).

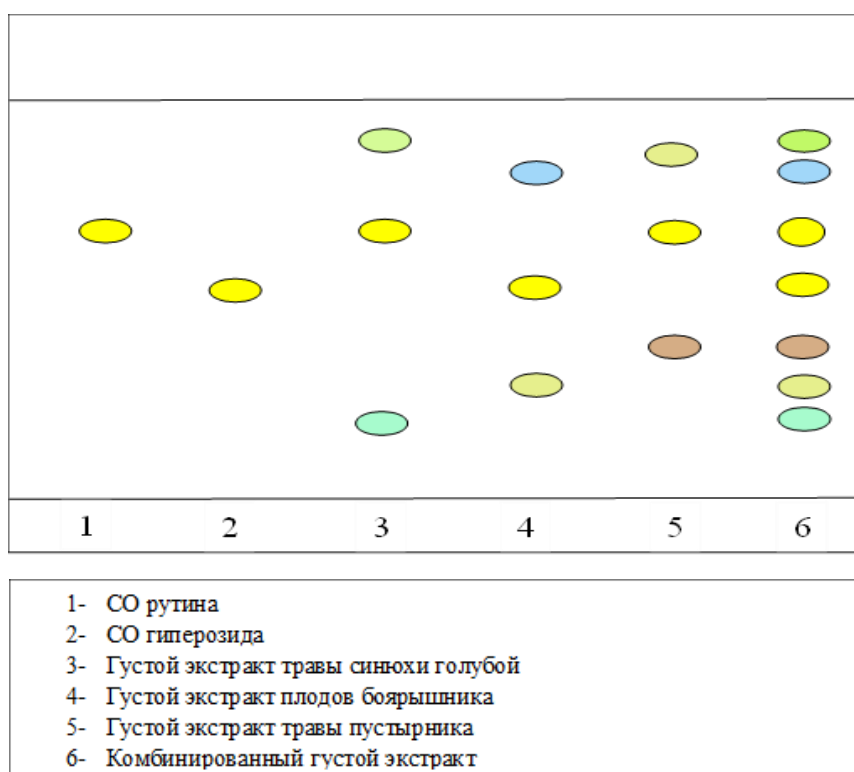


Рисунок 3.3 – Схема хроматограммы определения флавоноидов

Таблица 3.6 – Результаты хроматографического анализа флавоноидов в густых экстрактах

№	Название	Rf	Цвет пятна в ультрафиолетовом свете	Идентификация пятна
1	СО Рутина	0,64	Желтое окрашивание	
2	СО гиперозида	0,58	Желтое окрашивание	
3	ГЭ травы синюхи голубой	0,31	Светло- синее окрашивание	
		0,64	Желтое окрашивание	Рутин
		0,85	Светло-зеленое окрашивание	
4	ГЭ плодов боярышника	0,37	Желтозеленое окрашивание	
		0,58	Желтое окрашивание	Гиперозид
		0,79	Синее окрашивание	
5	ГЭ травы пустырника	0,41	Светло-коричневое окрашивание	
		0,64	Желтое окрашивание	Рутин
		0,80	Желтозеленое окрашивание	
6	КГЭ	0,31	Светло-синее окрашивание	
		0,38	Желтозеленое окрашивание	
		0,41	Светло-коричневое окрашивание	
		0,58	Желтое окрашивание	Гиперозид
		0,64	Желтое окрашивание	Рутин
		0,78	Синее окрашивание	
		0,85	Светло-зеленое окрашивание	

### Качественный анализ флавоноидов в густых экстрактах спектрофотометрическим методом

Согласно литературным данным максимум поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом установлен при длине волны  $411 \pm 5$  нм [197]. В наших исследованиях получены УФ-спектры комплексов флавоноидов испытуемых

извлечений с алюминия хлоридом при длине волны  $411 \pm 5$  нм (раздел «Количественное определение»). Результаты представлены на рисунке 3.4.

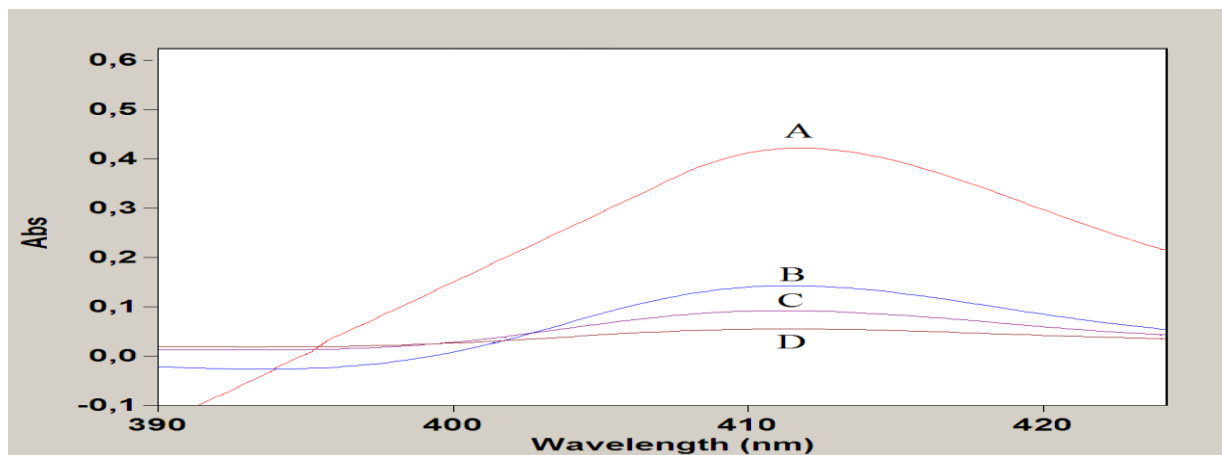


Рисунок 3.4 – Типичные спектры (А) комплекса рутина стандартного раствора Б с  $AlCl_3$ , (В) комплекса флавоноидов испытуемого раствора Б КГЭ с  $AlCl_3$ , (С) комплекса флавоноидов испытуемого раствора Б ГЭ травы синюхи голубой с  $AlCl_3$ , (D) комплекса флавоноидов испытуемого раствора Б ГЭ травы пустырника с  $AlCl_3$

### Качественный анализ сапонинов в густых экстрактах (реакция пенообразования)

Водный раствор ГЭ травы синюхи голубой и КГЭ при встряхивании образует обильную и стойкую пену (сапонины).

### Качественный анализ сапонинов в густых экстрактах методом тонкослойной хроматографии

В ходе хроматографирования в условиях, описанных в главе 2, на хроматограмме были обнаружены 3 зоны адсорбции коричневого цвета ( $R_f = 0,84, 0,75, 0,61 \pm 0,02$ ) и над ними 3 зоны адсорбции розово-фиолетового цвета ( $R_f = 0,55, 0,47, 0,31 \pm 0,02$ ). Причём после обработки  $H_2SO_4$  кон. окраска зон адсорбции становилась красноватой. Результаты представлены на рисунке 3.5 и в таблице 3.7.

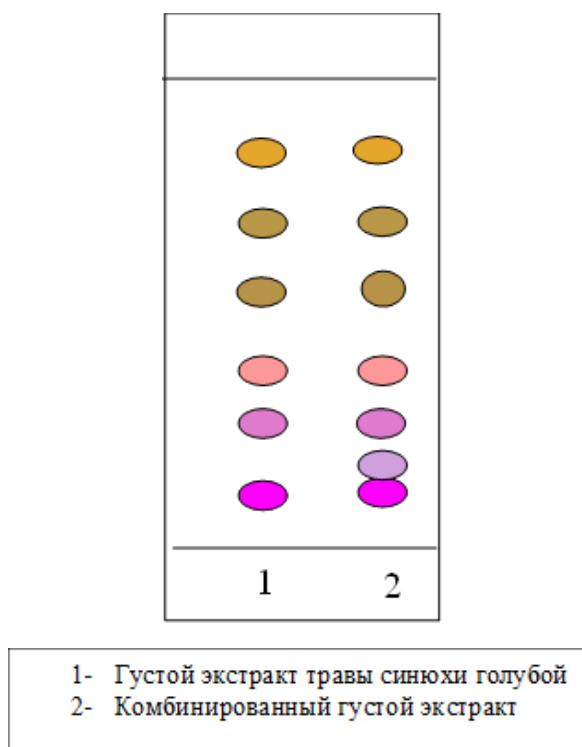


Рисунок 3.5 – Схема хроматограммы определения сапонинов

Таблица 3.7 – Результаты хроматографического анализа сапонинов в густых экстрактах

Название	Rf	Цвет пятна в ультрафиолетовом свете
ГЭ синюхи голубой	0,31	Розово-фиолетовое окрашивание
	0,47	
	0,55	
	0,61	Коричневое окрашивание
	0,75	
	0,84	
КГЭ	0,31	Розово-фиолетовое окрашивание
	0,34	
	0,47	
	0,55	
	0,61	Коричневое окрашивание
	0,75	
	0,84	

Таким образом, в составе густых экстрактов травы синюхи голубой, травы пустырника, плодов боярышника и в КГЭ были обнаружены следующие зоны адсорбции: 3 зоны адсорбции коричневого цвета ( $R_f = 0,84, 0,75, 0,61 \pm 0,02$ ) и над ними 4 зоны адсорбции розово-фиолетового цвета ( $R_f = 0,55, 0,47, 0,34, 0,31 \pm 0,02$ ). ГЭ травы синюхи голубой и КГЭ, помимо этого, содержат тритерпеновые сапонины, что подтверждает данные литературы.

### Качественный анализ сапонинов в густых экстрактах спектрофотометрическим методом

УФ-спектры испытуемых растворов в области от 200 до 400 нм имеют максимум поглощения при длине волны ( $284 \pm 2$ ) нм (раздел «Количественное определение»). Результаты представлены на рисунке 3.6.

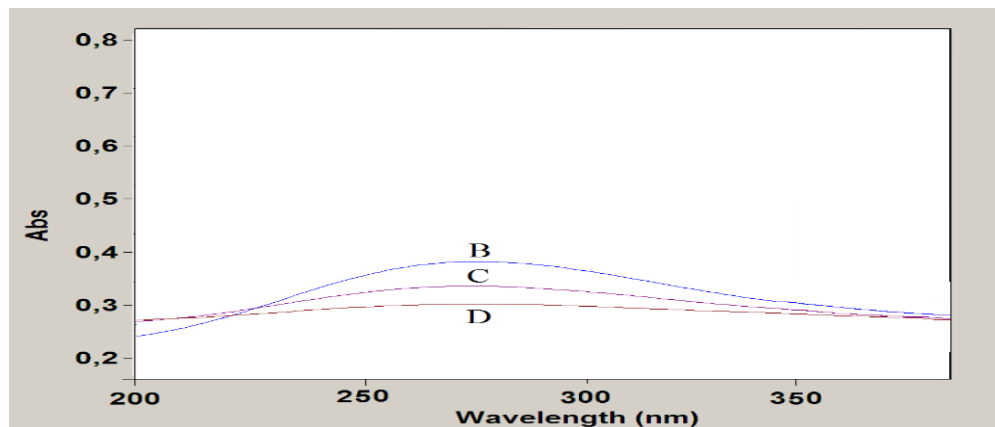


Рисунок 3.6 – Типичные спектры (B) стандартного раствора Б стандартного образца  $\beta$ -эсцина, (C) испытуемого раствора Б КГЭ, (D) испытуемого раствора Б ГЭ травы синюхи голубой

### 3.2.3 Потеря в массе при высушивании

Подпонятием «Потеря в массе при высушивании» подразумевают потерю в массе за счет гигроскопической влаги и летучих веществ, которую определяют в

веществе при высушивании до постоянной массы. Результаты представлены в таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Результаты определения потери в массе при высушивании густых экстрактов

Наименование образца	Статистические данные					
	X, %	$\bar{X}$ %	S <sup>2</sup>	S	$\Delta\bar{X}$	E, %
ГЭ травы синюхи голубой	21,94	21,60	0,01	0,03	0,04	0,01
	21,60					
	21,26					
ГЭ травы пустырника	19,20	19,03	0,32	0,56	0,64	0,10
	19,50					
	18,40					
ГЭ плодов боярышника	15,70	15,81	0,01	0,10	0,25	0,64
	15,83					
	15,90					
КГЭ	18,92	18,94	0,02	0,04	0,04	0,02
	18,46					
	19,45					

Таким образом, потеря в массе при высушивании находится в допустимых пределах, нормируемых для густых экстрактов.

### 3.2.4 Изучение остаточных органических растворителей

Остаточные органические растворители — летучие растворители, которые используются или образуются на любой стадии производства фармацевтических субстанций. Предельно допустимое содержание органических растворителей в лекарственных средствах определяется степенью их возможного риска для здоровья человека. Эти факторы положены в основу классификации органических растворителей.

Этанол относится к третьему классу — растворители низкой токсичности, содержание которых до 0,5 % [232, 233]. Результаты, представленные в таблице 3.9.

Таблица 3.9 – Результаты изучения остаточных органических растворителей в густых экстрактах

Время уд., мин	Вещество	Площадь	Асимметрия	PPM
Стандартный раствор				
7,088	Этанол	198,3	1,05	5000
ГЭ травы синюхи голубой				
7,090	Этанол	11,9	1,04	300 ± 19
ГЭ травы пустырника				
7,088	Этанол	15,24	1,05	385 ± 22
ГЭ плодов боярышника				
7,089	Этанол	47,55	1,04	1200 ± 34
КГЭ				
7,090	Этанол	25,4	1,03	650 ± 50
<i>*Примечание: даны средние значения трех определений.</i>				



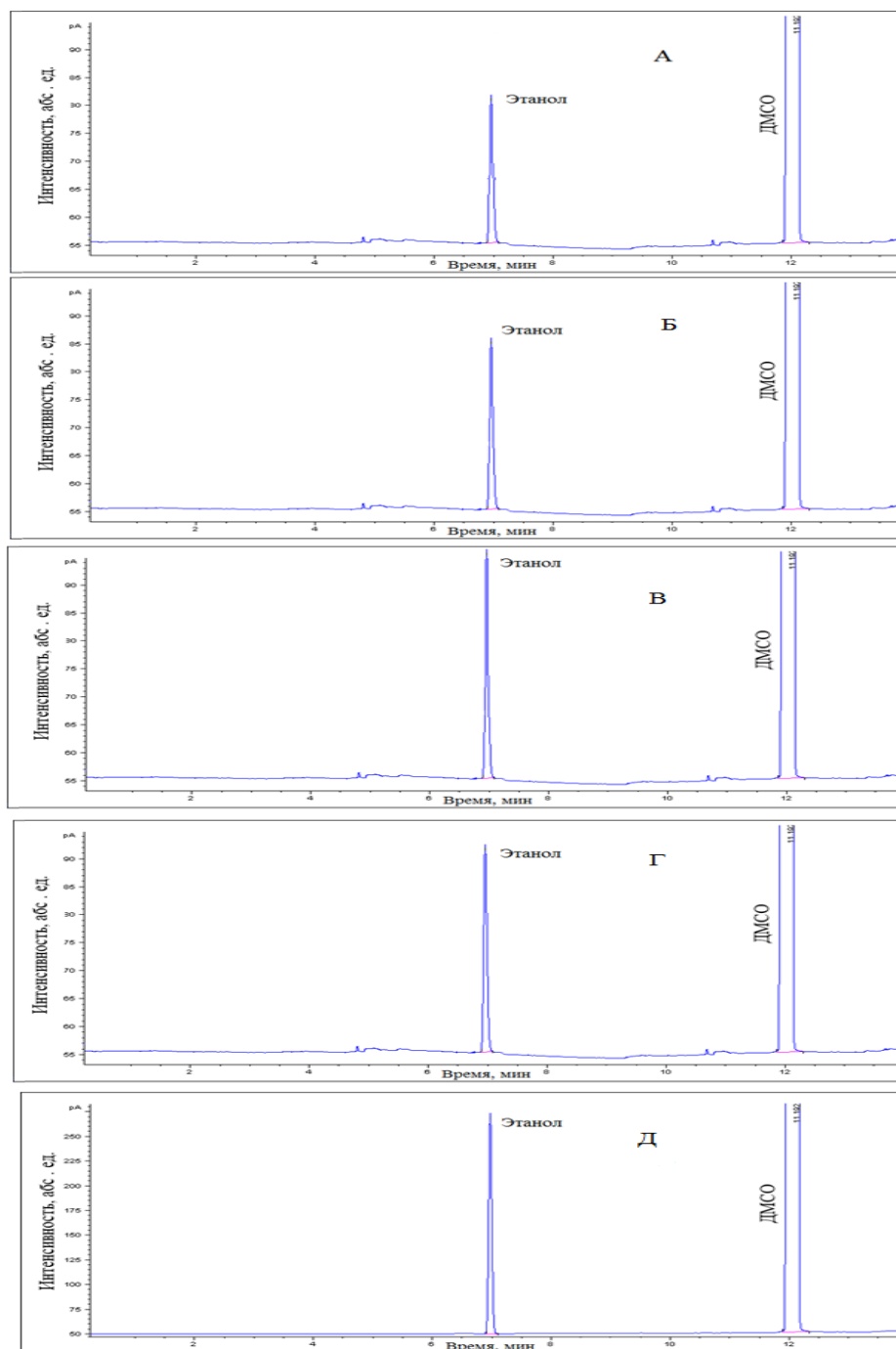


Рисунок 3.7 – Типичные хроматограммы густых экстрактов травы синюхи голубой (А), травы пустырника (Б), плодов боярышника (В), КГЭ (Г) и стандартного раствора (Д)

Таким образом, в результате исследования в соответствии с требованиями ГФ XV, ОФС.1.1.0008 «Остаточные органические растворители» и ОФС.1.2.1.2.0004 «Газовая хроматография», были обнаружены остаточные органические

растворители (этанол) в образцах густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника, травы синюхи голубой и КГЭ, которые находятся в пределах нормы.

### 3.2.5 Изучение тяжелых металлов и мышьяка

В таблице 3.10 представлена информация о тяжелых металлах и мышьяке для густых экстрактов.

Таблица 3.10 – Содержание Cd, Pb, As, Hg в густых экстрактах

Наименование образца	Cd (PPM)	Pb (PPM)	As (PPM)	Hg (PPM)
ГЭ травы синюхи голубой	0,029	0,294	0,448	0,520
ГЭ травы пустырника	0,028	0,570	0,350	0,523
ГЭ плодов боярышника	0,016	0,262	0,432	0,439
КГЭ	0,024	0,381	0,411	0,488

Таким образом, в результате проведенного анализа было установлено, что в образцах густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника, травы синюхи голубой содержание тяжелых металлов соответствует требованиям ГФ XV ОФС.1.2.2.2.0012 и ФЕАЭС 2.1.4.8.

### 3.2.6 Определение микробиологической чистоты

Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ XV, ОФС 1.2.4.0002 «Микробиологическая чистота» и чашечный агаровый метод ФЕАЭС, 2.1.6.6, 2.1.6.7, 2.3.1.2. категории 3.2. Результаты исследования представлены в таблице 3.11.

Таблица 3.11 – Результаты изучения микробиологической чистоты

<b>Наименование Микроорганизмов</b>	<b>Нормы</b>	<b>Результаты</b>
Общее число аэробных микроорганизмов	Не более $10^4$ КОЕ	Менее $10^3$ КОЕ
Общее число дрожжевых и плесневых грибов	Не более $10^2$ КОЕ	Менее $10^2$ КОЕ
Энтеробактерий, устойчивых к желчи	Не более $10^2$ КОЕ	Менее $10^2$ КОЕ
<i>Escherichia coli</i>	Отсутствуют	Отсутствуют
<i>Salmonella spp.</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>		

Таким образом, в результате проведенного анализа было установлено, что образцы густых экстрактов соответствуют требованиям ГФ XV и ФЕАЭС.

### **3.2.7 Количественное определение биологических активных веществ в густых экстрактах спектрофотометрическим методом**

#### **Количественное определение суммы флавоноидов в густых экстрактах**

Количественное определение суммы флавоноидов в густых экстрактах травы пустырника, травы синюхи голубой и в КГЭ в пересчёте на рутин составляет:  $1,67\% \pm 0,02$ ;  $2,43\% \pm 0,09$ ;  $4,45\% \pm 0,03$  соответственно и содержание суммы флавоноидов в плодах боярышника в пересчёте на гиперозид составляет  $0,67\% \pm 0,01$  [234,236].

## Валидация методик количественного определения суммы флавоноидов в густых экстрактах спектрофотометрическим методом

### - Специфичность

Для оценки специфичности методики количественного определения суммы флавоноидов в густых экстрактах получены спектры комплекса рутина стандартного раствора (Б) с алюминия хлоридом и комплексов флавоноидов испытуемых растворов с алюминия хлоридом. Типичные спектры раствора стандартного (Б) образца и испытуемых растворов приведены на рисунке 3.8.

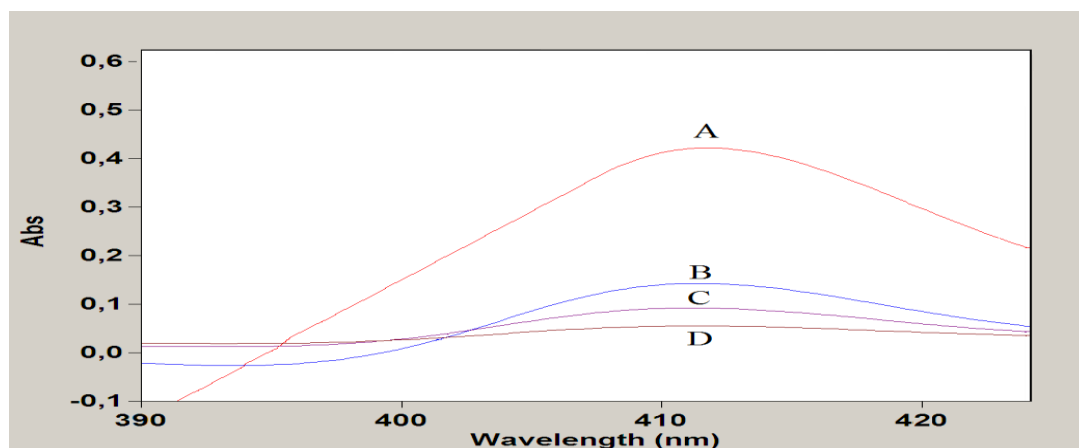


Рисунок 3.8 – Типичные спектры (А) комплекса рутина стандартного раствора Б с  $AlCl_3$ , (В) комплекса флавоноидов испытуемого раствора Б КГЭ с  $AlCl_3$ , (С) комплекса флавоноидов испытуемого раствора Б ГЭ травы синюхи голубой с  $AlCl_3$ , (D) комплекса флавоноидов испытуемого раствора Б ГЭ травы пустырника с  $AlCl_3$

Максимумы поглощения комплекса ( $\lambda$ ) рутина стандартного образца и флавоноидов испытуемых растворов с алюминия хлоридом на спектрах стандартного и испытуемых растворов приведены в таблице 3.12.

Таблица 3.12 – Специфичность методики определения суммы флавоноидов в густых экстрактах

	Стандартный раствор	Испытуемый раствор ГЭ травы пустырника		Испытуемый раствор ГЭ травы синюхи голубой		Испытуемый раствор КГЭ	
$\lambda$ , mAU	411	408	99,27	409	99,51	410	99,76
	411	409	99,51	410	99,76	411	100,00
	412	408	99,03	408	99,03	411	99,76

*- Линейность*

Для определения линейности методики количественного определения суммы флавоноидов в густых экстрактах готовили серии растворов стандартного образца рутина в пределах от 0,02 до 0,001 мг/мл.

Показатели линейности методики определяли методом наименьших квадратов. Рассчитывали коэффициент корреляции (r). В таблице 3.13 показана оценка линейности определения рутина в зависимости от концентрации стандартного образца.

Таблица 3.13 – Оценка линейности определения рутина

№	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>ср.</sub>	C, мг/мл
1	0,442	0,444	0,440	0,442	0,02
2	0,203	0,201	0,200	0,201	0,01
3	0,069	0,069	0,070	0,069	0,004
4	0,028	0,026	0,027	0,027	0,002
5	0,019	0,019	0,020	0,019	0,001
6	0,008	0,009	0,008	0,008	0,001

На рисунке 3.9 представлен график зависимости аналитического сигнала как функции концентрации рутина, зависимость обработана методом наименьших квадратов.

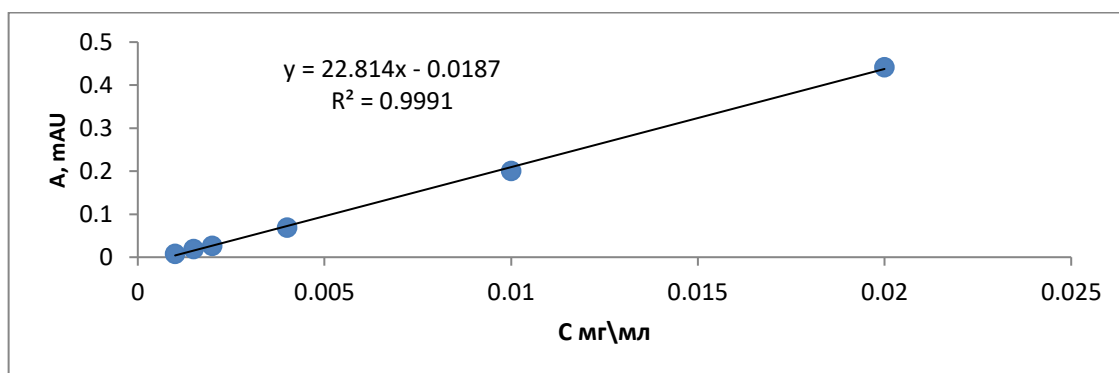


Рисунок 3.9 – Линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации суммы флавоноидов в густых экстрактах

Коэффициент корреляции ( $r$ ) = 0,999.

#### **Заключение:**

1. Зависимость аналитического сигнала от концентрации суммы флавоноидов линейна в диапазоне 0,02 до 0,001 мг/мл.

2. Значение коэффициентов корреляции для линейной зависимости составляет более 0,995, что подтверждает линейность методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в исследуемых экстрактах.

#### *- Правильность*

Правильность метода количественного определения суммы флавоноидов в густых экстрактах подтверждали методом добавок. Результаты определения правильности методики количественного определения суммы флавоноидов в густых экстрактах в пересчете на рутин представлены в таблицах 3.14-16.

Таблица 3.14 – Правильность определения рутина (масса ГЭ пустырника травы =0,0203 г, С мг/мл =0,00345) \*

Концентрация раствора добавки в образце, мкг/мл	С мг/мл добавки	С мг/мл Ожидаемое	С мг/мл Найдено	Открываемость, %
2	0,0021	0,0024	0,0024	98,22
4	0,0038	0,0032	0,0032	98,05
8	0,0079	0,0052	0,0052	100,28
16	0,0162	0,0089	0,0089	99,77

\*- в скобках приведены данные для суммы флавоноидов в пересчете на рутин, содержащейся в ГЭ травы пустырника

Таблица 3.15 – Правильность определения рутина (масса ГЭ травы синюхи голубой =0,0209 г, С мг/мл =0,00472) \*

Концентрация раствора добавки в образце, мкг/мл	С мг/мл Добавки	С мг/мл Ожидаемое	С мг/мл Найдено	Открываемость, %
2	0,0020	0,0023	0,0024	102,77
4	0,0038	0,0035	0,0034	98,38
8	0,0079	0,0057	0,0056	99,10
16	0,0159	0,0091	0,0092	101,57

\*- в скобках приведены данные для суммы флавоноидов в пересчете на рутин, содержащейся в ГЭ травы синюхи голубой.

Таблица 3.16 – Правильность определения рутина (масса КГЭ =0,0247 г, С мг/мл =0,00209) \*

Концентрация раствора добавки в образце, мкг/мл	С мг/мл Добавки	С мг/мл Ожидаемое	С мг/мл Найдено	Открываемость, %
2	0,0019	0,0018	0,0018	100,27
4	0,0042	0,0028	0,0028	99,82
8	0,0080	0,0046	0,0046	99,56
16	0,0161	0,0083	0,0084	100,47

\*- в скобках приведены данные для суммы флавоноидов в пересчете на рутин, содержащейся в КГЭ.

**Заключение:**

1. Открываемость суммы флавоноидов находится в интервале 95–105 %.
2. Коэффициент вариации определения открываемости (n=9) не превышает 2,0%, как и требуется по критериям приемлемости.

*- Повторяемость*

Для определения повторяемости рассчитывали коэффициент вариации по результатам количественного определения суммы флавоноидов в густых экстрактах (n=6) для каждого экстракта. Результаты приведены в таблице 3.17.

Таблица 3.17 – Оценка повторяемости методики количественного определения суммы флавоноидов в густых экстрактах

	X1%	X2%	X3%	X4%	X5%	X6%
<b>ГЭ травы синюхи голубой</b>						
Содержание <sub>1</sub> , %	2,290	2,296	2,278	2,251	2,486	2,400
Содержание <sub>2</sub> , %	2,317	2,324	2,278	2,251	2,513	2,372
Содержание <sub>3</sub> , %	2,345	2,324	2,278	2,278	2,486	2,400
Содержание <sub>ср</sub> , %	2,317	2,314	2,278	2,260	2,495	2,390
<b>ГЭ травы пустырника</b>						
Содержание <sub>1</sub> , %	1,68	1,63	1,63	1,65	1,66	1,68
Содержание <sub>2</sub> , %	1,65	1,62	1,64	1,63	1,68	1,63
Содержание <sub>3</sub> , %	1,69	1,63	1,65	1,65	1,65	1,64
Содержание <sub>ср</sub> , %	1,67	1,63	1,64	1,64	1,66	1,65
<b>КГЭ</b>						
Содержание <sub>1</sub> , %	4,45	4,41	4,62	4,66	4,53	4,45
Содержание <sub>2</sub> , %	4,46	4,42	4,63	4,67	4,54	4,46
Содержание <sub>3</sub> , %	4,43	4,39	4,60	4,64	4,51	4,43
Содержание <sub>ср</sub> , %	4,45	4,40	4,62	4,66	4,53	4,45



**Заключение:**

Значение коэффициента вариации результатов количественного определения суммы флавоноидов в густых экстрактах не превышает 2,0%, как и требуется по критериям приемлемости.

Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». Метрологические характеристики разработанной методики представлены в таблице 3.18.

Таблица 3.18 – Метрологические характеристики разработанной методики

название экстракта	F	$\bar{X}$ , %	S	P, %	t (p, f)	$\Delta\bar{X}$	E, %
ГЭ травы синюхи голубой	5	2,34	0,087	95	1,96	0,091	3,71
ГЭ травы пустырника	5	1,64	0,140	95	1,96	0,015	4,49
КГЭ	5	4,45	0,019	95	1,96	0,020	2,94

Из данных, представленных в таблице 3.18 следует, что ошибка анализа не превышает 5 %.

**Количественное определение суммы тритерпеновых сапонинов в густых экстрактах спектрофотометрическим методом**

Количественное определение суммы сапонинов в ГЭ травы синюхи голубой и в КГЭ в пересчёте на  $\beta$ -эсцин составляет ( $23,31 \pm 0,10$  %;  $17,50 \pm 0,05$  %), соответственно [229].

## Валидация методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в густых экстрактах спектрофотометрическим методом

### - Специфичность

Для оценки специфичности методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в ГЭ травы синюхи голубой и в КГЭ получены спектры стандартного раствора (Б) и испытуемого раствора. Результаты приведены на рисунки 3.10.

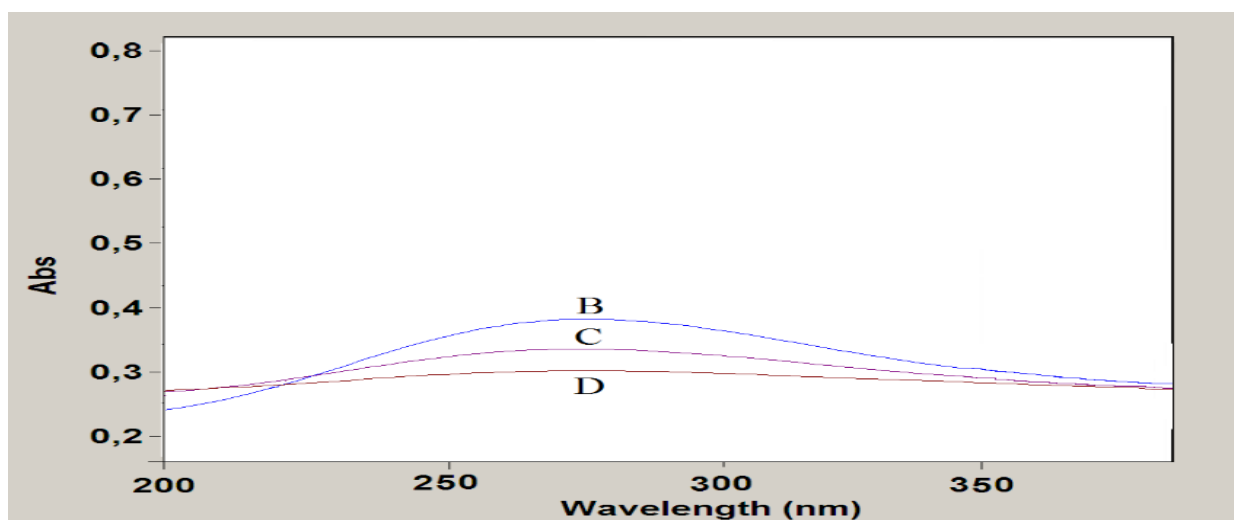


Рисунок 3.10 – Типичные спектры (B) стандартного раствора Б, (C) испытуемого раствора Б КГЭ, (D) испытуемого раствора Б ГЭ травы синюхи голубой

Максимум поглощения ( $\lambda$ )  $\beta$ -эсцина на спектрах стандартного и испытуемых растворов приведены в таблице 3.19.

Таблица 3.19 – Специфичность методики определения суммы тритерпеновых сапонинов в экстрактах

	Стандартный раствор	Испытуемый раствор ГЭ травы синюхи голубой		Испытуемый раствор КГЭ	
$\lambda$ , mAU	284	283	99,64	283	99,84
$\lambda$ , mAU	285	286	100,35	286	99,56
$\lambda$ , mAU	284	282	99,29	284	100,00

*- Линейность*

Для определения линейности методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в густых экстрактах готовили серии растворов стандартного образца  $\beta$ -эсцина в пределах от 0,4 до 0,01 мг/мл.

Показатели линейности методики определяли методом наименьших квадратов. Рассчитывали коэффициент корреляции ( $r$ ). В таблице 3.20, показана оценка линейности определения  $\beta$ -эсцина в зависимости от концентрации стандартного образца.

Таблица 3.20 – Оценка линейности определения  $\beta$ -эсцина

№	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>ср.</sub>	C, мг/мл
1	0,897	0,902	0,895	0,898	0,40
2	0,494	0,495	0,490	0,493	0,20
3	0,255	0,251	0,259	0,255	0,10
4	0,105	0,105	0,108	0,106	0,04
5	0,061	0,066	0,068	0,065	0,02
6	0,033	0,032	0,035	0,033	0,010

На рисунке 3.11 представлен график зависимости аналитического сигнала как функции концентрации  $\beta$ -эсцина, зависимость обработана методом наименьших квадратов.

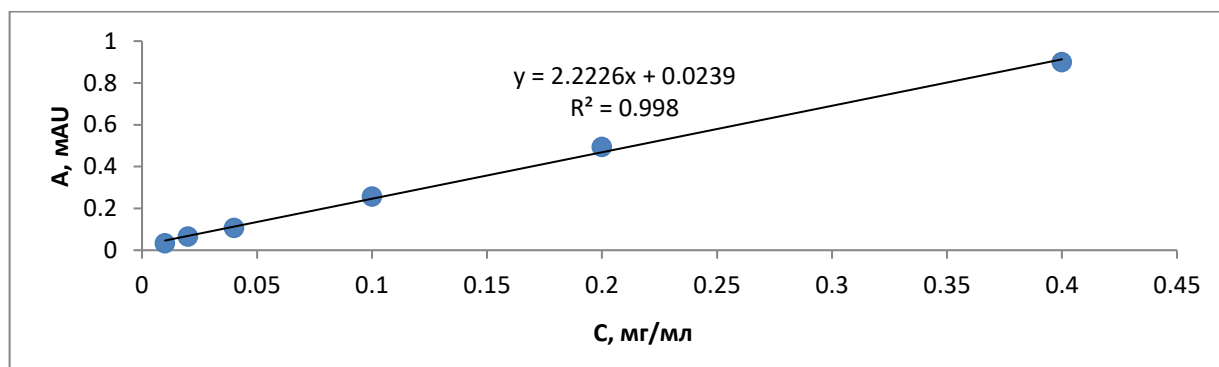


Рисунок 3.11 – Линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации суммы тритерпеновых сапонинов в густых экстрактах

Коэффициент корреляции ( $r$ ) = 0,999

#### **Заключение:**

1. Зависимость аналитического сигнала от концентрации суммы тритерпеновых сапонинов линейна в диапазоне от 0,4 до 0,01 мг/мл.

2. Значение коэффициентов корреляции для линейной зависимости составляет более 0,995, что подтверждает линейность методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов.

#### *- Правильность*

Правильность метода количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в густых экстрактах подтверждали методом добавок. Результаты определения правильности методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в густых экстрактах к  $\beta$ -эсцину представлены в таблицах 3.21–23.

Таблица 3.21 – Правильность определения  $\beta$ -эсцина (масса ГЭ травы синюхи голубой = 0,050 г, C мг/мл = 0,0425) \*

Концентрация раствора добавки в образце, мкг/мл	C мг/мл Добавки	C мг/мл Ожидаемое	C мг/мл Найдено	Открываемость, %
2	0,0020	0,0445	0,0452	101,12
4	0,0038	0,0463	0,0457	98,70
8	0,0079	0,0504	0,0498	101,20

## Продолжение таблицы 3.21

Концентрация раствора добавки в образце, мкг/мл	С мг/мл Добавки	С мг/мл Ожидаемое	С мг/мл Найдено	Открываемость, %
16	0,0159	0,0584	0,0575	98,45

\*- в скобках приведены данные для суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин, содержащейся в ГЭ травы синюхи голубой.

Таблица 3.22 – Правильность определения  $\beta$ -эсцина (масса КГЭ =0,053 г, С мг/мл =0,0375)\*

Концентрация раствора добавки в образце, мкг/мл	С мг/мл добавки	С мг/мл Ожидаемое	С мг/мл Найдено	Открываемость, %
2	0,0019	0,0447	0,0450	99,33
4	0,0040	0,0453	0,0448	101,12
8	0,0081	0,0515	0,0510	100,98
16	0,0164	0,0595	0,0584	101,88

\*- в скобках приведены данные для суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин, содержащейся в КГЭ.

### Заключение:

1. Открываемость суммы тритерпеновых сапонинов находится в интервале 95–105 %.

2. Коэффициент вариации определения открываемости (n=9) не превышает 2,0%, как и требуется по критериям приемлемости.

#### - Повторяемость

Для определения повторяемости рассчитывали коэффициент вариации по результатам количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в густых экстрактах (n=6) в испытуемых растворах. Результаты приведены в таблице 3.23.

Таблица 3.23 – Оценка повторяемости методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в густых экстрактах

	X <sub>1</sub> %	X <sub>2</sub> %	X <sub>3</sub> %	X <sub>4</sub> %	X <sub>5</sub> %	X <sub>6</sub> %
<b>ГЭ травы синюхи голубой</b>						
Содержание <sub>1</sub> , %	23,29	23,16	23,34	23,48	23,39	23,27
Содержание <sub>2</sub> , %	23,31	23,18	23,30	23,50	23,35	23,30
Содержание <sub>3</sub> , %	23,26	23,15	23,35	23,44	23,42	23,26
Содержание <sub>ср</sub> , %	23,28	23,163	23,33	23,47	23,38	23,27
<b>КГЭ</b>						
Содержание <sub>1</sub> , %	17,60	17,25	17,50	17,74	17,98	17,19
Содержание <sub>2</sub> , %	17,50	17,16	17,40	17,64	17,88	17,09
Содержание <sub>3</sub> , %	17,30	16,96	17,20	17,44	17,67	16,89
Содержание <sub>ср</sub> , %	17,47	17,12	17,36	17,60	17,84	17,06

### **Заключение:**

Значение коэффициента вариации результатов количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов не превышает 2,0%, как и требуется по критериям приемлемости.

Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ГФ XV OFC.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» по параметрам: специфичность, линейность, правильность, повторяемость, прецизионность. Метрологические характеристики разработанной методики представлены в таблице 3.24.

Таблица 3.24 – Метрологические характеристики разработанной методики

	F	$\bar{X}$ , %	S	P, %	t (p, f)	$\Delta\bar{X}$	E, %
ГЭ травы синюхи голубой	5	23,31	0,10	95	1,96	0,083	0,44
КГЭ	5	17,50	0,12	95	1,96	0,074	1,03

Из данных, представленных в таблице 3.24 следует, что ошибка анализа не превышает 5 %.

### 3.2.8 Спецификация показателей качества густых экстрактов

На основании результатов качественного и количественного исследования действующих веществ и свойств густых экстрактов плодов боярышника, травы пустырника, травы синюхи голубой и КГЭ, были определены основные показатели качества, представленные в таблицах 3.25–28 [238].

Таблица 3.25 – Спецификация показателей ГЭ плодов боярышника

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)*	Ссылки на методы испытаний
<b>Описание</b>	Густая масса темно-коричневого цвета, имеет характерный запах, вяжущий со слегка горьким вкусом.	Визуальный ГФ ОФС «Экстракты»
<b>Идентификация</b> Флавоноиды	На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО гиперозида, а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида;	ТСХ ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография»
Флавоноиды	допускается обнаружение других зон адсорбции. УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $(411 \pm 5)$ нм (раздел «Количественное определение»).	УФ-спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»
<b>Потеря в массе при высушивании, %</b>	Не более 25 %	Весовой ФЕАЭС 2.1.8.16. или ГФ, ОФС «Потеря в массе при высушивании»

Продолжение таблицы 3.25

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)*	Ссылки на методы испытаний
<b>Спирт этиловый</b>	Спирт этиловый – не более 0,5 % (5000 ppm)	Метод дистилляции или ГХ ГФ ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах»
<b>Тяжелые металлы</b>	Не более 0,001 %	ФЕАЭС 2.1.4.8. или ГФ ОФС «Тяжелые металлы», метод 1.
<b>Масса (объем) содержимого упаковки</b>	В соответствии с требованиями	ФЕАЭС 2.1.9.17. Масса (объем) содержимого упаковки или ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»
<b>Микробиологическая чистота</b>	Категория 3.2	Чашечный агаровый метод ФЕАЭС, 2.1.6.6., 2.1.6.7, 2.3.1.2. или ГФ ОФС «Микробиологическая чистота»
<b>Количественное содержание флавоноидов, %</b>	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 0,6 %.	Спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»



Таблица 3.26 – Спецификация показателей ГЭ травы пустырника

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)*	Ссылки на методы испытаний
<b>Описание</b>	Густая масса темно-коричневого цвета, имеет характерный запах, вяжущий со слегка горьким вкусом	Визуальный ГФ ОФС «Экстракты»
<b>Идентификация</b>  Флавоноиды         Флавоноиды	На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина, а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО рутина; допускается обнаружение других зон адсорбции. УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $(411 \pm 5)$ нм (раздел «Количественное определение»).	ТСХ ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ ОФС «Тонкослойная хроматография»  УФ-спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»
<b>Потеря в массе при высушивании, %</b>	Не более 25 %	Весовой ФЕАЭС 2.1.8.16. или ГФ, ОФС «Потеря в массе при высушивании»
<b>Спирт этиловый</b>	Спирт этиловый – не более 0,5 % (5000 ppm)	Метод дистилляции или ГХ ГФ ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах»
<b>Тяжелые металлы</b>	Не более 0,001%	ФЕАЭС 2.1.4.8. или ГФ ОФС «Тяжелые металлы», метод 1.

Продолжение таблицы 3.26

<b>Показатели качества</b>	<b>Нормы (допустимые пределы)*</b>	<b>Ссылки на методы испытаний</b>
<b>Масса (объем) содержимого упаковки</b>	В соответствии с требованиями	ФЕАЭС 2.1.9.17. Масса (объем) содержимого упаковки или ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»
<b>Микробиологическая чистота</b>	Категория 3.2	Чашечный агаровый метод ФЕАЭС, 2.1.6.6., 2.1.6.7, 2.3.1.2. или ГФ, ОФС «Микробиологическая чистота»
<b>Количественное содержание флавоноидов, %</b>	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 1,6 %.	Спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»

Таблица 3.27 – Спецификация показателей качества ГЭ травы синюхи голубой

<b>Показатели качества</b>	<b>Нормы (допустимые пределы)*</b>	<b>Ссылки на методы испытаний</b>
<b>Описание</b>	Густая масса темно-коричневого цвета, имеет характерный запах, вяжущий со слегка горьким вкусом	Визуальный ГФ РФ ОФС «Экстракты»
<b>Идентификация Флавоноиды</b>	На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутин а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны	ТСХ ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография»

## Продолжение таблицы 3.27

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)*	Ссылки на методы испытаний
Сапонины	адсорбции СО рутина; допускается обнаружение других зон адсорбции. На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово- фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.	УФ-спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»
Флавоноиды	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (411 ± 5) нм (раздел «Количественное определение»)	
Сапонины	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (284 ± 2) нм.	
<b>Потеря в массе при высушивании</b>	не более 25,0 %	Весовой ФЕАЭС 2.1.8.16. или ГФ, ОФС «Потеря в массе при высушивании»
<b>Спирт этиловый</b>	Спирт этиловый – не более 0,5 % (5000 ppm)	Метод дистилляции или ГХ ГФ ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах»

Продолжение таблицы 3.27

<b>Показатели качества</b>	<b>Нормы (допустимые пределы)*</b>	<b>Ссылки на методы испытаний</b>
<b>Тяжелые металлы</b>	Не более 0,001 %	ФЕАЭС 2.1.4.8. или ГФ ОФС «Тяжелые металлы», метод 1.
<b>Масса (объем) содержимого упаковки</b>	В соответствии с требованиями	ФЕАЭС 2.1.9.17. Масса (объем) содержимого упаковки или ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»
<b>Микробиологическая чистота</b>	Категория 3.2	Чашечный агаровый метод ФЕАЭС, 2.1.6.6., 2.1.6.7, 2.3.1.2. или ГФ, ОФС «Микробиологическая чистота»
<b>Количественное определение Флавоноиды  Сапонины</b>	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 2 %  Содержание суммы сапонинов в пересчете на $\beta$ -эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 20 %.	Спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ ОФС «Спектрофотометрия  в ультрафиолетовой и видимой областях»

Таблица 3.28 – Спецификация показателей качества КГЭ

<b>Показатели качества</b>	<b>Нормы (допустимые пределы)*</b>	<b>Ссылки на методы испытаний</b>
<b>Описание</b>	Густая масса темно-коричневого цвета, с характерным запахом, со слегка горьковатым вкусом.	Визуальный ГФ РФ ОФС «Экстракты»
<b>Идентификация Флавоноиды</b>	На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться	ТСХ

Продолжение таблицы 3.28

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)*	Ссылки на методы испытаний
Сапонины	зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина и СО гиперозида а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение других зон адсорбции. На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.	ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография»
Флавоноиды	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (411 ± 5) нм (раздел «Количественное определение»).	УФ-спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»
Сапонины	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (284 ± 2) нм.	
<b>Потеря в массе при высушивании экстрактов</b>	Не более 25,0 %	Весовой ФЕАЭС 2.1.8.16. или ГФ, ОФС «Потеря в массе при высушивании»
<b>Спирт этиловый</b>	Спирт этиловый – не более 0,5 % (5000 ppm)	Метод дистилляции или ГХ ГФ ОФС

Продолжение таблицы 3.28

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)*	Ссылки на методы испытаний
		«Определение спирта этилового в лекарственных средствах»
<b>Тяжелые металлы</b>	Не более 0,001 %	ФЕАЭС 2.1.4.8. или ГФ ОФС «Тяжелые металлы», метод 1.
<b>Масса (объем) содержимого упаковки</b>	В соответствии с требованиями	ФЕАЭС 2.1.9.17. Масса (объем) содержимого упаковки или ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»
<b>Микробиологическая чистота</b>	Категория 3.2	Чашечный агаровый метод ФЕАЭС, 2.1.6.6., 2.1.6.7, 2.3.1.2. или ГФ, ОФС «Микробиологическая чистота»
<b>Количественное определение</b> Флавоноиды  Сапонины	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 2 %.  Содержание суммы сапонинов в пересчете на $\beta$ -эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 15 %.	Спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»

Для стандартизации КГЭ выбрано определение содержания флавоноидов в пересчете на рутин, поскольку результатами исследования показано, что данный

метод позволяет оценить флавоноиды всех используемых моноэкстрактов. Содержание флавоноидов в КГЭ больше, чем суммарное содержание флавоноидов в ГЭ травы пустырника и травы синюхи голубой. То есть, флавоноиды плодов боярышника тоже вносят вклад в общую сумму флавоноидов в КГЭ. Также экономически не целесообразно вводить две методики определения флавоноидов с разными стандартными образцами (рутин и гиперозид) для одного лекарственного средства, что также удлинит и время проведения анализа в контрольно-аналитической лаборатории.

Кроме того, введен еще один показатель: содержание суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин. Экспериментальные данные показывают, что количество сапонинов в КГЭ больше, чем в густом экстракте травы синюхи голубой (учитывая, что он составляет 70 % в суммарном густом экстракте). То есть, здесь тоже вносят вклад сапонины плодов боярышника в общую сумму сапонинов густого экстракта.

Таким образом, выбранные два показателя позволяют оценить качество КГЭ и каждого компонента, включенного в его состав.

Разработанные проекты спецификаций включают все необходимые показатели для проведения контроля качества и будут положены в основу проектов Фармакопейных статей для данных видов лекарственных средств.

### **ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3**

1. Изучен химический состав густых экстрактов травы синюхи голубой, травы пустырника и плодов боярышника и КГЭ. Методом АЭС-ИСП установлено преобладание микро- и макроэлементов: железа, калия, кальция, магния и марганца.

2. Проанализирована неомыляемая фракция густых экстрактов методом ГХ-МС, определено преобладающее содержание токоферолов и стероидов. Содержание витамина Е вносит вклад в общую фармакологическую активность и играет важную роль в защите флавоноидов и сапонинов от окисления.

3. Методом ВЭЖХ-МС подтверждено содержание флавоноидов во всех исследуемых густых экстрактах (преимущественно флавонолгликозиды во всех исследуемых густых экстрактах и флавоногликозиды в ГЭ травы синюхи голубой); сапонинов в ГЭ травы синюхи голубой и КГЭ; иридоидов (гарпагид, вербаскозид и др.) в ГЭ травы пустырника; оксикоричных кислот в густых экстрактах плодов боярышника и травы пустырника.

4. Разработаны спектрофотометрические методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин и на гиперозид в густых экстрактах; и количественного определения суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин в ГЭ травы синюхи голубой и в КГЭ. Проведена валидация разработанных методик. Относительная ошибка определения суммы флавоноидов и суммы сапонинов не превышает 5 %. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в КГЭ составляет 4,46 % (не менее 2 %). Содержание суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин в КГЭ составляет 17,50 % (не менее 15 %).

5. Проведена стандартизация густых экстрактов и установлены показатели, необходимые для проведения контроля качества густых экстрактов согласно ГФ РФ XV и ФЕАЭС. Разработаны проекты спецификаций на все исследуемые густые экстракты, которые положены в основу проектов НД.



## **ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ТВЕРДЫХ ЖЕЛАТИНОВЫХ КАПСУЛ С ТИКСОТРОПНОЙ ЖИДКОСТЬЮ НА ОСНОВЕ КОМБИНИРОВАННОГО ГУСТОГО ЭКСТРАКТА**

### **4.1 Разработка состава и технологии твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью**

Результаты изучения химического состава и седативного действия (см. Отчет «Исследование седативного действия лекарственного препарата «Седокомб» (приложение А) для исследуемых густых экстрактов свидетельствуют о возможности разработки на их основе седативного лекарственного препарата. В качестве лекарственной формы были выбраны ТЖК с тиксотропной жидкостью, обладающие рядом преимуществ перед другими лекарственными формами, наиболее важными из которых являются: повышенная биодоступность лекарств, повышенная скорость всасывания препаратов и стабильность препарата.

### **4.2 Обоснование состава твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью**

#### **4.2.1 Обоснование выбора концентрации биологических активных веществ в составе**

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество в КГЭ должно быть не менее 2 % согласно полученным данным и представленным ранее; содержание суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 15 %.

Анализируя дозировки лекарственных препаратов из изучаемого в настоящей работе лекарственного растительного сырья, представленные в книге

«Лекарственные средства» М.Д. Машковский [239], в книге «Фитотерапия и фитофармакология» С.Я.Соколова [240], а также данные Государственного реестра лекарственных средств, были подобраны оптимальные дозировки для разрабатываемых твердых желатиновых капсул.

Кроме того, учитывали рекомендуемые уровни потребления, используемые при разработке БАД: для флавоноидов (в т.ч. флавонолы и их гликозиды) адекватный уровень - 30 мг и верхний допустимый уровень - 100 мг в пересчете на рутин в день) [235], что соответствует и теоретическим расчетам по указанным выше литературным данным.

Исходя из дозировок лекарственных средств на основе лекарственного сырья синюхи голубой, подобраны дозы сапонинов (200 мг суммы сапонинов – суточная доза).

Согласно проведенным теоретическим расчетам выбранные дозы обеспечиваются смешиванием густых экстрактов травы синюхи голубой, травы пустырника, плодов боярышника в соотношении 70:20:10. Данные подтверждены экспериментально при определении суммы флавоноидов в пересчете на рутин и суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин в КГЭ.

Таким образом, выбрана суточная доза полученного КГЭ – 1,22 г (содержит 50 мг флавоноидов в пересчете на рутин, 200 мг суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин). Для применения разработанной капсулы, содержащей 407 мг КГЭ, следует рекомендовать принимать 3 капсулы в день, чтобы достичь суточной дозы биологически активных веществ, содержащихся в КГЭ.

Далее проведен анализ растворимости КГЭ в воде, водно-этанольных смесях, а также изучали смешиваемость КГЭ с расплавом твердого жира при температуре 36–37 °С. Результаты приведены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Результаты изучения растворимости КГЭ

№	Растворитель	Условия растворения	Результат
1	Вода	При комнатной температуре и перемешивании 15 мин	Плохо растворим
2	Этанол 40%		Мало растворим
3	Этанол 70 %		Растворим
4	Этанол 90 %		Растворим
5	Этанол 96 %		Мало растворим
6	Твердый жир	При $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и перемешивании 15 мин	Смешивается, не однороден
7	Твердый жир + ПАВ		Смешивается, однороден

На основании результатов, предложенных в таблице 4.1, КГЭ плохо растворим в воде при комнатной температуре, наилучшее растворение достигается в 70–90 % спирте. Поскольку КГЭ имеет гидрофильную природу при смешивании его с твердым жиром образуется неоднородная смесь. Для получения однородной смеси (эмульсии) необходимо вводить поверхностно-активные вещества (ПАВ), в ходе анализа литературных данных и экспериментальной работы выбран неионогенный ПАВ (полисорбат 80). (примеры прописей представлены ниже, в таблице 4.5).

#### **4.2.2 Обоснование выбора вспомогательных веществ при разработке твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью, содержащих комбинированный густой экстракт**

Изучение физико-химических свойств субстанции при разработке твердых желатиновых капсул является важным фактором выбора вспомогательных веществ с целью обеспечения необходимых фармако - технологических свойств лекарственной формы. Как известно, ГЭ представляет собой концентрированное извлечение из лекарственного растительного сырья с содержанием влаги - не более 25% [174]. Учитывая свойства активной фармацевтической субстанции

растительного происхождения и принимая во внимание фармацевтические факторы, влияющие на показатели качества лекарственной формы, было необходимо провести обоснование выбора вспомогательных веществ [241, 244].

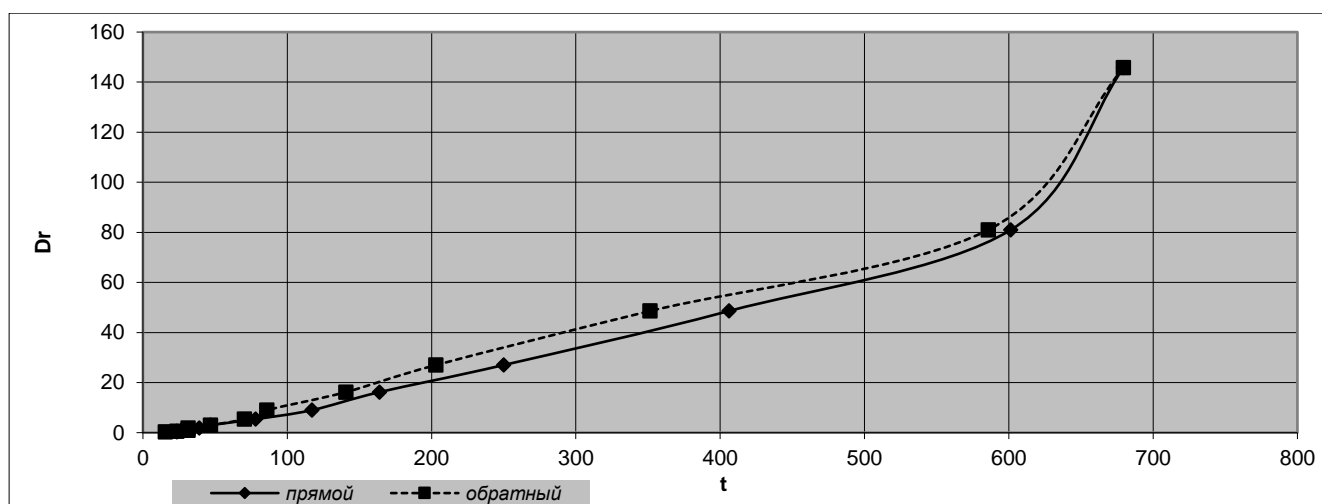
На первом этапе разработки состава ТЖК исследовали динамическую вязкость КГЭ в зависимости от градиента скорости сдвига при разных значениях температуры. Испытание проводили в соответствии с требованиями ФЕАЭС и ГФ XV, условия проведения анализа представлены в Главе 2. Результаты представлены в таблицах 4.2–3 и на рисунках 4.1–2.

Таблица 4.2 – Результаты напряжения сдвига ( $\tau$ ) и динамической вязкости ( $\eta$ ) КГЭ при температуре 40 °С

Прямой ход							
№	Dr	A	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	ln(Dr)	ln( $\tau$ )	ln( $\eta$ )
1	0,33	3	23,43	7029703	-10987	31540	42527
2	0,60	3	23,43	39,05	-0,51	31540	36648
3	1,00	4	31,24	31,24	0,0000	34417	34417
4	1,80	5	39,05	2169444	0,58	36648	30771
5	3,00	6	46,86	15,62	10986	38472	27486
6	5,40	10	78,10	1446296	16864	43580	26716
7	9,00	15	117,15	1301667	21972	47635	25662
8	16,20	21	164,01	1012407	27850	50999	23149
9	27,00	32	249,92	9256296	32958	55211	22253
10	48,60	52	406,12	8356379	38836	60066	21230
11	81,00	77	601,37	7424321	43944	63992	20048
12	145,80	87	679,47	4660288	49822	65213	15391
Обратный ход							
№	Dr	A	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	ln(Dr)	ln( $\tau$ )	
12	145.80	87	679,47	4660288	49822	65213	

## Продолжение таблицы 4.2

№	Dr	A	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	$\ln(Dr)$	$\ln(\tau)$
11	81,00	75	585,75	7231481	43944	63729
10	48,60	45	351,45	7231481	38836	58621
9	27,00	26	203,06	7520741	32958	53135
8	16,20	18	140,58	8677778	27850	49458
7	9,00	11	85,91	9545556	21972	44533
6	5,40	9	70,29	1301667	16864	42526
5	3,00	6	46,86	15,62	10986	38472
4	1,80	4	31,24	1735556	0,5878	34417
3	1,00	4	31,24	31,24	0,0000	34417
2	0,60	3	23,43	39,05	-0,5108	31540
1	0,33	2	15,62	4686469	-10987	27486

Рисунок 4.1– Реограмм течения КГЭ при температуре  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ Таблица 4.3 – Результаты напряжения сдвига ( $\tau$ ) и динамической вязкости ( $\eta$ ) КГЭ при температуре  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 

Прямой ход							
№	Dr	$\alpha$	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	$\ln(Dr)$	$\ln(\tau)$	$\ln(\eta)$
1	0,33	4	31,24	93.72937	-1,09	3,44	4,54
2	0,60	5	39,05	65.08333	-0,51	3,66	4,17

Продолжение таблицы 4.3

№	Dr	$\alpha$	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	$\ln(Dr)$	$\ln(\tau)$	$\ln(\eta)$
3	1,00	6	46,86	46.86	0,00	3,84	3,84
4	1,80	8	62,48	34.71111	0,58	4,13	3,54
5	3,00	10	78,10	26.03333	1,09	4,35	3,25
6	5,40	16	124,96	23.14074	1,68	4,82	3,14
7	9,00	24	187,44	20.82667	2,19	5,23	3,03
8	16,20	36	281,16	17.35556	2,78	5,63	2,85
9	27,00	55	429,55	15.90926	3,29	6,06	2,76
10	48,60	87	679,47	13.98086	3,88	6,52	2,63
11	81,00	94	734,14	9.063457	4,39	6,59	2,20
12	145,80	94	734,14	5.035254	4,98	6,59	1,61
Обратный ход							
№	Dr	a	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	$\ln(Dr)$	$\ln(\tau)$	
12	145,80	94	734,14	5,03	4,98	6,59	
11	81,00	94	734,14	9,06	4,39	6,59	
10	48.60	82	640,42	13,17	3,88	6,46	
9	27,00	49	382,69	14,17	3,29	5,94	
8	16,20	32	249,92	15,42	2,78	5,52	
7	9,00	20	156,20	17,35	2,19	5,05	
6	5,40	14	109,34	20,24	1,68	4,69	
5	3,00	10	78,10	26,03	1,09	4,35	
4	1,80	8	62,48	34,71	0,58	4,13	
3	1,00	5	39,05	39,05	0,00	3,66	
2	0,60	4	31,24	52,06	-0,51	3,44	
1	0,33	1	7,81	23,43	-1,09	2,05	

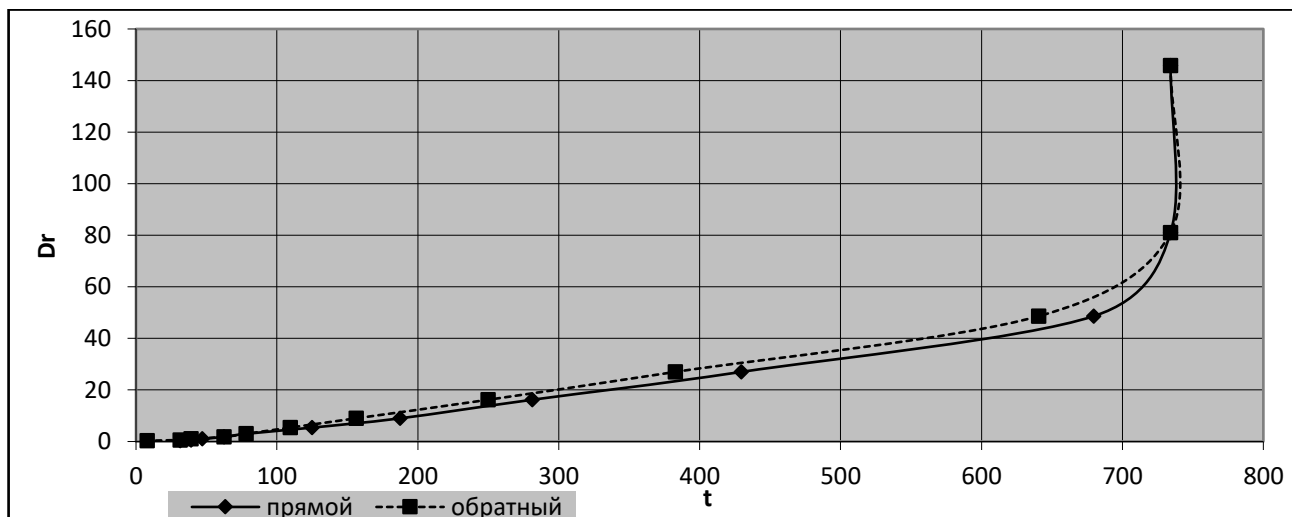


Рисунок 4.2 – Реограмма течения КГЭ при температуре 35 °С

Как видно из представленных результатов, КГЭ имеет достаточно большую вязкость, что не позволит проводить наполнение ТЖК в капсулонаполняющей машине.

То есть, КГЭ представляет собой густую массу, плохо дозируемую при заполнении ТЖК, особенно большие трудности возникают при автоматизированной подаче. Поэтому необходимо было вводить вспомогательные вещества.

Критерием выбора вспомогательных веществ служили их безопасность и соответствующее разрешение на медицинское применение, а также физико-химическая индифферентность и совместимость с КГЭ, учитывали соответствующие технологические характеристики для изготовления ТЖК.

Кроме того, вспомогательные вещества отбирались в зависимости от их влияния на консистенцию массы (способность улучшать технологические свойства КГЭ) с учетом температуры плавления массы. В таблице 4.4 представлены преимущества и недостатки используемых в работе вспомогательных веществ.

Таблица 4.4 – Преимущества и недостатки вспомогательных веществ

Субстанция	Недостатки / Преимущества
КГЭ	- Сложно контролировать консистенцию
Масло какао	- Явление полиморфизма - Химическая нестабильность (прогорклость)
Гидрогенизированные масла (твёрдый жир)	- Химическая стабильность - Повышение пероральной биодоступности - структурообразователь (регулирование консистенции массы капсулы)
Глицерин-желатина	- Склонен к бактериальной и грибковой порче, требует использования консервантов - Возможно, вызывает взаимодействия с биологическими активными добавками
Жидкие полиэтиленгликоли	- Обладает гигроскопичными свойствами - Вызывают негативные проявления со стороны пищеварительного тракта

На основе полученных данных, представленных в таблице 4.4, определяли технологические свойства полученной капсульной массы. В связи с этим, нами были апробированы 6 составов с разными вспомогательными веществами.

На этом этапе было наработано 6 разных составов ТЖК с КГЭ. Основными критериями выбора составов были технологические характеристики полученных ТЖК (внешний вид, объем капсульной массы, вязкость, однородность капсульной массы). Аналитическим параметром отбора служило содержания суммы флавоноидов и суммы сапонинов в ТЖК (количественное определение).

Для обеспечения однородности распределения КГЭ во вспомогательных веществах использовали связывающее вещество, солюбилизатор (соразтворитель) - полисорбат 80. Экспериментальные составы предложены в таблице 4.5.



Таблица 4.5 – Составы модельных смесей для капсулирования

#	Наименование компонента	Функция	Состав №1	Состав №2	Состав №3	Состав №4	Состав №5	Состав №6
			Мг	Мг	Мг	Мг	мг	Мг
1	КГЭ	Активный ингредиент	407,0	407,0	202,6	300,0	407,0	407,0
2	Твердый жир	Наполнитель (основа)	-	-	399,4	-	195,0	192,0
3	ПЭГ 1500	пластификатор, связывающее вещество	140,1	128,0	-	-	-	-
4	ПЭГ 400	пластификатор, связывающее вещество	54,9	54,9	-	-	-	-
5	Аэросил	Эмульгатор	-	12,1	-	-	-	-
6	Неусилин	скользящее вещество	-	-	-	302,0	-	-
7	Полисорбат 80	Неионогенный ПАВ	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
8	Альфа - Тосopherol	Консервант	-	-	-	-	-	3,0

Как видно из таблицы, прописи были составлены на основе твердого жира и ПЭГ. Твердый жир и ПЭГ используются для получения тиксотропной жидкости, вязкость которой меняется в зависимости от температуры, что будет показано ниже для выбранного финансового состава.

Состав №1 расслоился, хотя при смешивании и дозировании был однородной массой.

Состав №2 оказался слишком вязким для дозирования в ТЖК.

Состав №3 на основе твердого жира сохранял однородность при хранении, однако он содержал в два раза меньше КГЭ и увеличенное количество твердого жира.

Состав №4 также сохранял однородность при хранении, содержание КГЭ в нем было снижено до 300 мг, поскольку неусилин имеет большую удельную площадь поверхности, что не позволяет получить необходимую дозировку КГЭ в ТЖК № 0. Неусилин в дальнейшей работе не использовали.

Состав №5 был выбран для дальнейших исследований, так как обладал оптимальной консистенцией, обеспечивающей дозирование при автоматизированной подаче, и сохранял однородность при хранении.

Состав № 6 по составу был практически аналогичен составу №5, но включал в качестве стабилизатора альфа-токоферол.

Наполнение ТЖК зависит от их размера. Учитывая значения вязкости полученной капсульной массы (см. пункт 4.2.2) и разовую дозу препарата под условным наименованием «Седокомб», были выбраны ТЖК № «0» (большой размер ТЖК не удобен для использования, так как их трудно проглотить). Предложенный состав и технология получения ТЖК исключает негативное действие на субстанцию влаги, света, действия высоких температур (капсульная масса заключена в ТЖК, которая в дальнейшем будет расфасована в блистер и в картонную коробку; таким образом обеспечивается ограничение воздействия внешних факторов на субстанцию), что было подтверждено в ходе исследования стабильности (см. пункт 4.5), обеспечивает технологичность процесса, поскольку выбранный состав имеет хорошую однородность и вязкость, позволяющую проводить дозирование капсульной массы в ТЖК [245,247].

#### **4.3 Разработка технологии твердых желатиновых капсул с тиксотропной жидкостью комбинированного густого экстракта**

Исходя из представленных выше данных для дальнейшей разработки выбраны составы № 5 и 6, которые были в итоге наработаны в достаточном количестве и заложены на хранение. В последующем обосновании разработки лекарственной формы использовали состав № 5, поскольку составы № 5 и 6 похожи (отличаются только наличием или отсутствием альфа-токоферола).

Качественный и количественный состав разработанного препарата представлен в таблице 4.6.

Таблица 4.6 – Состав разработанного лекарственного препарата на одну ТЖК

<b>Компонент</b>	<b>Количество,</b>	<b>Спецификация</b>
<i>Действующее вещество:</i>		
КГЭ	407,0 мг	Проект НД
<i>Вспомогательные вещества:</i>		
Твёрдый жир	193,0 мг	Евр. Ф. *, Ф. США*
Полисорбат 80	5,0 мг	Евр. Ф. *, Ф. США*
Номинальная масса содержимого капсулы	605,0 мг	
<b>Капсула твёрдая желатиновая №0</b> (АО «ЭЙ СИ Джи Лукапе», Хорватия; Капсугель, Бельгия)	1 шт. (95,0 мг)	
Корпус капсулы:		
Титана диоксид (E171)	1,333%	
Желатин	до 100%	
Крышечка капсулы:		
Титана диоксид (E171)	1,333%	
Желатин	до 100%	
Номинальная масса капсулы с содержимым	700,0 мг	
*Действующее издание *-ссылки приведены на действующие издания фармакопей		

С целью разработки технологических режимов автоматического наполнения ТЖК с тиксотропной жидкостью установлены температура плавления и застывания и реологических свойств капсульной массы. Результаты переставлены в таблице 4.7.

Таблица 4.7 – Температура плавления и температура застывания

Капсульная масса	Температура плавления	Температура застывания
	36,4±0,3°C	34,8±0,2 °C

### Изучение реологических свойств

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФEAЭC и ГФ XV. Условия проведения анализа представлены в Главе 2. Результаты представлены в таблице 4.8 и на рисунке 4.3.

Таблица 4.8 – Результаты напряжения сдвига ( $\tau$ ) и динамической вязкости ( $\eta$ ) капсульной массы при температуре 40 °C

Прямой ход							
№	Dr	A	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	ln(Dr)	ln( $\tau$ )	ln( $\eta$ )
1	3,00	1	5,99	1,99	1,09	1,79	0,69
2	5,40	2	11,98	2,21	1,68	2,48	0,79
3	9,00	2	11,98	1,33	2,19	2,48	0,28
4	16,20	3	17,97	1,10	2,78	2,88	0,10
5	27,00	4	23,96	0,88	3,29	3,17	-0,11
6	48,60	5	29,95	0,61	3,88	3,39	-0,48
7	81,00	6	35,94	0,44	4,39	3,58	-0,81
8	145,80	9	53,91	0,36	4,98	3,98	-0,99
9	243,00	12	71,88	0,29	5,49	4,27	-1,21
10	437,40	17	101,83	0,23	6,08	4,62	-1,45
11	729,00	25	149,75	0,20	6,59	5,00	-1,58
12	1312,00	45	269,55	0,20	7,17	5,59	-1,58
Обратный ход							
№	Dr	A	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	ln(Dr)	ln( $\tau$ )	ln( $\eta$ )
12	1312,00	46	275,54	0,21	7,17	5,61	

Продолжение таблицы 4.8

№	Dr	A	$\tau=Z*\alpha$	$\eta=\tau/Dr$	$\ln(Dr)$	$\ln(\tau)$
11	729,00	26	155,74	0,21	6,59	5,04
10	437,40	18	107,82	0,24	6,08	4,68
9	243,00	12	71,88	0,29	5,49	4,27
8	145,80	9	53,91	0,36	4,98	3,98
7	81,00	6	35,94	0,44	4,39	3,58
6	48,60	5	29,95	0,61	3,88	3,39
5	27,00	4	23,96	0,88	3,29	3,17
4	16,20	3	17,97	1,10	2,78	2,88
3	9,00	2	11,98	1,33	2,19	2,48
2	5,40	2	11,98	2,21	1,68	2,48
1	3,00	1	5,99	1,99	1,09	1,79

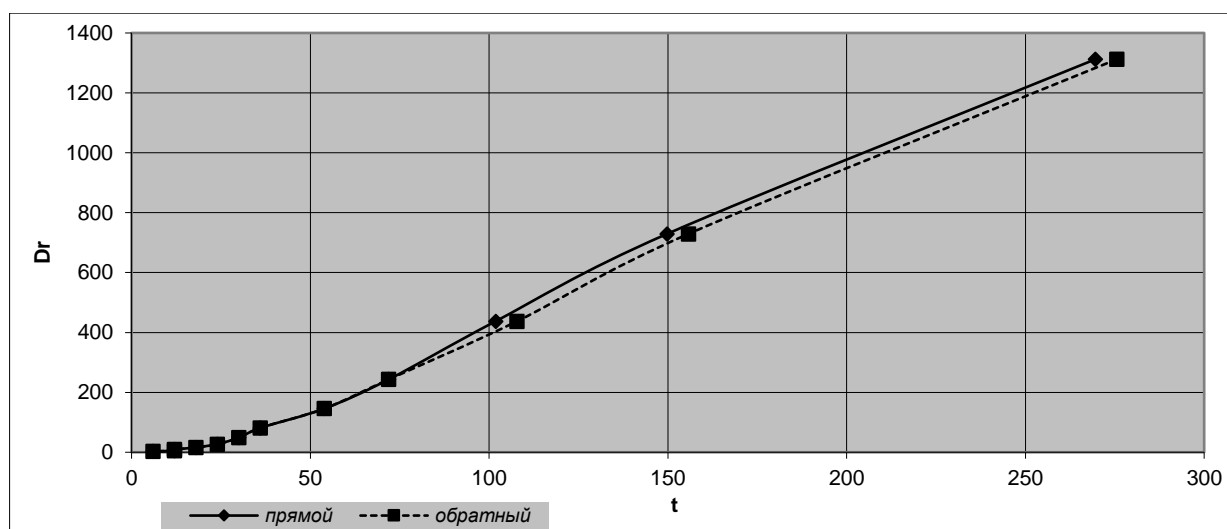


Рисунок 4.3 – Реограмма течения капсульной массы при температуре 40 °С

Полученные данные указывают на то, что динамическая вязкость капсульной массы при повышении температуры до 40 °С падает почти до значений ньютоновских жидкостей. Однако различие значений предельных напряжений сдвига и динамической вязкости на восходящей и нисходящей кривой реограмм указывает на то, что капсульная масса в незначительной степени еще сохраняет

свойства структурированных систем. Исходя из этого, нами был сделан вывод, что оптимальная температура наполнения капсульной массы должна быть не выше 40 °С, так как дальнейшее нагревание практически не будет влиять на вязкость системы, а энергозатраты в этом случае значительно возрастут. Аналогично была определена оптимальная температура капсульной массы для ввода КГЭ в твёрдый жир и гомогенизации капсульной массы, что соответствует  $40 \pm 1$  °С.

На основании полученных данных, отмечаются хорошо выраженные петли гистерезиса, при этом «восходящая» кривая, характеризующая разрушение системы, отличается от «нисходящей» кривой, характеризующей восстановление системы, и объясняется сохранением остаточной деформации после сильного ослабления структуры под влиянием ранее приложенного напряжения. Наличие восходящих и нисходящих кривых петли гистерезиса указывает на то, что капсульная масса обладает тиксотропными свойствами.

С целью исследования влияния температуры и продолжительности перемешивания на однородность капсульной массы проводили испытание с помощью рамной мешалки при температурах от 35 до 45 °С. Капсульная масса, нагретая до определенной температуры, перемешивалась в реакторе при скорости вращения мешалки 50 об/мин. Каждые 10 минут отбиралась проба для анализа однородности содержания КГЭ в количестве 605 мг из верхнего и нижнего слоя. После этого в емкость добавляли капсульную массу в количестве, равном массе, отобранной для анализа, результаты представлены в таблице 4.9.

Таблица 4.9 – Влияния температуры и продолжительности перемешивания на однородность капсульной массы

Температура, °С	Время перемешивания, хв	Количественное содержание флавоноидов и тритерпеновых сапонинов в пересчете на массу одной капсулы, мг	
		Верхний слой	Нижний слой
35	10	280	260
	20	310	340
	30	402	404
	40	405	408
	50	408	408
	60	407	408
40	10	330	360
	20	380	390
	30	405	405
	40	407	404
	50	405	402
	60	403	406
45	10	380	390
	20	405	405
	30	407	402
	40	402	406
	50	405	408
	60	403	405

На основании данных, приведенных в таблице 4.9, что при температуре 35 °С однородность достигается через 40 минут перемешивания и сохраняется в течение часа; при 40 °С - через 30 минут и сохраняется в течение часа; при 45 °С - через 20

минут. Учитывая то, что в состав капсул входит комплексный густой экстракт, включающий биологически активные вещества растительного происхождения, целесообразно использовать по возможности самую низкую температуру и непродолжительное перемешивание капсульной массы, для того чтобы минимизировать неблагоприятное температурное воздействие на БАВ и предотвратить их разрушение. Таким образом, исходя из полученных данных, представленных в таблице 5, можно сделать вывод, что наполнение капсул следует проводить при температуре 40 °С и скорости вращения мешалки 50 об/мин. КГЭ достаточно равномерно распределяется в капсульной массе, а оптимальное время перемешивания составляет 30 минут.

Для подтверждения стабильности капсульной смеси, проведен анализ данной смеси после ее нагревания до 40±1 °С. Результаты анализа подтвердили стабильность капсульной смеси при указанной температуре, что делает возможным использовать данный режим в разрабатываемой технологии получения ТЖК.

Таким образом, температура 40±1 °С оказалась наиболее подходящей для технологии получения ТЖК с использованием капсулонаполняющей машины Harro Höfliger «Modu C LS» с модулем для наполнения вязкими жидкостями. Указанные исследования легли в основу получения капсульной массы на технологическом оборудовании.

Производство ТЖК проводится по следующей схеме: после полного расплавления, твердый жир с полисорбатом 80 добавляют к КГЭ, перемешивают с помощью верхнеприводной мешалки для равномерного распределения ингредиентов по всей массе смеси, гомогенизация, фасовка и упаковка. В процессе производства не используются производственные избытки.

Для ТЖК установлены требования по качеству, что представлено в разработанном проекте НД.

Совместимости ингредиентов лекарственной формы друг с другом, выбранный режим хранения, корректность упаковки доказываются



положительными результатами при исследовании стабильности лекарственного препарата «Седокомб» методом долгосрочного хранения (см. пункт 4.5)

Стабильность препарата (ТЖК с капсульной массой, соответствующей составам № 5 и 6 (Таблица 4.5) оценивали по показателям качества: Описание, Идентификация, Однородность дозированных единиц, Распадаемость, Растворение, Микробиологическая чистота и Количественное определение.

Таким образом, были получены ТЖК, имеющие однородный внешний вид, необходимую однородность дозирования единиц, соответствие по разработанным показателям качества. Технологическая схема производства лекарственного препарата «Седокомб» представлена на рисунке 4.4.

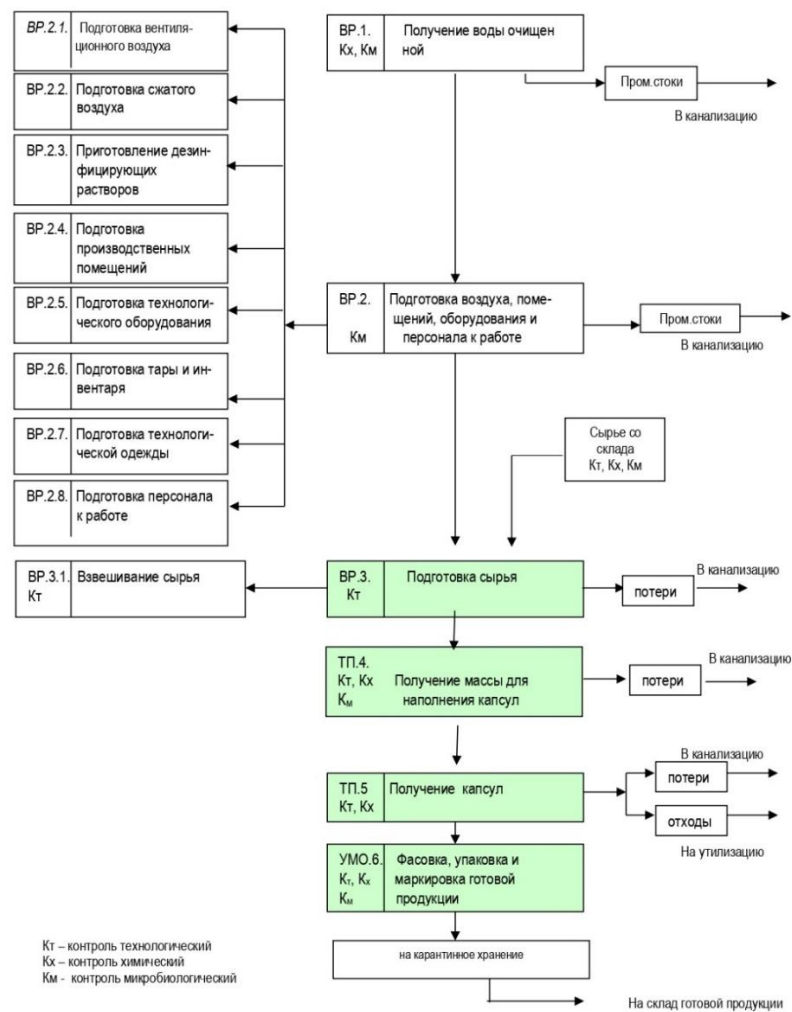


Рисунок 4.4 – Технологическая схема производства лекарственного препарата «Седокомб»

Лекарственный препарат «Седокомб», получаемый по описанной выше технологии (рисунок 4.4), представляет собой ТЖК № 0 белого цвета, без запаха, заполненные тиксотропной жидкостью. На основе полученных данных подготовлен проект лабораторного регламента (Приложение Ж).

#### 4.4 Исследование кинетики растворения (*in vitro*) лекарственного препарата «Седокомб»

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС и ГФ XV. Условия проведения испытания указаны в Главе 2, подразделе 2.6.5. Определяли количество высвободившихся флавоноидов и тритерпеновых сапонинов из ТЖК через 10, 15, 20, 30, 45 и 60 минут мин с помощью метода УФ-спектрофотометрии при максимумах поглощения для каждого активного компонента. Исследования проведены для ТЖК с капсульной массой, соответствующей составу №5 (Таблица 4.5) Результаты определения представлены в таблицах 4.10–17.

Таблица 4.10 – Высвобождение флавоноидов лекарственного препарата «Седокомб» в среде растворения – вода очищенная, ( $a_0=20,8$  мг,  $A_0=0,384$ )

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	-
10	62,4	60,0	64,0	70,9	60,7	66,8	64,2	4,1	6,4
15	72,2	68,8	69,8	72,7	69,6	68,8	70,3	1,7	2,4
20	76,1	77,1	73,8	75,9	75,3	72,9	75,2	1,6	2,1
30	77,9	79,0	76,1	77,2	79,0	78,8	78,0	1,2	1,5
45	80,5	81,6	79,8	83,4	80,0	82,1	81,2	1,4	1,7
60	82,6	83,6	84,2	85,2	83,1	85,7	84,1	1,2	1,4

Таблица 4.11 – Высвобождение флавоноидов лекарственного препарата «Седокомб» в среде растворения – 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, ( $a_0= 20,8$  мг,  $A_0=0,324$ )

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
10	18,6	18,1	17,5	18,7	19,0	19,1	18,5	0,6	3,3
15	23,9	23,2	23,5	23,9	25,3	25,2	24,2	0,9	3,7
20	26,3	25,3	27,4	27,7	25,5	27,3	26,6	1,0	3,9
30	28,8	26,7	25,2	27,8	29,6	29,8	28,0	1,8	6,4
45	31,1	33,1	30,3	32,4	32,5	29,1	31,4	1,5	4,9
60	32,2	33,1	32,6	33,1	32,2	33,4	32,8	0,5	1,5

Таблица 4.12 – Высвобождение флавоноидов лекарственного препарата «Седокомб» в среде растворения – ацетатный буферный раствор pH 4,5, ( $a_0= 20,8$  мг,  $A_0=0,357$ )

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
10	24,5	23,0	24,3	26,6	26,8	25,1	25,0	1,4	5,8
15	30,4	31,0	28,1	30,6	28,7	32,6	30,2	1,6	5,4
20	32,9	33,2	32,2	33,9	35,7	35,4	33,9	1,4	4,2
30	36,5	35,3	35,7	36,3	38,4	38,3	36,8	1,3	3,6
45	39,6	39,1	40,0	38,1	38,9	40,2	39,3	0,8	2,0
60	41,2	41,9	43,4	42,1	39,0	41,4	41,5	1,4	3,5

Таблица 4.13 – Высвобождение флавоноидов лекарственного препарата «Седокомб» в среде растворения – фосфатный буферный раствор pH 6,8, ( $a_0= 20,8$  мг,  $A_0=0,401$ )

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	-
10	74,0	69,4	70,0	75,5	70,1	75,0	72,3	2,8	3,9
15	79,6	81,5	83,5	84,0	81,7	82,6	82,1	1,6	1,9
20	87,2	83,6	86,8	86,8	86,1	86,7	86,2	1,3	1,5
30	88,2	90,5	88,9	87,4	88,2	89,6	88,8	1,1	1,2

## Продолжение таблицы 4.13

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
45	89,7	91,7	89,5	90,7	92,0	91,1	90,8	1,0	1,1
60	93,8	93,1	91,2	92,5	93,8	93,2	92,9	1,0	1,1

На рисунке 4.5 представлен профиль высвобождения флавоноидов из ТЖК «Седокомб», определяемых на приборе DISTEK «EVOLUTION 6100» согласно требованиям ГФ XV ОФС 1.4.2.0014 и ФЕАЭС 2.1.9.3.

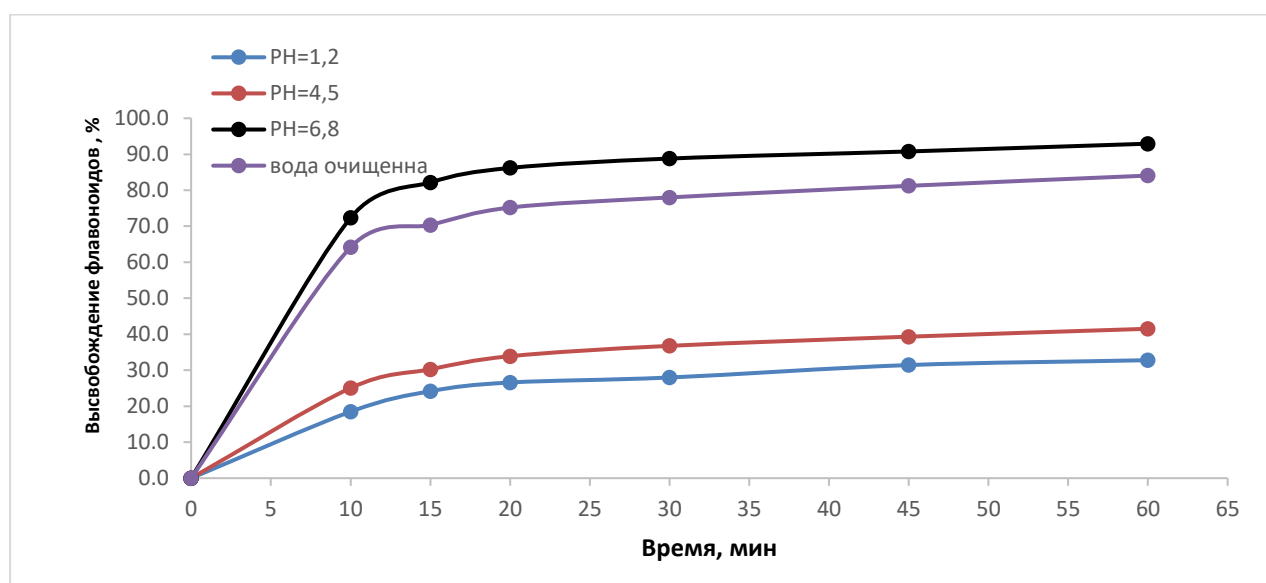


Рисунок 4.5 – Профиль высвобождения флавоноидов из лекарственного препарата «Седокомб» от времени

Таблица 4.14 – Высвобождение тритерпеновых сапонинов лекарственного препарата «Седокомб» в среде растворения – вода очищенная, ( $a_0=36,4$  мг,  $A_0=0,547$ )

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
0	0,0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	-
10	72,7	74,4	72,9	74,6	70,3	71,5	72,7	1,7	2,3
15	83,2	82,0	81,5	81,3	84,1	79,9	82,0	1,5	1,8
20	85,4	84,8	83,2	86,1	86,1	86,5	85,3	1,2	1,4
30	87,8	87,7	87,4	88,6	84,5	87,7	87,3	1,4	1,6

Продолжение таблицы 4.14

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
45	89,6	89,2	90,1	89,1	91,0	89,6	89,8	0,7	0,8
60	90,6	91,8	91,2	90,8	91,6	92,1	91,3	0,6	0,6

Таблица 4.15 – Высвобождение тритерпеновых сапонинов лекарственного препарата «Седокомб» в среде растворения – 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, ( $a_0=36,4$  мг,  $A_0=0,417$ )

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
10	20,5	22,3	18,8	19,5	20,0	16,7	19,6	1,9	9,4
15	28,9	29,4	28,9	24,8	26,7	27,5	27,7	1,7	6,3
20	31,6	32,1	33,1	31,2	32,4	31,4	32,0	0,7	2,2
30	33,3	33,4	34,2	32,9	32,8	34,4	33,5	0,7	2,0
45	34,3	34,6	34,7	35,2	33,5	35,7	34,7	0,8	2,2
60	35,5	37,2	35,8	36,8	36,6	38,1	36,7	1,0	2,6

Таблица 4.16 - Высвобождение тритерпеновых сапонинов лекарственного препарата «Седокомб» в среде растворения – ацетатный буферный раствор pH 4,5, ( $a_0=36,4$  мг,  $A_0=0,535$ )

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
10	29,1	27,0	28,3	28,8	29,6	30,8	28,9	1,3	4,4
15	38,5	38,7	38,6	38,8	40,1	39,3	39,0	0,6	1,5
20	43,1	44,6	44,1	42,0	41,9	44,2	43,3	1,1	2,6
30	47,2	45,9	46,3	47,1	47,0	46,4	46,6	0,5	1,1
45	50,6	49,8	48,1	48,8	49,9	52,1	49,9	1,4	2,8
60	52,8	53,4	51,8	54,8	53,3	53,3	53,2	1,0	1,8

Таблица 4.17 - Высвобождение тритерпеновых сапонинов лекарственного препарата «Седокомб» в среде растворения – фосфатный буферный раствор pH 6,8, ( $a_0=36,4$  мг,  $A_0=0,647$ )

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
0	0,0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	-
10	64,5	67,4	63,9	64,4	64,1	66,8	65,2	1,5	2,3

Продолжение таблицы 4.17

мин, ↓   № →	1	2	3	4	5	6	Среднее, %	RSD	RSD, %
15	77,0	78,5	78,5	74,9	75,1	77,3	76,9	1,6	2,0
20	80,5	79,3	82,7	81,9	82,7	79,1	81,0	1,6	2,0
30	83,0	82,4	81,6	83,2	86,7	87,6	84,1	2,4	2,9
45	86,8	85,3	84,2	84,1	88,0	90,1	86,4	2,4	2,7
60	89,7	88,4	88,0	90,1	94,6	93,4	90,7	2,7	3,0

На рисунке 4.6 представлен профиль высвобождения сапонинов из капсул «Седокомб», определяемых на приборе DISTEK «EVOLUTION 6100» согласно требованиям ГФ XIV ОФС 1.4.2.0014.15 и ФЕАЭС 2.1.9.3.

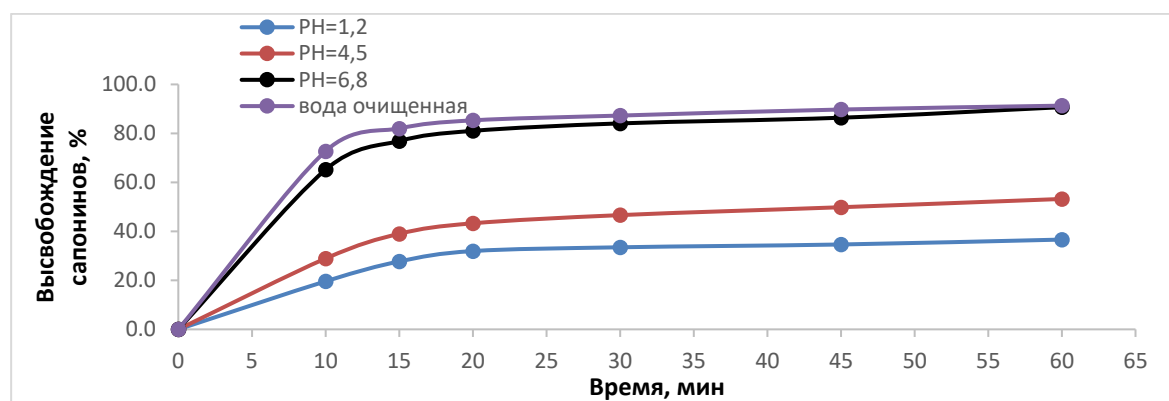


Рисунок 4.6 - Профиль высвобождения тритерпеновых сапонинов из лекарственного препарата «Седокомб» от времени

Полученные данные свидетельствуют, что наибольшее высвобождение флавоноидов и сапонинов из разработанных ТЖК происходит в буферной среде при pH 8,6, что соответствует pH кишечника.

#### 4.5 Определение показателей качества лекарственного препарата «Седокомб»

На основании изложенных результатов и требований для стандартизации лекарственного препарата «Седокомб» могут быть использованы следующие показатели качества: описание, идентификация, однородность массы единицы

дозированного лекарственного препарата, однородность дозирования (при включении в проект НД показателя «однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата» данный показатель может отсутствовать), распадаемость, микробиологическая чистота, растворение, содержание суммы БАВ.

#### **4.5.1 Описание**

Определение проводят в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС «Капсулы». Визуальное наблюдение поверхности ТЖК с тиксотропной жидкостью: твердые желатиновые капсулы № 0 белого цвета; содержимое капсул – пастообразная масса от зеленовато-коричневого до коричневого цвета.

#### **4.5.2 Качественный анализ флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб» методом тонкослойной хроматографии**

Результаты хроматографического анализа флавоноидов лекарственного препарата «Седокомб» представлены на рисунке 4.7 и в таблице 4.18.

На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживаются следующие зоны адсорбции: зона желтого цвета на уровне зоны СО рутина ( $R_f = 0,64 \pm 0,02$ ), зона желтого на уровне зоны СО гиперозида ( $R_f = 0,58 \pm 0,02$ ), зона синего выше уровня зоны СО рутина ( $R_f = 0,79 \pm 0,02$ ), зона светло-зеленого выше уровня зоны СО рутина ( $R_f = 0,85 \pm 0,02$ ), зона светло-коричневого ниже уровня зоны СО рутина ( $R_f = 0,41 \pm 0,02$ ), зона желтозеленого ниже уровня зоны СО гиперозида ( $R_f = 0,37 \pm 0,02$ ) и зона светло-синего ниже уровня зоны СО рутина ( $R_f = 0,31 \pm 0,02$ ).

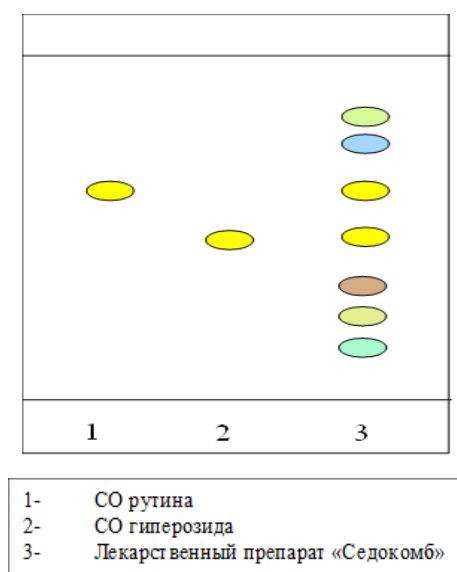


Рисунок 4.7 – Схема хроматограммы определения флавоноидов

Таблица 4.18 – Результаты хроматографического анализа флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб»

№	Название	Rf	Цвет пятна в ультрафиолетовом свете	Идентификация пятна
1	СО Рутина	0,64	Желтое окрашивание	
2	СО гиперозида	0,58	Желтое окрашивание	
3	Лекарственный препарат «Седокомб»	0,31	Светло-синее окрашивание	
		0,38	Желтозеленое окрашивание	
		0,41	Светло-коричневое окрашивание	
		0,58	Желтое окрашивание	Гиперозид
		0,64	Желтое окрашивание	Рутин
		0,78	Синее окрашивание	
		0,85	Светло-зеленое окрашивание	



### 4.5.3 Качественный анализ флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб» спектрофотометрическим методом

УФ-спектр испытуемого раствора (комплекса флавоноидов с алюминия хлоридом) в области от 390 до 430 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(411 \pm 5)$  нм (раздел «Количественное определение»).

Результаты представлены на рисунке 4.8.

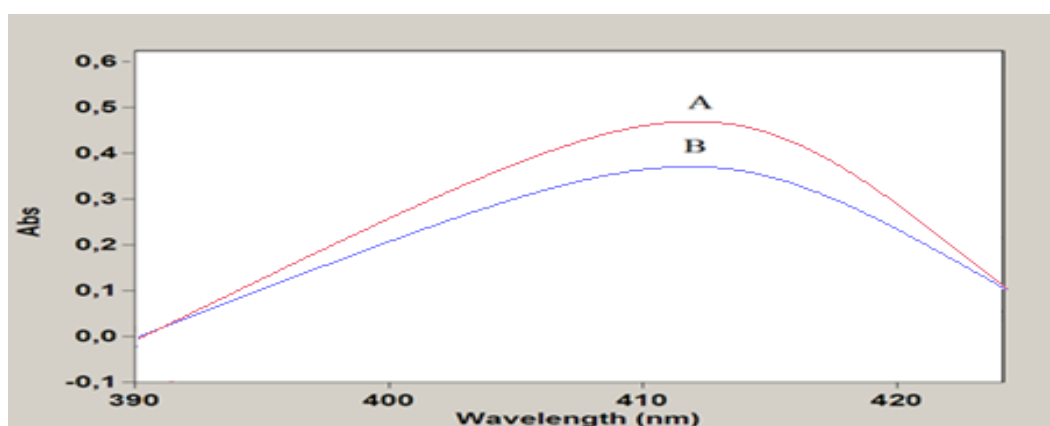
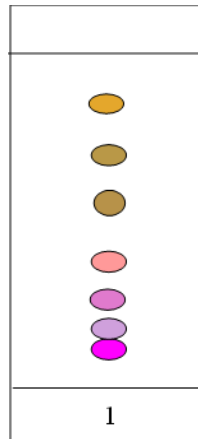


Рисунок 4.8 – Типичные спектры (А) комплекса рутина стандартного раствора Б с  $AlCl_3$  и (В) комплекса флавоноидов испытуемого раствора Б лекарственного препарата «Седокомб» с  $AlCl_3$

### 4.5.4 Качественный анализ сапонинов в лекарственном препарате «Седокомб» методом тонкослойной хроматографии

В ходе хроматографирования в условиях, описанных в главе «Материалы и методы», на хроматограмме было обнаружено 3 зоны адсорбции коричневого цвета ( $R_f = 0,84, 0,75, 0,61 \pm 0,02$ ) и над ними 3 зоны адсорбции розово-фиолетового цвета ( $R_f = 0,55, 0,47, 0,34, 0,31 \pm 0,02$ ). Причём после обработки  $H_2SO_4$  кон. окраска становилась красноватой. Результаты представлены на рисунке 4.9 и в таблице 4.19.



1- Лекарственный препарат «Седокомб»

Рисунок 4.9 - Схема хроматограммы определения сапонинов

Таблица 4.19 – Результаты хроматографического анализа сапонинов в густых экстрактах

Название	Rf	Цвет пятна в ультрафиолетовом свете
Лекарственный препарат «Седокомб»	0,31	Розово-фиолетовое окрашивание
	0,34	
	0,47	
	0,55	
	0,61	Коричневое окрашивание
	0,75	
	0,84	

#### 4.5.5 Качественный анализ сапонинов в лекарственном препарате «Седокомб» спектрофотометрическим методом

УФ-спектр испытуемого раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(282 \pm 2)$  нм (раздел «Количественное определение»). Результаты представлены на рисунке 4.10.

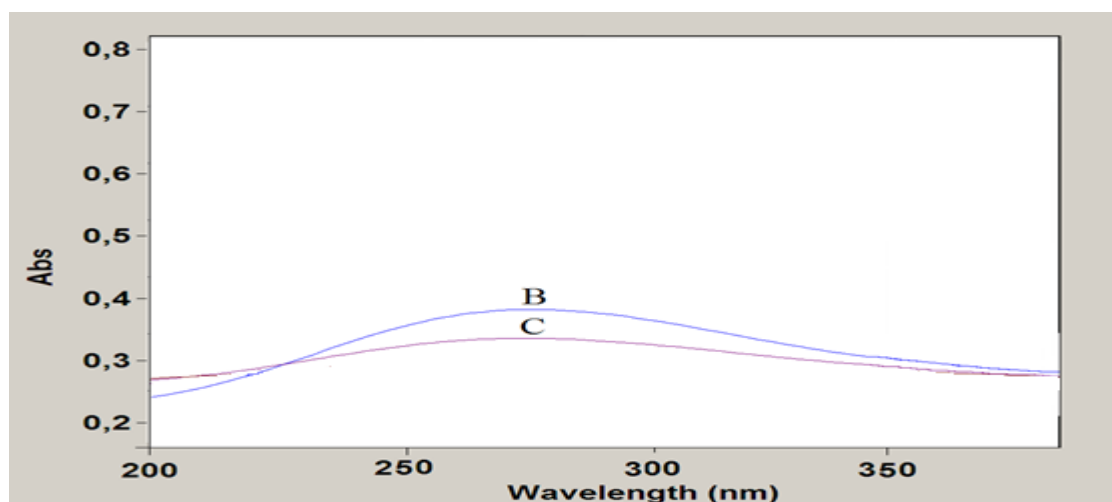


Рисунок 4.10 – Типичные спектры (B) раствора Б стандартного образца  $\beta$ -эсцина, (C) испытуемого раствора Б лекарственного препарата «Седокомб»

#### 4.5.6 Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС и ГФ XV. Результаты представлены в таблице 4.20.

Таблица 4.20 – Средняя масса лекарственного препарата «Седокомб» и отклонение от средней массы

Показатель	F	$\bar{X}$ , мг	S	P, %	t (p, f)	$\Delta\bar{X}$	E, %
Вес капсулы, г	19	0,605	0,22	95	1,96	0,045	0,57

#### 4.5.7 Однородность дозированных единиц

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС и ГФ XV. Было проведено количественное определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин и суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин в 10 капсулах методом УФ-спектрофотометрии при максимумах поглощения, соответствующих для каждого активного компонента. Результаты представлены в таблицах 4.21–22.

Таблица 4.21 – Оценка однородности дозирования методики количественного определения суммы флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб», ( $a_0=25,2$  мг,  $A_0=0,1251$ )

№	$A_1$	$A_2$	$A_3$	$S_{cp.}$	$X$ , мг
1	0,1173	0,1175	0,1175	0,1174	15,4
2	0,1215	0,1217	0,1215	0,1216	16,0
3	0,1179	0,1181	0,1179	0,1180	15,5
4	0,1071	0,1074	0,1072	0,1072	14,7
5	0,1247	0,1249	0,1249	0,1248	16,4
6	0,1268	0,1268	0,127	0,1269	16,7
7	0,1186	0,119	0,1189	0,1188	15,6
8	0,1237	0,1235	0,1238	0,1237	16,3
9	0,1354	0,1355	0,1354	0,1354	17,3
10	0,1257	0,1258	0,1255	0,1257	16,5
Среднее значение ( $X$ ), %					16,0
Дисперсия, $S^2$					0,57
Коэффициент вариации, $S\delta\%$					4,70

Таблица 4.22 – Оценка однородности дозирования методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в лекарственном препарате «Седокомб», ( $a_0 = 65,7$  мг,  $A_0 = 0,1769$ )

№	$A_1$	$A_2$	$A_3$	$S_{cp}$	$X$ , мг
1	0,1768	0,1768	0,177	0,1769	64,3
2	0,1638	0,164	0,164	0,1639	64,9
3	0,1874	0,1871	0,1871	0,1872	68,1
4	0,1714	0,1715	0,1714	0,1714	65,0
5	0,1801	0,1805	0,1801	0,1802	65,5
6	0,1817	0,1819	0,1819	0,1818	67,2
7	0,1751	0,1752	0,1751	0,1751	63,7
8	0,1727	0,1726	0,1726	0,1726	62,8
9	0,1745	0,1745	0,1746	0,1745	63,4
10	0,1825	0,1824	0,1824	0,1824	66,3
Среднее значение ( $X$ ), %					65,1
Дисперсия, $S^2$					2,86
Коэффициент вариации, $S\sigma\%$					2,60

Как видно из представленных результатов, однородность дозирования равна  $AV = 3,3$  для суммы флавоноидов и  $4,5$  для суммы тритерпеновых сапонинов, что удовлетворяет требованиям ГФ XV и ФЕАЭС.

#### 4.5.8 Распадаемость твердых желатиновых капсул

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС и ГФ XV. Условия проведения анализа представлены в Главе 2. Полученные результаты анализа показали, что распадаемость ТЖК составляет 9–11 минут, что соответствует фармакопейным требованиям [205, 206].

#### 4.5.9 Определение микробиологической чистоты

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС и ГФ XV. Результаты исследования представлены в таблице 4.23.

Таблица 4.23 - Результаты изучения микробиологической чистоты

Наименование Микроорганизмов	Нормы	Результаты
Общее число аэробных микроорганизмов	Не более $10^4$ КОЕ	Менее $10^3$ КОЕ
Общее число дрожжевых и плесневых грибов	Не более $10^2$ КОЕ	Менее $10^2$ КОЕ
Энтеробактерий, устойчивых к желчи	Не более $10^2$ КОЕ	Менее $10^2$ КОЕ
<i>Escherichia coli</i>	Отсутствуют	Отсутствуют
<i>Salmonella spp.</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>		

Как видно из представленных результатов, разработанный лекарственный препарат «Седокомб» соответствует требованиям ГФ XV и ФЕАЭС. Аналогичные результаты исследования микробиологической чистоты получены и при хранении через 0, 3, 6, 12, 18, 24 и 25 мес.

#### 4.5.10 Количественное определение биологических активных веществ в лекарственном препарате «Седокомб» спектрофотометрическим методом

##### Количественное определение суммы флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб»

Содержание суммы флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб» в пересчёте на рутин методом УФ-ВИД составляет  $17,3 \pm 1,2$  мг на одну капсулу. Валидационные характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в лекарственном препарате «Седокомб» в пересчете на рутин представлены в таблице 4.24.

Таблица 4.24 – Валидационные характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов

Характеристика	Значение
Правильность	Открываемость методики 99,3% Коэффициент вариации от -1,10% до 1,15%
Сходимость	Коэффициент вариации от -1,18% до 1,46%
Воспроизводимость	Коэффициент вариации от -1,18% до 1,46%
Минимальное значение, %	20,5
Максимальное значение, %	16,1
Среднее значение, %	17,3
Значение доверительного интервала (P=95 %), %	$17,3 \pm 1,2$ 20,5 – 16,1
Уравнение линейности	$Y=21,51 X - 0,016$
$R^2$	0,9981

### **Количественное определение суммы тритерпеновых сапонинов в лекарственном препарате «Седокомб»**

В ходе исследований установлено, что содержание суммы тритерпеновых сапонинов в капсуле с тиксотропной жидкостью в пересчёте на  $\beta$ -эсцин составляет  $67,5 \pm 2,4$  мг на одну капсулу. Валидационные характеристики методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в лекарственном препарате «Седокомб» в пересчете на  $\beta$ -эсцин представлены в таблице 4.25.

Таблица 4.25 – Валидационные характеристики методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов

Характеристика	Значение
Правильность	Открываемость методики 99,1% Коэффициент вариации от -1,14% до 1,27%
Сходимость	Коэффициент вариации от -1,24% до 1,51%
Воспроизводимость	Коэффициент вариации от -1,24% до 1,51%
Минимальное значение, %	69,9
Максимальное значение, %	65,1
Среднее значение, %	67,5
Значение доверительного интервала (P=95 %), %	$67,5 \pm 2,4$ 65,1 – 69,9
Уравнение линейности	$Y=17,274 X - 0,058$
$R^2$	0,9901

#### **4.6 Установление срока годности - исследование стабильности**

Испытание проводят в соответствии с требованиями International Council for Harmonisation: ICH, нормативными документами РФ, ФЕАЭС, ГФ XV и Руководства ICH Q8 «Фармацевтическая разработка», регламентирующими требования по стабильности [222, 223, 248, 249]. Стабильность лекарственного



препарата «Седокомб» (ТЖК с капсульной массой, соответствующей составам № 5 и 6 (Таблица 4.5) оценивали в течение 24 месяцев в условиях окружающей среды (при температуре  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  и влажности  $60\pm 2\%$ ). В каждой контрольной точке (после 3, 6, 9, 12, 18, 24 и 25 месяцев) были проведены испытания по всем показателям: описание, идентификация, однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата, однородность дозированных единиц, распадаемость, растворение, микробиологическая чистота и количественное содержание суммы БАВ. Для установления срока годности ТЖК с тиксотропной жидкостью в упаковке (контурная ячейковая упаковка), исследовалась стабильность в процессе хранения в естественных условиях. Исследование стабильности методом «ускоренного старения» для лекарственных растительных средств согласно требованиям желательно не использовать, поскольку многие БАВ растительного происхождения не стабильны при повышенных температурах, соответственно комплекс БАВ растительных средств при воздействии температур не будет сохранять свой исходный состав. Стабильность определялась по показателям качества, установленным ранее и предложенным в проект НД (приложение Г). Результаты изучения стабильности при хранении представлены в приложениях М и Н.

По результатам, разработанный лекарственный препарат «Седокомб» без консерванта и с консервантом в составе соответствует установленным требованиям по всем исследованным показателям качества, что свидетельствует об его стабильности при хранении в условиях комнатной температуры в контурной ячейковой упаковке и позволяет установить срок годности в течение 24 месяцев.

Проведенные исследования позволяют исключить из состава консервант ( $\alpha$ -Tocopherol), поскольку состав разработанной тиксотропной жидкости на основе твердого жира сохраняет стабильность без консерванта.

Таким образом, в результате проведенного комплекса исследований предложены показатели качества лекарственного препарата «Седокомб». Результаты представлены в таблице 4.26.

Таблица 4.26 – Спецификация показателей качества лекарственного препарата «Седокомб»

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний
Описание	Твердые капсулы № 0 коричневого цвета, содержимое капсул – пастообразная масса от желто-коричневого до коричневого цвета.	Визуальный ГФ, ОФС «Капсулы»
<b>Идентификация</b>  Флавоноиды           Сапонины           Флавоноиды	На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина и СО гиперозида а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение других зон адсорбции.  На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.  УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $(411 \pm 5)$ нм (раздел «Количественное	ТСХ ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ ОФС «Тонкослойная хроматография»           УФ- спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»

Продолжение таблицы 4.26

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний
Сапонины	определение). УФ-спектр испытуемого раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $(282 \pm 2)$ нм.	
<b>Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата</b>	От 559,7 мг до 650,3 мг $(605,0 \text{ мг} \pm 7,5 \%)$ 18/20 капсул - не более $\pm 7,5 \%$ ; 2/20 капсул - не более $\pm 15 \%$	ФЕАЭС, 2.1.9.5. или ГФ ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм»
<b>Однородность дозирования</b>  Флавоноиды Сапонины	$AV \leq 15$ $AV \leq 15$	ФЕАЭС 2.1.9.14 или ГФ ОФС. «Однородность дозирования»
<b>Распадаемость таблеток и капсул</b>	Капсулы должны полностью распадаться в воде за 15 минут.	ФЕАЭС, 2.1.9.1. или ГФ, ОФС «Распадаемость таблеток и капсул»
<b>Испытание на растворение для твердых дозированных лекарственных форм</b>  Флавоноиды Сапонины	Не менее 75% в течение 30 мин	ФЕАЭС, 2.1.9.1. или ГФ, ОФС. «Растворение»
<b>Микробиологическая чистота</b>	Категория ЗБ	ФЕАЭС, 2.1.6.6., 2.1.6.7, 2.3.1.2. или ГФ, ОФС

Продолжение таблицы 4.26

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний
		«Микробиологическая чистота» Чашечный агаровый метод
<p><b>Количественное определение</b></p> <p>Флавоноиды</p> <p>Сапонины</p>	<p>Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 15 мг в одной капсуле.</p> <p>Содержание суммы сапонинов в пересчете на <math>\beta</math>-эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 65 мг в одной капсуле.</p>	<p>Спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС</p> <p>«Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»</p>

Разработанный проект спецификации включает все необходимые показатели для проведения контроля качества ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе комбинированного густого экстракта и будет положен в основу проекта Фармакопейной статьи для данного вида лекарственных средств.

Таким образом, была разработана технология получения ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе КГЭ; проведена их стандартизация и установлен срок годности – 2 года.

В НОРЦ «Фармация» РУДН проведены доклинические исследования разработанных ТЖК «Седокомб» (Доклиническое исследование седативного действия лекарственного препарата «Седокомб»). На модели «Приподнятый крестообразный лабиринт» проведено исследование седативной активности, а также изучена безопасность разработанного препарата «Седокомб» *in vivo* на лабораторных животных (крысы). Показано, что разработанный препарат

проявляет седативную активность и не вызывает токсических явлений при применении в течение месяца.

Периферическая кровь крыс всех экспериментальных групп после 30-дневного введения испытуемого препарата по своему количественному и качественному составу соответствовала видовой физиологической норме. Результаты исследования показали, что изучаемый препарат в испытанной дозе не оказывают резко негативного влияния на основные биохимические показатели крови и активность ферментов плазмы крови. По результатам гистологического исследования ежедневное внутривентрикулярное применение изучаемого препарата в течение 30 дней крысам не вызывает деструкции тканей. При пероральном введении исследуемого препарата не было зарегистрировано признаков местно-воспалительной реакции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и местно-раздражающего действия (Приложение А-Б).

#### **ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4**

1. Изучены технологические свойства КГЭ с целью дальнейшей разработки лекарственной формы. Определена оптимальная комбинация твёрдого жира и КГЭ в соотношении 1:2, которая обеспечивает необходимую консистенцию массы и однородность дозирования капсулы.

2. Разработан состав и технология получения ТЖК на основе комплексного растительного экстракта, включающего экстракты синюхи голубой, боярышника и пустырника; предложена технологическая схема; подготовлен лабораторный регламент на получение лекарственного препарата «Седокомб».

3. Обоснованы показатели и нормы качества лекарственного препарата «Седокомб». Разработаны методики качественного и количественного определения основных действующих веществ (содержания суммы флавоноидов и тритерпеновых сапонинов). По результатам исследований разработан проект

нормативного документа по качественному и количественному химическому составу (приложении Г).

4. Проведены исследования стабильности лекарственного препарата «Седокомб» в процессе хранения в естественных условиях по всем предложенным показателям качества. Установлен срок годности разработанных ТЖК в блистер (контурной ячейковой упаковке) - 24 месяца.

5. В НОРЦ «Фармация» РУДН проведены доклинические исследования разработанных ТЖК «Седокомб». Изучены седативная активность и безопасность разработанного препарата «Седокомб» *in vivo* на лабораторных животных (крысы). Показано, что разработанный препарат проявляет седативную активность и не вызывает токсических явлений при применении в течение месяца.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведен анализ поисково-информационных данных, необходимых для создания КГЭ из травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой; получения ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе КГЭ.

2. Изучен химический состав ГЭ травы синюхи голубой, ГЭ травы пустырника, ГЭ плодов боярышника и КГЭ. Методом АЭС-ИСП установлено содержание микро- и макроэлементов: железа, калия, кальция, магния и марганца; методом ГХ-МС определено преобладающее содержание токоферолов и стеринов; методом ВЭЖХ-МС подтверждено содержание флавоноидов (преимущественно флавонолгликозиды и флавоногликозиды); сапонинов; иридоидов (гарпагид, вербаскозид и др.); оксикоричных кислот.

3. Разработаны спектрофотометрические методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин и на гиперозид в ГЭ травы пустырника, ГЭ травы синюхи голубой и КГЭ; и количественного определения суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин в ГЭ травы синюхи голубой и в КГЭ. Проведена валидация разработанных методик. Относительная ошибка определения суммы флавоноидов и суммы сапонинов не превышает 5 %. Проведена стандартизация густых экстрактов и установлены показатели, необходимые для проведения контроля качества густых экстрактов согласно ГФ РФ XV и ФЕАЭС. Разработаны проекты НД по качеству на все исследуемые густые экстракты.

4. Изучены технологические свойства КГЭ с целью дальнейшей разработки лекарственной формы. Определена оптимальная комбинация твёрдого жира и КГЭ в соотношении 1:2, которая обеспечивает необходимую консистенцию массы и однородность дозирования капсулы. Разработан состав и технология получения ТЖК на основе КГЭ, включающего ГЭ синюхи голубой, ГЭ боярышника и ГЭ пустырника; предложена технологическая схема; подготовлен лабораторный регламент на получение лекарственного препарата «Седокомб».

5. Проведена стандартизация и разработан проект НД для лекарственного препарата «Седокомб» в лекарственной форме ТЖК. Изучена стабильность разработанного лекарственного препарата в процессе хранения в естественных условиях по всем предложенным показателям качества и установлен срок годности 2 года. В НОРЦ «Фармация» РУДН подтверждена седативная активность разработанного КГЭ и ТЖК с тиксотропной жидкостью на его основе, доказана безопасность применения разработанного препарата «Седокомб» в экспериментах *in vivo* на лабораторных животных.



## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В результате проведённых исследований изучены густые экстракты плодов боярышника, травы пустырника и травы синюхи голубой, а также их комбинация; полученные данные экспериментальных исследований положены в основу разработанных проектов НД по качеству на указанные густые экстракты. Проведена разработка и стандартизация лекарственного препарата «Седокомб» в лекарственной форме – ТЖК с тиксотропной жидкостью, подтверждена седативная активность. Разработаны лабораторный регламент и проект НД по качеству для ТЖК «Седокомб». Изучены условия хранения лекарственного препарата «Седокомб», установлен срок годности (2 года).

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Результаты исследования расширяют знания о перспективности ГЭ плодов боярышника, ГЭ травы пустырника и ГЭ травы синюхи голубой, как ЛС растительного происхождения и их возможного использования самостоятельно и в комбинации. На основе КГЭ разработан лекарственный препарат седативного действия «Седокомб» (ТЖК с тиксотропной жидкостью), который можно рекомендовать к дальнейшему исследованию и внедрению в медицинскую и фармацевтическую практику. Разработанные в ходе исследований подходы к получению и стандартизации ЛС могут быть использованы в учебном процессе по курсу «Фармакогнозия» и «Технология получения лекарств» для высших учебных заведений, а также могут быть представлены на семинарах по дополнительному профессиональному образованию фармацевтических работников.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Полученные в ходе диссертационного исследования данные планируется использовать в дальнейшем для проведения доклинических и клинических исследований с целью внедрения разработанного лекарственного препарата - ТЖК с тиксотропной жидкостью на основе КГЭ Седокомб в медицинскую и фармацевтическую практику. Разработанные подходы к технологии ТЖК с тиксотропной жидкостью будут использованы в курсе промышленной фармации для студентов фармацевтических факультетов и отделений.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЛРС – лекарственное растительное сырьё

ЛС – лекарственное средство

БАВ – биологически активные вещества

БАД – биологически активная добавка к пище

НД – нормативная документация

ГФ РФ – государственная фармакопея российской федерации

ВР – British pharmacopoeia

ЕР – European pharmacopoeia

USP – United states pharmacopoeia

ОФС – общая фармакопейная статья

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГХ – газовая хроматография

ТСХ – тонкослойная хроматография

ПИД – пламенно-ионизационный детектор

МС – масс-спектрометрия

ИЭР – электрораспылительная ионизация

ИЭ – ионизация электризации

QQQ – масс-спектрометрический детектор типа «тройной квадруполь»

АЭС-ИСП – эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

ЭТААС – атомно - абсорбционная спектрометрия с пламенной и электротермической атомизацией

МВ/печь – микроволновая печь

ПФ – подвижная фаза

СО – стандартный образец

SD – стандартное отклонение

CV – коэффициент вариации

ТЖК – твердая желатиновая капсула

КГЭ – комбинированный густой экстракт

ГЭ – густой экстракт

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Превентивная медицина: рынок БАВ в России и за рубежом. Конвенциональная vs традиционная медицина и COVID-19. – ИЦ Хелснет. – 2020. – С.108. URL: [https://npbio.ru/attachments/article/217/COVID\\_2020.pdf](https://npbio.ru/attachments/article/217/COVID_2020.pdf). Дата публикации: 21.07.2020. Режим доступа: для всех пользователей.
2. Cowan, M. M. Plant products as antimicrobial agents / M. M. Cowan // *Clinical microbiology reviews*. – 1999. – Vol. 12. – № 4. – P. 564-582.
3. Парфенова, Е.В. Инсомния и когнитивно-поведенческая терапия при хронической боли в спине / Е.В. Парфенова // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. – 2020. – Т. 12. – №. 4. – С. 119–124.
4. Сидельников, Н.И. Лекарственные растения и их значение / Н.И. Сидельников // *Научно – производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры»*. – 2013. – Vol. 2(6). – P. 141–147.
5. Sahoo, N. Herbal drugs: standards and regulation / N. Sahoo, P. Manchikanti, S. Dey // *Fitoterapia*. – 2010. – Vol. 81. – P. 462–471.
6. Geppert, B. Pharmacological evaluation of medicinal plant preparations for sedative action / B. Geppert, J. Iwaszkiewicz // *Herba Pol.* – 1985. – Vol. 31.- P. 67–75.
7. Найда, Н.М. Особенности онтогенеза *Polemonium caeruleum* в Ленинградской области / Н.М. Найда // *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета*. – 2022.– № 2 (67). – С. 16–28.
8. Датхаев, У.М. Наличие седативного свойства пустырник / М.У. Датхаев, Э.Н. Капсалямова, Э.И. Елеуова // *Научно-практический медицинский журнал Вестник КазНМУ*. – 2014. –№1.– С. 339–341.
9. Morin, C. M. Chronic insomnia / C.M. Morin, R. Benca // *The Lancet*. – 2012. – Vol. 379. – № 9821. – P. 1129-1141.
10. Epidemiology of insomnia, depression, and anxiety / D.J. Taylor, K. L. Lichstein, H.H. Durrence, [et al.] // *Sleep*. –2005. – Vol. 28(11). – P.1457-1464.

11. Insomnia in shift work / A. Vallières, A. Azaiez, V. Moreau, [et al.] // *Sleep medicine*. – 2014. – Vol. 15 – №12.– P. 1440-1448.
12. Mason, E.C. Insomnia before and after treatment for anxiety and depression / E.C. Mason, A.G. Harvey // *Journal of affective disorders*. – 2014. – Vol. 168. – P. 415-421.
13. Krystal, A.D. Review of the histamine system and the clinical effects of H1 antagonists: basis for a new model for understanding the effects of insomnia medications / A.D. Krystal, E. Richelson, T. Roth // *Sleep medicine reviews*. – 2013.– Vol. 17 – № 4. – P. 263-272.
14. Benzodiazepines: uses, dangers, and clinical considerations /A.N. Edinoff, C.A Nix, J. Hollier, [et al.] // *Neurology international*. – 2021.– Vol. 13– №4.– P. 594-607.
15. Levine, I. Sleep and Behaviour. 3rd International Meeting on sleep disorders // I. Levine / Bordeaux. – 1997.– Vol. 1. P. 40–41.
16. Swift, C.G. Disorders, quality of life and use of gipnotik agents. Sleep Disorders and Insomnia in the Elderly / C.G. Swift // *Facts and Reserch in Gerontology*. – 1993. – Vol. 2 – P. 165 –175.
17. Kucharczyk, E.R. The occupational impact of sleep quality and insomnia symptoms / E.R. Kucharczyk, K. Morgan, A.P. Hall // *Sleep medicine reviews*. – 2012. – Vol. 16. – № 6. – P 547-559.
18. Plant extracts for sleep disturbances: A systematic review / S. Guadagna, S. Guadagna, D.F Barattini 1, S. Rosu, [et al.] // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. –2020. – Vol. 1.– P. 1–9.
18. Brewster, G.S. Insomnia in the Older Adult. Sleep / G.S. Brewster, B. Riegel, P.R. Gehrman // *Med. Clin*. – 2018. Vol. 12.– P. 13–19.
19. Impaired Sleep. / G.E. Dean, C. Weiss, J.L. Morris, [et al.] // *Nurs. Clin.N.Am*. – 2017.–Vol.5. P. 387–404.
20. Государственный Реестр лекарственных средств РФ : официальное издание : по состоянию на 22 января 2024 года / М-во здравоохранения Рос.Федерации. –

Текст : электронный. – URL: Режим доступа: [www.grls.rosminzdrav.ru](http://www.grls.rosminzdrav.ru) (дата обращения: 22.01.2024 г.).

21. Государственный Реестр свидетельств на сайте Евразийской Экономической Комиссии – Текст : электронный. – URL: Режим доступа: [https://portal.eaeunion.org/sites/odata/\\_layouts](https://portal.eaeunion.org/sites/odata/_layouts) (дата обращения: 15.08.2023 г.).

22. Цвелёв, Н.Н. О русских названиях семейств покрытосеменных растений /Н.Н. Цвелёв // Новости сист. высш. раст. – 2011.– Т. 42 – С. 24–29.

23. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – В 4 – х тт.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 31 октября 2018 г. №749. – Москва, 2018. – ФС.2.5.0061.18 боярышник плодов – Текст: непосредственный.

24. Differential inhibition of oxidized LDL-induced apoptosis in human endothelial cells treated with different flavonoids / Y.J. Jeong, Y.J. Choi, H.M. Kwon, [et al.] // Br. J. Nutr. –2005.– Vol. 93. – P. 581-591.

25. Куркин, В.А. Фармакогнозия. Учебник для студентов фармацевтических вузов. / В.А. Куркин; – Самара: ООО «Офорт» СамГМУ, 2016. –1279 с. : ил.; ISBN 978-5-473-00307-9. – Текст : непосредственный.

26. Hawthorn (*Crataegus* spp.) fruit: some physical and chemical properties / M. Özcan, H. Nacişeferoğullar, T. Marakoğlu, [et al.] //Journal of Food Engineering. – 2005. – Vol. 69. – № 4.– P. 409-413.

27. Mironeasa, S. Physico-chemical characteristics, antioxidant activity and mineral content of hawthorn fruits from Suceava County /S. Mironeasa, E.S. Todosi, I. Madalina // Food and Environment Safety Journal. – 2016. – Vol. 15.– № 2.– P. 108-116.

28. Liu, P. Phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus grayana*) fruits and leaves and changes during fruit ripening /P. Liu, H. Kallio, B. Yang // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2011.– Vol. 59.– № 20.– P. 11141-11149.

29. Морозова, Т.В. Фармакогностическое исследование некоторых видов рода Боярышник (*Crataegus* L.: специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата



фармацевтических наук / Морозова, Татьяна Владимировна; федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет». – Самара, 2019. – 157 с. – Текст : непосредственный

30. Paranov, G. 19-hydroxygaleopsin, a labdane diterpenoid from *Leonurus cardiaca* / G. Paranov, P. Malakov, K. Tomova // *Phytochemistry*. –1998. – Vol. 47– P. 139-141.
31. Парфенов, А.А. Аминокислоты травы пустырника пятилопастного – Фармация / А.А. Парфенов, Н.С. Фурса // Научная библиотека ДГМУ. –2007.– Т. 7.– С. 6–7.
32. Bird, G.W. Anti-Cad lectin from the seeds of *Leonurus cardiaca* / G.W. Bird, J. Wingham // *Clin. Lab.* –1979. – Vol. 1(1). – P. 57-59.
33. Экспериментальное и клиническое изучение влияния препарата иридол на центральную нервную систему / В.Г. Макаров, А.Е. Александрова, А.Н. Шиков, [и др.] // *Экспр. и клин. Фарм.*– 2006. – Vol. 69. С. 23–25.
34. Маевский, П.Ф. Флора средней полосы европейской части России / П.Ф. Маевский; – Москва: М.Т-во научных изданий КМК, 2006. – 43 с.: ил.; ISBN 978-5-87317-958-9. – Текст: непосредственный
35. Standardization parameters of modified extracts from *leonurus cardiaca* herb/ Y.A. Romanenko, O. Koshovyi, T. Ilyina, [et al.] // *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. – 2019. – № 1(17). – P 17-23.
36. Pak, J. N. Diabetes rat model of kidney nephrotoxicity / J.N. Pak // *Экспр. и клин. Фарм.* –2009.– Vol. 8. – P. 745-754.
37. Extraction of iridoid glycosides from motherwort grass using various solvents / V.M. Kosman, O.N. Pozharitskaya, A.N. Shikov, [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2002. – Vol. 36. – P. 42-45.
38. *Leonurus cardiaca* L. herb extracts and their constituents promote lactoperoxidase activity / J. Flemmig, I. Noetzel, J. Arnhold, [et al.] // *journal of functional foods*. – 2015. – Vol 17. – P. 328-339.

39. Methodological Approaches to Regional Ecological and Pharmacognostic Quality Assessment of Herbal Medicinal Raw Materials Using Voronezh Region as an Example / N.A. Dyakova, A.I. Slivkin, E.E. Chupandina, [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2023. – Vol. 57. – № 4. – P. 559-564.
40. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – В 4 – х тт.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 31 октября 2018 г. №749. – Москва, 2018. – ФС.2.5.0039.15 Синюхи голубой корневища с корнями – Текст: непосредственный.
41. Porter, J. M. A phylogenetic classification of Polemoniaceae / J.M. Porter, L.A. Johnson // *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*. – 2000. – Vol. 19. – № 1. – P. 55-91.
42. Нго Зиэп, Т.Т. Разработка методики количественного определения суммарного содержания флавоноидов в траве пустырника спектрофотометрическим методом / Т.Т. Нго Зиэп, Е.В. Жохова // *Химия растительного сырья*. – 2007. – Т. 4. – С. 73–77.
43. Phytochemistry and biological activities of *Polemonium caeruleum* L / G. Laska, E. Sieniawska, L. Swiatek, [et al.] // *Phytochemistry Letters*. – 2019. – Vol. 30. – P. 314-323.
44. Pigott, C.D. *Polemonium Caeruleum* L / C.D. Pigott // *Journal of Ecology*. – 1958. – Vol. 46. – № 2. – P. 507-525.
45. Zych, M. Reproductive biology of the Red List species *Polemonium caeruleum* (Polemoniaceae) / M. Zych, M. Stpiczyńska, K. Roguz // *Botanical Journal of the Linnean Society*. – 2013. – Vol. 173. – № 1. – P. 92-107.
46. Saponins extracted from *Polemonium caeruleum* have adjuvant activity in guinea pig intranasal immunization with trivalent influenza antigens / V.A. Evseenko, A.S. Gudymo, N.V. Danilchenko, [et al.] // *Frontiers Drug Chemistry Clinical Res.* – 2020. – Vol. 3. – P. 1-5.

47. Screening for biomorphological and cytogenetic features of polemonium caeruleum L. After colchicine application / F.M. Khazieva, I. Basalaeva, E. Konyaeva, [et al.] // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2023.– Vol.15.– № 2. – P. 139-162.
48. Morphological analysis of Polemonium Coeruleum L. herb using stereo-and luminescent microscopy / A.S. Chistyakova, G.Yu. Shestakova, A.A. Gudkova, [et al.] // Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya. – 2023. – Vol. 23. – № 3.– P. 34-38.
49. Wherry, E.T. The genus Polemonium in America / E.T. Wherry // The American Midland Naturalist. – 1942. – Vol. 27. – № 3. – P. 741-760.
50. Torikov, V. E. The peculiarities of cultivation and the element composition of Greek-Valerian polemonium (Polemonium caeruleum L.) / V.E. Torikov // Perm Agrarian Journal. – 2017. – Vol. 18. – № 2, – P. 120-125.
51. Medicinal plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications / A.N. Shikov, O.N. Pozharitskaya, V.G. Makarov, [et al.] // Journal of ethnopharmacology. – 2014. – Vol. 154(3). – P. 481-536.
52. Hiller, K. Inhibitory activity of Polemonium saponin against fungi / K. Hiller, A. Paulict, E. Friendrich // Pharmazie. – 1981. – Vol. 36. – P. 133-134.
53. Hiller, K. Über die saponine von Polemonium coeruleum L. / K. Hiller // Pharmazie. – 1979. – № 9. – P. 565-566.
54. Бухаров, В. Г. Строение углеводных цепей полемониозида / В.Г. Бухаров, Л.Н. Карнеева, В.А. Талан // Химия природ, соединений. – 1969. – Т. 6. – С. 511–515.
55. Бухаров, В.Г. Исследование гликозидов Polemonium coeruleum / В.Г. Бухаров, В.А. Шайхутдинов, Л.Н. Карнеева // Химия природ, соединений. – 1974 – Т. 6. – С. 498-504.
56. Бухаров, В.Г. Некоторые данные о строении Генина-гликозида Polemonium coeruleum / В.Г. Бухаров, Л.Н. Карнеева, В.А. Талан // Химия природ, соединений. – 1969. -Т. 5. – С. 452–453.

57. Quantitative determination of total triterpenoid saponins in *Polemonium caeruleum* rhizomes and roots / Y.A. Golyak, O.M. Khishova, N.V. Dubashinskaya, [et al.] // *Pharmaceutical chemistry journal*. – 2008. – Vol. 42. – № 8. – С. 456-459.
58. Филькин, А.М. Синюха лазурная (Историко-литературная справка) / А.М. Филькин // *Аптечное дело*. – 1952. – Т. 6. – С. 21–25.
59. The herb great valerian (*polemonium caeruleum*) is a promising source of triterpene saponins / A.A. Maltseva, A.A. Sorokina, T.A. Brezhneva, [et al.] // *Farmatsiya*. – 2011. – Vol 7. – P. 31–36.
60. Feulner, M. Introgression and morphological variability in the Jacob's Ladder, *Polemonium caeruleum* L. in Northern Bavaria, Germany/ M. Feulner, B. Moeseler, W. Nezdal // *Feddes Repertorium*. –2001. Vol.112. – P. 231–246.
61. Kurochkina, N.Yu. Peculiarities of morphogenesis of *Polemonium caeruleum* L. in vitro and in vivo / N.Yu. Kurochkina// *Rastitel'nye Resursy*. –2001. – Vol. 37. P. 31-39.
62. Бугрим, Н.А. Сапонины корней синюхи обыкновенной / Н.А. Бугрим, С.А. Носовицкая // *Аптечное дело*. – 1953. – Т. 2. С. 45–47.
63. Попов, А.И. Element analysis of leaves of *Polemonium caeruleum* L / A. I. Popov // *Rastitel'nye Resursy*. –1993. – Vol. 29. P. 87-91.
64. Saponins of *polemonium-caeruleum* L./ K. Hiller, A. Paulick, H. Dohnert, [et al.] // *Die Pharmazie*. –1979. – Vol. 34. – P. 565-566.
65. New ester saponine from *Polemonium caeruleum* / A.M. Reznicek, J. Jurenitsch, W. Kubelka, [et al.] // *Ianta Medica*. –1993. –Vol. 12. – P. 7-12.
66. Agro-Morphological and Cytogenetic Characterization of Colchicine-Induced Tetraploid Plants of *Polemonium caeruleum* L. (*Polemoniaceae*)/ T.E. Samatadze, O. Y. Yurkevich, F.M. Khazieva// *Plants*. –2022. –Vol. 11(19). – P. 1-17.
67. Myslennikov, P.V. The content of phenolic compounds in medicinal plants of a botanical garden–*Biol* / P.V. Myslennikov, G.N. Chupakhina, L.N. Skrypnik // *Bull*. – 2014. –Vol. 41. – P. 133–138.

68. Bukharov, V.G. An investigation of the glycosides of *Polemonium caeruleum* / V.G. Bukharov, V.A. Shaikhutidoniv, L.N. Karneeva // *Prir Soedin.* –1969. – Vol. 5.– P. 498–501.
69. Hiller, K. Saponins of *Polemonium caeruleum* L. / K. Hiller, A. Paulick, H.P. Doehnert // *Pharmazie.* – 1979. – Vol. 34.– P. 565–566.
70. Chemical examination of *Polemonium caeruleum* L. / R. Tandon, G.K. Jain, P. Raghwendra, [et al.] // *Indian J. Chem.* – 1981.– Vol. 1. – P. 115–118.
71. Aurada, E. Structure of triterpene-sapogenins from *Polemonium caeruleum* L. / E. Aurada, J. Jurenitsch, W. Kubelka // *Sci. Pharm.*– 1982.– Vol. 50.– P. 331–350.
72. Monoesters of barrigenol R1, barringtonol C, camelliagenin E and theasapogenol A with short-chain carboxylic acids: assignment of the 21- and 22-proton NMR signals / J. Jurenitsch, E. Aurada, W. Robien, [et al.] // *Sci. Pharm.* –1998. –Vol. 52.– P. 141–146.
73. *Polemonium caeruleum* L.: the main saponins of lower polarity / G. Reznicek, H. Schroder, M. Schubert, T. Schopke // *Pharmazie.* – 1994.– Vol. 49. – P. 58–61.
74. Izuchenie flavonoidnogo sostava shish-kojagod mozhzhevel'nika dlinnohvojnogo / E.T. Zhiljakova, D.I. Pisarev, O.O. Novikov, [et al.] // *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny.* – 2010. – Vol. 12.– P. 657-660.
75. Antihyperglycaemic and protective effects of flavonoids on streptozotocininduced diabetic rats / A.P. Rauter, A. Martins, C. Borges, [et al.] // *Phytother Res.* – 2010. –Vol. 8. – P. 133–138.
76. Batra, P. Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives / P. Batra, A.K. Sharma // *3 Biotech.* – 2013. – Vol. 3. – P. 439-459.
77. Hernández-Rodríguez, P. Flavonoids: Potential therapeutic agents by their antioxidant capacity / P. Hernández-Rodríguez, L.P. Baquero, H. R. Larrota // *Bioactive compounds.* –2019. –Vol. 5. – P. 265-288.

78. Naringenin, a flavanone with antiviral and anti-inflammatory effects: A promising treatment strategy against COVID-19 / H. Tutunchi, N. Fatemeh, O. Alireza, [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2020. – Vol. 34. – № 12. – P. 3137-3147.
79. Barbosa, A. D. An overview on the biological and pharmacological activities of saponins (review of literature) / A. D. Barbosa // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. – 2014. – Vol. 6. – № 8. – P. 47-50.
80. Liu, J. Effects of bioactive compounds and pharmacological activities in medicinal fruits and vegetables by thermal processing / J. Liu, Y. Liu, X. Wang // *Journal of Future Foods*. – 2023. – Vol. 3(3). – P. 252-262.
81. Saponins: Extraction, bio-medicinal properties, and way forward to anti-viral representatives / P. Sharma, A. Tyagi, P. Bhansali, [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2021. – Vol. 150. – P. 112-115.
82. Jayalakshmi, R. Cardioprotective effect of tincture of *Crataegus* isoproterenol-induced myocardial infarction in rats / R. Jayalakshmi, S.N. Devaraj // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2004. – Vol. 5. – P. 921-926.
83. Jayalakshmi, R. Pretreatment with alcoholic extract of shape *Crataegus oxycantha* (AEC) activates mitochondrial protection during isoproterenol-induced myocardial infarction in rats / R. Jayalakshmi, C.J. Thirupurasundari, S.N. Devaraj // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2006. – Vol. 15. – P. 59-67.
84. Кароматов, И.Д. Химический состав и лечебные свойства боярышника / И.Д. Кароматов, Н.А. Жалилов // *Научный журнал «Биология и интегративная медицина»*. – 2019. – Т. 109. – С. 141–145.
85. Alsaif, M.A. Beneficial Effects of Rutin and Vitamin C Coadministration in a Streptozotocin-Induced Diabetes Rat Model of Kidney Nephrotoxicity/ M.A. Alsaif // *Pakistan journal of nutrition*. – 2009. – Vol. 8. – P. 745-754.
86. Hypolipidemic activity of tincture of *Crataegus* in rats / S. Shanthi, K. Parasakthy, P.D. Deepalakshmi, [et al.] // *Indian. J. Biochem. Biophys.* – 1994. – Vol. 8. – P. 143-146.

87. Differential inhibition of oxidized LDL-induced apoptosis in human endothelial cells treated with different flavonoids / Y.J. Jeong, Y. J. Choi, H.M. Kwon, [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2005. – Vol. 93. – P. 581-591.
88. Krishnaiah, D. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species (review of literature) / D. Krishnaiah, R. Sarbatly, R. Nithyanandam // *Food and Bioproducts Processing.* – 2011.– Vol. 89. – P. 217-233.
89. Room, A. *Botanical Medicine for Women's Health.* / A. Romm. – USA : Elsevier, 2016. – 432 с.: ил.; ISBN 978-070-206-513-2. – Текст : непосредственный.
90. Epilepsy in the renaissance: a survey of remedies from 16th and 17th century German herbals / M. Adams, V. Schneider, M. Kluge, [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology.* – 2012. – Vol. 143. – С. 1-13.
91. GABAA receptor binding assays of standardized *Leonurus cardiaca* and *L. japonicus* extracts as well as their isolated constituents / H. Rauwald, K. Kuchta, A. Savtschenko, [et al.] // *Planta Medica.* – 2013. – Vol. 79. – P. 150-158.
92. Ritter, M. Cardiac and electrophysiological effects of primary and refined extracts from *Leonurus cardiaca* L. / M. Ritter, K. Melichar, S. Strahler // *Planta Medica.* – 2010. – Vol. 76. – P. 572-582.
93. Liobikas, J. Uncoupling and antioxidant effects of ursolic acid in isolated rat heart mitochondria / J. Liobikas, D. Majiene, S. Trumbeckaitė et al. // *Journal of Natural Products.* – 2011.– Vol. 74. – P. 1640-1644.
94. Bernatoniene, J. The effect of *Leonurus cardiaca* herb extract and some of its flavonoids on mitochondrial oxidative phosphorylation in the heart / J. Bernatoniene, D. M. Kopustinskiene, V. Jakstas // *Planta Medica.* – 2014. – Vol. 80. – P. 525-532.
95. Effect of *Leonurus cardiaca* oil extract in patients with arterial hypertension accompanied by anxiety and sleep disorders / A.N. Shikov, O.N. Pozharitskaya, V.G. Makarov, [et al.] // *Phytotherapy Research.* – 2011. – Vol. 25. – P. 540-543.

96. Xie, X. Stachydrine protects eNOS uncoupling and ameliorates endothelial dysfunction induced by homocysteine / X. Xie, Z. Zhang, X. Wang // *Molecular Medicine*. – 2018. – Vol. 24. – P. 1-10.
97. Goetz, P. Apport de la phytothérapie au traitement des troubles du rythme cardiaque / P. Goetz // *Phytothérapie*. – 2013. – Vol. 11. – P. 178-180.
98. Goetz, P. Synoptique des plantes affect cardiovasculaire / P. Goetz // *Phytothérapie*. – 2013. – Vol. 11. – P. 181-187.
99. Medicinal Plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan / D. E. Zaurov, I.V. Belolipov, A.G. Kurmukov, [et al.] // *The medicinal plants of Uzbekistan and Kyrgyzstan in Medicinal Plants of Central Asia*. – 2013. – Vol. 18. – P.15 - 27.
100. Ованесов, К.Б. Влияние мелатонина и настойки пустырника на эмоциональное состояние и зрительные функции у тревожных субъектов / К.Б. Ованесов, И.М. Ованесова, Э.Б. Арушанян // *Экспр. и клин. Фарм.* – 2006. – Т.17. – С. 17–19.
101. Brenyoand A., Review of complementary and alternative medical treatment of arrhythmias (review of literature) / A. Brenyoand, M.K. Aktas // *American Journal of Cardiology*. – 2014. – Vol. 113. – P. 897-903.
102. Weiss, R. F. Herbal Medicine. / R.F. Weis, V. Fintelmann. – USA : Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2000. – 448 с.: ил.; ISBN 978-086-577-970-9. – Текст : непосредственный.
103. Ma, Y.H., Protective effect of stachydrine on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats / Y.H. Ma, J.R. Yang // *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Formulae*. – 2006. – Vol. 7. – P. 40–42.
104. Сравнительное изучение нейропротекторной активности препаратов пустырника / С.А. Данилов, С.Ю. Штрыголь, Д.И. Дмитриевский, [и др.] // *Клінічна фармація*. – 2011. – Т. 7. – С. 64–68.



105. Ren, Z.J. Extraction Technology and Pharmacological Research Progress of Main Components of *Gardenia jasminoides* Ellis / Z.J. Ren, L.M. Zhang, K.Z. He // *Res. Dev. Nat. Prod.* – 2005. – Vol. 17. – P. 831–836.
106. Anti-inflammatory activity of verminoside from *Kigelia africana* and evaluation of cutaneous irritation in cell cultures and reconstituted human epidermis / P. Picerno, G. Autore, S. Marzocco, [et al.] // *J. Nat. Prod.* – 2005. – Vol. 68 – P. 1610–1614.
107. Anti-inflammatory and potential cancer chemopreventive constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni) / T. Akihisa, H. Tokuda, K. Matsumoto, [et al.] // *J. Nat. Prod.* – 2007. – Vol. 70. – P. 754–757.
108. Suroowan, S. Common phyto-remedies used against cardiovascular diseases and their potential to induce adverse events in cardiovascular patients / S. Suroowan, F. Mahomoodally // *Clinical Phytoscience.* – 2015. – Vol.1.– P. 1–10.
109. Roles of Chinese herbal medicines in ischemic heart diseases (IHD) by regulating oxidative stress / D. Wang, J. Wang, Y. Liu, [et al.] // *International Journal of Cardiology.* – 2016. – Vol. 8. – P. 314–319.
110. Madrudejos, M. R. Efectos de las plantas medicinales en los pacientes afectados de insuficiencia cardíaca FMC /M. R. Madrudejos// *Formación Médica Continuada en Atención Primaria.* – 2016. – Vol. 23. – P. 420–429.
111. Yarnell, E. Herbs for atrial fibrillation *Alternative and Complementary Therapies* / E. Yarnell // 2017. – Vol. 23. – P.102–111.
112. Orhan, I. E. *Adonis* sp., *Convallaria* sp., *Strophanthus* sp., *thvetia* sp., and *Leonurus* sp. - cardiotoxic plants with known traditional use and a few preclinical and clinical studies / I.E. Orhan, A. Gokbulut, F.S. Senol // *Current Pharmaceutical Design.* – 2017. – Vol. 23. – P. 1051–1059.
113. Bianchi, I. Herbal medicine in cardiology in *Integrative Cardiology, a New Therapeutic Vision* / I. Bianchi // *Springer International Publishing.* – 2017. – Vol 3. – P. 13–18.

114. Light, M.E. Biological activities and distribution of plant saponins / M.E. Light, J. Staden, S.G. Sparg // *J. Ethnopharmacol.* – 2004. – Vol. 7. – P. 219–243.
115. Golyak, Y.A. Quantitative determination of total triterpenoid saponins in *Polemonium caeruleum* rhizomes and roots / Y.A. Golyak, O.M. Khishova, N.V. Dubashinskaya // *Pharm. Chem. J.* – 2008. – Vol. 42. – P. 456–459.
116. The herb great valerian (*Polemonium coeruleum*) is a promising source of triterpene saponins / A.A. Sorokina, T.A. Brezhneva // *Farmatsiya.* – 2011. – Vol. 7. – P. 13–16.
117. Меликов, Ф.М. Фитотерапия сердечно-сосудистых заболеваний Психогенной природы / Меликов Ф.М // *Бюллетень ГНБС.* – 2014. – Т. 114. – С. 38–43.
118. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия (с основами биохимии лекарственных растений) / Д.А. Муравьева. – Москва : Медицина, 1978. – 657 с.: ил.; ISBN 978-522-500-827-7. – Текст : непосредственный.
119. Saponins and their biological activities / S.D. Desai, D.G. Desai, H. Kaur // *Pharma Times.* – 2009. – Vol. 41(3) – P. 13-16.
120. Соколов, С.Я. Справочник по лекарственным растениям (фитотерапия) / С. Соколов, И.П. Замотаев . – Москва : Медицина, 1984. – 463 с.: ил.; ISBN 908-076-547-940-1. – Текст : непосредственный.
121. Евсеева, О.С. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в некоторых видах рода *Citrus* / О.С. Евсеева, О.А. Андреева, Э.Т. Оганесян // *Научные ведомости БелГУ, Серия Медицина. Фармация.* – 2013. – Т. 25(168) – С. 55–60.
122. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина, Г.А. Толстикова. – Новосибирск : Академическое изд-во "Тео", 2007. – 232 с.: ил.; ISBN 978-5-9747-0119-1. – Текст : непосредственный.
123. Интенсификация процесса производства густого экстракта плодов расторопши пятнистой с использованием ультразвуковой обработки сырья / Е.Т.

- Жилиякова, З.Е. Цветкова, Д.И. Писарев, [ и др.] // *Pharmacy & Pharmacology*. – 2018. – Т. 8. – С. 475–483.
124. Касен, Р.А. Выделение флавоноидов из травы горца почечуйного для применения в фармацевтической промышленности / Р.А. Касен, Д.Ю. Корулькин // *Вестник КазНМУ*. – 2016. – Т. 3. – С. 198–200.
125. Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов / А.А. Мальцева, О.В. Тринеева, А.С. Чистякова [и др.] // *Фармация*. – 2013. – Т. 1. – С. 13–16.
126. Kirchner, J.G. Modern techniques in TLC / J.G. Kirchner // *Journal of Chromatographic Science*. – 1975. – Vol.13(12). – P. 558-563.
127. Greenham, J. Identification of lipophilic flavones and flavonols by comparative HPLC, TLC and UV spectral analysis / J. Greenham, J. B. Harborne, C.A. Williams, // *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*. – 2003. – Vol. 14(2). – P. 100-118.
128. Analytical separation and detection methods for flavonoids / E. de Rijke, W.M. Niessen, F. Ariese, [et al.] // *Journal of chromatography A* – 2006. – Vol. 1112(1-2). – P. 31-63.
129. Sargenti, S.R. Sonication, and liquid chromatography as a rapid technique for extraction and fractionation of plant material / S.R. Sargenti, W. Vichnewski // *Phytochem. Anal.* – 2010. – Vol. 11(2). – P. 69-73.
130. Francis, G. The biological action of saponins in animal systems: a review / G. Francis, Z. Kerem, H. Makkar // *Br J Nutr.* – 2002. – Vol. 88. – P. 587-605.
131. Fuchs, H. Saponins as tool for improved targeted tumor therapies / H. Fuchs, D. Bachran, H. Panijdeh // *Curr Drug Targets*. – 2009. – Vol. 10. – P. 140 –151.
132. Gauthier, C. Recent progress in the synthesis of naturally occurring triterpenoid saponins / C. Gauthier, J. Legault, A. Pichette // *Mini-Rev Org Chem*. – 2009. – Vol. 6. – P. 321-344.

133. Haralampidis, K., Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants / K. Haralampidis, M. Trojanowska, A.E. Osbourn // *Adv Biochem Eng Biotechnol.* – 2002. – Vol. 75. – P. 31- 48.
134. Bachran, C. The saponinmediated enhanced uptake of targeted saporin-based drugs is strongly dependent on the saponin structure / C. Bachran, M. Sutherland, I. Heister // *Exp Biol Med.* – 2006.– Vol. 5. – P. 412-420.
135. Bachran, C. Saponins in tumor therapy / C. Bachran, S. Bachran, M. Sutherland // *Mini Rev Med Chem.* – 2008. – Vol. 11. – P. 575-584.
136. Bachran, C. Inhibition of tumor growth by targeted toxins in mice is dramatically improved by saponin albumin a synergistic way / C. Bachran, H. Durkop, M. Sutherland // *J Immunother.* – 2009. – Vol. 12. – P. 713 -725.
137. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – Текст : непосредственный.
138. Дёмина, Н.Б. Влагоактивизированная грануляция – перспективы применения / Н.Б. Дёмина, С.А. Скатков, М.Н. Анурова // *Фармацевтическая технология.* – 2012. – Т.4. – С. 41–43.
139. Давыдова, В.Н. Получение густых экстрактов из растений и создание на их основе препаратов и БАД / В.Н. Давыдова // *Фармация.* – 2004. – Т. 1.– С. 46–48.
140. Obtaining and standardization of the thick extract from syringa leaves / M.S. Abudarwish, V.S. Kyslychenko, A.I. Popyk, [et al.]// *Phytochem.* – 2013. – Vol. 1. – P. 285-294.
141. Wilson, D. Encyclopedia of separation science / D. Wilson, F. Poole Colin, M. Cooke. – USA : Academic Press, 2000. – 4502 с.: ил.; ISBN 978-0122267703. – Текст : непосредственный.
142. Trusheva, B. Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study / B. Trusheva, D. Trunkova, V. Bankova // *Chem Cent J.* – 2007. –Vol. 12. – P. 13-18.

143. Kaufmann, B. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction / B. Kaufmann, P. Christen // *Phytochem.* – 2002. – Vol. 13. – P. 105-113.
144. John, R. extraction techniques in analytical sciences / R. John. UK : Wiley, 2009. – 4502 с.: ил.; ISBN 978-0470772843. – Текст : непосредственный.
145. Eloff, J.N. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants – *Journal of Ethnopharmacology* / J.N. Eloff // 1998. – Vol. 60. – P. 1-8.
146. Ncube, N.S. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends / N.S. Ncube, A.J. Afolayan, A.I. Okoh // *African Journal of Biotechnology.* –2008.– Vol. 7– P. 1797-1806.
147. Das, K. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends / K. Das, R.K. Tiwari, D.K. Shrivastava // *Journal of Medicinal Plants Research.* –2010. – Vol. 4(2). – P.104-111.
148. Lapornik, B. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time / B. Lapornik, M. Prosek, A.G. Wondra // *Journal of Food Engineering.* – 2005. – Vol. 71.– P. 214–222.
149. Wang, G.X. In vivo anthelmintic activity of five alkaloids from *Macleaya microcarpa* (Maxim) Fedde against *Dactylogyrus intermedius* in *Carassius auratus* / G.X. Wang // *Veterinary Parasitology.* – 2010. – Vol. 171.– P. 305–313.
150. Solvent extraction of ethanol from aqueous solutions using biobased oils, alcohols, and esters / R.D. Offeman. S.K. Stephenson, G.H. Robertson, [et al.] // *Journal of the American Oil Chemists' Society.* –2006. – Vol. 83– P. 153-157.
151. Dichloromethane as a solvent for lipid extraction and assessment of lipid classes and fatty acids from samples of different natures / E. Cequier-Sanchez, C. Rodriguez, A.G. Ravelo, [et al.] // *Journal of agricultural and food chemistry.* – 2008. – Vol. 56(12). – P. 4297-4303.

152. Sukhdev, S.H. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants / S.H. Sukhdev, P.S. Suman, G.L. Khanuja. Italy : ICS-UNIDO, 2008. – 266 с.: ил.; ISBN 978-0477365843. – Текст : непосредственный.
153. Effect of infusion time and temperature on decaffeination of tea using liquid–liquid extraction technique / R. Sharif, S.W. Ahmad, H. Anjum, [et al.] // Journal of Food Process Engineering. – 2014. – Vol. 37. – №. 1. – С. 46-52.
154. Bimakr, M. Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) / M. Bimakr // Food Bioprod Process. – 2010. – Vol. 2. – P. 1-6.
155. Lopez-Bascon, M. A. Soxhlet extraction / M.A. Lopez-Bascon, M.D. De Castro // Liquid-phase extraction. – Elsevier. – 2020. – Vol .4. –P. 327-354.
156. Rathi, B.S. Evaluation of aqueous leaves extract of *Moringa oleifera* Linn for wound healing in albino rats / B.S. Rathi, S.L. Bodhankar, A.M. Baheti // Indian J Exp Biol. – 2006. – Vol. 44. – P. 898-901.
157. Waldesch, F.G. Herbal Medicinal Products / F.G. Waldesch, B.S. Konigswinter, H. Blasius // Medpharm. – 2003. – Vol. 44. – P. 898-901.
158. Anthelmintic activity of *Platycladus orientalis* leaves / N. Sutar, R. Garai, U.S. Sharma, [et al.] // Medpharm. – 2003. – Vol. 44. – P. 898-901.
159. Application of green extraction methods to resveratrol extraction from peanut (*arachis hypogaea*) Skin / R. Nadyana, R.H. Putri // International Journal of Applied Pharmaceutics. – 2020. – Vol. 12. – P. 1-6.
160. Fundamentals of microwave extraction. Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice / P.C. Veggi, J. Martinez, M. Angela, [et al.] // Springer. – 2012. – Vol. 3. – P. 15-52.
161. Sonar, S.P. Liquid Filled Hard Gelatin Capsule / S.P. Sonar, S.B. Gondkar, R.B. Saudagar // Journal of Drug Delivery and Therapeutics. – 2019. – Vol. 9(3-s). – P. 832-835.

162. Lipid-based oral formulation in capsules to improve the delivery of poorly water-soluble drugs /P. Mohite, S. Singh, A. Pawar, [et al.] // *Frontiers in Drug Delivery*. – 2023. – Vol. 3. – P. 1-20.
163. Тихонов, А.И. Технология лекарств / А.И. Тихонов, Т.Г. Ярыных – Харьков : НФАУ «Золотые страницы», 2002. – 704 с. – ISBN 966-615-103-0. – Текст : непосредственный
164. Голяк, Н.С. Промышленная технология лекарственных средств: производство мягких, жидких лекарственных форм : практикум для студентов фармацевтического факультета / Н.С. Голяк, Н.Ф. Шакуро, О.А. Сушинская. – Минск : БГМУ, 2022. – 118 с. – ISBN 978-985-21-1169-0. – Текст : непосредственный
165. Shanker, G. Water insoluble Drug Formulation / G. Shanker, E. Tabibi // *CRC Press*. – 2008.– Vol. 2. – P. 305–313.
166. Cowan, M.M. Plant products as antimicrobial agents / M.M. Cowan // *Clinical microbiology reviews*. –1999.– Vol. 12(4). – P. 564-582.
167. Ewart, T. Liquid filled and sealed hard gelatin capsules / T. Ewart // *Capsugel Division*. – 2010. – P.1–12.
168. Deva, V. Formulation and modifying drug release from Hard and Soft Gelatin Capsules for Oral drug delivery / V. Deva // *International Journal of Research and Development in Pharmacy & Life Science*. – 2017. – Vol. 6(4). – P. 2663-2677.
169. Промышленная технология лекарств / В.И.. Чуешов, Е.В. Гладух, О.А. Ляпунова [и др.]. – Украина : Винница: Нова Книга, 2014. – 696 с. – ISBN 978-966-382-537-3. – Текст : непосредственный
170. Liquid-filled Gelatin Capsules / R.C. Margareth, A.B. Marques, C. Ewart, [et al.] // *Pharmacopeial Forum*. – 2019. – Vol. 35(4). – P. 1029 – 1041.
171. Milind, K.B. Selecting Excipients for Liquid-Filled Hard Capsules / Milind K. B // *Pharmaceutical Technology*. – 2018. Vol. 10.– P. 16–19.

172. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.4.1.0005.18 «Капсулы». Текст : непосредственный.
173. Shanker, V. Water insoluble Drug Formulation / V. Shanker, E.G. Tabibi // CRC Press. – 2018. – Vol. 2. – P. 25-28.
174. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.4.1.0021 «Экстракты». Текст : непосредственный.
175. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании». Текст : непосредственный.
176. Фармакопея Евразийского экономического союза. –: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. –2020. – 2.1.2.31. «Потеря в массе при высушивании» Текст : непосредственный.
177. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.1.0008.15 «Остаточные органические растворители». Текст : непосредственный.
178. Фармакопея Евразийского экономического союза. –: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. –2020. – 2.1.4.19. «Идентификация и контроль остаточных растворителей» Текст : непосредственный.
179. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.2.1.2.0004 «Газовая хроматография». Текст : непосредственный.
180. Фармакопея Евразийского экономического союза. –: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. –2020. – 2.1.2.27. «Газовая хроматография» Текст : непосредственный.



181. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.2.1.2.0003 «Тонкослойная хроматография». Текст : непосредственный.
182. Theoretical basis of thin layer chromatography (TLC) / В. Spangenberg, C.F. Poole, C. Weins, [et al.] // Quantitative Thin-Layer Chromatography: A Practical Survey. – 2011. – Vol. 35(4). – P. 13- 52.
183. Использование ТСХ для идентификации биологически активных веществ в некоторых видах лекарственного сырья /А.С. Саушкина, В.А.Карпенко, Л.Н.Савченко, [и др] // Сорбционные и хроматографические процессы. –2001. – Т. 5. – С. 1- 5.
184. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение. / Е.Г. Сумина, С.Н. Штыков, В.З. Угланова, Н.В. Кулакова. – Саратов : Сарат. ун-та, 2012. – 128 с.: ил. – Текст : непосредственный.
185. Шаршунова, М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – СССР : Мир, 1980. – 610 с.: ил.; ISBN 4-5507-0538-1. – Текст : непосредственный.
186. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ФС.2.6.0053.18 «Эхинацея пурпуреа (4) *Echinacea purpurea* (4) Настойка гомеопатическая матричная». Текст : непосредственный.
187. Фармакопея Евразийского экономического союза. –: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. –2020. – 2.1.5. 7. «Неомыляемые вещества» Текст : непосредственный.
188. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы». Текст : непосредственный.

189. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.4.8. «Тяжелые металлы» Текст : непосредственный.
190. Никулин, А.В. Комбинированная методика определения элементного состава лекарственного растительного сырья / А.В. Никулин, Е.А. Платонов, О.Г. Потанина // Научный журнал ДГМУ. — 2016. —Т.3. — С. 3-5.
191. Особенности экспресс-определения микроэлементов в лекарственных и неофициальных растениях/ М. П. Макарова, А. В. Сыроешкин, Т. В. Максимова, [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. — 2019. —Т.8. — С. 93-97.
192. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.2.1.2.0005 «Высокоэффективная жидкостная хроматография». Текст : непосредственный.
193. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.2.1.1.0008.15 «Масс-спектрометрия». Текст : непосредственный.
194. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Текст : непосредственный.
195. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.2.28. «Высокоэффективная жидкостная хроматография» Текст : непосредственный.
196. Chemical composition and biological activity of the dry extract "rosmatin" from the herb of *dracoscephalum moldavica* / О.П. Шейченко, В.И. Шейченко, С.В. Горяинов, [и др.] // Chemistry of plant raw material. — 2021. — № 3. — С. 253–264.

197. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – В 4-х тт. : утверждена приказом Министерства здравоохранения 31 октября 2018 г. № 749. – Москва, 2018. – ФС.2.5.0034.15 «Пустырника трава». Текст : непосредственный.
198. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – В 4-х тт. : утверждена приказом Министерства здравоохранения 31 октября 2018 г. № 749. – Москва, 2018. – ОФС.1.5.3.0004.15 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Текст : непосредственный.
199. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Текст : непосредственный.
200. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – В 4-х тт. : утверждена приказом Министерства здравоохранения 31 октября 2018 г. № 749. – Москва, 2018. – ФС.2.5.0039.15 «Синюхи голубой корневища с корнями». Текст : непосредственный.
201. Фармакопея Евразийского экономического союза. –: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. –2020. – 2.1.2.8. «Вязкость» Текст : непосредственный.
202. Фармакопея Евразийского экономического союза. –: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. –2020. – 2.1.2.10. «Метод ротационной вискозиметрии» Текст : непосредственный.
203. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС. 1.2.1.0015 «Вязкость». Текст : непосредственный.
204. Фармакопея Евразийского экономического союза. –: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. –2020. – 2.1.2.14. «Температура плавления - капиллярный метод» Текст : непосредственный.

205. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.2.17. «Температура затвердевания» Текст : непосредственный.
206. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.2.1.0011 «Температура плавления». Текст : непосредственный.
207. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.2.1.0012 «Температура затвердевания». Текст : непосредственный.
208. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС. 1.2.1.0005 «Растворимость». Текст : непосредственный.
209. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.9.5. «Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата» Текст : непосредственный.
210. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.4.2.0009 «Однородность массы дозированных лекарственных форм». Текст : непосредственный.
211. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.9.14. «Однородность дозированных единиц» Текст : непосредственный.
212. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.4.2.0008 «Однородность дозирования». Текст : непосредственный.

213. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.9.1. «Распадаемость таблеток и капсул» Текст : непосредственный.
214. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость таблеток и капсул». Текст : непосредственный.
215. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023. — ОФС.1.4.2.0014 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм». Текст : непосредственный.
216. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.9.3. «Испытание на растворение для твердых дозированных лекарственных форм» Текст : непосредственный.
217. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.6.8. «Бактериальные эндотоксины» Текст : непосредственный.
218. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020. — 2.1.6.9. «Микробиологические испытания лекарственных препаратов природного происхождения для приема внутрь сырья, используемого для их получения» Текст : непосредственный.
219. Государственная фармакопея Российской Федерации. — XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. — Москва, 2023.— ОФС.1.2.4.0002 «Микробиологическая чистота». Текст : непосредственный.
220. Фармакопея Евразийского экономического союза. —: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 11 августа 2020 г. № 100. —2020.

– 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия, а ультрафиолетовой и видимой областях» Текст : непосредственный.

221. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Текст : непосредственный.

222. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 20 июля 2023 г. № 377. – Москва, 2023. – ОФС.1.1.0020.18 «Стабильность биологических лекарственных средств». Текст : непосредственный.

223. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – В 4-х тт. : утверждена приказом Министерства здравоохранения 31 октября 2018 г. № 749. – Москва, 2018. – ОФС.1.1.0026.18 «Аспекты стабильности лекарственных средств». Текст : непосредственный.

224. Determination of the amount of flavonoid in *Polemonium caeruleum* L. rextract using spectrophotometry / F. Hajjar, R.A. Abramovich, O.G. Potanina, V.E. Ulyumdzheva. – Текст : электронный // Современная парадигма научного знания: актуальность и перспективы : материалы VII международная научно-практическая конференция (Москва, Россия, 02 апреля 2019 г.). – 2019 – С. 121-124. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=4418284> (дата обращения: 20.01.2024). – Режим доступа: научная электронная библиотека eLibrary.ru.

225. Фитохимическое изучение компонентного состава неомыляемой фракции различных видов растительных масел методом газовой хромато-масс-спектрометрии / С.В. Горяинов, С. Эспарса, А.Р. Борисова, [и др.] // Масс-спектрометрия. – 2020. – Т. 4. – № 17. – С. 202–208.

226. Экспрессное детектирование добавок растительных жиров в сгущенном молоке методом масс-спектрометрии с «прямым анализом в реальном времени» /

- С.В. Горяинов, С. Эспарса, Ф. Хажжар, [и др.] // Масс-спектрометрия. – 2020. – Т. 3. – № 17. – С. 235–244.
227. Phytochemical Study of the Composition of the Unsaponifiable Fraction of Various Vegetable Oils by Gas Chromatography–Mass Spectrometry / S. V. Goriainov, С.А. Esparza, F. Hajjar, [et al.] // Journal of Analytical Chemistry. – 2021.– Vol. 76. – № 14. – P. 1635–1644.
228. Rapid Detection of Vegetable Fat Additives in Condensed Milk by DART Mass Spectrometry / S. V. Goryainov, С.А. Esparza, F. Hajjar, [et al.] // Journal of Analytical Chemistry. – 2021. – Vol. 76. – № 13. – P. 1493–1498.
229. Zhogova, A., Konstantin E. Identification, and quantitative determination of the main biologically active substances in motherwort herb by HPLC – mass spectrometry / A. Zhogova, I. Perova, I.A. Samylina // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2014. –Vol. (48) 7. – P. 461-466.
230. Phytochemistry and biological activities of *Polemonium caeruleum* L. / G. Laska, E. Sieniawska, L. Swiatek, [et al.] // Phytochemistry Letters. – 2019. – Vol. (1) 30. – P. 314–323.
231. Химический состав и биологическая активность сухого экстракта «розматин» Из травы змееголовника Молдавского / О.П. Шейченко, В.И. Шейченко, С.В. Горяинов, [и др.] // Химия растительного сырья. –2021. – Т. 3. – P. 253–264.
232. Hajjar, F. Quantitative determination content for the Residual Organic Solvents in a combined drug based on Jacob's Ladder herbs, motherwort herbs and hawthorn fruit by GC- FID/ F. Hajjar, S.V. Goriainov, O.G. Potanina // Research J. Pharm. and Tech. – 2022.– Vol. 15(8). – P. 3669-3673.
233. Development and Validation of a Procedure for the Quantitative Determination of Residual Organic Solvents in Allergen Preparations by GC/ R.A. Bubenchikov, E.I. Sakanyan, N.V. Zubkova, [et al.] // Drug development & registration. – 2022.– Vol. 11.– № 2.– P. 159–168.

234. Hajjar, F. Flavonoids determination in the spissum extract of *Polemonium caeruleum* L. herb / F. Hajjar, O.G. Potanina, R.A. Abramovich. – Текст : электронный // *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy* : материалы The 23th international congress phytopharm (Saint-Petersburg, Russia, 1-3 July 2019). – 2019 – С. 55. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=4478281> (дата обращения: 20.01.2024). – Режим доступа: научная электронная библиотека eLibrary.ru.
235. Содержание флавоноидов в густом экстракте из пустырника / Ф. Хажжар, С.В. Горяинов, О.Г. Потанина, Р.А. Абрамович. – Текст : электронный // *Гармонизация подходов к фармацевтической разработке* : материалы II Международной научно-практической конференции (Москва, Россия, 25 ноября 2020 г.). – 2020 – С. 254. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=5518274> (дата обращения: 20.01.2024). – Режим доступа: научная электронная библиотека eLibrary.ru.
236. Стандартизация густого экстракта из плодов боярышника / Ф. Хажжар, С.В. Горяинов, О.Г. Потанина, Р.А. Абрамович. – Текст : электронный // *Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения* : материалы VII научной конференции с международным участием (Москва, Россия, 12-13 декабря 2019 г.). – 2019 – С. 235-243. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47858274> (дата обращения: 20.01.2024). – Режим доступа: научная электронная библиотека eLibrary.ru.
237. Хажжар, Ф. Определение суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном лекарственном средстве на основе пустырника, синюхи голубой и боярышника методом спектрофотометрии/ Ф. Хажжар, О.Г. Потанина // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2021. Vol.12. – Т.24. – Р. 16–20.
238. Определение тяжёлых металлов в трехкомпонентном седативном лекарственном растительном препарате / Ф. Хажжар, С.В. Горяинов, О.Г. Потанина, Р.А. Абрамович. – Текст : электронный // *Гармонизация подходов к*



фармацевтической разработке : материалы III Международной научно-практической конференции (Москва, Россия, 25 ноября 2020 г.). – 2020 – С. 127-129. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=4708278> (дата обращения: 20.01.2024). – Режим доступа: научная электронная библиотека eLibrary.ru.

239. Машковский, М.Д. Лекарственные средства. / М.Д. Машковский; – Москва : новая волна, 2012. – 1216 с.: ил.; ISBN 978-5-7864-0345-0. – Текст : непосредственный.

240. Соколова, С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей. / С.Я.Соколова; – Москва : Медицинское информационное агентство, 2000. – 976 с.: ил.; ISBN 999-00-1397137-0. – Текст : непосредственный.

241. Тутельян, В.А. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ. / В.А Тутельян, А.К. Батуринов, А.В. Васильев. – Москва : Минздрава России, 2010. – 48 с.: ил.; ISBN 5-7508-0532-8. – Текст : непосредственный.

242. Challenges and opportunities in encapsulation of Liquid filled hard gelatin over soft gelatin capsules – An innovative technology / N. Thamada, D. Satyavathi, S. Gupta // International Journal of Institutional Pharmacy and LifeSciences. – 2014. – Vol. 4(3). – P. 100-113.

243. Deva, V. Formulation and modifying drug release from Hard and Soft Gelatin Capsules for Oral drug delivery / V. Deva // International Journal of Research and Development in Pharmacy & Life Science. – 2017. – Vol. 6(4). – P. 2663-2677.

244. Ewart, T. E Liquid filled and sealed hard gelatin capsules / T.E. Ewart, C. Dominique, J. Ph. Mayer // Drug Development, and Industrial Pharmacy. – 2018. – Vol. 12(11-13). – P. 2289 – 2300.

245. Ноу-хау № № 017-06/03-01-21-5. Фармацевтическая композиция седативного действия (комбинированный густой экстракт из травы пустырника, травы синюхи голубой и плодов боярышника): опубл. 2021 / Ф. Хажжар, С.В. Горяинов, О.Г. Потанина, Р.А. Абрамович, [и др.] ; заявитель РУДН

246. Стандартизация комбинированного лекарственного средства на основе синюхи голубой, травы пустырника и плодов боярышника / Ф. Хажжар, С.В. Горяинов, О.Г. Потанина, Р.А. Абрамович. – Текст : электронный // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения : материалы Международной научной конференции молодых учёных (Москва, Россия, 17-18 декабря 2020 г.). – 2020 – С. 313-320. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=40258278> (дата обращения: 20.01.2024). – Режим доступа: научная электронная библиотека eLibrary.ru.
247. Хажжар, Ф. Преимущества выбора состава комбинированного Растительного лекарственного средства седативного действия / Ф. Хажжар, О.Г. Потанина, Р.А. Абрамович // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т.25. – № 6. – С. 16–20.
248. Фармакопея Евразийского экономического союза. –: утверждена решением Коллегии Евразийской экономической комиссии 10 мая 2018 г. № 69. –2020. – «Об утверждении Требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций» Текст : непосредственный.
249. Руководство по фармацевтической разработке (Q8). Гармонизированное трехстороннее руководство (ICH) от августа 2009 г. / Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарств для медицинского применения. – Текст: электронный. – URL: <https://pharmadvisor.ru/document/tr3614/> (дата обращения: 22.01.2024)

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

# ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СЕДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «СЕДОКОМБ»

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ»  
Научно-образовательный ресурсный центр «Фармация»  
НОРЦ «Фармация»

117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2  
Тел./факс +7 (495) 787 38 03, доб. 2116

<https://www.rudn.ru/science/laboratories-and-centers/53422>  
E-mail: [averkin-oo@rudn.ru](mailto:averkin-oo@rudn.ru)

УТВЕРЖДАЮ  
Директор НОРЦ «Фармация»  
О.О. Аверкин  
«  » 2021 г.



ОТЧЕТ

ИССЛЕДОВАНИЕ СЕДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ  
ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «СЕДОКОМБ»  
(ПРОИЗВОДСТВА НОРЦ «ФАРМАЦИЯ», РУДН, РОССИЯ)

Москва 2021 г.

**СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ**

Ответственный исполнитель,  
С.н.с., к.в.н.:



Карамян А.С.

Работу обеспечивали:  
Врач-ветеринар:



Карамян А.С.

Врач клинико-биохимической  
лаборатории:

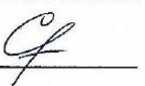


Бондарева И.В.

Врач лаборатории  
патоморфологии



Бугров Н.С.



Сысоев А.В.

## 1. ВВЕДЕНИЕ

### **Цель исследования**

Исследование седативного действия лекарственного препарата «седокомб» (производства НОРЦ «ФАРМАЦИЯ», РУДН, Россия) при курсовом введении лабораторным животным.

### **Задачи исследования**

1. Исследование седативного действия лекарственного препарата «Седокомб».
2. Исследование влияния на показатели периферической крови лекарственного препарата «Седокомб».
3. Исследование влияния на биохимические показатели крови лекарственного препарата «Седокомб».
4. Исследование возможного местно-раздражающего действия в лекарственном препарате «седокомб».

## 2. РЕГУЛИРУЮЩИЕ СТАНДАРТЫ

Исследование выполнено в соответствии с планом исследования, этическими принципами гуманного обращения с животными, регламентировано действующим законодательством РФ и нормативными документами:

- Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 N 61ФЗ.
- Приказ Минздрава России от 01.04.2016 N 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (Зарегистрировано в Минюсте России 15.08.2016 N 43232).
- «Правила проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения», утвержденные приказом Минсельхоза России от 06.03.2018 № 101.
- Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов. Решение коллегии ЕЭК от 26 ноября 2019 г. № 202.
- Руководство по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения. Решение коллегии ЕЭК от 21 мая 2020 г. №10.
- ГОСТ 33044 - 2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартиформ, 2015.
- ГОСТ 7.32 - 2017. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления. М.: Стандартиформ, 2008.
- ГОСТ 33215 - 2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. М.: Стандартиформ, 2016.
- ГОСТ 33216 - 2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. М.: Стандартиформ, 2016.

- ГОСТ Р 50258 - 92. Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия. М.: Стандартинформ, 1994.
- ГОСТ Р 51232 - 98. Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества. М.: Стандартинформ, 2008.
- Приказ Минздрава СССР от 12.08.1977 N 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, часть 1 (под ред. А.Н. Миронова).– М.: Гриф и К, 2012.
- Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

### 3. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

#### Описание изучаемого препарата, препарата сравнения и контрольного препарата

##### Изучаемый препарат:

Название:	Лекарственный препарат «Седокомб»
Производитель:	НОРЦ «Фармация», Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-маклая д. 8/2
Лекарственная форма:	Капсулы с тиксотропной жидкостью для приема внутрь
Описание:	Твердые желатиновые капсулы №0 белого цвета, содержимое капсул – пастообразная масса от зеленовато-коричневого до коричневого цвета.
Состав	Лекарственная форма следующего состава (в мг на одну капсулу): Густой экстракт травы синюхи голубой 300 Густой экстракт травы пустырника. 100 Густой экстракт плодов боярышника 7 Твёрдый жир 193 Твин80 5
Серия:	010521
Дата изготовления:	05.2021
Условия хранения:	Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения - 2 года со дня производства Хранить в сухом месте при температуре не выше 25 °С

##### Препарат сравнения:

Название:	Настойка Валерианы
Производитель:	ООО "ГИППОКРАТ", Российская Федерация, 443034, область самарская г. Самара ул. енисейская д.62А
Лекарственная форма:	Настойка, флакон, 25 мл, для приема внутрь
Описание:	Настойка в виде прозрачной жидкости красно-бурого цвета (темнеет под влиянием солнечного света), с характерным ароматным запахом и сладковато-горьким вкусом.
Состав	настойка измельченных корневищ с корнями валерианы (200 г растительного сырья на 1 л настойки)
Серия:	007021
Дата изготовления:	07.2021
Условия хранения:	Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения - 2 года со дня производства Хранить в защищенном от света месте при температуре от 10 до 20°С в недоступном для детей месте



Контрольный препарат:

Название:	Натрия хлорид 0,9%
Состав:	Вода, натрия хлорид
Условия хранения:	При температуре от 5 до 25 °С.

**3.1. Изучение седативного действия лекарственного препарата «Седокомб»****Основные даты**

Получение животных:	2 недели до начала эксперимента
Планируемая дата начала исследования:	01.07.2022
Введение препаратов:	Однократно
Эвтаназия:	30-й день эксперимента
Анализ данных, написание отчета:	1 месяц

*Срок выполнения работы: 1 месяц*

**3.1.1. Условия проведения эксперимента и методы исследования**

Количество животных, используемых в исследовании, является минимально возможным с точки зрения этических принципов и регуляторных требований, при этом достаточным для полной статистически значимой регистрации изучаемых эффектов.

**Животные**

Вид:	Аутбредные крысы
Источник:	ООО «КролИнфо»
Масса тела к началу введения:	180-200г
Количество:	30
Пол:	Самцы,самки

- **Расчет доз:** Максимальная доза изучаемого препарата и препарата сравнения при внутрижелудочном введении составляет 1500 мг/кг. С учетом коэффициентов межвидового переноса доз суточная терапевтическая доза для крысы составит: 1500 мг/кг (максимальная суточная доза)/70 x 6,0 (коэффициент (коэффициент для крысы массой 200 г) = 130 мг/крысу. Исходя из данного расчета предложены одна доза: 1500 мг/кг (130мг/крысу)[1-2].

Стандартная группа внутрижелудочно вводился препарат сравнения, по аналогичной схеме. Контрольная группа внутрижелудочно вводился – 0,9 % раствор натрия хлорида, по аналогичной схеме. Препараты вводили животным в одно и то же время в утренние часы.

### 3.1.2. Влияние седативного действия

Влияние лекарственного препарата «Седокомб» на поведение подопытных мышей оценивали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» [3]. Лабиринт представлял собой установку, состоявшую из 4 рукавов, которые соединялись в виде креста перпендикулярно друг другу, образуя в центре площадку; длина каждого из 4 рукавов составляла 25 см, ширина - 5 см, высота светопроницаемых бортиков двух противоположных закрытых рукавов лабиринта - 5 см, центральная площадка - 5x5 см. Весь лабиринт размещался на высоте 30 см от пола.

Тестирование подопытных животных проводили в первой половине дня с 9:00. Мышь помещали на центральную площадку, после чего в течение 5 минут регистрировали общее число заходов во все рукава, количество заходов в закрытые рукава (ЗР) лабиринта, выходов в открытые рукава (ОР), суммарное время пребывания в закрытых и открытых рукавах, вертикальную активность (число стоек) и время нахождения на центральной площадке. Возможность оценки влияния препаратов на тревожность подопытных животных в приподнятом крестообразном лабиринте основана на известных сведениях о том, что поведенческой основой избегания у грызунов являются рефлекс предпочтения темного пространства и боязнь высоты. Тестирование подопытных мышей в «приподнятом крестообразном лабиринте» осуществляли до начала эксперимента, после однократного введения исследуемых препаратов, в дальнейшем еженедельно в течение двух недель. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние изучаемого препарата и настойки валерианы на поведенческие реакции мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ( $M \pm m$ ) при однократном применении.

№	Серия опытов	Число выходов		Время пребывания, с	
		Открытый рукав	Закрытый рукав	Открытый рукав	Закрытый рукав
1	Настойка валерианы	1,00±0,30*	2,30±0,61*	25,01±7,62*	267,01±7,81
2	Контроль	1,21±0,44	3,40±0,54	18,11±2,20	265,15±4,01
3	Исследуемый препарат	3,71±0,80*	3,50±0,51	55,80±1,30*	221,40±1,31*

Примечание: \* - различия со значением исследуемого показателя в контроле (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны ( $p < 0,05$ ).

Как видно из результатов, представленных в таблице 1, что при однократном внутривенном введении лекарственного препарата «Седокомб» число выходов и время

нахождения подопытных мышей в открытых рукавах лабиринта было соответственно в 3 раза ( $p < 0,05$ ) и в 3,1 раза ( $p < 0,05$ ) больше, чем у животных контрольной группы, получавших изотонический раствор натрия хлорида. Полученные данные, вероятно, свидетельствуют о снижении уровня тревожности и активизации ориентировочно-исследовательского поведения. Следует отметить, что под влиянием настойки валерианы число выходов грызунов в закрытые рукава лабиринта достоверно снизилось, однако при этом отмечено уменьшение числа заходов подопытных мышей в открытые рукава лабиринта в среднем в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Сравнительный анализ эффектов настойки валерианы и лекарственного препарата «Седокомб» показал, что число выходов в закрытые рукава лабиринта мышей, получавших настойку валерианы, было в среднем в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) меньше, а время пребывания в открытых рукавах лабиринта было в среднем в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ) меньше, чем подопытных животных, получавших лекарственный препарат «Седокомб». Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что преимущество исследованного препарата по сравнению с настойкой валерианы является не только уменьшение тревожности, но и повышение ориентировочно-исследовательского поведения грызунов. При курсовом применении в течение двух недель, результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Влияние изучаемого препарата и настойки валерианы на поведенческие реакции мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ( $M \pm m$ ) при курсовом применении

№	Серия опытов	Число выходов		Время пребывания, с	
		Открытый рукав	Закрытый рукав	Открытый рукав	Закрытый рукав
<b>Через одну неделю</b>					
1	Изучаемый препарат	4,30±0,60	3,30±0,60	70,07±6,41	192,31±8,02
2	Настойка валерианы	4,30±0,61	4,71±0,70	34,01±3,65	252,01±6,51
3	Контроль (изотонический раствор натрия хлорида)	1,41±0,60	3,52±0,40	17,61±2,87	265,95±3,06
<b>Через две недели</b>					
1	Изучаемый препарат	4,61±0,80	3,81±0,71	106,61±4,00	115,01±1,71
2	Настойка валерианы	4,71±0,44	5,10±0,60	49,70±2,81	144,04±4,21
2	Контроль (изотонический раствор натрия хлорида)	1,25±0,55	3,21±0,44	18,00±2,01	263,31±3,31

Примечание: \* - различия со значением исследуемого показателя в контроле (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны ( $p < 0,05$ ).

Как видно, из представленных данных в таблице 2, влияние лекарственного препарата «Седокомб» на поведение подопытных животных при курсовом применении показал, что число выходов мышей в открытые рукава и время нахождения в них изменились незначительно по сравнению с показателями, полученными после однократного внутрижелудочного введения лекарственного препарата «Седокомб» мышам. Так, число выходов мышей в открытые рукава составило  $4,30 \pm 0,60$ , что в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) больше, а время нахождения в открытых рукавах -  $70,07 \pm 6,41$  с, что в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) больше, чем значения аналогичных показателей при однократном введении лекарственного препарата «Седокомб».

Таким образом, результаты исследования показали, что наиболее эффективным из исследуемых средств является лекарственный препарат «Седокомб». Седативная активность лекарственного препарата «Седокомб» была отмечена как при однократном, так и при курсовом его применении. При этом выявлено, что противотревожное действие изучаемых капсул при длительном применении постепенно возрастает. Так, через неделю от начала использования капсул активность увеличилась в среднем в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), а через 2 недели - в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с эффектом при однократном использовании.

### **3.2. Изучение влияния на показатели периферической крови лекарственного препарата «Седокомб»**

Показатели периферической крови у животных при применении изучаемого препарата, препарата сравнения и контрольного препарата представлены в таблицах 3-6. Сроки снятия показателей: фон и после 30 дней приема препаратов на группах самцов и самок мышей.

Таблица 3. Влияние изучаемого препарата на состав периферической крови у крыс-самцов, (фон)

Фон	RBC 10 <sup>12</sup> /л	HGB г/л	HCT %	MCV Фл	MCH пикограмм	MCHC г/л	RDW мкмоль/л	WBC %	Палочко ядерные нейтрофилы %	Сегментоя дерные нейтрофилы %	Эозинофилы %	Базофилы %	Моноциты %	Лимфоциты %	PLT %	MPV %
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Изучаемый препарат	7,90± 0,15	85,60 ±1,80	36,94 ±0,96	30,31± 1,29	17,96±0,41	326,50 ±14,30	12,61±0,81	6,15±0, 12	0,80±0,3 0	33,70±1,70	0,60±0,20	0,00±0,00	0,60±0,20	64,30±1,40	548,20 ±18,20	6,46± 0,20
Препарат сравнения	8,15± 0,18	86,10 ±2,20	35,05 ±1,15	32,15± 0,87	17,76±0,39	348,60 ±15,20	12,94±0,67	6,01±0, 17	1,02±0,4 0	34,20±1,70	1,00±0,40	0,00±0,00	0,60±0,20	63,20±1,20	569,08 ±21,60	5,99± 0,21
Контроль	8,04± 0,13	83,90 ±1,80	32,60 ±0,90	22,55± 0,67	17,21±0,47	338,30 ±10,98	13,23±0,89	6,21±0, 16	1,20±0,4 0	30,80±1,40	0,70±0,30	0,00±0,00	0,80±0,20	66,05±1,30	533,10 ±17,80	6,16± 0,20

При уровне значимости  $\alpha=5\%$  и  $n=10$ , табличное значение критерия Шапиро-Уилка ( $W_{табл.}$ )=0,895. Расчетные значения критерия ( $W_{расч.}$ ) для показателей параметров состава периферической крови крыс превосходят табличное значение. Таким образом, при  $W_{расч.} \geq W_{табл.}$  Распределение нормальное, гипотеза  $H_0$  принимается.

Таблица 4. Влияние изучаемого препарата на состав периферической крови у крыс-самцов, (30 дней)

30 дней	RBC 10 <sup>12</sup> /л	HGB г/л	HCT %	MCV Фл	MCH пикограмм	MCHC г/л	RDW мкмоль/л	WBC %	Палочко ядерные нейтрофилы %	Сегментоя дерные нейтрофилы %	Эозинофилы %	Базофилы %	Моноциты %	Лимфоциты %	PLT %	MPV %
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Изучаемый препарат	7,81± 0,22	82,7 0±1, 80	38,94± 1,76	29,04± 0,87	19,46±0,64	275,40 ±13,30	12,37±0,70	6,80±0, 17	1,02±0,4 0	33,20±2,50	1,90±0,50	0,00±0,00	0,80±0,30	62,09±1,90	546,00 ±16,90	6,62± 0,15
Препарат сравнения	8,06± 0,19	81,5 0±1, 90	36,81± 1,61	28,57± 1,56	19,91±0,66	283,50 ±8,90	11,72±0,32	5,80±0, 21	1,04±0,4 0	32,80±2,70	1,60±0,50	0,00±0,00	1,10±0,30	63,01±2,20	578,20 ±19,90	6,10± 0,14
Контроль	8,02± 0,21	84,9 0±1, 40	39,05± 1,10	28,65± 1,09	19,29±0,49	297,20 ±7,88	11,52±0,30	5,58±0, 20	1,02±0,5 0	29,40±1,90	2,00±0,50	0,00±0,00	0,90±0,40	66,05±1,80	594,30 ±12,50	5,85± 0,14

При уровне значимости  $\alpha=5\%$  и  $n=5$ , табличное значение критерия Шапиро-Уилка ( $W_{табл.}$ )=0,895. Расчетные значения критерия ( $W_{расч.}$ ) для показателей параметров состава периферической крови крыс превосходят табличное значение. Таким образом, при  $W_{расч.} \geq W_{табл.}$  Распределение нормальное, гипотеза  $H_0$  принимается.

Таблица 5. Влияние изучаемого препарата на состав периферической крови у крыс-самок, (фон)

Фон	RBC 10 <sup>12</sup> /л	HGB г/л	HCT %	MCV Фл	MCH пикограмм	MCHC г/л	RDW мкмоль/л	WBC %	Палочко ядерные нейтрофилы %	Сегментоя дерные нейтрофилы %	Эозинофилы %	Базофилы %	Моноциты %	Лимфоциты %	PLT %	MPV %
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Изучаемый препарат	7,92± 0,19	85,6 0±1, 70	33,95± 0,95	30,78± 0,53	19,10±0,32	308,90 ±9,70	12,71±0,52	5,95±0, 19	1,04±0,5 0	31,30±1,70	1,20±0,40	0,00±0,00	0,70±0,02	65,40±1,30	497,21 ±25,50	6,33± 0,21
Препарат сравнения	8,09± 0,22	84,8 0±1, 90	34,74± 1,20	30,62± 0,50	17,72±0,64	314,05 ± 8,20	12,34±0,54	5,96±0, 17	1,01±0,4 0	32,05±1,81	0,60±0,20	0,00±0,00	0,90±0,02	65,50±1,60	557,71 ±17,80	6,17± 0,13
Контроль	7,81± 0,13	83,3 0±1, 10	34,60± 1,30	26,71± 1,11	16,30±0,40	311,60 ±6,81	13,14±0,86	6,02±0, 14	1,03±0,4 0	29,60±1,20	1,30±0,40	0,00±0,00	0,60±0,02	67,20±1,40	540,90 ±15,10	6,42± 0,11

При уровне значимости  $\alpha=5\%$  и  $n=5$ , табличное значение критерия Шапиро-Уилка ( $W_{\text{табл.}}$ )=0,895. Расчетные значения критерия ( $W_{\text{расч.}}$ ) для показателей параметров состава периферической крови крыс превосходят табличное значение. Таким образом, при  $W_{\text{расч.}} > W_{\text{табл.}}$  Распределение нормальное, гипотеза  $H_0$  принимается.

Таблица 6. Влияние изучаемого препарата на состав периферической крови у крыс-самок, (30 дней)

30 дней	RBC 10 <sup>12</sup> /л	HGB г/л	HCT %	MCV Фл	MCH пикограмм	MCHC г/л	RDW мкмоль/л	WBC %	Палочко ядерные нейтрофилы %	Сегментоя дерные нейтрофилы %	Эозинофилы %	Базофилы %	Моноциты %	Лимфоциты %	PLT %	MPV %
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Изучаемый препарат	7,81± 0,22	82,7 0±1, 80	38,94± 1,76	29,04± 0,87	19,46±0,64	275,40 ±13,30	12,37±0,70	5,68±0, 17	1,20±0,4 0	33,20±2,50	1,90±0,50	0,00±0,00	0,80±0,30	62,90±1,90	600,40 ±16,9	5,97± 0,15
Препарат сравнения	8,06± 0,19	81,5 0±1, 90	36,81± 1,61	28,57± 1,56	19,91±0,66	283,50 ±8,90	11,72±0,32	5,80±0, 21	1,40±0,4 0	32,80±2,70	1,60±0,50	0,00±0,00	1,01±0,30	63,10±2,20	578,20 ±19,90	6,10± 0,14
Контроль	8,02± 0,21	84,9 0±1, 40	39,50± 1,10	28,65± 1,09	19,29±0,49	297,20 ±7,88	11,52±0,30	5,58±0, 20	1,20±0,5 0	29,40±1,90	2,00±0,50	0,00±0,00	0,90±0,40	66,50±1,80	594,30 ±12,50	5,85± 0,14

При уровне значимости  $\alpha=5\%$  и  $n=5$ , табличное значение критерия Шапиро-Уилка ( $W_{\text{табл.}}$ )=0,895. Расчетные значения критерия ( $W_{\text{расч.}}$ ) для показателей параметров состава периферической крови крыс превосходят табличное значение. Таким образом, при  $W_{\text{расч.}} > W_{\text{табл.}}$  Распределение нормальное, гипотеза  $H_0$  принимается.

Как видно, из представленных данных в таблицах, достоверно значимых изменений в показателях крови не выявлено, незначительные колебания не являются критичными.

Таким образом, периферическая кровь крыс всех экспериментальных групп после 30-ти дневного введения испытуемого препарата по своему количественному и качественному составу соответствовала видовой физиологической норме.

### **3.3. Изучение влияния на биохимические показатели крови лекарственного препарата «Седокомб»**

В таблицах 7-10 представлены данные по влиянию изучаемого препарата, препарата сравнения и контроля на основные биохимические показатели и на активность ферментов крови крыс. Сроки снятия показателей: фон и после 30 дней приема препаратовна группах самцов и самок мышей

**Таблица 7. Влияние изучаемого препарата на основные биохимические показатели периферической крови крыс-самцов, (фон)**

Фон	Мочевина ммоль/л	Креатинин мкмоль/л	Об билирубин мкмоль/л	АСТ ед./л	АЛТ ед./л	Щел фосфатаза ед./л	Глюкоза ммоль/л	Об белок г/л	КФК ед./л	ГГТ ед./л	Амилаза ед./л
<b>N</b>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
<b>Изучаемый препарат</b>	4,13±0,13	52,50±3,10	1,75±0,08	187,70±7,40	70,80±4,10	44,50±3,30	4,98±0,15	59,50±1,70	184,40±5,96	47,90±2,40	185,30±5,80
<b>Препарат сравнения</b>	4,38±0,16	51,20±2,90	1,86±0,11	174,50±5,30	71,60±4,20	40,70±2,20	4,83±0,17	63,30±1,50	177,10±6,4	56,50±2,30	195,10±8,60
<b>Контроль</b>	4,06±0,12	55,60±2,00	1,64±0,09	181,50±8,80	62,40±2,10	39,30±2,70	4,80±0,20	59,10±1,30	195,50±8,7	54,90±1,40	212,50±9,10

При уровне значимости  $\alpha=5\%$  и  $n=5$ , табличное значение критерия Шапиро-Уилка ( $W_{\text{табл.}}$ )=0,895. Расчетные значения критерия ( $W_{\text{расч.}}$ ) для показателей параметра, изменение биохимических показателей крови крыс превосходят табличное значение. Таким образом, при  $W_{\text{расч.}} \geq W_{\text{табл.}}$  Распределение нормальное, гипотеза  $H_0$  принимается.

**Таблица 8. Влияние изучаемого препарата на основные биохимические показатели периферической крови крыс-самцов, (30 дней)**

30 дней	Мочевина ммоль/л	Креатинин мкмоль/л	Об билирубин мкмоль/л	АСТ ед./л	АЛТ ед./л	Щел фосфатаза ед./л	Глюкоза ммоль/л	Об белок г/л	КФК ед./л	ГГТ ед./л	Амилаза ед./л
<b>N</b>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
<b>Изучаемый препарат</b>	4,38±3,91	68,70±2,10	1,86±0,06	168,90±4,70	70,20±2,20	37,90±2,60	4,88±0,16	61,80±0,90	207,60±7,90	54,70±1,50	218,10±10,60
<b>Препарат сравнения</b>	4,22±0,14	69,80±2,10	1,93±0,09	180,90±5,70	68,40±2,60	37,70±1,90	4,77±0,22	65,10±1,40	194,30±3,50	56,80±2,10	213,80±7,10
<b>Контроль</b>	3,88±0,14	67,00±2,80	1,74±0,11	198,30±9,30	63,10±2,10	36,30±1,40	4,69±0,16	58,40±2,50	188,90±4,40	55,50±2,10	201,90±4,20

При уровне значимости  $\alpha=5\%$  и  $n=5$ , табличное значение критерия Шапиро-Уилка ( $W_{\text{табл.}}$ )=0,895. Расчетные значения критерия ( $W_{\text{расч.}}$ ) для показателей параметра, изменение биохимических показателей крови крыс превосходят табличное значение. Таким образом, при  $W_{\text{расч.}} \geq W_{\text{табл.}}$  Распределение нормальное, гипотеза  $H_0$  принимается.



Таблица 9. Влияние изучаемого препарата на основные биохимические показатели периферической крови крыс-самок, (фон)

Фон	Мочевина ммоль/л	Креатинин мкмоль/л	Об билирубин мкмоль/л	АСТ ед./л	АЛТ ед./л	Щел фосфатаза ед./л	Глюкоза ммоль/л	Об белок г/л	КФК ед./л	ГГТ ед./л	Амилаза ед./л
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Изучаемый препарат	3,94±0,10	52,01±2,30	1,91±0,11	181,20±4,60	59,20±2,20	42,07±2,20	4,74±0,12	59,80±2,00	173,30±3,40	54,20±2,70	200,81±6,70
Препарат сравнения	3,96±0,09	55,02±2,60	1,83±0,08	175,30±4,70	48,20±2,30	81,90±43,10	5,06±0,14	59,70±2,30	178,01±3,50	51,01±3,70	199,10±5,80
Контроль	3,88±0,14	67,00±2,80	1,74±0,11	198,03±9,30	63,01±2,10	36,03±1,40	4,69±0,16	58,40±2,50	188,90±4,40	55,50±2,11	201,90±4,20

При уровне значимости  $\alpha=5\%$  и  $n=5$ , табличное значение критерия Шапиро-Уилка ( $W_{табл.}$ )=0,895. Расчетные значения критерия ( $W_{расч.}$ ) для показателей параметра, изменение биохимических показателей крови крыс превосходят табличное значение. Таким образом, при  $W_{расч.} \geq W_{табл.}$  Распределение нормальное, гипотеза  $H_0$  принимается.

Таблица 10. Влияние изучаемого препарата на основные биохимические показатели периферической крови крыс-самок, (30 дней)

30 дней	Мочевина ммоль/л	Креатинин мкмоль/л	Об билирубин мкмоль/л	АСТ ед./л	АЛТ ед./л	Щел фосфатаза ед./л	Глюкоза ммоль/л	Об белок г/л	КФК ед./л	ГГТ ед./л	Амилаза ед./л
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Изучаемый препарат	4,01±0,19	65,70±1,60	1,81±0,09	202,80±5,30	62,60±2,40	37,60±1,60	4,78±0,20	62,40±1,40	181,10±9,40	58,80±2,11	214,50±8,91
Препарат сравнения	4,11±0,15	67,40±1,30	2,01±0,08	195,90±4,90	64,30±2,40	40,20±2,00	4,96±0,14	63,42±2,30	194,10±7,80	60,40±2,00	204,11±6,21
Контроль	4,14±0,20	65,09±2,50	1,74±0,10	201,30±7,20	61,00±0,30	38,10±2,10	4,53±0,15	64,13±2,10	192,70±4,60	62,90±2,01	199,21±5,31

При уровне значимости  $\alpha=5\%$  и  $n=5$ , табличное значение критерия Шапиро-Уилка ( $W_{табл.}$ )=0,895. Расчетные значения критерия ( $W_{расч.}$ ) для показателей параметра, изменение биохимических показателей крови крыс превосходят табличное значение. Таким образом, при  $W_{расч.} \geq W_{табл.}$  Распределение нормальное, гипотеза  $H_0$  принимается.

Как видно, из представленных данных в таблицах 7-10, достоверно значимых изменений в показателях крови не выявлено, незначительные колебания не являются критичными, не выходят за пределы физиологической нормы. Как видно из представленных выше данных, препараты как изучаемый, так и препарат сравнения, в испытанной дозе не оказывают резко негативного влияния на основные биохимические показатели крови и активность ферментов плазмы крови.

#### **3.4. Изучение возможного местно-раздражающего действия лекарственного препарата «Седокомб»**

При пероральном введении исследуемого препарата не было зарегистрировано признаков местно-воспалительной реакции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (инфильтрация, покраснение), что было подтверждено визуальным и гистологическим исследованием.

*Исследование слизистой оболочки желудка* – стенка желудка представлена слизистой, мышечной и серозной оболочками, ворсинки слизистой высокие, ямочно-щелевые отделы не углублены, равномерное распределение желез, патологических изменений слизистой оболочки (гиперемия, отек, эрозии) не выявлены. *Исследование слизистой оболочки отделов кишечника (12-ти перстная, тонкий и толстый отделы кишечника)* – кишечная оболочка представлена пучками гладкомышечных волокон, серозная оболочка образована соединительной тканью и покрыта мезотелием, без дефектов, складчатость сохранена, слизистая оболочка тонкого кишечника представлена однослойным цилиндрическим эпителием, широкой щеточной каемкой и множественными бокаловидными клетками, крипты сохранены. Кишечные ворсинки без атрофии, все слои кишечника (собственная пластинка слизистой, мышечная оболочка, серозная оболочка) без патологических изменений (гиперемия, отек, эрозии). Серозная оболочка образована тонкой соединительной тканью и покрыта мезотелием. Слизистая оболочка толстого кишечника без дефектов, образована однослойным цилиндрическим эпителием, выстлана бокаловидными клетками, имеет параллельно расположенные крипты. Мышечная оболочка образована внутренним циркулярным и наружным продольным слоями миоцитов. Серозная оболочка образована тонкой соединительной тканью и покрыта мезотелием.

Исследование местно-воспалительной реакции после перорального введения препаратов не выявлено. Полученные результаты представлены в таблице 11.

**Таблица 11. Регистрация местно-воспалительной реакции у крыс после введения препаратов**

Изучаемый препарат «Седокомб» производства НОРЦ «Фармация», Россия.	0
Препарат сравнения (настойка валерианы)	0
Контрольный препарат	0

По результатам гистологического исследования, представленным в таблице 11, ежедневное внутрижелудочное применение изучаемого препарата и препарата сравнения в течение 30 дней крысам не вызывает деструкции тканей, не сопровождается развитием дистрофических, дегенеративных, очаговых склеротических изменений в паренхиматозных клетках и строме внутренних органов. При пероральном введении исследуемого препарата не было зарегистрировано признаков местно-воспалительной реакции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и местно-раздражающего действия.

#### 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представлены результаты экспериментальных исследований седативного действия на животных (крысы) при внутрижелудочном введении лекарственного препарата «Седокомб» (производства НОРЦ «ФАРМАЦИЯ», РУДН, Россия) для приема внутрь серия 010521, годен до 05.2023. Препарат сравнения – Настойка Валерианы, флакон, 25 мл, производства ООО "ГИППОКРАТ", Россия – для приема внутрь. Контрольный препарат – Натрия хлорид 0,9%.

Результаты исследования показали, что седативная активность лекарственного препарата «Седокомб» была отмечена как при однократном, так и курсовом его применении. При этом выявлено, что противотревожное действие капсул при длительном применении постепенно возрастает. Так, через неделю от начала использования капсул их активность увеличилась в среднем в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), а через 2 недели - в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с ее эффектом при однократном использовании.

Результаты исследования показали, что достоверно значимых изменений в показателях крови не выявлено, незначительные колебания не являются критичными.

Таким образом, периферическая кровь крыс всех экспериментальных групп после 30-ти дневного введения испытуемого препарата по своему количественному и качественному составу соответствовала видовой физиологической норме.

Результаты исследования показали, что изучаемый препарат в испытанной дозе не оказывает резко негативного влияния на основные биохимические показатели крови и активность ферментов плазмы крови.

По результатам гистологического исследования ежедневное внутрижелудочное применение изучаемого препарата в течение 30 дней крысам не вызывает деструкции тканей, не сопровождается развитием дистрофических, дегенеративных, очаговых склеротических изменений в паренхиматозных клетках и строме внутренних органов. При пероральном введении исследуемого препарата не было зарегистрировано признаков местно-воспалительной реакции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и местно-раздражающего действия.

## 5. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

RBC – Red Blood Cell (Эритроциты)

HGB – Hemoglobin (Гемоглобин)

HCT – Hematocrit (Гематокрит)

MCV– Mean Corpuscular Volume (Средний объём эритроцита)

MCH – Mean Corpuscular Hemoglobin (Среднее содержание гемоглобина)

MCHC – Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (Средняя концентрация гемоглобина в эритроците)

RDW– RedCellDistributionWidth (Распределение эритроцитов по величине)

WBC – White Blood Cell (Лейкоциты)

PLT– Platelet Count (Тромбоциты)

MPV–Mean Platelet volume (Средний объём тромбоцита)

АСТ – Аспаргатаминотрансфераза

АЛТ– Аланинаминотрансфераза

Щел. фосфатаза – Щелочная фосфатаза

КФК– Креатинфосфокиназа

ГГТ–Гамма-глутамилтранспептидаза

**6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

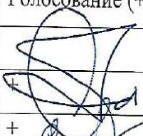
1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств под ред. Миронов А.Н. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.,
2. Межвидовой перенос доз. Е.В.Шекунова, В.Г. Макаров.- Спб., 2020.-19-28с.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией чл.-корр. РАМН проф. Р. У. Хабриева. - 2 изд., перераб. и доп. - М.:


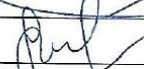
## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ КОМИССИИ ПО БИОЭТИКЕ

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

#### Заключение комиссии по биоэтике

Заседание БЭК № 7	номер №7 от 18.06.2021
План исследования	О-СД-07/21 от 18.06.2021 г. «Исследование седативного действия капсул на основе густого экстракта комбинированного экстракта»
Заказчик	НОРЦ «Фармация», РУДН, Москва
Организация исполнитель	НОРЦ «Фармация», РУДН, Москва
Руководитель исследования	Аверкин О.О.
Ответственный исполнитель	Карамян А.С.
Заявлено:	
наличие мат.-технической базы	+
источник животных	ООО «КролИнфо»
линия животных	Аутбредные крысы
пол животных	Самцы, самки
количество животных	50(крыс)
корм	марка К-122, приготовленный по ГОСТ Р 51166-98 Вет. свидетельство № 11161501660 от 16.11.2021, сертификат соответствия № 11646 срок действия с 26.08.2021 по 08.02.2022
вода	ГОСТ 51232-98 «Вода питьевая»
подстил	древесные опилки (ООО «Лабораторкорм»)
анастезия (при необходимости)	-
оперативное вмешательство	-
болезненные процедуры	Забор крови
способ эвтаназии	эфир, CO <sub>2</sub> - камера
Наличие необходимых СОП	+
	Голосование (+/-)
ФИО	Подпись
1. Новиков О.О.	
2. Степанова Е.С.	+
3. Сысоев А.В.	+

4. Бондарева И.В.	+	
5. Васильев В.Г.	+	
ИТОГО:	<b>Одобрено: +</b> Не одобрили: -	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ: (нужное подчеркнуть)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Принято большинством голосов, отсутствуют замечания</b></li> <li>2. Принято большинством голосов, есть замечания</li> <li>3. Не принято, есть нарушения</li> <li>4. <b>Альтернативы без использования животных нет</b></li> </ol>	

Председатель комиссии по биоэтике  
НОРЦ «Фармация» РУДН





О.О. Аверкин



## ПРИЛОЖЕНИЕ В

### НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

<p style="text-align: center;"><b>СОГЛАСОВАН</b></p> <hr/> <p style="text-align: center;">(наименование уполномоченного органа государства признания)</p> <hr/> <p style="text-align: center;">(Ф.И.О., должность, подпись)</p> <p>« ____ » _____ 20__ г.</p> <p style="text-align: right;">М.П.</p>	<p style="text-align: center;"><b>УТВЕРЖДЕН</b></p> <p style="text-align: center;">Министерство здравоохранения Российской Федерации</p> <hr/> <p style="text-align: center;">(Ф.И.О., должность, подпись)</p> <p>« ____ » _____ 20__ г.</p> <p style="text-align: right;">М.П.</p>
	<p style="text-align: center;"><b>СОГЛАСОВАН</b></p> <p style="text-align: center;">ООО « _____ », Россия Ф.И.О., Генеральный директор</p> <hr/> <p style="text-align: center;">(подпись)</p> <p>« ____ » _____ 20__ г.</p> <p style="text-align: right;">М.П.</p>

### НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Торговое наименование лекарственного препарата: **Густой экстракт Седокомб**  
**- Extractum spissum Sedocomb**

Группировочное наименование: **Боярышника плодов экстракт густой +  
 Пустырника травы экстракт густой + Синюхи голубой корневищ с  
 корнями экстракт густой – Crataegi fructi extractum spissum + Leonuri  
 herbae extractum spissum + Polemonii caerulei rhizomatae cum radicibus  
 extractum spissum**

Лекарственная форма: **экстракт густой**

Дозировка: -

Держатель регистрационного удостоверения:

Номер и дата нормативного документа:

## СОСТАВ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА

**Состав (на 1 г густого экстракта) «Седокомб»:**

Густой экстракт травы синюхи голубой	737,10 г
Густой экстракт травы пустырника	245,70 г
Густой экстракт плодов боярышник	17,20 г

**СПЕЦИФИКАЦИЯ**  
**Густой экстракт Седокомб**  
**Extractum spissum Sedocomb**

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)*	Ссылки на методы испытаний
Описание	Густая масса темно-коричневого цвета, с характерным запахом, со слегка горьковатым вкусом.	Визуальный ГФ РФ ОФС «Экстракты»
Идентификация		
Флавоноиды	На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина и СО гиперозида а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение других зон адсорбции.	ТСХ ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография»
Сапонины	На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.	ТСХ ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография»
Флавоноиды	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (411 ± 5) нм.	УФ-спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»
Сапонины	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (282 ± 2) нм.	УФ-спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)*	Ссылки на методы испытаний
Потеря в массе при высушивании экстрактов	Не более 25,0 %	Весовой ФЕАЭС 2.1.8.16. или ГФ РФ, ОФС «Потеря в массе при высушивании»
Спирт этиловый	Спирт этиловый – не более 0,5 % (5000 ppm)	Метод дистилляции или ГХ ГФ РФ ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах»
Тяжелые металлы.	Не более 0,001 %	ФЕАЭС 2.1.4.8. или ГФ РФ ОФС «Тяжелые металлы», метод 1.
Масса (объем) содержимого упаковки	В соответствии с требованиями	ФЕАЭС 2.1.9.17. Масса (объем) содержимого упаковки или ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»
Микробиологическа я чистота	Категория 3.2	Чашечный агаровый метод ФЕАЭС, 2.1.6.6., 2.1.6.7, 2.3.1.2. или ГФ РФ, ОФС «Микробиологическая чистота»
Количественное определение  Флавоноиды  Сапонины	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 4 %.  Содержание суммы сапонинов в пересчете на β-эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 15 %.	Спектрофотометрия  ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»

Настоящий нормативный документ распространяется на комбинированный густой экстракт, получаемый из травы синюхи голубой, травы пустырника и плодов боярышника, применяемый для производства лекарственных препаратов.

**Описание.**

*Норма:* Густая масса темно-коричневого цвета, с характерным запахом, со слегка горьковатым вкусом.

*Метод:* Определение проводят визуальным методом.

Определение проводят в соответствии с требованиями ГФ РФ, ОФС «Экстракты».

**Идентификация.**

**Тонкослойная хроматография**

**А- Флавоноиды**

*Норма:* На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина и СО гиперозида а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение других зон адсорбции.

**В- Сапонины**

*Норма:* На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

*Метод:* Тонкослойная хроматография.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФEAЭC 2.1.2.26. «Тонкослойная хроматография» или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография».

**Реактивы и стандартные образцы:**

- *стандартные образцы:* рутин (Quercetin-3-rutinoside hydrate, Vitamin P hydrate; CAS Number: 207671-50-9, Sigma-Aldrich);

гиперозид (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone 3-D-galactoside, Hyperin, Hyperoside, Quercetin 3-D-galactoside; CAS Number: 482-36-0, Sigma-Aldrich); или аналогичного качества).

- *этилацетат P*

- *н-бутанол P,*

- *вода P*

- *спирт 70 % P*

- *спирт 96 % P*

- *5% спиртовой раствор AlCl<sub>3</sub> P*

- *фосфорно-вольфрамовая кислота спиртовой раствора 25 % P.*

- *аммиак*

***Примечание:*** Для текущих анализов могут использоваться вторичные стандартные образцы, аттестованные по фармакопейным или международным образцам.

**Приготовление растворов**

**A- Флавоноиды**

*Подвижная фаза (ПФ):* н-бутанол – этилацетат - вода (4:5:2)

*Раствор стандартного образца (СО) рутина и гиперозида.* Около 0,010 г СО рутина и гиперозида растворяют в 10 мл спирта этилового 70 %.

Срок годности раствора 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Реактив для детектирования.* Алюминия хлорида раствор 5 % в спирте 70 %.

***Методика:***

На линию старта ТСХ пластинки «Сорбфил ПТСХ АФ-УФ» наносят по 2 мкл раствора А, приготовленного для количественного определения и раствора СО рутина и СО гиперозид . Пластинку с нанесенной пробой сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 40 мин ПФ, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают реактивом для детектирования и сушат, а затем выдерживают в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1-3 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

***Проверка пригодности хроматографической системы:***

На хроматограмме раствора СО рутина и СО гиперозида должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого, желто-оранжевого или оранжевого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина и СО гиперозида а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение других зон адсорбции.

### **В- Сапонины**

*Подвижная фаза (ПФ):* бутанол–спирт 96 %-аммиак (7:2:5)

*Реактив для детектирования.* Фосфорно-вольфрамовой кислоты спиртовой раствор 25 %

#### ***Методика:***

На линию старта ТСХ пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке наносят 4 мкл раствора А, приготовленного для количественного определения. Пластинку с нанесенной пробой сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин ПФ, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают реактивом для детектирования и сушат, а затем выдерживают в сушильном шкафу при 100-105 С в течение 5 мин.

#### ***Проверка пригодности хроматографической системы:***

На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

### **УФ-спектрофотометрия**

#### **А- Флавоноиды**

*Норма:* УФ-спектр полученного раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(411 \pm 5)$  нм.

*Метод:* УФ – спектрофотометрия.



Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

Испытание проводят одновременно с количественным определением.

0,5 мл раствора А, приготовленного для количественного определения, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора этиловым спиртом 70 % до метки и перемешивают. УФ-спектр полученного раствора в области от 390 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(411 \pm 5)$  нм.

#### **В- Сапонины**

*Норма:* УФ-спектр полученного раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(282 \pm 2)$  нм.

*Метод:* УФ – спектрофотометрия.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

Испытание проводят одновременно с количественным определением.

0,5 мл раствора А, приготовленного для количественного определения, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора этиловым спиртом 70 % до метки и перемешивают. УФ-спектр полученного раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(282 \pm 2)$  нм.

**Потеря в массе при высушивании.**

*Норма:* Не более 25 %.

*Метод:* Определение проводят Весовым методом.

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.8.16. «Потеря в массе при высушивании экстрактов» или ГФ РФ, ОФС «Потеря в массе при высушивании».

**Спирт этиловый**

*Норма:* Спирт этиловый – не более 0,5 % (5000 ppm)

*Метод:* Метод дистилляции или ГХ

Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РФ ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

**Тяжелые металлы**

*Норма:* не более 0,001 %.

*Метод:*

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.4.8. «Тяжелые металлы» или ГФ РФ, ОФС «Тяжелые металлы», метод 1, с использованием эталонного раствора 1, в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции.

**Микробиологическая чистота**

*Норма:* Категория 3.2.

*Метод:* Чашечный агаровый метод.

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.3.1.2. «Требования к микробиологической чистоте лекарственных препаратов,

фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ для их производства»; ФЕАЭС 2.1.6.6 «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество жизнеспособных аэробных микроорганизмов»; ФЕАЭС 2.1.6.7. «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств на наличие отдельных видов микроорганизмов» или ГФ РФ, ОФС «Микробиологическая чистота».

В условиях проведения испытания субстанция не обладает антимикробным действием.

#### **Количественное определение**

##### **A- Флавоноиды**

*Норма:* Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 2 %.

*Метод:* УФ-спектрофотометрия.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

##### **Реактивы и стандартные образцы:**

*- стандартные образцы:*

рутин (Quercetin-3-rutinoside hydrate, Vitamin P hydrate; CAS Number: 207671-50-9, Sigma-Aldrich);

гиперозид (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone 3-D-galactoside, Hyperin, Hyperoside, Quercetin 3-D-galactoside; CAS Number: 482-36-0, Sigma-Aldrich); или аналогичного качества).

*- спирт 70 % P;*

- спирт 96 % P;
- алюминия хлорида раствор 5 % в спирте 70 % P;
- уксусной кислоты разведенной 30 %.

**Примечание:** Для текущих анализов могут использоваться вторичные стандартные образцы, аттестованные по фармакопейным или международным образцам.

### Приготовление растворов

#### *Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина и (СО) гиперозида.* Около 25 мг (точная навеска) предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100–105°C СО рутина и гиперозида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл спирта 70% при нагревании на водяной бане. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А СО рутина и раствор А СО гиперозида). Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

1,0 мл из каждого раствора помещают отдельно в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 % и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б СО рутина и раствор Б СО гиперозида). Срок годности раствора 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Испытуемый раствор.* Около 20 мг (точная навеска) густого экстракта помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют 40 мл спирта 90% при нагревании на водяной бане. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы доводят спиртом 90 % до метки и перемешивают. (Раствор А испытуемого раствора). 1,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в

мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 % и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 411 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А испытуемого раствора, 1 капли уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина и раствора Б СО гиперозид. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А СО (рутина или гиперозид), 1 капли уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин или гиперозид в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 10 \cdot 25 \cdot 1 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 2 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot (100 - W)} = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot 10}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где:  $A$  – оптическая плотность испытуемого раствора Б;

$A_0$  – оптическая плотность раствора Б СО рутина или СО гиперозид;

$a$  – навеска экстракта, мг;

$a_0$  – навеска СО рутина, мг;

$P$  – содержание основного вещества в СО рутина или СО гиперозид, %

$W$  – потеря в массе при высушивании, %.

### **В- Сапонины**

*Норма:* Содержание суммы сапонинов в пересчете на β-эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 15 %.

*Метод:* УФ-спектрофотометрия.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

**Реактивы и стандартные образцы:**

- *стандартный образец:*  $\beta$ -эсцин (CAS Number: 6805-41-0, Sigma-Aldrich или аналогичного качества);

- *уксусная кислота ледяная Р;*

- *серная кислота Р.*

***Примечание:*** Для текущих анализов могут использоваться вторичные стандартные образцы, аттестованные по фармакопейным или международным образцам.

**Приготовление растворов**

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) $\beta$ -эсцина.* Около 0,05 г (точная навеска) СО  $\beta$ -эсцина, высушенного до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50–70 мл уксусной кислоты ледяной при перемешивании, доводят тем же растворителем до метки и снова перемешивают (раствор А СО  $\beta$ -эсцина). 5,0 мл раствора А СО  $\beta$ -эсцина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора уксусной кислотой ледяной до метки и снова перемешивают (раствор Б СО  $\beta$ -эсцина). Срок годности раствора не более 30 сут

*Испытуемый раствор.* Около 50 мг (точная навеска) густого экстракта помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят уксусной кислотой

ледяной до метки и перемешивают (испытуемый раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10 мл раствора А, доводят объем раствора уксусной кислотой ледяной до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). В колбу со шлифом помещают 2,0 мл раствора Б испытуемого раствора, прибавляют 2 мл уксусной кислоты ледяной и 2 мл серной кислоты концентрированной и кипятят с обратным холодильником в течение 1 ч, затем охлаждают и измеряют оптическую плотность полученного раствора В испытуемого раствора при длине волны 282 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 4 мл уксусной кислоты ледяной и 2 мл серной кислоты концентрированной, выдержанный в тех же условиях. Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора В СО β-эсцина. Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин в густом экстракте в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 100 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 25 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 100 \cdot (100 - W)} = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot 50}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где:  $A$  – оптическая плотность испытуемого раствора Б;

$A_0$  – оптическая плотность раствора Б СО β-эсцина;

$a$  – навеска экстракта, мг;

$a_0$  – навеска СО β-эсцина, мг;

$P$  – содержание основного вещества в СО β-эсцина, %

$W$  – потеря в массе при высушивании, %.

#### ОПИСАНИЕ УПАКОВКИ

По 10 г, 50 г, 100 г в белый непрозрачный полимерный флакон с влагопоглотителем, укупоренном белой навинчиваемой полимерной крышкой с контролем вскрытия.

**МАРКИРОВКА**

В соответствии с разделом 1.3.2 модуля 1 регистрационного досье.

**ХРАНЕНИЕ**

В защищённом от света месте при температуре ниже 25 °С.

**СРОК ГОДНОСТИ**

3 года.

**Примечание.**

1. Реактивы, приведённые в настоящей нормативной документации, описаны в соответствующих разделах Фармакопеи ЕАЭС и ГФ РФ ОФС «Реактивы. Индикаторы».

2. Компания гарантирует безвозмездную поставку всех стандартных образцов, необходимых для контроля качества препарата в РФ.



## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

### НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

СОГЛАСОВАН

\_\_\_\_\_  
 (наименование, дата и номер документа  
 уполномоченного органа государства  
 признания, в соответствии с которым  
 согласован нормативный документ по  
 качеству)

УТВЕРЖДЕН

\_\_\_\_\_  
 (наименование, дата и номер документа  
 уполномоченного органа референтного государства,  
 в соответствии с которым согласован нормативный  
 документ по качеству)

#### НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ ПО КАЧЕСТВУ

Торговое наименование лекарственного препарата: Седокомб - Sedocomb

Группировочное наименование: Боярышника плодов экстракт густой +

Пустырника травы экстракт густой + Синюхи голубой корневищ с

корнями экстракт густой, капсулы – Crataegi fructi extractum spissum

+Leonuri herbae extractum spissum + Polemonii caerulei rhizomatae cum

radicibus extractum spissum, capsulae

Лекарственная форма: капсулы

Дозировка: 407 мг

Держатель регистрационного удостоверения:

(наименование держателя регистрационного удостоверения и государства его регистрации  
 (места нахождения))

Номер и дата нормативного документа: \_\_\_\_\_

(номер и дата регистрационного удостоверения, выданного референтным государством)

## СОСТАВ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА

## Состав (на 1 капсулу):

Наименование	Количество, мг	Спецификация*
<i>Действующее вещество:</i>		
Комбинированный густой экстракт (с содержанием суммы флавоноидов в пересчете на рутин и суммы сапонинов в пересчете на $\beta$ -эсцин )	407,0	НД фирмы
<i>Вспомогательные вещества:</i>		
Твёрдый жир	193,0	ТУ фирмы
Твин 80	5,0	ТУ фирмы
<b>Масса содержимого капсулы</b>	<b>605,0</b>	
<i>Состав капсулы (корпус и крышечка) в %:</i>		
Желатин	до 100	Евр. Фарм.
Индигодин (E132)	0,2600	Евр. Фарм.
Хинолиновый желтый (E104)	0,1952	Евр. Фарм.
Титана диоксид (E171)	1,0000	Евр. Фарм.

\* ссылки приведены на действующее издание Фармакопеи.

## СПЕЦИФИКАЦИЯ

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний
Описание	Твердые капсулы № 0 коричневого цвета, содержимое капсул – пастообразная масса от желто-коричневого до коричневого цвета..	Визуальный ГФ РФ, ОФС «Капсулы»
Идентификация Флавоноиды	На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина и СО гиперозида а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение других зон адсорбции.	ТСХ ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография»
Сапонины	На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.	ТСХ ФЕАЭС 2.1.2.26. или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография»
Флавоноиды	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (411 ± 5) нм.	УФ-спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»
Сапонины	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (282 ± 2) нм.	УФ-спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»
Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата	От 559,7 мг до 650,3 мг (605,0 мг ± 7,5 %) 18/20 капсул - не более ± 7,5 %; 2/20 капсул - не более ± 15 %	ФЕАЭС, 2.1.9.5. или ГФ РФ ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм»
Однородность дозированных единиц Флавоноиды	В соответствии с требованиями	ФЕАЭС 2.1.9.14., способ 2 или ГФ РФ ОФС «Однородность дозирования», способ 2.

Показатели качества	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний
Сапонины	В соответствии с требованиями	
<b>Распадаемость</b>	Капсулы должны полностью распадаться в воде за 15 минут.	ФЕАЭС, 2.1.9.1. или ГФ РФ, ОФС «Распадаемость таблеток и капсул»
<b>Растворение</b>	Не менее 75% в течение 30 мин	ГФ РФ, ОФС. «Растворение»
<b>Микробиологическая чистота</b>	Категория 3Б	ФЕАЭС, 2.1.6.6., 2.1.6.7, 2.3.1.2. или ГФ РФ, ОФС «Микробиологическая чистота» Чашечный агаровый метод
<b>Количественное определение</b>		
Флавоноиды	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 15 мг.	Спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»
Сапонины	Содержание суммы сапонинов в пересчете на $\beta$ -эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 65 мг.	

## ОПИСАНИЕ МЕТОДИК ИСПЫТАНИЙ

### ОПИСАНИЕ

Норма: Твердые желатиновые капсулы № 0, крышечка и корпус зеленого цвета.

Содержимое капсул – однородная пастообразная масса желтовато-коричневого цвета.

Метод: Определение проводят визуальным методом.

Определение проводят в соответствии с требованиями ГФ РФ, ОФС «Капсулы».

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ

#### Тонкослойная хроматография

#### A- Флавоноиды

**Норма:** На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина и СО гиперозида а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение других зон адсорбции.

**В- Сапонины**

**Норма:** На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

**Метод:** Тонкослойная хроматография.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.26. «Тонкослойная хроматография» или ГФ РФ ОФС «Тонкослойная хроматография».

**Реактивы и стандартные образцы:**

- *стандартные образцы:* рутин (Quercetin-3-rutinoside hydrate, Vitamin P hydrate; CAS Number: 207671-50-9, Sigma-Aldrich); гиперозид (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone 3-D-galactoside, Hyperin, Hyperoside, Quercetin 3-D-galactoside; CAS Number: 482-36-0, Sigma-Aldrich); или аналогичного качества).

- *этилацетат Р*

- *н-бутанол Р,*

- *вода Р*

- *спирт 70 % Р*

- *спирт 96 % Р*

- *5% спиртовой раствор AlCl<sub>3</sub> Р*

- *фосфорно-вольфрамовая кислота спиртовой раствора 25 % Р.*

- *аммиак*

**Примечание:** Для текущих анализов могут использоваться вторичные стандартные образцы, аттестованные по фармакопейным или международным образцам.

### **Приготовление растворов**

#### **А- Флавоноиды**

*Подвижная фаза (ПФ).* н-бутанол – этилацетат - вода (4:5:2)

*Раствор стандартного образца (СО) рутина и гиперозида.* Около 0,010 г СО рутина и гиперозида растворяют в 10 мл спирта этилового 70 %.

Срок годности раствора 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Реактив для детектирования 1.* 5% спиртовой раствор  $AlCl_3$

#### ***Методика:***

На линию старта ТСХ пластинки «Сорбфил ПТСХ АФ-УФ» наносят по 2 мкл раствора А, приготовленного для количественного определения и раствора СО рутина и СО гиперозид . Пластинку с нанесенной пробой сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 40 мин ПФ, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают реактивом для детектирования 1 и сушат, а затем выдерживают в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1-3 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

#### ***Проверка пригодности хроматографической системы:***

На хроматограмме раствора СО рутина и СО гиперозида должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого, желто-оранжевого или оранжевого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета на уровне зоны СО рутина и СО гиперозида а также не менее двух зон адсорбции с флуоресценцией голубого цвета ниже и выше зоны адсорбции СО гиперозида; допускается обнаружение других зон адсорбции.

#### **В- Сапонины**

*Подвижная фаза (ПФ).* бутанол–спирт 96 %-аммиак (7:2:5)

*Реактив для детектирования 1.* фосфорно-вольфрамовая кислота спиртовой раствора 25 %

***Методика:***

На линию старта ТСХ пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой наносят по 4 мкл раствора А, приготовленного для количественного определения. Пластинку с нанесенной пробой сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин ПФ, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают реактивом для детектирования 1 и сушат, а затем выдерживают в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 5 мин.

***Проверка пригодности хроматографической системы:***

На хроматограмме испытуемого раствора должно наблюдаться не менее 3 зон адсорбции коричневого цвета и над ними не менее 3 зон адсорбции розово-фиолетового цвета; допускается обнаружение других зон адсорбции.

**УФ-спектрофотометрия**

**А- Флавоноиды**

**Норма:** УФ-спектр полученного раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(411 \pm 5)$  нм.

**Метод:** УФ – спектрофотометрии.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

Испытание проводят одновременно с количественным определением.

0,5 мл раствора А, приготовленного для количественного определения, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора этиловым спиртом 70 % до метки и перемешивают. УФ-спектр полученного раствора в области от 390 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(411 \pm 5)$  нм.

**В- Сапонины**

Норма: УФ-спектр полученного раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(282 \pm 2)$  нм.

Метод: УФ – спектрофотометрии.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

Испытание проводят одновременно с количественным определением.

0,5 мл раствора А, приготовленного для количественного определения, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора этиловым спиртом 70 % до метки и перемешивают. УФ-спектр полученного раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $(282 \pm 2)$  нм.

**Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата**

Норма: От 559,7 мг до 650,3 мг  $(605,0 \text{ мг} \pm 7,5 \%)$

18/20 капсул - не более  $\pm 7,5 \%$ ;

2/20 капсул - не более  $\pm 15 \%$

Метод: Расчетно-массовый способ.

Определение проводят в соответствии с требованиями Фармакопеи ЕАЭС, ФЕАЭС, 2.1.9.5. «Однородность массы дозированных лекарственных форм» или ГФ РФ, ОФС 1.4.2.0009.15.

**ОДНОРОДНОСТЬ ДОЗИРОВАННЫХ ЕДИНИЦ**

Норма: В соответствии с требованиями



Метод: Определение проводят в соответствии с требованиями Фармакопеи ФЕАЭС 2.1.9.14 «Однородность дозированных единиц», способ 2 или ГФ РФ, ОФС «Однородность дозирования», способ 2.

#### **РАСПАДАЕМОСТЬ**

Норма: Капсулы должны полностью распадаться в воде за 15 минут.

Метод: Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС, 2.1.9.1. или ГФ РФ, ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

Методика: В каждую из 6 трубок помещают по одному образцу. Опускают корзинку в сосуд с водой и включают прибор. По истечении 15 минут корзинку вынимают и исследуют состояние капсул. Все образцы должны полностью распасться.

Температура :  $(37 \pm 1)$  °С;

Время : 15 мин

#### **РАСТВОРЕНИЕ**

Норма: Не менее 75% в течение 30 мин.

Метод: УФ – спектрофотометрии

Методика:

##### Условия тестирования

Аппарат : лопастная мешалка;

Скорость вращения : 50 об/мин;

Среда растворения : вода очищенная;

Объем среды растворения : 900 мл;

Температура среды :  $(37 \pm 0,5)$  °С;

Время растворения : 30 мин.

##### Испытуемый раствор

Шесть сосудов для испытания наполняют средой растворения (900 мл в каждый из сосудов). В каждый сосуд помещают по одной капсуле и проводят испытание. Через 30 мин из сосудов отбирают пробы раствора объемом 20 мл и

фильтруют через мембранный фильтр Chromofil PVDF-45/25 с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 3 мл фильтрата (раствор А).

#### А- Флавоноиды

10,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, прибавляют 1 мл раствора алюминия хлорида 2 % в спирте 96 %, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, перемешивают, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б).

#### *Стандартный раствор*

Около 0,020 г (точная навеска) предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100 –105°С СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл спирта 70% и нагревают на водяной бане до полного растворения навески. Раствор охлаждают, объем раствора доводят до метки спиртом 70 %, перемешивают (раствор В).

1,0 мл раствора В помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 1 мл раствора алюминия хлорида 2 % в спирте 96 %, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, перемешивают, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Г).

Перед определением растворы Б и Г выдерживают 40 минут при комнатной температуре.

Оптическую плотность раствора Б измеряют на длине волны 411 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный аналогично раствору Б, но без добавки раствора алюминия хлорида 2 % в спирте 96 %.

Измеряют оптическую плотность раствора Г. В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный раствору Г, но без добавки раствора алюминия хлорида 2 % в спирте 96 %.

Количество суммы флавоноидов в пересчете на рутин, перешедшее в среду растворения в процентах (X) от заявленного количества, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 900 \cdot 1 \cdot 20 \cdot 100 \cdot P \cdot G}{A_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 100 \cdot L} = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot G \cdot 36}{A_0 \cdot a \cdot 50 \cdot L}$$

где:

A – оптическая плотность раствора Б;

A<sub>0</sub> – оптическая плотность раствора Г;

a<sub>0</sub> – навеска СО рутина, мг;

P – содержание основного вещества в СО рутина, %;

G – средняя масса содержимого капсул, мг.

L – заявленное содержание суммы флавоноидов в капсуле, мг.

#### **В- Сапонины**

10 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, объем раствора доводят уксусной кислотой ледяной до метки, перемешивают (раствор Д).

#### *Раствор сравнения*

В коническую колбу вместимостью 20 мл помещают 4 мл уксусной кислоты ледяной и 2 мл кислоты серной концентрированной, перемешивают.

#### *Стандартный раствор*

Около 30 мг (точная навеска) СО β-эсцина, высушенного при температуре 60°C под вакуумом, до постоянной массы помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 35 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают.

1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводят объем раствора уксусной кислотой ледяной до метки, перемешивают (раствор Е).

В коническую колбу вместимостью 20 мл помещают 2 мл раствора Д, 2 мл уксусной кислоты ледяной и 2 мл кислоты серной концентрированной, перемешивают, нагревают с обратным холодильником в течение 1 ч.

Стандартный раствор Е и раствор сравнения обрабатывают аналогично.

Измеряют оптические плотности испытуемого и стандартного растворов относительно раствора сравнения на длине волны 282 нм.

Количество суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин, перешедшее в среду растворения в процентах (X) от заявленного количества, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 20 \cdot 900 \cdot 100 \cdot P \cdot G}{A_0 \cdot 50 \cdot 20 \cdot 10 \cdot 100 \cdot L} = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot G \cdot 9}{A_0 \cdot a \cdot 5 \cdot L}$$

где:

A – оптическая плотность испытуемого раствора Д;

A<sub>0</sub> – оптическая плотность стандартного раствора Е;

a<sub>0</sub> – навеска СО  $\beta$ -эсцина, мг;

P – содержание основного вещества в СО  $\beta$ -эсцина, %;

G – средняя масса содержимого капсул, мг.

L – заявленное содержание суммы сапонинов в капсуле, мг.

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЧИСТОТА

Норма: Категория ЗБ.

Метод: Чашечный агаровый метод.

Испытание проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.3.1.2. «Требования к микробиологической чистоте лекарственных препаратов, фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ для их производства»; ФЕАЭС 2.1.6.6 «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество жизнеспособных аэробных микроорганизмов»; ФЕАЭС 2.1.6.7. «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств на наличие отдельных видов микроорганизмов» или ГФ РФ, ОФС «Микробиологическая чистота».

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

### A- Флавоноиды

Норма: Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 15 мг.

Метод: УФ-спектрофотометрия.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24.

«Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

**Реактивы и стандартные образцы:**

- *стандартные образцы:* рутин (Quercetin-3-rutinoside hydrate, Vitamin P hydrate; CAS Number: 207671-50-9, Sigma-Aldrich); или аналогичного качества).

- *спирт 70 % P;*

- *спирт 96 % P;*

- *алюминия хлорида раствор 5 % в спирте 70 % P;*

- *уксусной кислоты разведенной 30 %.*

***Примечание:*** Для текущих анализов могут использоваться вторичные стандартные образцы, аттестованные по фармакопейным или международным образцам.

**Приготовление растворов**

*Стандартный раствор*

Около 0,025 г (точная навеска) предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100 –105°C СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл спирта 70% и нагревают на водяной бане до полного растворения навески. Раствор охлаждают, объем раствора доводят до метки спиртом 70 %, перемешивают (раствор А).

Срок годности раствора не более 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Испытуемый раствор*

Растворитель: метанол: вода 70:30

600 мг (точная навеска) содержимого капсул помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, нагревают на водяной бане при температуре 60 °С до перехода содержимого капсул в жидкое состояние, прибавляют 20 мл растворителя. Полученный раствор обрабатывают ультразвуком при температуре 50 °С в течение 30 мин, охлаждают до комнатной температуры и далее охлаждают на льду до полного замерзания жировой фазы (около 10 мин).

Раствор отделяют от осадка фильтрованием через бумажный фильтр типа «Красная лента» в мерную колбу вместимостью 100 мл. Фильтр с осадком возвращают в коническую колбу и процедуру отделения от жировой фазы повторяют еще два раза. Полученные фильтраты объединяют и доводят объем раствора растворителем до метки (раствор Б).

*Методика*

1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл раствора алюминия хлорида 2 % в спирте 96 %, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, перемешивают, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор В).

3,0 мл раствора Б помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл раствора алюминия хлорида 2 % в спирте 96 %, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, перемешивают, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Г).

Перед определением растворы В и Г выдерживают 40 минут при комнатной температуре.

Оптическую плотность раствора Г измеряют на длине волны 411 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный аналогично раствору Г, но без добавки раствора алюминия хлорида 2 % в спирте 96 %.

Измеряют оптическую плотность раствора В. В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный раствору В, но без добавки раствора алюминия хлорида 2 % в спирте 96 %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (X, мг/капс.) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot P \cdot G}{A_0 \cdot a \cdot 3 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100} = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot G}{A_0 \cdot a \cdot 150}$$

где:

A – оптическая плотность раствора Г;

- $A_0$  – оптическая плотность раствора В;  
 $a$  – навеска испытуемого препарата, мг;  
 $a_0$  – навеска СО рутина, мг;  
 $P$  – содержание основного вещества в СО рутин, %;  
 $G$  – средняя масса содержимого капсул, мг.

### **В- Сапонины**

**Норма:** Содержание суммы сапонинов в пересчете на  $\beta$ -эсцин должно быть не менее 65 мг.

**Метод:** УФ-спектрофотометрия.

Определение проводят в соответствии с требованиями ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

### **Реактивы и стандартные образцы:**

- стандартный образец  $\beta$ -эсцин (CAS Number: 6805-41-0, Sigma-Aldrich или аналогичного качества) ;
- уксусная кислота ледяной  $P$ ;
- серная кислота  $P$ .

**Примечание:** Для текущих анализов могут использоваться вторичные стандартные образцы, аттестованные по фармакопейным или международным образцам.

### **Приготовление растворов**

#### *Стандартный раствор*

Около 0,065 г (точная навеска) СО  $\beta$ -эсцина, высушенного при температуре 60°C под вакуумом, до постоянной массы помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают.

5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора уксусной кислотой ледяной до метки, перемешивают. Срок годности раствора не более 30 сут.

*Испытуемый раствор*

Используют испытуемый раствор, приготовленный для определения суммы флавоноидов (см. «Методика количественного определения суммы флавоноидов»).

5 мл раствора Б помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, объем раствора доводят уксусной кислотой ледяной до метки, перемешивают (раствор Д).

*Раствор сравнения*

В коническую колбу вместимостью 20 мл помещают 4 мл уксусной кислоты ледяной и 2 мл кислоты серной концентрированной, перемешивают.

Методика

В коническую колбу вместимостью 20 мл помещают 2 мл раствора Д, 2 мл уксусной кислоты ледяной и 2 мл кислоты серной концентрированной, перемешивают, нагревают с обратным холодильником в течение 1 ч.

Стандартный раствор и раствор сравнения обрабатывают аналогично.

Измеряют оптические плотности испытуемого и стандартного растворов относительно раствора сравнения на длине волны 282 нм.

Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин (X, мг/капс.) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 25 \cdot P \cdot G}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 100} = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot G}{A_0 \cdot a \cdot 100}$$

где:

A – оптическая плотность испытуемого раствора Д;

A<sub>0</sub> – оптическая плотность стандартного раствора;

a – навеска содержимого капсул, мг;

a<sub>0</sub> – навеска СО β-эсцина, мг;

P – содержание основного вещества в СО β-эсцина, %;

G – средняя масса содержимого капсул, мг.



**ОПИСАНИЕ УПАКОВКИ**

По 10 капсул в блистере - контурную ячейковую упаковку по ГОСТ 17768-90. 3 блистера вместе с листком-вкладышем (инструкцией по медицинскому применению) в картонную пачку.

**МАРКИРОВКА**

В соответствии с разделом 1.3.2 модуля 1 регистрационного досье.

**ХРАНЕНИЕ**

Хранить при температуре ниже 25 °С.

**СРОК ГОДНОСТИ**

2 года.

**Примечание.**

1. Реактивы, приведённые в настоящей нормативной документации, описаны в соответствующих разделах Фармакопеи ЕАЭС и ГФ РФ ОФС «Реактивы. Индикаторы».
2. Компания гарантирует безвозмездную поставку всех стандартных образцов, необходимых для контроля качества препарата в РФ.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

### АКТЫ ВНЕДРЕНИЯ



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
**РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ**  
**ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР**  
**«ЦЕНТР КОЛЛЕКТИВНОГО ПОЛЬЗОВАНИЯ**  
**(Научно-образовательный центр)»**

117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8 корп.  
Тел./факс +7 (495) 787 38 03, доб. 2117

<http://ccp.rudn.ru>  
E-mail: [novikov-oo@rudn.ru](mailto:novikov-oo@rudn.ru)

#### АКТ

о внедрении результатов диссертационного исследования  
Хажжар Фади

**Наименование:** Количественный анализ флавоноидов и сапонинов в густых экстрактах плодов боярышника, травы пустырника и травы синюхи голубой методом спектрофотометрии.

**Авторы внедрения:** Хажжар Фади, Потанина О.Г, Абрамович Р.А.

**Место разработки:** ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, НОРЦ "Фармация".

**Источник информации:**

Материалы кандидатской диссертации Хажжар Фади «Разработка комплексного растительного экстракта и лекарственных средств седативного действия на его основе».

**Место внедрения:** ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, НОРЦ "Фармация", г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2.

**Форма внедрения:** используется с января 2022 года в лаборатории прецизионных инструментальных методов анализа имени профессора Калабина Г.А. НОРЦ "Фармация" РУДН.

**Эффективность внедрения:** Разработанная методика может быть использована для определения суммы флавоноидов и сапонинов в любом виде лекарственного растительного сырья.

Директор НОРЦ «Фармация»  
О. О. Аверкин  
2022 г.



**МИНОБРНАУКИ РОССИИ**  
**Федеральное государственное**  
**автономное образовательное**  
**учреждение высшего образования**  
**«Северо-Восточный**  
**федеральный университет**  
**им. М.К.Амосова»**  
**(СВФУ)**

Белинского ул., д.58, г. Якутск  
 Республика Саха (Якутия), 677000  
 Тел. (4112) 35-20-90  
 Факс (4112) 32-13-14  
 E-mail: rector@svfu.ru  
<http://www.svfu.ru>

№ 05-322  
 на № 05-322 от 29.09.2023 г.

**АКТ**

о внедрении результатов диссертационного исследования  
 Хажжар Фади

Результаты диссертационного исследования на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук «Разработка комплексного растительного экстракта и лекарственных средств седативного действия на его основе». Внедрены в учебный процесс в рамках преподавания дисциплин «Фармакогнозия» и «Использование биологически активных веществ растительного происхождения в фармации» у студентов 3, 4 курсов отделения «Фармация» Медицинского института.



Проректор  
 по образовательной деятельности

А.И. Голиков

**ПРИЛОЖЕНИЕ Е****СВИДЕТЕЛЬСТВО О РЕГИСТРАЦИИ КОММЕРЧЕСКОЙ ТАЙНЫ**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования

**“РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ”**

**РУДН**

**СВИДЕТЕЛЬСТВО**

о регистрации коммерческой тайны

№ 017-06/03-01-21-5

На основании Распоряжения по Российскому университету дружбы народов № 017/6 от “01” 03 2022 года об отнесении к коммерческой тайне сведения о “**Фармацевтическая композиция седативного действия (комбинированный густой экстракт из травы пустырника, травы синюхи голубой и плодов боярышника)**” выдано настоящее свидетельство о регистрации коммерческой тайны.

**Правообладатель:** Российский университет дружбы народов

**Авторы:**

Хажжар Фади

Горяинов Сергей Владимирович

Потанина Ольга Георгиевна

Абрамович Римма Александровна

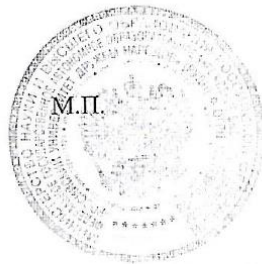
Лазар Симон

Никулин Александр Владимирович


Зарегистрирована  
В Реестре "Коммерческая тайна"

г. Москва, РУДН

"01" 03 20 22 г.



Первый проректор-проректор  
по научной работе

  
А.А. Костин

## ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

### ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ



Утверждаю

Директор ЦКП (НОЦ) РУДН

*А.К.* Абрамович Р.А.

### ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ

На производство лекарственного препарата

«Капсулы с тиксотропной жидкостью густого комбинированного  
экстракта на основе травы синюхи голубой, травы пустырника и плодов  
боярышника»

ЛР № ..... – 08 – 2020

Срок действия регламента до 31 августа 2025 г.

## ПРИЛОЖЕНИЕ И

### СЕРТИФИКАТ КАЧЕСТВА «ТВЕРДЫЙ ЖИР»

Hardfat



Сертификат качества

Aug 25, 2023

**Описание продукта:**

5031879 Hardfat это фракционированный, гидрогенизированный, рафинированный растительный жир лауринового типа.

**Физико-химические показатели:**

Содержание свободных жирных кислот по %л	Макс. 0.10	%	ISO 660
Показатель перекисного числа	Макс. 1.0	meqO <sub>2</sub> /kg	ISO 3960
Органолептические вкусовые свойства	Нейтральные		IN HOUSE
Лавибонд цветность, красный (ячейка 5.25")	Макс. 1.5		ISO 27608
Содержание твердой фракции жира при 20°C	75 - 85	%	ISO 8292-1 (Non-stab, parallel)
Содержание твердой фракции жира при 25°C	56 - 66	%	ISO 8292-1 (Non-stab, parallel)
Содержание твердой фракции жира при 30°C	30 - 39	%	ISO 8292-1 (Non-stab, parallel)
Содержание твердой фракции жира при 35°C	2 - 9	%	ISO 8292-1 (Non-stab, parallel)

**Список ингредиентов (в порядке убывания массовой доли):**

Растительные масла и жиры (полностью гидрированного пальмоядровое, пальмовое)

**Тип упаковки:**

CARTON - 12.5KG

**Хранение:**

Растительные жиры в упаковке должны храниться в чистом, прохладном (<20°C), сухом (RH<60°C) помещении, защищен от посторонних запахов и от воздействия солнечных лучей. Рекомендуемые сроки хранения при соблюдении вышеуказан условий максимум 12 месяцев.

**Аллергены:**

Отсутствие аллергенов в соответствии с регламентом ЕС 1169/2011

**Генетическая модификация:**

Продукт не является новым пищевым продуктом, происходит из источников, не содержащих ГМО, и следовательно, не требует обязательного декларирования в соответствии с Регламентом ЕС 1829/2003 и 1830/2003.

**Соблюдение законодательства по пищевым продуктам:**

Продукт соответствует требованиям существующего законодательства по пищевым продуктам и директив ЕС, включая требования по загрязнителям и рекомендации согласно законам ЕС. Упаковка и транспорт также соответствуют требованиям.

КОПИЯ



Эта информация является типичной до подписания Отделом качества Bunge Loders Croklaan и Заказчиком. Только подписанный документ является спецификацией.

Bunge Loders Croklaan B.V. - Hogeweg 1 - P.O. Box 4 - 1520 AA - Wormerveer - Netherlands - Tel:(31)75 6292911  
Fax:(31)75 6289455 - Internet:www.bunzeloders.com

Ref: 2

## ПРИЛОЖЕНИЕ К

## СЕРТИФИКАТ КАЧЕСТВА «ПОЛИСОРБАТ 80»



广东润华化工有限公司

GUANGDONG RUNHUA CHEMISTRY CO., LTD.

СЕРТИФИКАТ АНАЛИЗА (ПЕРЕВОД)

№ RH/QR-8.2.4-01

Название продукта	Полисорбат 80	Химическое название	Полиоксиэтилен(20)сорбитанмоноолеат
№ партии	D1024FH115	Стандарт	EP10.0
Дата отбора проб	2022-08-13	Дата отчёта	2022-08-14
Дата производства	2022-08-13	Срок годности	2024-08-12

Свойства	Стандартное значение	Тестовое значение
Внешний вид	маслянистая, бесцветная или коричневатого-желтая, прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость.	Соответствует
Цветность Lovibond (красный/жёлтый)	≤1.5красный 10жёлтый	0.5красный 4.9жёлтый
Растворимость	растворим в воде, в безводном этаноле, в этилацетате и в метаноле, практически не растворим в жирных маслах и в жидком парафине.	Соответствует
(мг КОН/г) Кислотное число	≤2.0	0.5
(мг КОН/г) Число омыления	45-55	47.2
(мг КОН/г) Гидроксильное число	65-80	70.7
(масса/%) Всего золы	≤0.25	0.10
(масса/%) Влага	≤3.0	2.6
Pb (мг/кг) Свинец	≤2	<2
AS (мг/кг) Мышьяк	≤3	<3
(масса/%) Оксиэтилен	65.0-69.5	66.9
Идентификация А, Е	Соответствие	Соответствует



Относительная плотность	Около 1.10	1.08
(мПа · с ,25°C) Вязкость	Около 400	451.8
Состав жирных кислот(%) C14:0 C16:0 C16:1 C18:0 C18:1 C18:2 C18:3	≤5.0 ≤16.0 ≤8.0 ≤6.0 ≥58.0 ≤18.0 ≤4.0	1.6 5.4 2.0 1.2 81.0 9.9 1.2
Перекисное число	≤ 10.0	0.1
(мг/кг) Этиленоксид	≤ 1	0.1
(мг/кг) Диоксан	≤ 10	3.0
Тестовые результаты	Согласно ЕР10.0	

Примечание: Результат теста отвечает только за образец или партию



## ПРИЛОЖЕНИЕ Л

## СЕРТИФИКАТ КАЧЕСТВА «ТВЕРДЫЕ ЖЕЛАТИНОВЫЕ КАПСУЛЫ»

Внимание: ООО "Капсугель"

**Capsugel**  
A Lonza Company

**СЕРТИФИКАТ АНАЛИЗА**

Капсулы производятся в строго контролируемых условиях. Контроль осуществляется непрерывно на протяжении всего процесса производства и гарантирует соответствие капсул высочайшим стандартам качества. Капсулы обозначенные ниже соответствуют спецификации и требованиям текущей редакции Технического руководства компании Capsugel для пустых твердых желатиновых капсул.

**ОПИСАНИЕ ПРОДУКТА**

Капсугель		Пустые твердые желатиновые капсулы - Coni-Snap® (свиной желатин)	
Клиент	Капсугель	№ партии	3617363
Продукт		Артикул клиента	4502599343
Код продукта	240581	Размер	0, КОНИ-СНАП, Стандарт
Дата пр-ва	01 мая 2021		
Дата окончания срока годности	май 2026		
<b>ТЕЛО КАПСУЛЫ</b>		<b>КРЫШКА КАПСУЛЫ</b>	
Код цвета	44.000	Код	44.000
Наим. цвета	Белый непрозрачный	Наим. цвета	Белый непрозрачный
Принт	нет		
<b>Состав тела капсулы</b>		<b>Состав крышки капсулы</b>	
Диоксид титана	2.0000 %	Диоксид титана	2.0000 %
ЖЕЛАТИН	qsp 100%	ЖЕЛАТИН	qsp 100%

В силу природы используемых материалов, их происхождения, а также улучшений технологий, композиция красителей указана индикативно. Фактические параметры могут варьироваться с целью гарантии достижения требуемого цвета. Capsugel гарантирует указанный срок годности при условии соблюдения рекомендуемых параметров хранения и транспортировки: температура в диапазоне 15°C - 25°C и относительная влажность 35% - 65%.

Ингредиент/Артикул	E - номер	C.I. Номер	Функция	Нормативная ссылка
Диоксид титана	E171	77891	Замутнитель	(EU) 231/2012, 21 CFR, EP, JP, USP/NF
ЖЕЛАТИН			Структура	EP, JP, USP/NF, CNF

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ**

Параметр	Метод	Ед. Изм.	Спецификация	Результат
Идентификация желатина	CP010		Соответствие	Соответствует*
Идентификация диоксида титана	CP011		Соответствие	Соответствует*
Сульфатная зола	CP015	%	Менее 7	Соответствует*
Смазывающий агент	CP019	%	Менее 0.5	Соответствует*
Диоксид серы	CP020	ppm	Менее 50	0.03*
Период распадаемости	CP001	мин/сек	Менее 15:00	1*
Потеря при сушке	CP014	%	13.0 - 16.0	02:02*
Средний вес	CP003	мг	90-102	14.9
Общий микр. показатель	CP031	cfu/g	Менее 1000	95.4
Кишечная палочка	CP033		Отсутствует в 1 гр	<10
Сальмонелла	CP034		Отсутствует в 10 гр	Соответствует*
Золотистый стафилококк	CP035		Отсутствует в 10 гр	Соответствует*
Синегнойная палочка	CP036		Отсутствует в 1 гр	Соответствует*
Плесень / Дрожжи	CP032		Отсутствует в 1 гр	Соответствует*
Энтеробактерии	CP075	cfu/g	Менее 100	<10*
		cfu/g	Менее 100	Соответствует*

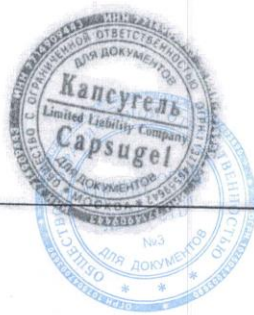
\*Уменьшенная частота тестирования

**Посторонние примеси/тяжелые металлы**

Основываясь на ICH Q3D и других применимых стандартах контроля уровня посторонних примесей в лекарственных препаратах и пищевых добавках, пустые капсулы Capsugel соответствуют приведенным ниже уровням соответствующих элементов. Мониторинг тестов осуществляется на основании утвержденных методов согласно Текущему техническому руководству Capsugel в отношении применимого продукта.

Задокumentированная оценка рисков основана на принципах ICH Q3D доступна на сайте [www.mycapsugel.com](http://www.mycapsugel.com).

Элемент	Ед. Изм.	Примлемый уровень
Мышьяк	ppm	Не более 1
Свинец	ppm	Не более 1
Кадмий	ppm	Не более 0.5
Ртуть	ppm	Не более 0.1
Нобалит	ppm	Не более 5
Ванадий	ppm	Не более 10
Никель	ppm	Не более 20
Хром	ppm	Не более 2



## ПРИЛОЖЕНИЕ М

### ДАННЫЕ ПО СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА БЕЗ КОНСЕРВАНТА «СЕДОКОМБ» В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ В ТЕЧЕНИЕ ДВУХ ЛЕТ

Результаты изучения стабильности лекарственного препарата «Седокомб» при хранении в блистере при температуре  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  и влажности  $60 \pm 2\%$ .

Показатели Качества	Серия	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний	Сроки хранения, мес							
				0	3	6	9	12	18	24	25
Описание	01052 1	Твердые желатиновые капсулы №0 белого цвета, содержимое капсул – пастообразная масса от зеленовато-коричневого до коричневого цвета.	Визуальный ГФ РФ, ОФС «Капсулы»	соотв	соотв	соотв	соотв	соотв	соотв.	соотв.	соотв
	.			.	.	.	.	соотв.	соотв.	.	
	02062 1			соотв	соотв	соотв	соотв	соотв	соотв.	соотв.	соотв
	03062 1			соотв	соотв	соотв	соотв	соотв	соотв.	соотв.	соотв
				.	.	.	.	.	соотв.	соотв.	.
Идентификация  Флавоноиды	01052 1	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $(411 \pm 5)$ нм.	УФ- спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»	соотв	соотв	соотв	соотв	соотв	соотв.	соотв.	соотв
	.			.	.	.	.	соотв.	соотв.	.	
	02062 1			соотв	соотв	соотв	соотв	соотв	соотв.	соотв.	соотв
	03062 1	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $(282 \pm 2)$ нм.		соотв	соотв	соотв	соотв	соотв	соотв.	соотв.	соотв
				.	.	.	.	.	соотв.	соотв.	.
Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата	01052 1	От 559,7 мг до 650,3 мг ( $605,0 \text{ мг} \pm 7,5 \%$ ) 18/20 капсул - не более $\pm 7,5 \%$ ; 2/20 капсул - не более $\pm 15 \%$	ФЕАЭС, 2.1.9.5. или ГФ РФ ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм»	$\pm 2,1$	$\pm 0,9$	$\pm 0,1$	$\pm 1,6$	$\pm 2,4$	$\pm 0,2$	$\pm 1,3$	$\pm 1,5$
Однородность дозированных единиц Флавоноиды Сапонины	01052 1	$AV \leq 15$ $AV \leq 15$	ГФ РФ ОФС. «Однородность дозирования» или ФЕАЭС 2.1.9.14	3,5 4,7	3,3 4,2	3,7 4,6	3,9 4,7	3,2 4,1	4,1 4,9	3,8 4,7	3,9 5,1



Показатели Качества	Серия	Нормы (допустимые пределы)		Ссылки на методы испытаний	Сроки хранения, мес							
					0	3	6	9	12	18	24	25
		<i>Staphylococcus aureus</i>	Отсутствуют		отсут.	отсут.	отсут.	отсут.	отсут.	отсут.	отсут.	отсут.
<b>Количественное определение Флавоноиды</b>	01052 1	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 15 мг.		Спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»	16,9	15,8	16,7	16,4	16,8	16,1	15,9	16,9
	02062 1				66,2	64,2	67,2	67,5	68,2	67,1	70,2	68,5
Сапонины	03062 1	Содержание суммы сапонинов в пересчете на $\beta$ -эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 65 мг.			15,9	15,7	15,9	16,7	16,4	16,8	16,5	15,9
					67,2	68,2	67,6	68,1	68,3	69,5	67,5	68,5
					16,3	15,0	15,3	16,8	16,7	16,1	16,8	16,3
					71,2	70,2	72,2	71,7	68,5	69,7	67,5	67,1

**ПРИЛОЖЕНИЕ Н**  
**ДАННЫЕ ПО СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА С КОНСЕРВАНТОМ «СЕДОКОМБ» В**  
**ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ В ТЕЧЕНИЕ ДВУХ ЛЕТ**

Результаты изучения стабильности лекарственного препарата «Седокомб» при хранении в блистере при температуре  $25\pm 5^\circ\text{C}$  и влажности  $60\pm 2\%$ .

Показатели Качества	Серия	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний	Сроки хранения, мес								
				0	3	6	9	12	18	24	25	
Описание	010521	Твердые желатиновые капсулы №0 белого цвета, содержимое капсул – пастообразная масса от зеленовато-коричневого до коричневого цвета.	Визуальный ГФ РФ, ОФС «Капсулы»	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
	020621			соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
	030621			соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
Идентификация  Флавоноиды  Сапонины	010521	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 250 до 500 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $(411 \pm 5)$ нм.	УФ- спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
	020621			соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
	030621	УФ-спектр испытуемого раствора в области от 200 до 400 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $(282 \pm 2)$ нм.		соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата	010521	От 559,7 мг до 650,3 мг ( $605,0$ мг $\pm 7,5\%$ ) 18/20 капсул - не более $\pm 7,5\%$ ; 2/20 капсул - не более $\pm 15\%$	ФЕАЭС, 2.1.9.5. или ГФ РФ ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм»	$\pm 2,3$	$\pm 1,9$	$\pm 1,2$	$\pm 2,6$	$\pm 1,4$	$\pm 1,2$	$\pm 2,3$	$\pm 2,5$	



Показатели Качества	Серия	Нормы (допустимые пределы)	Ссылки на методы испытаний	Сроки хранения, мес							
				0	3	6	9	12	18	24	25
Количественное определение Флавоноиды  Сапонины	010521	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 15 мг.	Спектрофотометрия ФЕАЭС 2.1.2.24. или ГФ РФ ОФС  «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»	15,9	15,0	16,2	15,4	15,8	16,1	15,2	15,9
	67,2			67,2	65,2	66,5	67,2	68,1	71,2	67,5	
	020621	Содержание суммы сапонинов в пересчете на $\beta$ -эсцин и абсолютно сухое вещество должно быть не менее 65 мг.		15,9	15,7	15,9	16,7	16,4	16,8	16,5	15,9
68,2	69,2		68,6	68,1	69,3	68,5	66,5	67,5			
	030621			15,3	16,0	15,3	16,8	16,7	16,1	16,8	16,3
				70,2	67,2	71,2	72,7	67,5	68,7	68,5	68,1