

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Бровченко Богдан Витальевич

**Совершенствование методов контроля качества измельченного сырья и
препаратов солодки**

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук, профессор
Ермакова Валентина Алексеевна

Москва – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. БОТАНИКО-ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВ И СЫРЬЯ СОЛОДКИ.....	14
1.2. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КОРНЕЙ СОЛОДКИ ГОЛОЙ И СОЛОДКИ УРАЛЬСКОЙ.....	19
1.3. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ И МЕТОДЫ ЕЕ АНАЛИЗА.....	27
1.4. СТАНДАРТИЗАЦИЯ СЫРЬЯ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕРАБОТКИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ.....	33
1.4.1. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЫРЬЯ СОЛОДКИ.....	38
1.5. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛОДКИ ГОЛОЙ И СОЛОДКИ УРАЛЬСКОЙ И ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ.....	44
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	50
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	53
2.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	53
2.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ, ПРИБОРЫ И ОБОРУДОВАНИЕ.....	53
ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОПЕЙНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ	58
3.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ПОРОШКОВ КОРНЕЙ СОЛОДКИ, КАК СУБСТАНЦИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА В ФИЛЬТР-ПАКЕТАХ.....	60
3.2. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОПЕЙНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГРАНУЛ РЕЗАНО-ПРЕССОВАННЫХ ИЗ КОРНЕЙ СОЛОДКИ	63

3.3. ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА И ПОЛУЧЕНИЕ КОМПОЗИЦИИ ИЗ ПОРОШКА И ГРАНУЛ РЕЗАНО-ПРЕССОВАННЫХ КОРНЕЙ СОЛОДКИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРОДУКТА В ФИЛЬТР-ПАКЕТАХ «ГРАНУСОЛ».....	66
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3.....	70
ГЛАВА 4. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПОДЛИННОСТИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ СОЛОДКИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ.....	72
4.1. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВНЕШНИХ ПРИЗНАКОВ СЫРЬЯ СОЛОДКИ И ПРОДУКТОВ ЕЕ ПЕРЕРАБОТКИ.....	72
4.2. ИЗУЧЕНИЕ МИКРОСКОПИИ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ.....	76
4.3. АНАЛИЗ КАЧЕСТВЕННОГО ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	79
4.4. АНАЛИЗ ИЗМЕЛЬЧЕННОСТИ СЫРЬЯ КОРНЕЙ СОЛОДКИ, СУБСТАНЦИИ И СМЕСИ (КОМПОЗИЦИИ) ИЗ НЕГО.....	81
4.5. ВЛАЖНОСТЬ КОРНЕЙ СОЛОДКИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ.....	84
4.6. ЗОЛА ОБЩАЯ И ЗОЛА НЕРАСТВОРИМАЯ В 10% ХЛОРИСТОВОДОРОДНОЙ КИСЛОТЕ.....	85
4.7. СРАВНИТЕЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В СЫРЬЕ И ПРОДУКТАХ ПЕРЕРАБОТКИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ.....	86
4.8. ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ СФМ.....	87
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4.....	91
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ В СЫРЬЕ СОЛОДКИ И ЕЕ ВАЛИДАЦИЯ.....	93
5.1. ПРИГОДНОСТЬ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ.....	95
5.2. СПЕЦИФИЧНОСТЬ.....	96
5.3. ЛИНЕЙНОСТЬ.....	97

5.4. ПРЕЦИЗИОННОСТЬ, СХОДИМОСТЬ.....	99
5.5. ВНУТРИЛАБОРАТОРНАЯ ПРЕЦИЗИОННОСТЬ.....	100
5.6. ПРАВИЛЬНОСТЬ.....	102
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5.....	104
ГЛАВА 6. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СЫРЬЯ СОЛОДКИ И ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ.....	105
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6.....	110
ГЛАВА 7. ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРНЕЙ СОЛОДКИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ.....	111
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7.....	117
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	118
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	120
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	121
ЛИТЕРАТУРА.....	123
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	148
<i>Приложение 1. Проект ФС «Солодки корни (гранулы резано-прессованные)</i>	
<i>Приложение 2. Проект ФС «Гранусол» Солодки корни (смесь порошка и гранул резано-прессованных)</i>	
<i>Приложение 3. Проект Инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата Гранусол</i>	
<i>Приложение 4. Акт апробации Московской лаборатории ФГБУ МЦЭУАОСМП Росздравнадзора ВЭЖХ методики количественного определения ГК от 11.12.19</i>	
<i>Приложение 5. Акт внедрения ООО Фирма «Здоровье» Определение характеристик подлинности при анализе качества препаратов на основе солодки</i>	
<i>Приложение 6. Акт внедрения в учебный процесс Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).</i>	

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы.

Лекарственные препараты из корней солодки, обладающие богатым комплексом БАС, занимают одно из ведущих мест среди всех растительных препаратов, имеют широкий диапазон действия и применяются в отечественной и зарубежной практической медицине при самых различных нозологиях: заболевания верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, мочеполовых органов, лечение вирусных заболеваний, ВИЧ-инфекции и др.

Отечественные и зарубежные публикации единодушно подтверждают эффективность лекарственных средств из солодки, благодаря группе основных действующих веществ – тритерпеновых гликозидов, в частности, глицирризиновой кислоты и ее производных.

Растущая популярность препаратов из данного вида сырья ставит вопрос о необходимости введения в оборот новых лекарственных форм и в таком сегменте препаратов, как измельченное фасованное лекарственное растительное сырье. В том числе в группе дозированных препаратов в одноразовых пакетах - фильтр-пакетах, для других групп растительных препаратов, представленных на рынке более 20 лет. Спрос на данную форму выпуска, выпускающуюся на современном высокопроизводительном оборудовании (СВО), пока не может быть удовлетворен из-за отсутствия стандартизированной технологии и соответствующих нормативных документов. Поэтому измельченные корни солодки выпускаются лишь расфасованные в пачки и входят в состав лекарственных сборов.

В связи с этим актуальны исследования по обоснованию аналитических характеристик и технологических свойств качества новой лекарственной формы, представляющей собой смесь (композицию) порошка солодки и резано-прессованных корней солодки для производства ее в фильтр-пакетах.

Весьма актуальным является гармонизация методов контроля качества сырья солодки, субстанций и препаратов из них по содержанию глицирризиновой кислоты, прежде всего, в РФ и странах Евразийского экономического союза (ЕАЭС), а также с ведущими мировыми фармакопеям. Гармонизация могла бы отвечать интересам нашего государства, являющегося обладателем обширных ареалов солодки и запасов ее сырья, используемого как источник для изготовления лекарственных препаратов, в том числе для получения глицирризиновой кислоты (ГК), которая, наряду с сырьем солодки, в значительных объемах экспортируется в страны Востока и ЕС. Учитывая тот факт, что Россия имеет значительные запасы сырья солодки с высоким содержанием ГК по сравнению со странами-импортерами российского сырья, актуальным является достоверное определение содержания ГК. В настоящее время ГФ РФ XIV предлагает устаревший метод спектрофотометрии, показывающий завышенное содержание ГК и не позволяющий сопоставить полученные результаты с нормами зарубежных фармакопей.

Актуальными, является использование порошка мелкой фракции солодки, богатого комплексом БАС, рекомендуемого в качестве растительной субстанции для изготовления дозированного препарата в фильтр-пакетах. Значительные потери мелкой фракции солодки могут приводить к нерациональному использованию запасов сырья солодки.

Кроме того, данная работа закладывает основу для дозирования не только измельченных корней, но и контроля дозы ГК в водном извлечении из фильтр-пакетов.

Степень разработанности темы исследования.

Солодка, ее химический состав, фармакологические свойства препаратов на ее основе и их эффективность достаточно изучены. Наиболее известными российскими авторами-исследователями солодки можно считать В.И. Литвиненко, А.С. Аммосова, Г.А. Толстикова, С.А. Вичканову, Р.М.

Кондратенко. Однако, публикаций о переработке сырья солодки для получения нативных препаратов, ограниченное количество. Некоторые сведения о технологических свойствах солодки при ее измельчении и использовании в сборах приводятся А.И. Муравьевым. Практически нет информации о результатах экспериментального прессования порошка солодки, дозированного ЛП из смеси субстанций – порошка солодки и гранул резано-прессованных корней.

Цель исследования. Совершенствование методов контроля качества сырья солодки и продуктов его переработки: измельченность сырья, порошков, гранул резано-прессованных и их смеси (композиции).

Задачи исследования. В задачи диссертационной работы для достижения поставленной цели входило следующее.

1. Проведение информационно-аналитического исследования по данным научной литературы химического состава солодки, фармакогностических, фармакологических, технологических, физико-химических свойств солодки и ее препаратов, а также свойств глицирризиновой кислоты и современных аналитических методов контроля ее содержания в сырье и препаратах солодки.

2. Сравнительное исследование физико-химических свойств измельченных корней солодки, продуктов переработки сырья солодки и нового лекарственного препарата, представляющего собой смесь (композицию) двух растительных субстанций порошка солодки и гранул резано-прессованных корней солодки, фасованную в фильтр-пакеты.

3. Изучение фармакопейных показателей качества, характеризующих гранулы резано-прессованные корней солодки, порошок и смесь (композицию) из данных ингредиентов на основе изготовленных экспериментальных образцов.

4. Разработка характеристик подлинности нового лекарственного препарата на основании сравнительного фармакогностического анализа

измельченных корней солодки, порошка и гранул резано-прессованных корней солодки.

5. Разработка и валидация ВЭЖХ-методики количественного определения глицирризиновой кислоты (ГК). Оценка содержания ГК в сырье солодки и продуктах его переработки (субстанциях и композиции).

6. Определение показателей качества гранул резано-прессованных и композиции.

7. Изучение качества водных извлечений из измельченных корней солодки и нового препарата солодки, фасованного в фильтр-пакеты.

8. Разработка проектов ФС на субстанцию растительного происхождения «Солодки корни резано-прессованные» и растительный лекарственный препарат «Солодки корни (смесь порошка 80% и гранул резано-прессованных 20%), фильтр-пакеты по 1,5 г., а также проекта инструкции по медицинскому применению разработанного препарата. Предположительное торговое наименование нового РЛП - Гранусол.

Научная новизна. Впервые проведено сравнительное изучение аналитических характеристик крупного порошка, гранул резано-прессованных и смеси (композиции). Определены характеристики подлинности и показатели качества субстанции растительного происхождения (гранулы резано-прессованные) и композиции, которые положены в основу разработанных проектов нормативных документов.

Разработана и валидирована ВЭЖХ методика количественного определения содержания глицирризиновой кислоты (ГК) в сырье солодки. Определено содержание ГК в сырье солодки и продуктах ее переработки. Проведены сравнительные исследования качества изучаемых образцов сырья, субстанции и ЛРП методами спектрофотометрии и ВЭЖХ, результаты которых подтверждают целесообразность включения ВЭЖХ методики в ГФ РФ.

Разработан оптимальный режим получения водных извлечений из препарата фасованного в фильтр-пакеты. По результатам исследований водных извлечений разработан проект Инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата.

Теоретическая значимость работы. Теоретически и экспериментально обоснована целесообразность использования крупного порошка и гранул резано-прессованных (ГРП) для получения композиции, обладающей свойствами необходимыми для фасовки ее в фильтр-пакеты.

Исследованы и описаны характеристики полученных образцов, теоретически и экспериментально подтверждающие возможность фасовки данной смеси в фильтр-пакеты на современном высокопроизводительном оборудовании (СВО).

Научно обоснованы характеристики подлинности и показатели качества субстанций из корней солодки (порошок и гранулы резано-прессованные корней солодки) и нового лекарственного растительного препарата, в том числе, обоснована целесообразность количественного определения глицирризиновой кислоты методом ВЭЖХ.

Практическая значимость работы. Результаты исследований положены в основу проектов фармакопейных статей на субстанцию растительного происхождения из корней солодки (Солодки корни. Гранулы резано-прессованные) и новый дозированный лекарственный препарат Гранусол (Солодки корни. Смесь порошка и гранул резано-прессованных в фильтр-пакетах).

Для контроля субстанций и препарата разработана, валидирована и введена в проекты нормативных документов ВЭЖХ-методика, позволяющая достоверно определять содержание глицирризиновой кислоты (ГК), которая может быть рекомендована для включения в ФС ГФ РФ на корни солодки, взамен устаревшего метода спектрофотометрии.

Новая методика позволит гармонизировать норму содержания ГК в корнях солодки и метод ее количественного определения с ведущими мировыми фармакопеями. Более селективное определение ГК методом ВЭЖХ позволит российским поставщикам сырья и субстанций солодки более рационально использовать их в зависимости от содержания ГК.

Использование мелкой фракции корней солодки с высоким содержанием ГК для изготовления субстанции, позволит сохранить сырье высокого качества, в том числе природные запасы сырья солодки, интерес к которому повышается с каждым годом.

ВЭЖХ методика количественного определения ГК прошла апробацию в Московской лаборатории ФГБУ ИМЦЭУАОСМП Росздравнадзора и получила положительную оценку.

Определение характеристик подлинности при анализе качества препаратов на основе корней солодки внедрены в контрольно-аналитической лаборатории ООО Фирма «Здоровье».

Результаты фармакогностических исследований внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Основные положения, выносимые на защиту

- Результаты разработки характеристик подлинности и показателей качества сырья солодки различных способов переработки (субстанция и ЛРП).
- Разработка и валидация ВЭЖХ методики количественного определения глицирризиновой кислоты в сырье солодки.
- Обоснование подходов к изготовлению субстанций из корней солодки – порошка и гранул резано-прессованных, а также нового дозированного лекарственного препарата с применением указанных субстанций.

- Результаты исследований по оценке качества корней солодки различных способов переработки с использованием методики ВЭЖХ, а также оценка качества водных извлечений из полученного лекарственного препарата.
- Проекты нормативных документов на субстанцию растительного происхождения – гранулы резано-прессованные и новый дозированный лекарственный препарат, состоящий из смеси (композиции) порошка солодки и гранул резано-прессованных, под торговым названием Гранусол. Проект Инструкции по медицинскому применению препарата Гранусол.

Методология и методы исследования. Руководствуясь методологией фармакогностического исследования, в работе использовались приведенные ниже методы: стандартизация исходного сырья, субстанций растительного происхождения, растительных лекарственных препаратов; спектрофотометрия, хроматографирование с применением различных типов детектирования (ТСХ, ВЭЖХ); фармакопейные методики ГФ РФ XIII и ГФ РФ XIV при организации экспериментального изготовления образцов для исследований в данной работе.

Статистическая обработка результатов выполнена в соответствии с требованиями ГФ XIII изд., с использованием ПО «MicrosoftOfficeExcel»

Достоверность научных положений и выводов. В основу выводов, объяснений и рекомендаций положены многочисленные результаты экспериментальных исследований, а также значительный объем соответствующих научных публикаций отечественных и зарубежных авторов. Аналитические и фармакогностические экспериментальные работы выполнялись на поверенных приборах и аттестованном оборудовании с подтверждением соответствующими документами. Отчет о валидации методики, разработанной автором, свидетельствуют о воспроизводимости и достоверности результатов.

Апробация результатов исследования. Основные результаты исследований доложены на научных форумах:

1 Съезде натуротерапевтов России (Москва, 2009 г.); V научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» Институт фармации и трансляционной медицины (Москва, 2017 г.); Международной научной конференции ВИЛАР, (Москва, 2018 г., 2019 г.), а также научно-практических конференциях кафедры фармацевтического естествознания ПМГМУ им. И.М Сеченова 2008 г., 2009 г., 2010 г.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения, изложенные в диссертационной работе, соответствуют формуле паспорта специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», в частности пунктам 2,3,5,6.

Личный вклад автора. Выбор объекта исследования и направленности исследования принадлежит лично автору и является последовательным продолжением его дипломной работы, выполненной на базе АО «Красногорсклексредства» и кафедры фармакогнозии ММА им. И.М. Сеченова. Автором разработана последовательность изготовления продуктов переработки из корней солодки - субстанции и новой лекарственной формы корней солодки. Автором теоретически обоснована и практически выполнена разработка ВЭЖХ методики определения глицирризиновой кислоты в новой лекарственной форме, ее валидация и оценка качества сырья солодки разных способов переработки с использованием этой методики. Автором выполнена работа по экспериментальному обоснованию приготовления водного извлечения из вновь разработанного дозированного в фильтр-пакеты лекарственного средства, состоящего из смеси порошка и гранул резано-прессованных солодки.

На всех этапах исследований от выбора объекта и цели исследования до внедрения в практику результатов работы, личный вклад автора является решающим.

Внедрение результатов исследования. Разработаны проекты фармакопейных статей на субстанцию растительного происхождения из корней солодки «Солодки корни. Гранулы резано-прессованные» и новый лекарственный растительный препарат из корней солодки «Гранусол». Солодки корни (смесь порошка корней солодки и гранул резано-прессованных корней солодки).

Связь исследования с проблемным планом фармацевтической науки. Выполнение диссертационной работы проводилось в соответствии с тематикой научно-исследовательской работы на кафедре фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по теме: «Совершенствование образовательных технологий додипломного и последипломного медицинского и фармацевтического образования».

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 169 стр., включая приложения (основной текст 121 стр.) машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, 4-х экспериментальных глав, выводов, библиографического указателя, включающего 256 источников, из которых 127 на иностранных языках и 6-и приложений. Работа иллюстрирована 25 рисунками, 57 таблицами, 1 диаграммой.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 5 статей в профильных журналах, включенных в перечень ведущих периодических изданий ВАК Министерства образования и науки РФ, одна из которых в журнале, входящем в международные базы данных (индексируемых в Scopus).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. БОТАНИКО-ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВ И СЫРЬЯ СОЛОДКИ.

Ботанический род солодка *Glycyrrhiza* L. (сем. Fabaceae - бобовые) представлен в мировой флоре более чем 30 видами. [6,7,44,69]. Из них в промышленности используются 3-5 видов: солодка голая (гладкая), солодка уральская, солодка Коржинского [36], а также солодка вздутая и солодка шиповатая [207]. В РФ разрешены к использованию только солодка голая и солодка уральская [40].

Сравнительная ботаническая характеристика с. голой и с. уральской приведена в таблице 1.1.1. Ботанические признаки этих двух видов практически не отличаются. Отличительные признаки характерны только для плодов. Бобы солодки голой - продолговатые, прямые, голые или усаженные железистыми шипиками. Бобы солодки уральской - гладкие, серповидно-изогнутые, поперечно-извилистые, скученные и переплетенные в плотный клубок [7].



Рисунок-1.1.1 Солодка

Солодка голая (солодка гладкая, солодка железистая, лакричник) - *Glycyrrhiza glabra* L. (*G. glandulifera* Waldst. et Kit.) - многолетнее корневищное травянистое растение семейства бобовых (*Fabaceae*) [40,45]. Подземные органы растения,

являющиеся сырьем для заготовки, состоят из главного корня, а также вертикальных и горизонтальных корневищ, образующих многоярусную сеть переплетений, укрепленных в почве с помощью придаточных корней. [44,54,82].

Солодка голая - средиземноморский вид, восточная граница ареала которого доходит до Ирана и Афганистана [70]. В пределах РФ ее ареал охватывает лишь незначительную территорию. Его граница на севере достигает 53° с. ш. в районе Самары (по Волге). В западной части ареал солодки сплошной, охватывающий почти все подходящие местообитания в бассейнах нижнего Дона, Волги, Урала, Кубани и Терека [7].

Солодка уральская - (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*) - многолетнее корневищное травянистое растение с сильно развитыми подземными органами такого же строения, как и у солодки голой. Солодка уральская - туранско-центральноазиатский вид с довольно компактным ареалом, занимающим в России и Казахстане территорию от р. Уила и верховьев р. Урала на западе до границы с Монгольской Народной Республикой и северо-западными районами Китая - на востоке и юго-востоке. Солодка уральская как бы замещает на востоке солодку голую, хотя в некоторых пограничных районах их ареалы налегают друг на друга. [7,43,42,82].

С. уральская также распространена преимущественно на Южном Урале, в северных, центральных и восточных районах Казахстана, Узбекистане, Киргизстане, на юге Западной, Средней и Восточной Сибири, в Монголии, на северо-востоке Китая, а также в Турции, Испании, Греции, Ираке [7,8].

Сырье перечисленных видов солодки можно заготавливать без разделения их по видам почти круглый год. В качестве сырья собирают всю подземную часть растения. Заготавливают как вручную, так и механизированным способом, выпаживая корни плантажными плугами обычно до глубины 50 -70 см. [44,51,50,59,81]. Сравнительная ботаническая характеристика солодки голой и солодки уральской представлена в таблице 1.1.1.

Сравнительная ботаническая характеристика солодки голой и солодки уральской

№пп	Характеристики растений	Особенности		Авторы
		Солодка голая <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. <i>G. glandulifera</i> Waldst. et Kit	Солодка уральская <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	
1.	1	2	3	4
2.	Многолетнее корневищное травянистое растение с сильно развитыми подземными органами; корни проникают в почву на глубину до 8 м и более и обычно достигают уровня грунтовых вод; подземные органы растения состоят из главного корня, а также вертикальных и горизонтальных корневищ, образующих многоярусную сеть переплетений и укрепленных в почве с помощью придаточных корней			Григорьев Ю.С., Васильченко И.Т., 1948; Зимницкая С.А., 2009; Надеждина Т.П., 1966
3.	Надземные побеги отрастают как от главного корня, так и от корневищ, с помощью которых одно растение солодки распространяется иногда на площади в несколько десятков квадратных метров			
4.	Стебли голые или негусто короткоопушенные обычно с редко рассеянными точечными железками или железистыми шипиками			
5.	Листья непарноперистосложные, длиной 5-20 см, с 3-10 парами клейких (от обилия железок), блестящих, плотных, продолговато-яйцевидных или ланцетовидных листочков			
6.	Высота растения 50-100 см, иногда до 200 см			
7.	Соцветия	Довольно рыхлые пазушные кисти длиной 5-12 см, с цветоносом длиной 3-7 см	Цветочные кисти густые, плотные, с более крупными цветками, длиной 14-23 мм	
8.	Цветки	Цветки длиной 8-12 мм, с беловато-фиолетовым венчиком и острозубчатой чашечкой	Чашечка длиной 8-14 мм, сверху в основании мешковидно-вздутая. Пластинка флага венчика округлая или слегка выемчатая, тогда как у солодки голой она заостренная.	Григорьев Ю.С., Васильченко И.Т., 1948; Гранкина В.П., Надеждина Т.П., 1991
9.	Плоды бобы, коричневого цвета	Продолговатые, прямые, голые или усаженные железистыми шипиками	Гладкие, серповидно-изогнутые, поперечно-извилистые, скученные и переплетенные в плотный клубок	
10.	Семена	Почковидные, зеленовато-серые или буроватые	Округло-почковидные, коричневые	Атлас лекарственных, 2006
11.	Время цветения	май-июнь	июнь—июль	
12.	Время плодоношения	начало сентября	конец сентября	Круганова Е.А., 1953
13.	Ареал	Средиземноморский вид, восточная граница ареала доходит до Ирана и Афганистана	Туранско-центральноазиатский вид с компактным ареалом, занимающим в России и Казахстане территорию от р. Уила и верховьев р. Урала на западе до границы с Монгольской Народной Республикой и северо-западными районами Китая - на востоке и юго-востоке	

14.	Солодка уральская как бы замещает на востоке солодку голую, хотя в некоторых пограничных районах их ареалы налегают друг на друга		7,43,42,82	
15.	В пределах РФ ареал солодки голой охватывает лишь незначительную территорию. Его граница на севере достигает 53° с. ш. в районе Самары (по Волге)	Основная часть ареала солодки уральской Казахстан, южные районы Западной Сибири, горные долины Памиро-Алтая, Тянь-Шаня и Алтая, островные степи верхнего Енисея, включая Республику Тува	Атлас лекарственных растений, 2006; Гранкина В.П. Надеждина Т.П., 1993	
16.	Места обитания поймы и долины рек степных и пустынных районов, на равнинных пространствах междуречий, в степной и лесостепной зонах. Растет на разнообразных по механическому составу и содержанию гумуса почвах. Выносит значительное засоление, произрастая на среднестолбчатых и корковых солонцах. Нередко солодка уральская образует почти чистые заросли или встречается с солодкой голой на площадях до нескольких сотен гектаров		Гранкина В.П., 1970; Худайбергенов Э.Б., 1979; Надеждина Т.П., 1965а	
17.	Особенность местообитаний солодки голой - временное их затопление в весенне-летний период и относительно высокое стояние в них грунтовых вод	Встречается в посевах, как сорняк	Атлас ареалов, 1980; Гранкина В.П., Надеждина Т.П., 1991; Надеждина Т.П. 1966;	
18.	В горах поднимается на высоту	2000 м над уровнем моря	3000 м над уровнем моря	Надеждина Т.П., 1965а
19.	Время заготовки	В основном с марта по ноябрь, на третьем и последующих годах жизни растения, в зависимости от природных условий, в которых она произрастает. Можно заготавливать почти круглый год без деления их по видам. Повторную заготовку сырья солодки на одном и том же участке можно проводить через 6-8 лет. За это время ее заросли полностью восстанавливаются		Дикорастущие лекарственные, 2015

Товарные корни без запаха, светло-желтые на изломе, имеют гладкую или слегка морщинистую поверхность серовато-коричневых тонов [44,50].

Сушат корень солодки в сушилках при температуре не выше 50 °С или под продуваемыми навесами. Допускается использование солнечной сушки [51]. Корень солодки в неочищенном от пробки виде носит название натурального, или неочищенного. Для медицинских и других целей также готовят очищенный солодковый корень [44,124].



Рисунок - 1.1.2. Корни солодки целые

Разрешенные для использования в РФ солодка голая и солодка уральская входят во все издания отечественной фармакопеи, начиная с 1778 года. [128]. Девятое издание ГФ СССР разрешало использовать солодку Коржинского [36]. Однако из ГФ X изд. [37] она была исключена из-за ограниченных природных запасов и включена в Красную книгу РСФСР [68] со статусом: «3 (R). Редкий вид. Эндемик флоры СССР». С 1981 г. ее промышленные заготовки запрещены [104].

Основными регионами заготовки корней солодки в РФ в настоящее время являются предприятия в Уральском регионе, Иркутской и Астраханской обл., Алтайском и Краснодарском краях. Сырьевой базой солодкового корня в СНГ в последние десятилетия являлась солодка, произрастающая в Туркмении и Казахстане [51,60,66].

На некоторых сайтах заготовителей указывается содержание глицирризиновой кислоты (ГК) в сырье солодки. Это основной показатель качества, от которого зависит фармакологический эффект. Цена на сырье ставится в зависимость от ее содержания. Поэтому сырье солодки с точным указанием содержания ГК при реализации может иметь разную стоимость. Следовательно, точное содержание ГК в сырье солодки весьма актуально и может оказывать влияние на цену сырья, экспортером которого в значительных количествах, продолжает оставаться Российская Федерация. Со времен Российской Империи из Средней Азии и Казахстана в Германию, Францию и Китай Россия вывозила десятки тысяч тонн сырья солодки [108]. Значительное количество солодки экспортировалось также из СССР [79, 70].

Запасы солодки голой с высоким содержанием ГК остались в настоящее время за пределами Российской Федерации (Казахстан, Туркмения, Узбекистан и др.) [66, 17].

На территории России (Сибирский и Уральский регионы) распространена солодка уральская (*Glycyrrhiza uralensis* Fisher), отличающаяся меньшим содержанием ГК (5,5-12,5%) кроме Кулундинской и Барабинской степи, где содержание ГК варьирует в пределах 7,2-10,8% [66, 43].

Приведенные ниже данные показывают, что содержание ГК в корнях солодки зависит от мест и условий произрастания. Содержание ГК в сырье солодки, обращающемся на мировом рынке, варьирует от 2,5% (Югославия) до 23,6% (страны СНГ) [113, 66].

1.2. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КОРНЕЙ СОЛОДКИ.

Химический состав солодки изучен достаточно полно [247, 256].

Название глицирризиновая кислота (ГК) было дано позже З.Руссином (Zacharie Roussin) в 1876 г. [145].

В настоящее время из солодок мировой флоры (около 15 ботанических видов) выделено множество индивидуальных природных соединений,

отнесенных к различным химическим классам. В научной литературе описано около 80 тритерпеноидов и свыше 300 индивидуальных фенольных соединений, несколько десятков полисахаридов, аминокислот и многие другие вещества, обладающие разнообразными фармакотерапевтическими свойствами [3,49,113, 247,256].

Сведения о химическом составе корней солодки приведены в Таблице №1.2.1. Основными биологически активными веществами (БАС) корней солодки являются тритерпеновые сапонины (3-20%) и флавоноиды (3-4%). Кроме того, в них в значительных количествах содержатся десятки других БАС, отнесенных к различным химическим классам соединений [185]. Общее количество экстрактивных веществ, экстрагируемых водой, в подземных органах солодки может достигать 44,1% [79].

Из множества выделенных групп биологически активных соединений непосредственное применение находят только несколько основных: из тритерпеновых соединений – глицирризиновая кислота (ГК) и ее производные, ее агликон - глицерритиновая (глицирретовая) кислота (ГЛК) и ее производные; из фенольных соединений – флавоноиды, из углеводов – полисахариды. [3] Наиболее выраженную фармакологическую активность проявляют тритерпеновые и флавоноидные соединения. [3,76]

Одним из наиболее востребованных соединений этой группы является тритерпеновый сапонин глицирризин - соль трехосновной органической кислоты, находящийся в природе в виде аммонийной, калиевой, кальциевой и магниевой солей глицирризиновой кислоты. Термином глицирризин обозначают суммарный неочищенный гликозид, содержащий, наряду с ГК, гликозиды других тритерпеноидов [113].

Таблица 1.2.1.

Основные биологически активные соединения корней солодки

№пп	Наименование групп веществ и индивидуальных соединений	Содержание %	Авторы	Наименование групп веществ и индивидуальных соединений	Содержание %	Авторы
1.	Экстрактивные вещества	22,8-44,1	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966; Голстиков Г.А., Балтина Г.А., Гранкин В.П. 2007	Стероиды	1,5-2,0	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966; Резенькова О.В., 2003
2.	Водорастворимый комплекс БАС	40-50 от общей массы сырья	Литвиненко В.И.и соавт. 2014	Аскорбиновая кислота	11,0-31,2 мг/%	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966; Резенькова О.В., 2003
3.	Тритерпеновые сапонины	3,0-20,0	Муравьев И.А, Соколов В.С., 1966; Резенькова О.В., 2003	Эфирные масла	1,5-2,0	Резенькова О.В., 2003 Frattini et al., 1977
4.	Глицирризин	2,0-2,5	Литвиненко В.И. и соавт., 2014 Kitagawa I., et al. 1993a,b	Эфирное масло: в его составе альдегиды, кетоны, спирты и их производные	0,03	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966; Frattini et al., 1977; Toulemonde et al., 1977
5.	Глицирризиновая кислота	2,0-24	Голстиков Г.А., Балтина Г.А., Гранкина В.П., 2007 Резенькова О.В., 2003	Аспарагин	1,0-4,0	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966
6.	Минорные* тритерпеновые соединения		Аммосов Н.П, Литвиненко В.И., 2003; Кириялов Н.П.и др., 1974; Kitagawa et al., 1993a; 1993b	Смолистые соединения	1,75-4,12	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966; Резенькова О.В., 2003
7.	Крахмал	до 34,0	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966	Белки, аминокислоты, основания	до 10	Литвиненко В.И. и соавт., 2014
8.	Сахароза	до 11,0	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966	Липиды	до 3-4	Литвиненко В.И. и соавт., 2014
				Камеди	1,5-6,5	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966; Резенькова О.В.,1997

Продолжение таблицы 1.2.1.

9.	Глюкоза	до 15,2	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966;	Горечь не растворимая (в воде)	1,8-4,0	Резенькова О.В., 1997
10.	Фенольные соединения	3,0-6,0	Литвиненко В.И. и соавт. 2014	органические кислоты (янтарная, фумаровая, лимонная, яблочная, винная)	4,0-4,6	Андоскина Л.Т., 1979
11.	Флавоноиды	3,0-4,0	Муравьев И.А., Соколов В.С., 1966; Литвиненко В.И. и соавт. 2014	Органические кислоты и их производные:		Toulemonde et al., 1977
12.	Ароматические соединения: <i>n</i> -цимол, цименол, бензойная, <i>n</i> - этоксibenзойная кислоты		Frattini et al., 1977 Toulemonde et al., 1977 Frattini et al., 1977	Лигнин	18,0	Müller, 1966
13.	Дубильные вещества	8,3-14,2	Козодой Н.Э., 1973	Кумарины (ликьюкумарин, херниарин, глицирин, умбеллиферон и др.)	2,59	Цетлин А.Л., 1965 Kinoshita et al., 2005 Wang C.L., Zhang R.Y., 1991
14.	Высшие алифатические углеводороды: тетрадекан; эфиры высших жирных кислот		Frattini et al., 1977	Фенолкарбоновые кислоты и их производные: феруловая, синаповая салициловая		Reiners, 1964 Mitscher et al., 1980 Wang C.L., Zhang R.Y., Han Y.S., et al. 1991
15.	Высшие алифатические углеводороды и спирты (в гидролизате): нонакозан, тетракозанол и др.		Van Hulle, 1970	Высшие жирные кислоты (в гидролизате): пальмитиновая, олеиновая; 9,12,13- тригидрокси- 10(<i>E</i>)- октадценная		Кононихина Н.Ф. и соавт., 1966 Ширинян Э.А. и соавт., 1988

Глицирризин считается наиболее ценным тритерпеновым соединением солодки не только для медицинской, но и для пищевой промышленности, т.к. он широко используется во всем мире как подсластитель - в 50 раз слаще сахара [79, 177].

Глицирризиновая кислота (20 β -Карбокси-11-оксо-30-норолеан-12-ен-3 β -ил-2-О- β -D-глюкопирануроно-зил-альфа-D-глюкопиранозидуруновая кислота) была выделена впервые из корней солодки голой французским химиком Пьером Жаном Робике (Pierre Jean Robiquet) в 1809 г., который назвал его глицирризином. Название глицирризиновая кислота (ГК) было дано позже З.Руссином (Zacharie Roussin) в 1876 г. [145].

Структурная формула

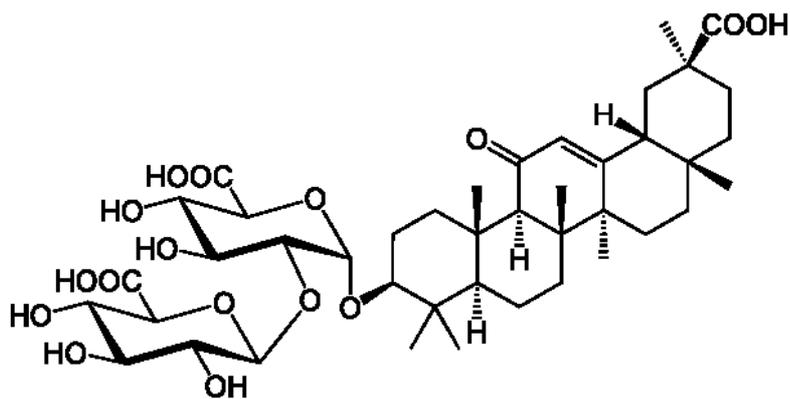


Рисунок - 1.2.1. Глицирризиновая кислота

Толчком для расширения исследовательских работ по солодке, как за рубежом, так и в СССР послужили работы Л. Ружички, В.Фосса и других ученых о строении глицирризиновой кислоты [214, 215].

Очистить ее от примесей и получить в чистом виде пытались многие исследователи, но впервые это удалось в начале XX столетия известному немецкому ботанику Александру Чирху. После А.Чирха ГК была получена в чистом виде и другими учеными [3, 114, 115].

Первые попытки установления химического строения ГК также относятся к середине XIX века [80]. Тогда было доказано, что глицирризин -

соль трехосновной органической кислоты, относящейся к гликозидам и распадающейся при гидролизе на агликон и парасахарную кислоту. Позже А.Чирх показал, что агликоном является одноосновная кислота, которую они назвали глицирретиновой (глицирретовой) (ГЛК), и доказали присутствие в ее молекуле двойной связи и двух функциональных групп, содержащих кислород. Прорывом в изучении глицирризиновой кислоты явилось установление структуры основного углеродного скелета тритерпеноидов в конце 30-х годов XX в. швейцарским химиком Леопольдом Ружичкой [169,212,213,215].

Получив чистую глицирретиновую (глицирретовую) кислоту и ряд ее эфиров, Ружичка с сотрудниками сравнили их брутто-формулы [214,215] и пришли к выводу, что наиболее вероятна ее формула $C_{30}H_{46}O_4$, а также с помощью химических превращений доказали принадлежность глицирретиновой кислоты к производным β -амирина путем превращения ее в последний [114].

Глицирретиновая кислота, находящаяся в природном соединении – глицирризине, является 18H- β -изомером. Было установлено, что кроме 18H-атома, при изомеризации происходит изменение положения $COOH$ -группы (карбоксильной), то есть она может быть при C_{29} и C_{30} . Это положение дает возможность выделения из солодки различных ее производных [157].

Структурная формула

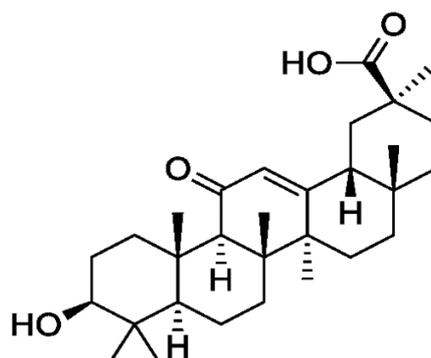


Рисунок - 1.2.2. Глицирретиновая кислота (Глицирретовая кислота)

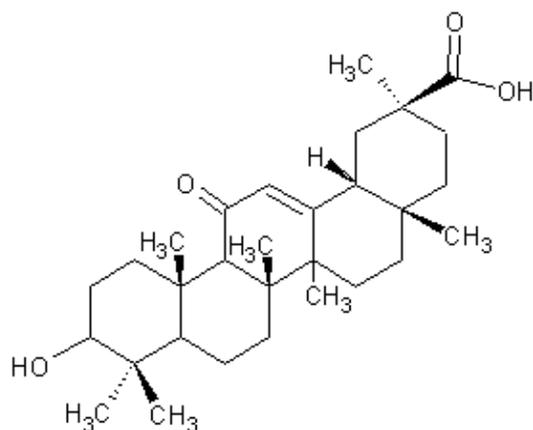


Рисунок - 1.2.3. Глицирретиновая кислота (Глицирретовая кислота)

Глицирретиновая кислота является основным метаболитом глицирризина [170] и показала противовоспалительные свойства на различных животных моделях [146,134,176]. ГЛК имеет сходство со структурой глюкокортикоидных гормонов [63,138,140,181,195,226,228,229].

Кроме β -формы в корнях солодки голой присутствуют следы α -формы глицирретиновой кислоты, но она не обладает фармакологической активностью [157].

Кроме глицирризина в корнях солодки в небольшом количестве присутствуют и *другие тритерпеновые соединения*: 18,19-дегидроглицирретовая, глабровая, 11-дезоксоглицирретовая, ликвиритиновая, 24-гидроксиликвиритиновая, ликвиридиоловая, 24-гидроксиглицирретовая, 24-гидрокси-11-дезоксоглицирретовая, 18 α -гидроксиглицирретовая, гидроксиглицирретовая, 3 β -гидроксиолеан-11,13(18)-диен-30-овая, 21,24-дигидрокси-11-дезоксоглицирретовая, глабролоновая, ликвориковая, 28-гидроксиглицирретовая кислоты, глабролид, дезоксоглабролид, изоглабролид, глицирретол, 21 α -гидроксиизоглабролид, β -амирин и др. [1,63,188,189].

Фенольные соединения солодки достаточно изучены и широко представлены в отечественных и зарубежных публикациях [191,193, 202]. Интерес к флавоноидам солодки связан с их биологическими свойствами, используемыми при получении лекарственных препаратов, пищевых, технических и других

продуктов. Особенно возрос интерес к флавоноидам солодки за последние 20 лет [3,165,194].

Литвиненко В.И. и соавторы отмечают, что специфичной группой фенольных соединений для рода солодка являются две основные и доминирующие подгруппы: флавоноиды (эуфлавоноиды) или 1,3-дифенилпропаноиды и изофлавоноиды или 1,2-дифенилпропаноиды.

Выделенные фенольные соединения можно количественно (в процентном отношении от общего числа соединений) разделить по подгруппам: эуфлавоноиды – 40 %, изофлавоноиды – 39 %, секофлавоноиды – 8 % и бифлавоноиды – около 1,0 % [76].

По данным Литвиненко В.И. фенольные (флавоноидные) соединения солодки играют важную роль в биологических процессах как растительного, так и животного организма в качестве корректоров различных механизмов взаимодействия живых систем (в основном в окислительно-восстановительных процессах) [76, 225].

Кроме основных БАС солодки, количество которых составляет > 1%, в корнях присутствуют минорные соединения.

Эфирное масло (0,03 %) [79], в его составе альдегиды, кетоны, спирты и их производные: [164,237]; органические кислоты и их производные: пропионовая, фенилпропионовая, капроновая, каприловая, пеларгоновая кислоты и другие соединения [237]; ароматические соединения: *n*-цимол, цименол, бензойная, *n*-этоксibenзойная кислоты, пропил-*n*-гидроксibenзоат и др. [164], тетраметилпиразин [237]; высшие алифатические углеводороды: тетрадекан; эфиры высших жирных кислот: этилгальмитат, этиллинолеат, этиллиноленоат [164]; фенолкарбоновые кислоты и их производные: феруловая, синаповая [211], салициловая, ацетат салициловой кислоты [197]; *высшие* алифатические углеводороды и спирты (в гидролизате): нонакозан, тетракозанол, октакозанол [242]; высшие жирные кислоты (в гидролизате): пальмитиновая, олеиновая и др. [67].

1.3. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ И МЕТОДЫ ЕЕ АНАЛИЗА.

Химическое название глицирризиновой кислоты - (20 β -Карбокси-11-оксо-30-норолеан-12-ен-3 β -ил-2-О- β -D-глюкопирануроно-зил-альфа-D-глюкопиранозидуруновая кислота). Брутто формула C₄₂H₆₂O₁₆. Молекулярная масса 823. Максимальный пик поглощения в УФ-спектре 254 нм.

ГК представляет собой прозрачные бесцветные кристаллы, легко растворимые в этаноле, ацетоне, растворимые в воде, нерастворимые в эфире, хлороформе.

Молекула ГК состоит из гидрофильной части – двух молекул глюкуроновой кислоты и гидрофобной части – сапогенина: глицирретовой кислоты (ГЛК). Глицирризиновая кислота является гликозидом глицирретиновой кислоты с двумя молекулами глюкуроновой кислоты [79].

При гидролизе распадается на агликон и парасахарную кислоту [80].

Агликоном ГК является одноосновная глицирретиновая кислота с характерной для нее кетогруппой, которая находится в 11 положении. Ее сахаристая часть представляет собой 2 молекулы глюкуроновой кислоты.

В корнях солодки ГК находится в виде смешанных калиево-кальциево-магниевых солей ГК легко образует соли с металлами и аммонием. Самая распространенная ее соль: глицирризинат аммония – глицирам [116]. Из водных растворов солей ГК легко осаждается разведенными минеральными кислотами, тогда как органические кислоты не способны ее осаждать [116, 66].

Соли щелочных металлов растворимы в воде, а соли тяжелых металлов нерастворимы и легко разлагаются сероводородом с образованием свободной глицирризиновой кислоты и это свойство используется часто при очистке ГК.

Корни и корневища солодки голой являются основным сырьем, из которого получают ГК с 1843 г. [79].

По мнению Г.А. Толстикова и соавторов ГК наиболее ценный компонент сырья солодки, о фармакологической активности которого имеются обширные научно-обоснованные данные [116].

Официальные источники ГК в России и СНГ - корни и корневища солодки голой и солодки уральской [66, 60,116].

Наиболее простым способом извлечения ГК является экстракция водой.

К настоящему времени существует много методов выделения и очистки ГК, получения на ее основе различных химических трансформаций [3,116,152].

В таблице 1.3.1. приведены методы экстракции ГК

Таблица 1.3.1.

Методы выделения глицирризиновой кислоты

№пп	Исходный материал для получения ГК	Экстрагент	Автор
1.	Измельченные корни солодки	Горячая вода или пар	Кондратенко Р.М., 2006
		0,25% и 1% водные растворы аммиака	Степанова Э.Ф.,1981
		метанол	Кондратенко Р.М.,2006 Бибикова Н.Е.,1999
		водный метанол (80%)	Fuggersberger-Heinz R., Franz G.1984 Кондратенко 2006
		дистиллированная вода при 40-50°C	Дмитриенко Н.В.1998 Кондратенко Р.М., 2006
2.	Порошок корня солодки	водный раствор щелочи в присутствии кислорода воздуха, подаваемого в реакционную массу со скоростью 60-80 л/ч в течение 5-6 ч	Рагимов А.В.,1996 Кондратенко Р.М., 2006
		Предложены способы экстракции корня солодки физраствором и сжиженным аммиаком	Кондратенко Р.М., 2006
3.	Корни солодки	микроволновая методика экстракции 1-2% р-ром NH ₄ OH в 50-60% этаноле, (время экстракции 4-5 мин)	Кондратенко 2006
4.	Щелочной экстракт солодки	Концентрированная H ₂ SO ₄	Кондратенко 2006

5.	Промышленный густой экстракт солодки	Экстракция 0,5% раствором NaOH; осаждение 25% H ₂ SO ₄	Толстиков Г.А., Балтина Г.А.,2007
6.	Шрот корня солодки после извлечения липидов и флавоноидов	Экстракция водными растворами NaOH; осаждение минеральными кислотами	Буранова Е.В., Турумбетов У. А.,2000
7.	Кислый метанольный экстракт корней солодки	пропускание через анионообменники XAD-4	Кондратенко Р.М.,2006
8.	Густой экстракт солодки	сорбционное выделение ГК с помощью катионообменных и анионообменных смол	Толстиков Г.А. и др., 1997
9.	Экстракт корней солодки	адсорбции на гранулированном полиамиде с последующей элюцией гликозида спирто-водными растворами	Кондратенко Р.М.,2006
10.	Кислый водный экстракт солодки (рН 4,5-7)	Ультра-фильтрацией через мембраны, пропускающие неорганические соли, моносахариды, аминокислоты и другие низкомолекулярные соединения	Кондратенко Р.М.,2006

Извлечение сапонинов из растительного сырья проводят различными растворителями: водой или водными смесями со щелочью, этанолом, метанолом, ацетоном, этиленгликолем, диоксаном, а также чистыми растворителями и в различных технологических условиях и др. [3,14,52].

Разработаны сорбционные технологии выделения ГК и ее моноаммониевой соли с применением ионообменных смол. Чистую ГК можно получить адсорбцией на полиамиде [115].

Водный экстракт солодки, содержащий соли ГК, используют для выделения сырой глицирризиновой кислоты, которую переводят в моноаммониевую соль, являющуюся товарным продуктом [115].

Корни солодки и ГК используют для изготовления лекарственных препаратов: в РФ зарегистрировано более 30, а в мире более 1770 наименований, качество которых контролируются с использованием современных методов [49,207,208].

Исходное сырье и субстанции солодки также должны контролироваться аналогичными методами. Расширение ассортимента ЛРП требует совершенствования методов их стандартизации и последующей оценки качества, что должно найти отражение в нормативной документации [106]. Ведущие фармакопеи мира контролируют сырье и препараты солодки по количественному содержанию ГК методами ВЭЖХ [160, 207, 208, 234].

Указанные в таблице 1.3.2. фармакопеи разрешают к использованию солодку голую и солодку уральскую. Дополнительно к с. голой и с. уральской разрешают солодку вздутую фармакопеи ЕС [169] и Китая [228]. Четыре Фармакопеи из приведенных 5 при определении ГК используют метод ВЭЖХ; в то же время ГФ РФ XIV [41] рекомендует только метод спектрофотометрии.

Таблица 1.3.2.

Методы контроля ГК сырья солодки в ведущих фармакопеях мира

Россия	ЕС (Евросоюз)	Китай	США	Япония
<i>Виды солодки, разрешенные к применению</i>				
С. уральская С. голая	С. уральская С. голая С. вздутая	С. уральская С. голая С. вздутая	С. уральская С. голая	С. уральская С. голая
<i>Содержание глицирризиновой кислоты, %</i>				
6,0 в абсолютно сухом сырье	4,0 в высушенном сырье	2,0 в пересчете на сухое вещество	2,5 в пересчете на сухое вещество	2,5 в пересчете на сухое вещество
<i>Методы контроля ГК в сырье и препаратах</i>				
СФМ	ВЭЖХ	ВЭЖХ	ВЭЖХ	ВЭЖХ
Длина волны 258 нм	Длина волны 254 нм	Длина волны 250 нм	Длина волны 254 нм	Длина волны 254 нм
ГФ РФ XIV	Ф ЕС	Ф Китая	Ф США	Ф Японии

Нормируемый показатель ГК методом ВЭЖХ в приведенных фармакопеях варьирует от 4,0% (Ф ЕС) до 2,5% (Ф США, Ф Японии) – 2,0% (Ф Китая). ГФ РФ XIV – 6% (СПФ).

Столь низкое содержание ГК в фармакопее Китая можно пояснить наличием с. вздутой, а также тем, что китайские виды *G1. uralensis* и *G1. glabra* содержат ГК 2,1-6,1% [66,207]. Фармакопеи США [208] и Японии [234] разрешают, также как ГФ РФ - только с.голую и с.уральскую, при этом в ГФ РФ нормируемое содержание ГК 6% (СФМ) на аналогичные виды солодки, что на 40% выше, чем за рубежом.

Основные условия методов хроматографирования, указанные в фармакопеях Европейского Союза, США, Китая и Японии свидетельствуют, что длина волны, при которой определяется ГК составляет 254 нм – ЕС, США, Япония; 250 нм – Китай; 258нм – РФ методом СФМ.

Фармакопея Республики Казахстан [35], одной из основных поставщиков сырья солодки, использует методику количественного определения ГК Фармакопеи ЕС и нормирует нижний предел содержания ГК так же, как и в ЕС, на уровне 4,0%.

Отдельного обсуждения заслуживают фармакопеи республик Беларуси (Ф РБ) и Казахстана (Ф РК), которые после распада СССР ввели в своих республиках собственные Фармакопеи, а затем гармонизировали их с Фармакопеей ЕС (Ф ЕС). Причем, Фармакопея РБ [34], в части нормирования содержания ГК, рекомендует использовать 2 метода контроля (СФМ и ВЭЖХ) и соответственно 2 нормы содержания ГК - 6,0% и 4,0%. Фармакопея Республики Казахстан [35] ввела только ВЭЖХ-метод контроля ГК и одну норму 4,0%, соответствующую Ф ЕС.

Таблица 1.3.3.

Фармакопейные нормы содержания ГК

Государственная Фармакопея Республики Казахстан 2015 г.	Государственная Фармакопея Республики Беларусь 2008 г.	Государственная Фармакопея Республики Беларусь 2016 г. Т.2
Содержание глицирризиновой кислоты в сырье должно быть не менее 4,0 % (ВЭЖХ)	Содержание глицирризиновой кислоты не менее 6% (СФМ)	Содержание глицирризиновой кислоты в сырье должно быть не менее 6,0 % (СФМ) не менее 4,0 % (ВЭЖХ)

Государственная Фармакопея СССР X издания, ныне ГФ РФ, использует метод спектрофотометрии для количественного определения ГК в сырье солодки начиная с 1968 г. Нижний предел содержания ГК солодки установлен на уровне 6% [40]. Требования к содержанию глицирризиновой кислоты в фармакопеях, приведенных выше стран, и требования РФ отличаются в 1,5- 2 раза. Существует мнение, что схема выделения моноаммонийной соли ГК, изложенная в ГФ РФ XIV не совсем совершенна, что подтверждает целый ряд исследований по ее модификации [22,32,34,112,47,72].

По мнению М.В. Гаврилина и соавторов многократный контроль сырья солодки методом СФМ, показывает значительное завышение результатов, и «отягощенность их систематической ошибкой». Это может быть связано, как с неполнотой извлечения, так и с недостаточной очисткой выделенной ГК [32]. Сравнительные исследования содержания ГК методами ВЭЖХ и спектрофотометрии одних и тех же образцов сырья, выполненные Гаврилиным М.В. и соавторами [32], показывают расхождение результатов: метод ВЭЖХ - ГК 3,72%; спектрофотометрия – ГК 6,93%. Сравнивая данные, приведенные в таблице 1.3.2 с результатами, полученными М.В. Гаврилиным, можно считать, что метод ВЭЖХ дает более точное содержание ГК, нежели спектрофотометрический метод, используемый ГФ РФ.

Таким образом, можно сделать вывод о насущной необходимости гармонизации требований ГФ РФ XIV с фармакопеями Республик Казахстана и Беларуси, а также ведущими мировыми фармакопеями.

Для гармонизации требований в раздел «Количественное определение» ГФ РФ желательно включить современный ВЭЖХ-метод определения ГК и ее норму содержания в сырье солодки. Один из немаловажных аргументов в пользу гармонизации является тот факт, что РФ и Казахстан являются основными экспортёрами сырья солодки в ЕС и Китай [108].

1.4 СТАНДАРТИЗАЦИЯ СЫРЬЯ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕРАБОТКИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ

Большое количество лекарственных препаратов, при производстве которых используются корни солодки, требует включения современных методов контроля качества в нормативную документацию для стандартизации фармацевтической субстанции растительного происхождения «Корни солодки».

Нормативная документация на корни солодки входила во все издания Государственной фармакопеи СССР, входит в ГФ РФ XIV и фармакопеи многих стран мира.

Качество сырья регламентируется ГФ РФ XIV, ФС.2.5.0040.15 [118]. У неочищенных корней поверхность покрыта бурой пробкой, продольно-морщинистая; очищенные корни снаружи светло-желтые или буровато-желтые, излом светло-желтый, волокнистый, запах отсутствует, вкус сладкий, приторный. Подлинность сырья определяется по внешним и микроскопическим признакам (имеется описание и фотоиллюстрации микропрепаратов цельного, измельченного сырья и порошка), а также ТСХ с использованием СО глицирризиновой кислоты и кверцетина.

Таблица 1.4.1.

Сравнительная характеристика методов определения биологически активных соединений в корнях солодки в различных фармакопеях

Фармакопея	Качественный анализ
ГФ СССР VIII 1952 г.	При смачивании 80% серной кислотой порошок окрашивается в оранжево-красный цвет (глицирризин)
ГФ СССР IX 1961 г.	При смачивании 80% серной кислотой порошок окрашивается в оранжево-красный цвет (глицирризин)
ГФ СССР X 1968 г.	При смачивании 80% серной кислотой порошок окрашивается в оранжево-красный цвет (глицирризин)
ГФ РФ XIII 2015 г.	ТСХ водно-этанольного извлечения на силикагеле F 254 в системе н-бутанол-ледяная

	уксусная кислота – вода (7:1:2) УФ-детектирование при 254нм.
ГФ РФ XIV 2018 г.	ТСХ водно-этанольного извлечения на силикагеле F 254 в системе н-бутанол-ледяная уксусная кислота – вода (7:1:2) УФ-детектирование при 254нм.
Фармакопея ЕС EP 8.0 2014 г.	ТСХ эфирного извлечения из водного гидролизата на силикагеле F 254 в системе аммиака р-р, этанол 96%, этилацетат. Детектируют после обработки р-ром анисового альдегида при 254 нм.
Фармакопея США USP 38 2015 г.	ТСХ водно-этанольного извлечения. на силикагеле F 254 в системе н-бутанол-ледяная уксусная кислота – вода (7:1:2) детектирование 254 нм.
Фармакопея Великобритании BP 2012 г.	ТСХ эфирного извлечения из водного гидролизата на силикагеле F 254 в системе аммиака р-р, этанол 96%, этилацетат. Детектируют после обработки р-ром анисового альдегида при 254 нм.
Фармакопея Японии XV 2007 г.	ТСХ водно-этанольного извлечения. на силикагеле F 254 в системе н-бутанол-ледяная уксусная кислота – вода (7:1:2) детектирование 254 нм.
ГФ РБ 2013 г. Республика Беларусь	ТСХ эфирного извлечения из водного гидролизата на силикагеле F 254 в системе аммиака р-р, этанол 96%, этилацетат. Детектируют после обработки р-ром анисового альдегида при 254 нм.
ГФ РК 2008 г. Республика Казахстан	ТСХ эфирного извлечения из водного гидролизата на силикагеле F 254 в системе аммиака р-р, этанол 96%, этилацетат. Детектируют после обработки р-ром анисового альдегида при 254 нм.
Фармакопея КНР	ТСХ н-бутанольного экстракта из метанольного извлечения на силикагеле, обработанным 1% раствором гидроксида натрия в воде. Система: этилацетат, мравьиная кислота, ледяная уксусная кислота, вода (15:1:1:2). Детектирование при 365 нм, после обработки 1% раствором серной кислоты в этаноле.

В разделе «Испытания» отдельно для неочищенных от пробки корней и очищенных, а также цельного, измельченного сырья и порошка предусмотрено определение: влажности не более 14 %; золы общей - не более 8 %; золы, не растворимой в хлористоводородной кислоте (неочищенное - не более 2,5 %, очищенное (цельное) - не более 1 %, измельченное сырье и порошок - не более 2,5 %); посторонних примесей, органической (не более 1% для неочищенного сырья, не более 0,5 % для очищенного сырья) и минеральной примеси (не более 1% для неочищенного сырья и порошка, не более 0,5 % для очищенного сырья).

В разделе «Посторонние примеси» для цельного сырья нормируются корни, дряблые в изломе, желто-коричневые, и остатки стеблей (неочищенное - не более 4 %), корни, плохо очищенные от пробки - не более 15 %, корни, потемневшие и темно-коричневые на поверхности, но светло-желтые в изломе (очищенное - не более 20 %).

Для измельченного сырья нормируются: частицы корней, потемневшие на поверхности (очищенное - не более 15 %), частицы, плохо очищенные от пробки (очищенное - не более 3 %).

Также, в соответствии с требованиями соответствующих ОФС, регламентируется содержание тяжелых металлов, радионуклидов и других санитарно-гигиенических норм [95,96].

В разделе «Количественное определение» предусмотрено спектрофотометрическое определение глицирризиновой кислоты, которой должно быть не менее 6 % [118].

Нормативная документация на корни солодки входит в Европейскую фармакопею и большое количество национальных фармакопей мира [34, 35, 175, 207, 208, 234].

Для оценки соответствия действующей нормативной документации на корни солодки современным требованиям мы сравнили отечественную ФС.2.5.0040.15 Солодки корни и доступную зарубежную нормативную документацию, регламентирующую качество корней солодки. Были

проанализированы фармакопейные статьи на корни солодки, входящие в Европейскую Фармакопею 7.0 и 8.0, Государственную Фармакопею Республики Беларусь 1 и 2 издания [34], Индийскую Государственную Фармакопею 2010 [175], Аюрведическую Фармакопею Индии, Британскую травяную фармакопею, Японскую Государственную Фармакопею XVII [234], Китайскую Государственную Фармакопею 2005 и 2010 [207], Американскую Фармакопею [208], Государственную Фармакопею Республики Казахстан 2015 [35]. Кроме корней солодки голой и солодки уральской, в ряде стран допускается также заготовка корней солодки вздутой (*Glycyrrhiza inflata* Vat.).

Подлинность корней солодки, как правило, определяется макро- и микроскопически, но в некоторых статьях не охарактеризовано либо цельное, либо измельченное сырье. Ни в одной из фармакопей, кроме ГФ РФ XIII, не предусмотрено наличие фотографий микропрепаратов. Также определяется хроматографически (за исключением статьи Индийской Аюрведической фармакопеи), в качестве референсных образцов чаще всего используется либо глицирризиновая кислота, либо стандартные экстракты корней солодки, в статьях Ф ЕС и гармонизированных с ней - тимол, только в ГФ РФ XIV – СО кверцетина.

Числовые показатели разных фармакопей схожи в нормировании и номенклатуре показателей качества (влажность, зола общая и зола нерастворимая в хлористоводородной кислоте). Однако раздел «Посторонние примеси» приведен не во всех статьях, а только в ГФ РБ и ГФ РФ, подробно описан в ГФ XIV. Следует отметить, что только в European Pharmacopoeia 7.0 и 8.0 [160] (и гармонизированной с ней ГФ РБ) нормируется содержание охратоксина (не более 20 мкг/кг). Статьи Ф ЕС, ГФ РБ и ГФ РК гармонизированы. Практически идентичны фармакопейные статьи на корни солодки Ф Японии [234] и Ф США [208].

Стандартизацию по действующим веществам требуют проводить все рассмотренные фармакопеи. Практически все рекомендуют определять

содержание глицирризиновой кислоты (за исключением Индийской Аюрведической фармакопеи - нормируется содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой и извлекаемых спиртом). Требования к содержанию глицирризиновой кислоты в фармакопеях разных стран сильно отличаются, причем, иногда в 2-3 раза. Согласно требованиям 10-го издания ГФ СССР [37] и ГФ XIV содержание глицирризиновой кислоты в сырье должно быть не менее 6% (спектрофотометрия).

По требованиям ЕР 7.0 и 8.0 (и гармонизированных с ней Ф РБ и Ф РК) глицирризиновой кислоты в сырье должно быть не менее 4,0% (ВЭЖХ), индийской – не менее 3,0 %, японской – не менее 2,5% (ВЭЖХ) (было в JP XVI) и не менее 2,0% (ВЭЖХ) (установлено в JP XVII), а в Фармакопее КНР - не менее 2,0 % (ВЭЖХ).

В 1 издании ГФ РБ регламентировалось содержание глицирризиновой кислоты, определенное спектрофотометрически, не менее 6,0 %, во 2 издании - содержание глицирризиновой кислоты, определенное спектрофотометрически, не менее 6,0 % или определенное методом ВЭЖХ - не менее 4,0 %.

ГФ РК нормирует содержание глицирризиновой кислоты, определенное спектрофотометрически или методом ВЭЖХ не менее 4,0 %.

Также Ф Японии [234] и Ф США [208] требуют определять содержание экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом (не менее 2,5 %), Ф Китая [207] - глицирамарина (горечь) (не менее 1%) (ВЭЖХ), Ф Индии [175] - экстрактивных веществ, извлекаемых водой (не менее 20 %).

Анализ современных требований по контролю качества корней солодки свидетельствует о том, что практически все мировые фармакопеи предусматривают определение содержания глицирризиновой кислоты методом ВЭЖХ, и лишь некоторые из них (Ф РБ, Ф РК) включают спектрофотометрию наряду с ВЭЖХ, а ГФ РФ XIV издания ограничивается только спектрофотометрическим определением глицирризиновой кислоты.

В РФ проводились исследования по совершенствованию способов оценки качества сырья солодки и ЛРП, получаемых из него. Так М.В. Гаврилин с соавторами исследуя образцы корней солодки, собранные в районе Кавказских Минеральных вод, методами ВЭЖХ, капиллярного электрофореза (КЭ) и спектрофотометрии пришли к выводу, что методы ВЭЖХ и КЭ дают достоверно сходимые результаты (3,72 % и 3,64 %, соответственно). Спектрофотометрическим методом содержание ГК в исследуемых образцах определялось выше 6 % [38].

В ходе сравнительного изучения содержания ГК в образцах корней солодки отечественного промышленного производства методами спектрофотометрии и ВЭЖХ пришли к заключению о малой селективности УФ-спектрофотометрии. Результаты определения ГК методом спектрофотометрии превышают таковые при использовании ВЭЖХ методики в 4-5 раз (10,85 % и 2,06 %), соответственно [17, 18].

Таким образом, можно сделать вывод, что ФС.2.5.0040.15 Солодки корни ГФ РФ XIV в целом отвечает современным требованиям. Полнота характеристики внешних и анатомо-диагностических признаков корней солодки в ГФ РФ XIV максимальна и превосходит соответствующие разделы зарубежных фармакопей, раздел «Испытания» также разработан на высоком уровне, но раздел «Количественное определение» по нашему мнению требует доработки и включения в него современного метода определения содержания глицирризиновой кислоты - ВЭЖХ.

Это позволит гармонизировать требования отечественной фармакопеи к качеству сырья солодки с международными требованиями.

1.4.1.ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЫРЬЯ СОЛОДКИ

Измельчение ЛРС - это древний и один самых простых способов технологической переработки лекарственного растительного сырья [79]. При кажущейся простоте переработки ЛРС, технология измельчения солодки

является трудоемкой и имеет много особенностей из-за ее выраженной волокнистой структуры [48, 52].

Несмотря на то, что интерес к солодке за последние 20 лет резко возрос и она стоит на первом месте среди растительных препаратов [23], измельченные корни солодки поступают в аптечную сеть уже более 30 лет в неизменном виде, с применением традиционной технологии (измельченность 5 мм) - в потребительской упаковке по 50 г [78,24].

Солодка в современной лекарственной форме фильтр-пакетах (ФП) практически не представлена на рынке, за редким исключением. Расфасовать ее в ФП можно только полуручным способом, но не на современном высокопроизводительном оборудовании (СВО). Хотя ФП - это востребованная форма выпуска ЛРС [106].

Предпосылки перехода от традиционной технологии к новым лекарственным формам и проблемы перевода солодки на новую форму выпуска уже сформировались, но до настоящего времени не реализованы на практике.

Технология переработки ЛРС (производство фасованного лекарственного растительного сырья) последних 50 лет условно может быть разделена на 2 этапа: времена СССР и постсоветский период [101].

До 1991 г. в РФ один Красногорский завод по переработке лекарственного растительного сырья, т.е. по производству измельченного ЛРС и фасованного в потребительскую упаковку, обеспечивал этой продукцией всю страну. На этом производстве применялась традиционная технология переработки ЛРС, которая кратко может быть охарактеризована следующим образом. Фасованное ЛРС производилось на разнообразном, приспособленном из других отраслей к данному производству измельчающем оборудовании - дисковые и барабанные соломорезки, табак крошилные машины с гильотинными ножами и др., которые условно можно классифицировать как машины резального или ударного типа. Для просеивания измельченного сырья использовались трясунки наиболее простой конструкции с одним ситом и низкой производительностью.

Измельченное сырье фасовалось в пачки (чаще без первичной упаковки) вручную или автоматизировано на оборудовании, приспособленном из других отраслей [101].

Измельченность фасованного сырья нормировалась ГФ для каждого вида сырья. Практически вся номенклатура выпускаемой продукции измельчалась до размера частиц 7,0 – 0,5 мм. Корни до 3,0- 0,2 мм. Однако, принято считать, что каждый вид ЛРС имеет свой оптимум измельчения, который должен быть установлен экспериментально [101,24]. В этот период для данной группы лекарственных растительных средств был принят обобщающий термин - фасованное лекарственное растительное сырье.

После распада СССР, наряду с единственным в РФ заводом (ныне ОАО «Красногорсклексредства»), появилось много новых конкурирующих частных компаний по переработке ЛРС, такие как: ЗАО «Здоровье», ООО «СТ-Медифарм», ООО «Лек-С» и др.

В условиях конкуренции современное высокопроизводительное оборудование (СВО) вытеснило устаревшие традиционные технологии измельчения и фасовки сырья. На производствах внедрялись технологические линии, оснащенные мощными специализированными дробильными машинами, пневмотранспортом, многоярусными ситами, смесителями и позволяющие фракционировать измельченное сырье [15].

По мере внедрения СВО, ЛРС разных морфологических групп, измельченное для фасовки в пачки, если рассматривать в целом, стало более мелким: вместо частиц, не проходящих с/с 7мм стали нормировать частицы, не проходящие с/с 5 мм Таблица 1.4.2.

Интервал между крупными и мелкими частицами сократился, увеличилась насыпная плотность, что обеспечивало его автоматизированную фасовку на современном высокопроизводительном оборудовании (СВО).

Таблица 1.4.2.

Измельченность ЛРС для фасовки
в потребительские упаковки в разные периоды

Наименование показателей	Измельченное ЛРС, %	Измельченное ЛРС, %	Порошок ЛРС для ФП, %
	До 1995 г	После 1995 г	После 1995 г
Частиц, не проходящих с\с 7 мм	5.0	нет	-
Частиц, не проходящих с\с 5 мм	нет	10	-
Частиц, не проходящих с\с 2 мм	нет	нет	10
Частиц, проходящих с\с 0,2 - 0,5 мм	5.0	нет	-
Частиц, проходящих с\с мм 0,18	нет	10	10

Корни солодки, измельченные и расфасованные в потребительские упаковки (первичная и вторичная), появились на рынке во второй половине 90-х годов благодаря использованию указанного оборудования. СВО позволяло измельчить волокнистые корни соответствующим образом, очистить измельченное сырье от значительного содержания пылевидных частиц и подготовить продукт, пригодный для автоматизированной фасовки.

В это же время для ЛРС активно внедрялось производство новой дозированной лекарственной формы - крупного порошка (КП) в фильтр-пакетах. Эта форма выпуска, как более современная, заменила около 30 наименований ЛРС, выпускаемых ранее в виде плиточных и круглых брикетов, (форма выпуска, выведенная на рынок в 1975-1985 г.) [21].

Дозированный порошок в фильтр-пакетах завоевывал рынок, поскольку имел ряд преимуществ: удобство применения для пациента, точность дозирования, оптимальную измельченность, позволяющую не только увеличить выход БАС в водное извлечение, но и уменьшить количество ЛРС для приготовления отвара с целью более эффективного использования природных ресурсов [47].

Процесс выведения на рынок новой лекарственной формы сопровождался двумя главными технологическими проблемами. При измельчении разных видов ЛРС на СВО фиксировались значительные потери пылевидной фракции сырья, вызванные механическим воздействием мощного оборудования на хрупкие части сырья, содержащие максимальное количество БАС. Не все виды сырья были успешно расфасованы в фильтр-пакеты по разным причинам, связанным с особенностями гистологической структуры растительных тканей сырья различных морфологических групп [47]. Для надземных частей растений трудности фасовки связаны с его опушенностью, легкостью и недостаточной насыпной плотностью. Волокнистая структура солодки обуславливала низкую насыпную плотность и сыпучесть сырья после его измельчения и, как следствие, порошок не подлежал фасовке [5].

При измельчении сырья солодки наблюдались потери, в основном, наружной части корней, превращающиеся при такой переработке в мелкие пылевидные частицы (средне крупный порошок - СКП) и представляющие собой продукт с концентрированным содержанием БАС. Этот продукт технологически не пригоден для фасовки на СВО и должен быть переведен в отходы или подвергнут дополнительной технологической обработке [15, 46, 62].

В то же время лекарственные сборы с солодкой в фильтр-пакетах в широком ассортименте реализуются через аптечную сеть. Корень солодки является самым употребляемым компонентом растительных сборов разрешенных в медицинской практике РФ в 70-х – 90-х годах XX века и выпускаемых в настоящее время [41].

Таблица 1.4.3.

Использование сырья солодки в составе сборов,
выпускаемых в фильтр-пакетах

№п п	Наименование сбора	Содержание солодки в сборе, %	Количество фильтр-пакетов в упаковке, шт.	Дата регистрации
1.	Грудной №2	30,0	Нет	70-е годы
2.	Желудочно- кишечный сбор	20,0	20фп	90-е годы
3.	Грудной сбор №4	15,0	20фп	90-е годы
4.	Противо- гемморoidalный	20,0	20фп	70-е годы
5.	Успокоительный №2	10,0	20фп	70-е годы
6.	Элекасол	20,0	20фп	80-е годы

Основная сложность в производстве сборов – равномерное смешивание составных частей решена, видимо, благодаря применению современных смесителей, позволяющих оптимально перемешивать кусочки сырья, имеющие различную величину, форму, массу [101].

Волокнистая солодка, содержащаяся в сборах в количестве от 10% до 30%, при смешивании с другими ингредиентами сборов не приводит к их расслаиванию. Подтверждением того, что фасовки сборов с солодкой в ФП освоена на СВО, является их промышленный выпуск на ОАО «Красногорсксредства» - ведущем предприятии в этой подотрасли, и реализация их в аптеках [41].

О применении дополнительной технологической обработки для пылевидной фракции солодки, а именно прессовании и превращении ее в гранулы резано-пресованные (ГРП) первые публикации [49,107] появились в 2009 г. В результате внедрения новых технологических приемов для расширения номенклатуры ЛРП из ЛРС официально введена новая лекарственная форма гранулы резано-пресованные [106,107].

Общим и системно объединяющим эти два процесса является то, что грануляция - это часто используемый прием в технологии твердых лекарственных форм, способствующий улучшению сыпучести, увеличению насыпной плотности, улучшению объемных характеристик и однородности массы [80].

Данный способ переработки сырья позволил существенно улучшить технологические показатели разных морфологических групп растительного сырья, такие как: сыпучесть, насыпной вес, точность дозирования, а также продолжительную сохранность некоторых групп БАС растительного сырья [62,107].

1.5 ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛОДКИ ГОЛОЙ И СОЛОДКИ УРАЛЬСКОЙ И ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ

Корни солодки, а также выделенные из них БАС обладают широким спектром фармакологических свойств [9,10,55-58,74,123,132,139,141,142,162]. К настоящему времени опубликованы результаты более 2-х тысяч научных исследований по солодке и ее БАС что подтверждает огромный интерес фармакологов к растениям этого рода во многих странах мира. Корни солодки разрешены к применению в медицинской практике многих стран мира [5,27-31,49,126,127].

В настоящее время в мире запатентовано более 1770 лекарственных средств (ЛС) на основе корней солодки, список патентов всех стран занимает более 100 страниц. В РФ на сегодняшний день зарегистрировано более 30 ЛС на основе корней солодки [49].

Лекарственная ценность сырья солодки определяется содержанием глицирризиновой кислоты, флавоноидов, тритерпеновых сапонинов и других биологически активных соединений [1,66,49,73]. Некоторые фармакологические свойства и механизмы действия препаратов солодки приведены ниже.

ГК и ее агликон ГЛК известны своей высокой противовоспалительной, противоязвенной, антиаллергической, гепатопротекторной, противогрибковой

[161,238,239] противовирусной, антитромботической [84,196] и другими видами биологической активности [1,3,66,71,113,199].

Противовоспалительное действие препаратов солодки связано с их гормональной (адренкортикоподобной) активностью и участием высокоактивной эстрогенной фракции [24,135,136,137,159,174,181,228,233].

Противовоспалительные свойства растения обусловлены глицирризиновой кислотой, которая освобождается при гидролизе глицирризина. Глицирризиновая кислота, подвергаясь в организме метаболическим преобразованиям, оказывает кортикостероидоподобное действие. ГЛК синергист кортикостероидов. Механизм синергизма состоит в подавлении метаболизма кортикостероидов в тканях под воздействием ГЛК, что приводит к повышению продолжительности их действия [113].

Структурное сходство агликона ГК и 11-кетостероидов обуславливает их близкую биологическую активность. Подобно гормонам надпочечников ГК и ее агликон оказывают влияние на водно-солевой обмен, усиливая задержку Na^+ , уменьшая содержание K^+ в организме, повышая кровяное давление и снижая объем выделяемой мочи [115].

Механизм противовоспалительного действия солодки связан со стимулирующим влиянием глицирризиновой кислоты на кору надпочечников. Именно это фармакологическое свойство растения считается наиболее важным [117].

Кроме глицирризиновой кислоты противовоспалительное действие оказывают флавоноидные соединения, они нормализуют проницаемость сосудистой стенки. Наиболее активными противовоспалительными средствами из этой группы веществ являются ликвиритон и флакармин [117].

В эксперименте, проведенном корейскими исследователями этанольный экстракт корней солодки продемонстрировал сильную противовоспалительную активность за счет его способности подавлять производство окиси азота (NO) и простагландина E (2) в ЛПС-стимулированных макрофагах мыши RAW264.7

(ЛПС - липосахариды). Он также ингибировал продукцию противовоспалительных цитокинов и экспрессию белка CD14 на поверхности ЛПС-стимулированных RAW264.7 клеток (клетки RAW264.7 - макрофаги, тип белых кровяных телец, участвующих в борьбе с инфекциями) [183, 184].

Глицирретиновая кислота показала противовоспалительные свойства на различных животных моделях [146,134,176]. Были предложены два механизма, объясняющие противовоспалительное действие β -глицирретиновой кислоты: во-первых, она ингибирует глюкокортикоидный метаболизм и усиливает их эффекты. Это усиление наблюдалось в коже и легких после совместного введения их с β -глицирретиновой кислотой [233, 219]. Также β -глицирретиновая кислота является мощным ингибитором фермента 11β -гидроксистероидгидроксигеназа (11β -HSD) [246], что вызывает накопление глюкокортикоидов с противовоспалительными свойствами.

В исследовании *in vitro* глицирризин ингибировал активные формы кислорода (АФК), генерируя нейтрофилы, которые являются мощным медиатором тканевых воспалений [131, 248].

Отхаркивающее действие. Применение корня солодки при лечении острых и хронических заболеваний органов дыхания (бронхит, пневмония, бронхиальная астма, бронхоэктатическая болезнь и др.) обусловлено его отхаркивающим, противовоспалительным, смягчающим и противокашлевым действием [6, 12, 117]. Глицирризин стимулирует активность реснитчатого эпителия и усиливает секреторную функцию слизистых оболочек в трахее и бронхах, облегчает отхаркивание [6].

Гастропротекторное действие. Глицирризиновая и деглицирризиновая кислоты обладают выраженной противоязвенной активностью при лечении язвы желудка и двенадцатиперстной кишки [66,86]. В экспериментальных исследованиях показано, что пероральный прием комбинированного препарата солодки может излечивать язвы также эффективно, как блокаторы H_2 -гистаминных рецепторов [133,182]. Установлено, что глицирризиновая кислота

оказывает противоязвенное действие, повышая локальную концентрацию простагландинов, которые стимулируют секрецию и пролиферацию клеток слизистой оболочки желудка, что приводит к заживлению язв [144,243]. Флавоноиды солодки также обладают противоязвенным действием. Таким образом, сапонины и флавоноиды являются основными гастропротекторными биологически активными компонентами солодки [256].

Глабридин и глабрин *in vitro* обладают ингибиторной активностью против роста *Helicobacter pylori*. Они также показали антигеликобактерные свойства по отношению к штаммам устойчивым к кларитромицину и амоксициллину [167,168].

Гепатопротекторное действие. В исследовании *in vitro*, глицирризин оказывал гепатопротекторное действие, вероятно, путем предотвращения изменения проницаемости в клеточной мембране [61,200].

В эксперименте на крысах доказано, что желчегонное действие экстракта солодки обусловлено наличием глицирризина [210].

Имеются сведения об участии глицирризина в увеличении детоксицирующей функции печени по отношению к другим ксенобиотикам [198].

В эксперименте на мышах показано, что глицирризин защищает от гепатоцеллюлярного повреждения, вызванного этанолом; глицерритиновая кислота защищает печень от четыреххлористого углерода (CCl₄) [177, 180, 186, 203].

Противоопухолевое действие. Установлено, что 18β - глицирретиновая кислота способна эффективно уничтожать опухолевые клетки в центральной нервной системе [250,190] показали, что введение глицирризина (10 мг/кг, внутривентриально) через день в течение недели значительно снижало частоту метастазов меланомы B16F10 в легких мышей [190]. Также выявлено, что глицирризин, уменьшает гепатоцеллюлярную карциному у мышей, индуцированную диэтилнитрозаминном [223]. Изоликвиритигенин

предотвращает развитие индуцированных 1,2-диметилгидразином опухолей толстой кишки и легких у мышей [153]. Ликохалкон Е, выделенный из корней солодки, показал наиболее мощный цитотоксический эффект по сравнению с ликохалконом А и изоликвиритигенином выделенными из солодки известными противоопухолевыми средствами [122, 251].

Противовирусное действие. Препараты солодки оказывают противовирусное действие [117]. Глицирризин ингибирует репликацию нескольких вирусов *in vitro*, в том числе вируса Эпштейна-Барра (EBV) [192], простого герпеса [209, 221], варицелла зостер (VZV) [143], гепатита А (HAV) [158], гепатита В (HBV) [227, 218], гепатита С (HCV) [244], цитомегаловируса человека (CMV) [204], иммунодефицита (HIV) [178], коронавируса (SARS) [156], а также снижает заболеваемость и смертность мышей, заражённых вирусом гриппа, за счёт увеличения продукции γ -интерферона [240]. Глицирризин был использован в качестве потенциального терапевтического агента для лечения нескольких вирусных заболеваний, в том числе хронического гепатита В и С, а также вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [178,217,256].

Антимикробное действие. Экспериментально установлено, что экстракт солодки, глицирризин и его производные обладают свойствами антимикробного агента по отношению к некоторым группам микроорганизмов [11,26,33,103,201,220,222]. Ликорицидин и три кумариновых производных, выделенных из корней солодки, *in vitro* обладают активностью в отношении *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis* [230]. Несколько выделенных из солодки флавоноидов с С5 алифатическими остатками были эффективны против метициллинустойчивого золотистого стафилококка (MRSA) и восстановили действие оксациллина и β -лактамного антибиотика против MRSA [172].

Флавоноиды глабридин, глабрен и ликохалкон *in vitro* проявляют антимикробную активность против *Helicobacter pylori* [167, 168]. Водно-

эфирные экстракты солодки голой показали эффективную антибактериальную активность в отношении всех кишечных бактерий: кишечной палочки (*E. coli*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*) и золотистого стафилококка (*S. aureus*) [205]. Глицирризол А и 6,8-диизопренил-5,7,4'-тригидроксиизофлавонол из корня солодки уральской обладают сильным антибактериальным действием против *Streptococcus mutans*, основного виновника в развитии кариеса, в минимальной подавляющей концентрации 1 и 2 мкг/мл, соответственно [173].

В исследовании *in vitro* было обнаружено, что БАС корня солодки ингибируют рост ряда простейших, в том числе *Plasmodium falciparum* и *Leishmania donovani* [154, 155]. Так, ликохалкон А, выделенный из корней солодки обладает антиплазмодным действием со значениями IC₅₀ от 4,5 до 0,6 мг/мл [148,179]. Этот халкон в тестах *in vivo* при пероральном введении 1000 мг/кг мышам, зараженным *Plasmodium yoelii* приводил к полной ликвидации паразита малярии, при этом не было отмечено никакой токсичности [224].

Кроме того, халконы солодки имеют мощную противолейшманиозную активность и могут быть отнесены к новому классу антилейшманиозных средств [147,150]. Было обнаружено, что халконы, такие как ликохалкон А, способны изменять ультраструктуры митохондрии паразита и подавляют их функцию путем выборочного ингибирования фумарат-редуктазы (FRD) в дыхательной системе паразита [255]. Натриевая соль глицирретиновой кислоты (глициренат, выделенный из корней солодки) также активна в отношении простейших [117].

Антиатеросклеротическое действие (Гиполипидемическое и гипохолестеринемическое). Клинические испытания выявили, что спиртовой экстракт корней солодки может несколько снижать содержание холестерина в сыворотке крови пациентов со средним уровнем гиперхолестеринемии [166]. Механизм гиполипидемического действия связан с ускорением синтеза желчных кислот, как одного из механизмов гипохолестеринемического действия глицирризиновой кислоты, поскольку выделение холестерина из

организма определяет, прежде всего, процессы окисления его в желчные кислоты [85]. Употребление экстракта солодки и глицирретиновой кислоты может уменьшить массу жировых отложений в организме человека, и возможный механизм действия осуществляется путем ингибирования фермента 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы-1 (11 β -HSD-1) на уровне жировых клеток [139]. Сумма тритерпеноидов в эксперименте (кролики) обладает гипополипидемической активностью, превосходящей активность полиспонина [25]. Сумма сапонинов и флавоноидов в эксперименте также обладает гипополипидемической [111].

Глицирризин способствует биосинтезу холестерина в печени крыс. Экскреция холестерина в печени, по-видимому, пропорционально последующим снижением уровней холестерина в крови [159]. Спиртовой экстракт корней солодки проявляет выраженный гипохолестеринемический эффект у пациентов с высоким содержанием холестерина [166]. Лакричный гель эффективен при атопическом дерматите [216].

Флавоноиды солодки обладают антиоксидантными и антирадикальными свойствами, антиагрегационной активностью [52, 231, 232]. Имеются сообщения об атерогенном (антиоксидантном) действии изофлавона глабридина [197].

Представляет интерес ликвиритегенин, проявивший в эксперименте высокую ингибирующую активность по отношению к ферменту ароматаза [206].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1.

1. Проведено информационно-аналитическое исследование литературных источников о сырье и препаратах солодки. Установлено, что химический состав солодки голой и солодки уральской достаточно изучен. Из ее сырья выделено множество индивидуальных БАС, отнесенных к различным химическим классам. Практическое применение в медицине находят только несколько

основных тритерпеновых соединений - глицирризиновая (ГК) и глицирретиновая (ГЛК) кислоты и их производные, а также флавоноиды.

2. Сырье солодки и ГК, известные своей противовоспалительной, противоязвенной, антиаллергической, гепатопротекторной, противовирусной и другими видами активности, являются основой для изготовления различных лекарственных форм. При производстве множества препаратов на основе солодки, разработанных в РФ и во всем мире все более актуальными являются современные, более селективные и воспроизводимые методы контроля ГК.

3. Корни солодки входят практически во все ведущие мировые фармакопеи, предусматривающие количественное определение ГК методом ВЭЖХ. В некоторых из них (Ф РБ, Ф РК) наряду с ВЭЖХ включен метод СФМ. ГФ РФ XIV ограничивается лишь устаревшим не селективным СФМ-методом определения ГК. Причем, нормируемый показатель ГК методом ВЭЖХ в зарубежных фармакопеях, варьирует от 4,0% (Ф ЕС) до 2,5% (Ф США, Ф Японии); 2,0% - Ф. Китая. ГФ РФ XIV методом СФМ – 6%, т.е. в 1,5-2 раза превышает значение ГК, полученное методом ВЭЖХ. В связи с этим, актуальным является разработка современного селективного ВЭЖХ-метода определения ГК и гармонизация его с зарубежными фармакопеями.

4. Физико-химические свойства БАС солодки всесторонне изучены. Экстракция ГК широко осуществляется в промышленности из множества продуктов на основе солодки и различными растворителями - водой, метанолом, водным метанолом, водным раствором щелочи и др. ГК и ее производные являются объектами экспорта из РФ в Китай и Европу. В то же время, самый простой и востребованный нативный препарат солодки – порошок в фильтр-пакетах в РФ не производится из-за особенностей гистологической структуры (волоконность) корней солодки, отсутствия апробированных технологических приемов и соответствующих нормативных документов.

5. Учитывая изложенное выше, актуальным является разработка новых приемов для изготовления субстанции из корней солодки и экспериментальное

установление соответствующих параметров, позволяющих осуществление выпуска нового ЛРП, расфасованного в ФП на СВО.

6. Вопросы технологии переработки (измельчение сухого сырья, прессование порошков, дозированная фасовка) корней солодки практически не описаны в литературе, поэтому существует необходимость в изучении экспериментальных приемов и полученных продуктов в процессе разных способов переработки.

7. Успешное завершение экспериментальных работ по дополнительной технологической обработке мелкой фракции корней солодки с высоким содержанием ГК и создание новой формы выпуска в фильтр-пакетах, может не только вывести на рынок новый ЛРП, но и решить проблему значительных потерь сырья, получаемого как фракцию отходов при измельчении солодки на СВО.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Объектами исследований послужили измельченные корни солодки (КС), фасованные в пачки, производства АО «Красногорсклекследства» (КРЛС), ООО Фирма «Здоровье» (ЗД), ООО «Лекра-СЭТ» (ЛС); опытно-промышленные образцы крупного порошка, гранул резано-прессованных и смеси (композиции), предлагаемой для фасовки в фильтр-пакеты по 1,5 г (под соответствующими обозначениями – КП, ГРП, Смесь (композиция)).

Изучение принципов получения корней солодки на современном высокопроизводительном оборудовании (СВО), получения порошков, их прессования и смешивания проводили на АО «Красногорсклексредства». Конечный продукт в фильтр-пакетах получали на экспериментальном производстве ООО «М-ФАРМ».

Для получения продуктов переработки корней солодки использовались корни солодки голой и солодки уральской неочищенной (*Glycyrrhizae naturalis*).

Одноразовые пакеты для фасовки смеси изготавливали из бумаги термосвариваемой, пористой, не размокаемой, плотностью 23,0 г/м².

2.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ, ПРИБОРЫ И ОБОРУДОВАНИЕ.

Микроскопия.

Изучение анатомо-диагностических признаков измельченных корней солодки проводили в соответствии ОФС ГФ XI “Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья”, ОФС.1.5.3.0003.15 ГФ РФ XIII [98] и собственными методиками [13, 48].

Для крупного порошка (КП) и гранул резано-прессованных (ГРП) использовали просветляющие и размягчающие методики, разработанные и апробированные авторами в исследованиях, посвященных микроскопическому анализу растительных порошков [13,48].

Подготовка микропрепаратов проводилась следующим образом: 0,1-0,2 г порошка помещали в химический стакан на 50 мл, приливали 5 мл 2,5 %-ного

раствора NaOH и кипятили в течение 30 секунд, после чего порошок дробно промывали 100-150 мл дистиллированной воды методом декантации при условии практически полного осаждения частиц сырья. Последний раз воду осторожно сливали, лопаточкой или скальпелем порошок переносили в каплю включающей жидкости (раствор глицерина (1:1) или раствор хлоралгидрата), накрывали покровным стеклом, слегка надавливали на него обратной стороной препаровальной иглы для равномерного распределения жидкости под стеклом и рассматривали под микроскопом.

Для получения микрофотографий использовался микроскоп Olympus CX-41 (Япония) с тринокулярным тубусом, с увеличением 10х и фиксатором цифровой камеры, снабжённым четырехпозиционным револьвером объективов, объективами 4х, 10х, 20х, 40х, 100х и цифровой камерой (Olympus Digital Camera C-3000). Фотографии были обработаны в программе обработки графики и изображений Corel PhotoPaint.

Определение подлинности и измельченности испытуемых образцов проводили по ОФС.1.5.3.0004.15 [94].

Влажность испытуемых образцов определяли по методике ОФС.1.5.3.0007.15 ГФ РФ XIII [93].

Отбор проб испытуемых образцов проводили по методике ОФС.1.1.0005.15 [97].

Ситовой анализ выполняли по ОФС.1.1.0015.15 ГФ РФ XIII [99].

Приготовление настоев и отваров проводили в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 [91].

Определение золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте проводили по ОФС.1.5.3.0005.15 [89].

Качество водных извлечений оценивали по содержанию сухого остатка в соответствии с требованиями ОФС 1.4.1.0018.15 ГФ РФ XIII [91].

Определение распадаемости гранул резано-прессованных проводили в соответствии с ОФС.1.4.1.0022.15 [88]. 10-12 гранул резано-прессованных

корней солодки помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл кипящей воды. Кипятили на слабом огне, периодически взбалтывая содержимое колбы. Определение проводили на трех навесках, каждая в трех повторностях. Время распадаемости отсчитывали с момента прибавления кипящей воды. За результат принимали среднее значение трех определений. Гранулы считали распавшимися, после превращения их в рыхлую, гомогенную массу.

Определение экстрактивных веществ проводили по методике ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье».

Определение содержания глицирризиновой кислоты (ГК) проводили по методике ГФ РФ XIV ФС 2.5.0040.15 [118] на спектрофотометре марки «Cary 300 UV-VS Spectrophotometer».

Определение содержания ГК проводили вновь разработанным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием [16, 19, 20]. Методика была разработана с учетом основных физико-химических свойств ГК и матрицы – лекарственного растительного сырья. Подбор оборудования, подвижной и неподвижной фаз осуществлялся в соответствии с критериями приемлемости и доступности для контрольно-аналитических лабораторий в РФ. Валидация методики проводилась в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 [87]

Для анализа использовалась система высокоэффективной жидкостной хроматографии Agilent 1200, оснащенной фотодиодноматричным детектором (Agilent Technologies, США). Неподвижная фаза – C18 как наиболее подходящая для анализа ГК, исходя из её физико-химических свойств; колонка Phenomenex Luna® C18(2) 250 x 4,6 мм, заполненная сорбентом с размером частиц 5 мкм с предколонкой C18, 4 × 3,0 мм. Состав подвижной фазы – 5 % водный раствор ортофосфорной кислоты: ацетонитрил – (60:40). Скорость потока 1,0 мл/мин, изократический режим элюирования. Температура колонки

30 °С. Объем вводимой пробы 10 мкл. Детектирование проводили при длине волны 254 нм. Время хроматографирования – 15 мин.

В качестве стандартного образца использовалась соль глицирризиновой кислоты – глицирризинат аммония кислоты (Ammonium Glycyrrhizate USP, Catalog # 1029929, Lot F0L228, США).

Реактивы для экспериментального исследования применяли с маркировкой чистоты «ХЧ», «ЧДА», «ОСЧ».

При измерении рН водных извлечений применяли рН-метр марки «EUTECH INSTRUMENTS рН 510 рН/mV/oC meter». Перед измерением рН-метр был откалиброван по стандартным буферным растворам марки «ТQC».

Для ТСХ использовали пластинки марки «Merck DC – Alufolien Kieselgur F-254». В качестве стандартных образцов (СО) применяли моноаммонийную соль глицирризиновой кислоты (моноаммония глицирризинат) и ликвиритин фирмы «Sigma Aldrich». Подвижная фаза: н-бутанол: ледяная уксусная кислота : вода в соотношении 7:1:2. Детектирование осуществляли с помощью ванилинового реактива [10] и последующего нагревания в сушильном шкафу при $t=105^{\circ}\text{C}$.

Реактивы для экспериментального исследования применяли с маркировкой чистоты «ХЧ», «ЧДА», «ОСЧ».

Отвар из измельченных корней солодки (КС) получали в соответствии с Инструкцией по применению, утвержденной МЗ РФ.

Водные извлечения (настои) из КП, ГРП и Композиции получали следующим образом: 1-2 фильтр-пакета в эмалированной посуде заливали 100-200 мл кипящей воды, настаивали 30 минут, фильтр-пакеты отжимали, доводили кипяченой водой до первоначального объема.

Качество водных извлечений оценивали по содержанию сухого остатка в соответствии с требованиями ОФС 1.4.1.0018.15 ГФ XIII [91].

Все определения проводили в шестикратной повторности. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась в соответствии с ОФС 1.1.0013.15 ГФ XIII [92].

Изучение принципов получения корней солодки на современном высокопроизводительном оборудовании (СВО), получения порошков, их прессования и смешивания проводили на АО «Красногорсклексредства». Конечный продукт в фильтр-пакетах получали на экспериментальном производстве ООО «МФАРМ».

Измельчение корней солодки для получения крупного порошка в процессе его наработки как компонента сборов в соответствии с промышленным регламентом производилось на дробильной машине резального типа марки «Rotorplex» (Германия), который применяется для получения крупного и средне-крупного порошков корней солодки. Разделение частиц осуществлялось на пневмосепараторе типа «Зиг-Заг» который используется для разделения широкого спектра материалов, в том числе и лекарственного растительного сырья. Фракционирование проводилось на автоматическом вибросите типа ST 2 VIBRO. Получение гранул производилось на грануляторе экструзионного типа - ZLSP с плоской матрицей (Россия) предназначенного для производства гранул из различных материалов органического происхождения. Рабочие матрица и ролик гранулятора выполнены из стали 40Cr высокой твердости; производительность от 40 до 1000 кг/час. С последующим измельчением спрессованных цилиндров на мельнице вальцового типа (Россия) для измельчения РПС и получения ГРП. Смешивание полученных ингредиентов производилось смеситель шнекового типа для смешивания КП и ГРП (Россия). Полученную смесь фасовали в фильтр пакеты из бумаги термосвариваемой пористой не размокаемой плотностью 23,0 г/м² на автоматизированной чаеразвесочной машине марки IMA C28 (Италия).

ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОПЕЙНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ.

Популярность растительных лекарственных средств в настоящее время растет [107]. Требуется новые способы переработки давно известных и применяемых в медицинской практике видов растительного сырья. К таким объектам относятся корни солодки, которые не производятся в достаточных объемах в фильтр-пакетах, считающихся весьма востребованной формой выпуска, ввиду удобства их применения. Однако основные характеристики порошков корней солодки (однородность размера частиц, насыпная плотность и др.), получаемых при их измельчении и просеве, обусловлены особенностями строения наружной и внутренней частей корня солодки. Наружная паренхимная часть корней солодки хрупкая, быстро разрушающаяся при измельчении, легко улетающая с потоком воздуха в пневмотранспорте, при этом, содержащая значительное количество ГК, по сравнению с внутренней частью прочных, волокнистых частей корня. Именно волокнистые части корней солодки препятствуют дозированию порошка в фильтр-пакеты на СВО. Для насыщения рынка данным видом ЛРС в дозированной форме - фильтр-пакетах, необходимо преодолеть отрицательное влияние гистологической структуры корней на процесс их дозирования.

Важно отметить, что при дозировании в домашних условиях при помощи столовой ложки измельченных корней солодки, расфасованных в пачки, находящихся в обращении, требуются дополнительные усилия, поскольку при транспортировании и хранении частицы различной структуры расслаиваются, мелкий порошок опускается на дно пачки, а волокнистые частицы превращаются в рыхлый комок. Естественно, что перед дозированием содержимое пачки необходимо перемешать до однородного состояния.

Дополнительное просеивание порошка солодки и освобождение от мелкой фракции также не приносит успеха, т.к. волокнистые корни, освобожденные от мелкой фракции порошка, становятся легкими и еще более

непригодными для дозирования в фильтр-пакеты. Кроме того, мелкая фракция необходима, как для сохранения количественного содержания ГК, так и для сохранения насыпной плотности.

Как показывает опыт, существенное негативное влияние гистологической структуры корней солодки удается преодолеть, используя гранулы резано-прессованные в смеси с крупным порошком для достижения оптимальных показателей сыпучести и насыпной плотности.

Поскольку эффективность и безопасность планируемых к производству РЛП обеспечивается качеством исходных субстанций [107], получаемых из ЛРС, процессу подготовки к компактированию должно уделяться самое пристальное внимание. Данная глава посвящена описанию последовательности обработки цельного неочищенного сырья корней солодки от изготовления субстанций растительного происхождения до лекарственного средства, дозированного в фильтр-пакеты.

Конечным продуктом, согласно современной терминологии [102], является растительный лекарственный препарат (РЛП), состоящий из смеси порошка солодки и гранул резано-прессованных, дозированный по 1,5 г в фильтр-пакеты. Ингредиенты смеси приготовлены с применением различных способов переработки.

Для изготовления ингредиентов нового препарата необходимо применить несколько способов переработки корней солодки: дробление сырья и получение порошков, изготовление гранул резано-прессованных, получение смеси (композиции) и фасовка смеси в фильтр-пакеты. Выраженная волокнистость корней солодки является главной их особенностью, не позволяющей дозировать порошок в фильтр-пакеты на современном высокопроизводительном оборудовании (СВО). Последовательность изготовления дозированного препарата предложена с учетом этой особенности корней солодки.

В качестве исходного сырья использовались корни солодки неочищенной (*Glycyrrhizae naturalis*).

Краткое описание характеристик продуктов переработки корней солодки приведены ниже.

3.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ПОРОШКОВ КОРНЕЙ СОЛОДКИ, КАК СУБСТАНЦИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА В ФИЛЬТР-ПАКЕТАХ.

Образцы крупного порошка (КП), получены на дробильной машине резального типа Rotoplex, которая относится к современному высокопроизводительному оборудованию (СВО). При измельчении сырья солодки, кроме крупного порошка, который является целевым продуктом измельчения, получали значительное количество промежуточного продукта - средне-крупного порошка (СКП), образованного в результате механического воздействия мощного оборудования на хрупкую наружную часть корней солодки. Этот порошок с концентрированным содержанием ГК практически не пригоден для фасовки и должен быть переведен в отходы. Поскольку утилизировать значительное количество ценного природного сырья экономически не выгодно, была предпринята попытка подвергнуть его дополнительной технологической обработке - увлажнению, прессованию и превращению в гранулы резано-прессованные.

Поскольку изучение получения порошков выполнялось в процессе производства промышленных серий корней солодки на АО «Красногорсклексредства», переработка велась в рамках параметров, установленных промышленным технологическим регламентом для изготовления КП, используемого как ингредиент сборов из ЛРС.

В данном процессе актуальной задачей было установление фактических мест накопления СКП, измельченности, количественного содержания ГК, а также содержание золы общей и золы, нерастворимой в 10% HCL.

СКП накапливался в бункере разделительного циклона, на фильтрах пневмотранспорта, также его получали в результате просева КП через сито 0,2 мм. СКП, собранный в разных точках линии переработки, смешивали.

Результаты исследований продуктов, полученных в ходе измельчения, представлены в таблице 3.1.1.

Таблица 3.1.1.

Измельченность КП и СКП и их назначение

№ пп	Крупный порошок		Средне крупный порошок	
	Частиц, не проходящих с/с 2,0 мм %	Частиц, проходящих с/с 0,18 мм %	Частиц, не проходящих с/с 0,31 мм %	Частиц, проходящих с/с 0,18 мм %
1.	5,0	5,0	10,0	90,0
2.	4,7	2,9	5,2	83,7
3.	0,8	4,5	7,3	79,9
4.	3,0	1,8	5,9	82,2
5.	4,8	2,3	9,4	84,3
	Предназначен для изготовления смеси для фасовки в фильтр-пакеты		Предназначен для изготовления ГРП	
	Контролируется по ФС.2.5.0040.15 ГФ XIII изд.		Контролируется по СТП (стандарту предприятия)	

Полученные результаты (таблица 3.1.1) показывают, что измельченность КП содержит крупных частиц, не проходящих с/с 2,0 мм от 0,8% до 5,0%; частиц, проходящих с/с 0,18мм, содержится от 1,8% до 5,0%. Данный продукт представлял собой стандартизованное измельченное растительное сырье [90], использовался как ингредиент для сборов, контролировался по ФС.2.5.0040.15 [118].

СКП состоял из 90% частиц, проходящих с/с 0,18 мм; частиц, не проходящих с/с 0,31 мм содержалось от 5,2 до 10%, они являются важным элементом, связующим пылевидные частицы при прессовании СКП и превращении его в ГРП, а также способствуют распадеемости гранул при заваривании. Учитывая то, что фракционный состав влияет на насыпную плотность и, как следствие, на сыпучесть продукта, было проведено исследование фракционного состава КП. Полученные результаты, представлены в таблице 3.1.2.

Таблица 3.1.2.

Фракционный состав крупного порошка

№пп	Размер частиц Фракции, мм	Содержание частиц фракции	
		г	%
1.	Более 2,0	2,03	4,06
2.	2,0-1,0	30,24	60,48
3.	1,0-0,5	6,07	12,14
4.	0,5-0,25	8,92	17,84
5.	0,25-0,18	2,43	4,86
6.	Менее 0,18	0,31	0,62

Таблица 3.1.2. показывает, что КП содержит частиц размером от 2,0 до 0,5 мм в сумме около 70%. Однородные крупные частицы составляют основную массу порошка для фасовки в ФП; частиц пылевидной фракции, проходящей сквозь сито 0,18 мм, менее 1%. Это очень важно поскольку, при попытке фасовки КП в фильтр-пакеты (ФП), завышенное содержание пылевидных частиц дает значительные отклонения в весе ФП, а также переходит в водное извлечение через поры ФП и нарушает его качество. Частиц размером от 0,5 до 0,25 мм около 18%. Именно эта фракция при фасовке в ФП приводит продукт к расслаиванию и комкованию, зависанию в бункере и объемном дозаторе фасовочного автомата, неравномерной подаче порошка и неоднородному дозированию. Низкие показатели сыпучести КП от 0,2 г/сек до 10 г/сек подтверждают это.

Насыпная плотность исследуемого КП варьировала от 0,22 до 0,25 г/мл (среднее значение 0,24 г/мл); показатель влажности варьировал от 6,02 до 7,27% (среднее значение 6,7%).

Исходя из фактических данных, крупный порошок имеющий низкую насыпную плотность, около 0,24 г/мл, обладает «неудовлетворительной степенью сыпучести», от 0,2 до 10 г/сек. При таких характеристиках наблюдается нестабильное заполнение ФП, а также зависание в загрузочном бункере дозирующего устройства, что требует дополнительного перемешивания и вибрационного воздействия при фасовке.

Таким образом, получены 2 вида порошков КП и СКП. Для этих порошков установлены основные физические характеристики. Для КП: фракционный состав, где содержание частиц размером от 2,0 до 1,0 мм должно быть около $60,0 \pm 5,0\%$; частиц размером от 1,0 до 0,5 мм должно быть около $12,0 \pm 5,0\%$; частиц размером от 0,5 до 0,25 мм должно быть около $21,0 \pm 5,0\%$; частиц размером от 0,25 мм до 0,18 мм около 5%. Насыпная плотность - 0,24 г/мл; *влажность* в пределах от 6,02% до 7,19%. И СКП, для которого установлен показатель содержания частиц, не проходящих с/с 0,3 мм около $10\% \pm 5,0\%$; частиц проходящих с/с 0,18 мм около $90\% \pm 5,0\%$; определение фракционного состава, аналогичного КП, не имеет практического значения для его прессования. Кроме исследования измельченности СКП, было установлено, что содержание золы, нерастворимой в 10% растворе HCL варьировало от 1,13 до 1,47%; содержание ГК достигало более 12% (метод СФМ), что соответствовало фармакопейным требованиям

Благодаря высокому содержанию ГК в СКП, имеется возможность расчетным методом регулировать содержание ГК в конечном продукте. Однако, без предварительного прессования, СКП невозможно применить в производстве.

Данные порошки были использованы для изготовления нового лекарственного средства: КП, как ингредиент смеси КП и ГРП; СКП - как промежуточный продукт и исходное сырье для получения гранул резано-прессованных.

3.2. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОПЕЙНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГРАНУЛ РЕЗАНО-ПРЕССОВАННЫХ ИЗ КОРНЕЙ СОЛОДКИ.

Гранулы резано-прессованные получали методом экструдирования или продавливания СКП через плоскую матрицу. В данном случае СКП солодки продавливали через стальную матрицу с цилиндрическими формующими отверстиями (фильерами - диаметр 5 мм, длина 10 мм). В работе по прессованию порошка солодки метод применялся впервые.

При прессовании СКП не использовались дополнительные вспомогательные вещества.

Перед прессованием, СКП перемешивался в течение 5 мин., затем непродолжительно увлажнялся около 3 мин. Увлажнение порошка происходило посредством пароконденсата под давлением около 4 атм. для обеспечения оптимального уплотнения и спрессовывания частиц. В процессе компактирования необходимо контролировать цвет на соответствие цвету предварительно заготовленного образца КП. Спрессованные кусочки должны быть прочными, но цвет их не должен быть слишком темным для сохранения органолептических признаков близких к КП [88].

После продавливания увлажненной массы через матрицу, получались цилиндрические кусочки диаметром 5 мм, длиной - до 10мм. Цвет спрессованных кусочков светло-коричневый или коричневый.

Спрессованные кусочки охлаждаются путем обдува воздухом до комнатной температуры.

После охлаждения, спрессованные цилиндры измельчались до размера частиц 2,0-0,2 мм., затем отсеивались частицы размером меньше 0,2 мм на соответствующих ситах.

Резано-спрессованные частицы по внешнему виду достаточно однородный продукт. Его фракционный состав показывает, что содержание частиц размером от 2,0 мм до 0,5мм (п.п. 2,3) в сумме составляет более 80%. Частиц размерами 0,5-0,25 мм около 16%. Мелкая фракция практически отсутствует и составляет менее 1%. Фактические данные о ГРП представлены в таблице 3.2.1

Сыпучесть ГРП существенно отличается от сыпучести КП и составляет около 40 г/сек.

Показатель насыпной плотности варьирует от 0,50 до 0,59 г/мл. Среднее значение 0,54 г/мл, что почти в 2 раза больше насыпной плотности КП.

Влажность ГРП варьирует от 5,77 до 8,94% и более неоднородна по сравнению с КП, влажность которого варьирует от 6,02 до 7,19%.

Таблица 3.2.1.

Основные числовые характеристики ГРП

№ пп	Фракционный состав		Насыпная плотность г/мл	Сыпучесть г/сек	Влажность %
	Размер частиц мм	Содержа- ние частиц %			
	1	2	3	4	5
1.	>2,0	0,9	0,54	40,0	5,76-9,48
2.	2,0-1,0	40,88			
3.	1,0-0,5	41,94			
4.	0,5-0,25	15,78			
5.	0,25-0,18	0,51			
6.	< 0,18	Нет			

Таким образом, можно сделать вывод о числовых и качественных характеристиках ГРП. Это прочные частицы разной формы от светло-коричневого до коричневого цвета, размерами 2,0-0,2мм, довольно однородные по размерам, с незначительным содержанием мелкой фракции. Более 80% частиц имеют размеры от 2,0 мм до 0,5 мм. Частиц размером менее 0,18 мм практически нет; частиц размером от 0,5 до 0,25 мм около 16%, в то время как в КП этих частиц больше 21%. Распадаемость ГРП не превышает 5 минут, что соответствует фармакопейным требованиям по ОФС.1.4.1.0022.15[88] «Гранулы резано-прессованные», результаты представлены в таблице 3.2.2.

Таблица 3.2.2.

Распадаемость гранул резано-прессованных

№ образца	Количество РП, (шт)	Время распадемости (мин)	№ образца	Количество ГРП	Время распадемости
1	12	4 мин.30сек.	6	10	4 мин. 47сек.
2	12	4 мин.10 сек.	7	12	4мин. 25 сек.
3	12	4 мин. 20 сек.	8	12	3мин. 39 сек.
4	10	4 мин. 00сек.	9	12	4мин. 13сек.
5	10	4 мин.45 сек.			
Мин. – 3 мин.39 сек., макс.- 4 мин.45 сек.					

Согласно данным, представленным в таблице 3.2.2, распадаемость варьировала в интервале от 3 мин. 39 сек. до 4 мин. 47 сек., среднее значение распадаемости - 4 мин.14 сек.

Продукт переработки сырья корней солодки - гранулы резано-прессованные (ГРП) имеет статус субстанции растительного происхождения [88, 90]. Для данной субстанции разработан проект ФС «Солодки корни. Гранулы резано-прессованные».

3.3. ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА И ПОЛУЧЕНИЕ КОМПОЗИЦИИ ИЗ ПОРОШКА И ГРАНУЛ РЕЗАНО-ПРЕССОВАННЫХ КОРНЕЙ СОЛОДКИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРОДУКТА В ФИЛЬТР-ПАКЕТАХ «ГРАНУСОЛ».

ГРП с высокой насыпной плотностью (0,54 г/мл) и высоким уровнем сыпучести смешивается с КП с низкой насыпной плотностью около 0,24 г/мл, неудовлетворительной сыпучестью и нестабильным заполнением ФП. Смесь КП и ГРП в соотношении 80:20 используется для фасовки в фильтр-пакеты, после предварительного перемешивания.

Выбор соотношения ингредиентов был продиктован несколькими причинами: сохранение качественного СКП с высоким содержанием БАС; поиск минимального содержания ГРП в смеси, во избежание увеличения себестоимости потребительских упаковок от применения дорогостоящей технологии прессования; разработка оптимального соотношения КП:ГРП для обеспечения стандартной фасовки на СВО.

Добавление ГРП к традиционным продуктам в АО «Красногорсклексредства» является рутинной задачей, на многих видах сырья экспериментально уже была доказана оптимальность соотношения ингредиентов 80:20. Некоторые виды такой продукции в настоящее время прошли государственную регистрацию и выведены на рынок. Поскольку первая часть работы выполнялась автором на базе данного предприятия с непосредственным участием в технологических разработках, связанных с фильтр-пакетной продукцией, установленное на предприятии соотношение (КП:ГРП 80:20) было взято в основу работ при изготовлении смеси (композиции), которое позволяло получать оптимальные, для фасовки в ФП, значения насыпной плотности около 0,31 г/мл и сыпучести около 15 г/сек.

Таким образом, экспериментально было подтверждено, что благодаря прибавлению 20% ГРП к КП (80%), показатели, имеющие непосредственное влияние на фасовку, были оптимизированы. Смесь становилась более однородной, вероятность ее расслаивания снижалась и увеличивалась равномерность дозирования при фасовке в ФП. Суммарное содержание частиц размером от 0,5 до 0,18 мм в смеси составляло около 20%, в то время как в КП - этот показатель составлял, примерно, 26% т.е. выше на 6%. Также, в смеси увеличивалось суммарное содержание крупных частиц размером от 2,0 мм до 0,5 мм и составляло около 80% по сравнению с крупным порошком. Этот же показатель в КП был ниже на 6,62% и составлял примерно 72%.

Ниже приведены таблицы сравнительных характеристик влажности и насыпной плотности для продуктов разных способов переработки (таблицы 3.3.1, 3.3.2.). Основными параметрами можно считать фракционный состав и насыпную плотность смеси, поскольку изменения во фракционном составе сразу же ведут к изменению насыпной плотности, а их совокупное изменение приводит к ухудшению показателя сыпучести и нестабильному дозированию.

Таблица 3.3.1.

Сравнительные показатели насыпной плотности продуктов разных способов переработки

№ пп	Насыпная плотность, г/мл		
	КП	ГРП	Смесь КП+ ГРП
	1.	2.	3.
1.	0,24	0,59	0,32
2.	0,25	0,52	0,30
3.	0,24	0,52	0,33
4.	0,22	0,55	0,29
5.	0,25	0,55	0,33
6.	0,23	0,50	0,34
7.	0,24	0,57	0,35
8.	0,23	0,51	0,26
9.	0,25	0,56	0,28
	Ср. значение	Ср. значение	Ср. значение
10.	0,24	0,54	0,31

Результаты, приведенные в таблице 3.3.1., показывают, что насыпная плотность продуктов переработки корней солодки существенно отличается: насыпная плотность КП (0,24 г/мл) в 2,25 раза меньше насыпной плотности ГРП (0,54 г/мл) и в 1,2 раза меньше насыпной плотности Смеси (0,31 г/мл).

Значения влажности также один из важных показателей качества. Данные, приведенные в таблице 3.3.2. показывают, что влажность для всех рассматриваемых нами продуктов переработки находилась в диапазоне от 6 до 10%. Это и есть оптимальные значения. Увеличение влажности ухудшает сыпучесть и дает нестабильный вес при фасовке в фильтр-пакеты.

Таблица 3.3.2.(1)

Сравнительные результаты влажности в продуктах разных способов переработки

Номер образца	КП	ГРП	Смесь
1	7,28	8,94	6,66
2	7,19	6,72	6,24
3	6,02	5,76	5,73
4	6,15	9,48	6,66

Таблица 3.3.2.(2)

Сравнительные результаты влажности в продуктах разных способов переработки

Номер образца	КП	ГРП	Смесь
5	6,57	7,27	6,24
6	6,43	5,77	5,73
Минимальное значение	6,02	5,76	5,73
Максимальное значение	7,28	9,48	6,66
Среднее значение	6,61	7,32	6,21

Процесс изготовления лекарственного препарата в фильтр-пакетах был выполнен экспериментально на чаеразвесочной машине марки IMA C28. Для фасовки была использована приготовленная нами смесь (композиция) в соотношении 80:20, состоящая соответственно из крупного порошка солодки и гранул резано-прессованных. Смесь расфасована по 1,5 г в одноразовые пакеты из бумаги термосвариваемой пористой не размокаемой плотностью 23,0 г/м² и предназначена для получения водного извлечения.

В процессе эксперимента наблюдалось достаточно стабильное заполнение ФП, получено 200 шт. ФП качественного конечного продукта. Данные, подтверждающие стабильность заполнения пакета помещены в таблице 3.4.1.

Таблица 3.4.1.

Результаты взвешивания лекарственного средства в фильтр-пакетах

Номер образца	Вес содержимого ФП г	Отклонения от установленного веса	
		г	%
1.	1,52	+0,02	1,3
2.	1,56	+0,06	4,0
3.	1,48	- 0,02	1,4
4.	1,57	+0,07	4,6
5.	1,57	+0,07	4,6
6.	1,56	+0,06	4,0
7.	1,49	- 0,01	0,7
8.	1,54	+0,04	2,6
9.	1,52	+0,02	1,3
10.	1,45	-0,05	3,4

На образцах, отобранных для взвешивания (табл.4.3.1.) видно, что преобладали ФП весом выше заданной нормы, их было более 60%. Вес варьировал от 0,02 г до 0,07 г (1,3 % - 4,6%). Вес ФП ниже принятой нормы варьировал от 0,01г до 0,05г (0,7 - 3,4%). В целом отклонения от заданной нормы варьировали в пределах от 0,7% до 4,6%.

Влажность продукта в процессе фасовки не превышала 10%.

Насыпная плотность смеси составляла 0,32 г/мл, сыпучесть продукта -15 г/сек.

Таким образом, практически установлено, что прибавление к 80% КП солодки 20% резано-прессованных корней, это тот минимум ГРП, который позволяет фасовать корни солодки в фильтр-пакеты.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3.

1. Установлена последовательность получения продуктов переработки корней солодки для изготовления дозированного растительного лекарственного препарата: получение стандартизованного крупного порошка солодки - среднекрупного порошка (СКП), как промежуточного продукта в результате измельчения цельного сырья; компактирование СКП и получение *субстанции растительного происхождения* (ГРП); смешивание двух растительных субстанций КП и ГРП и фасовка смеси в фильтр-пакеты.

2. Для каждого продукта переработки корней солодки (КП, ГРП, Смесь) – установлены основные числовые параметры (фракционный состав, насыпная плотность, влажность). *Крупный порошок* содержит частиц размером: 0,5-0,25 мм около 18%; 2,0-0,5 мм около 70%, менее 0,18 мм не более 1%; *гранулы резано-прессованные* содержат частиц размером: 2,0- 0,5мм около 84%, 0,5- 0,25 мм около 16%, менее 0,18 мм не более 1%; *Смесь КП и ГРП* содержит частиц размером: 2,0 - 0,5 мм около 80%, 0,5 - 0,25 мм около 17%. *Насыпная плотность*: КП - 0,24 г/мл, ГРП – 0,54г/мл, смесь – 0,31г/мл. *Влажность* 6-9%. *Распадаемость гранул* - 4 мин.14 сек.

3. Растительная субстанция в виде гранул резано-прессованных характеризующаяся насыпной плотностью (0,54 г/мл), что более чем в 2 раза выше насыпной плотности КП (0,24 г/мл), при смешивании с КП позволяет изменить ключевую проблему свойственную для солодки – низкую сыпучесть, обусловленную гистологическими особенностями корней солодки.

4. Изготовление субстанции ГРП позволяет рационально использовать СКП солодки с высоким содержанием ГК, который при измельчении сырья солодки на СВО образуется в значительном количестве, как промежуточный продукт, и может быть отнесен к потерям в процессе измельчения. Анализ ГРП показал, что СКП, из которого изготовлена субстанция, не является технологическим отходом, поскольку хрупкие парехимные ткани, в основном

составляющие его, содержат ГК равное по количеству ГК в КС, а содержание минеральных примесей и золы нерастворимой не выше нормы, установленной ГФ РФ XIV для КС.

5. Числовые характеристики смеси, состоящей из 80% стандартизованного порошка солодки и 20% ГРП, показывают, что соотношение ингредиентов КП и ГРП является оптимальным, так как продукт имеет насыпную плотность среднюю между КП и ГРП (0,31г/мл) и обладает сыпучестью, позволяющей расфасовать в фильтр-пакеты данный продукт на СВО.

6. Получено дозированное растительное лекарственное средство из смеси крупного порошка корней солодки и гранул резано-прессованных в соотношении 80:20. Предлагаемое торговое название «Гранусол». Масса фасовки 1,5 г.

7. Изучение показателя распадаемости гранул показывает, что среднее значение не превышает требований ОФС.1.4.1.0022.15 и составляет 4 мин.14 сек.

ГЛАВА 4. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПОДЛИННОСТИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ СОЛОДКИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ.

В качестве источника сырья солодки использованы собранные в разное время года корни и подземные побеги солодки голой (*Glycyrrhiza glabra L.*) и солодки уральской (*G. uralensis Fisch.*).

В производстве применяют два вида сырья: неочищенные корни солодки (*Radices Glycyrrhizae naturalis*) и корни, очищенные от пробки (*Radices Glycyrrhizae mundata*). Качество сырья регламентируется ГФ РФ XIV изд., ФС.2.5.0040.15 Солодки корни [118].

Подлинность сырья определяли по внешним и микроскопическим признакам, а также ТСХ с использованием СО глицирризиновой кислоты и кверцетина [13, 118].

4.1. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВНЕШНИХ ПРИЗНАКОВ СЫРЬЯ СОЛОДКИ И ПРОДУКТОВ ЕЕ ПЕРЕРАБОТКИ

Цельное сырье. Куски корней и подземных побегов цилиндрической формы различной длины, толщиной от 0,5 до 5 см и более. Встречаются куски корней, переходящие в сильно разросшееся корневище до 15 см толщиной. Поверхность неочищенных корней и побегов продольно-морщинистая, покрытая серовато-коричневой или коричневой пробкой; излом светло-желтый, зернисто-волокнистый. Строение корней и побегов беспучковое.

На поперечном разрезе видны многочисленные широкие сердцевинные лучи, придающие корням ясно лучистое строение, в ксилеме широкие просветы сосудов. Вдоль сердцевинных лучей часто образуются радиальные трещины. У побегов имеется небольшая сердцевина, у корней сердцевины нет.



Рисунок - 4.1.1. Цельное сырье солодки

Измельченное сырье. Кусочки сырья различной формы, как правило, волокнистые, желтого цвета или с остатками пробки, реже отдельные кусочки пробки серовато-коричневого или коричневого цвета, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Запах отсутствует. Вкус водного извлечения сладкий, приторный, слегка раздражающий (глицирризиновая кислота).



Рисунок - 4.1.2. Измельченное сырье

Крупный порошок. Кусочки сырья различной формы, как правило, волокнистые желтого цвета или с остатками пробки серовато-коричневого или коричневого цвета, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм.

Запах отсутствует. Вкус водного извлечения сладкий, приторный, слегка раздражающий (глицирризиновая кислота).



Рисунок - 4.1.3. Крупный порошок

Гранулы резано-прессованные. Неоднородная смесь волокнистых кусочков и комочков от бежевато-коричневого до темно-коричневого цвета, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Запах слабый. Вкус приторно-сладкий.

При наблюдении *в стереомикроскоп* видны: волокнистые кусочки древесинной и коровой части корня желтоватого или серо-желтого цвета; изодиаметричные, рыхлой мелкозернистой структуры кусочки паренхимной ткани светло-желтого или янтарного цвета; слоистые кусочки пробки изодиаметричной и плоской формы (иногда желобовато или трубчато свернутые) темно-коричневого цвета. Крупинки ГРП изодиаметричной формы серо-коричневого, иногда темно-коричневого цвета с выступающими на поверхности желтоватыми волокнами.



Рисунок - 4.1.4. Гранулы резано-прессованные

Композиция КП:ГРП (80:20). Как видно на рисунке 4.1.5, композиция близка по внешнему виду к традиционному крупному порошку и представляет собой кусочки сырья различной формы, светло-желтого и желтого цвета, среди которых в большом количестве присутствуют обрывки групп волокон, а также частицы от бежевато-коричневого до темно-коричневого цвета.



Рисунок - 4.1.5. Композиция (КП:ГРП (80:20))

4.2. ИЗУЧЕНИЕ МИКРОСКОПИИ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ

При изучении крупного порошка на микрофотографиях в поле зрения видны фрагменты пробки с многоугольными прямостенными клетками, стенки которых часто окрашены в темно-коричневый цвет. Фрагменты паренхимы с друзами оксалата кальция, а также многочисленные сосуды ксилемы с пористым и смешанным типом вторичного утолщения стенок.

Такие признаки характерны и для гранул резанно-пресованных, отличие состоит лишь в том, что анатомической картине ГРП присущи все диагностические признаки крупного порошка, но группы механических волокон значительно меньше по размеру, что вполне согласуется с внешними признаками этого вида сырья. Кроме того, при исследовании ГРП в поле зрения встречаются недиагностируемые растительные частицы и посторонние примесные частицы. В микроскопической картине композиции сочетаются указанные выше признаки, крупного порошка и гранул резанно-пресованных.

Основные анатомо-диагностические признаки корней солодки и продуктов их переработки представлены на рисунке 4.2.1. – 4.2.6.

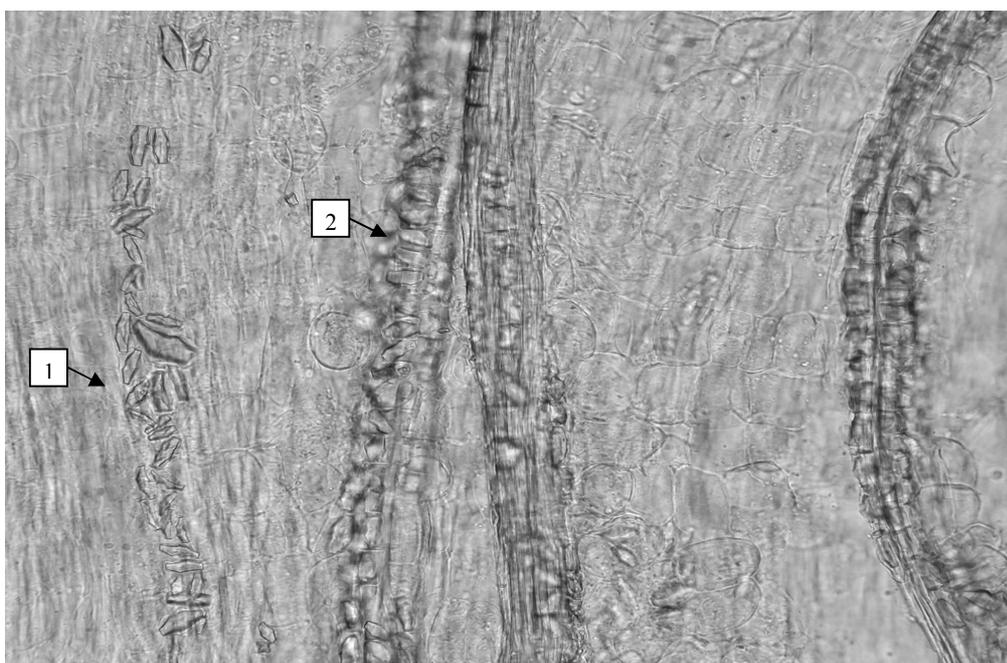


Рисунок - 4.2.1. Цельное сырье, давленный микропрепарат, увел. x200

1. Группа призматических кристаллов оксалата кальция
2. Волокна с кристаллоносной обкладкой в паренхиме коры

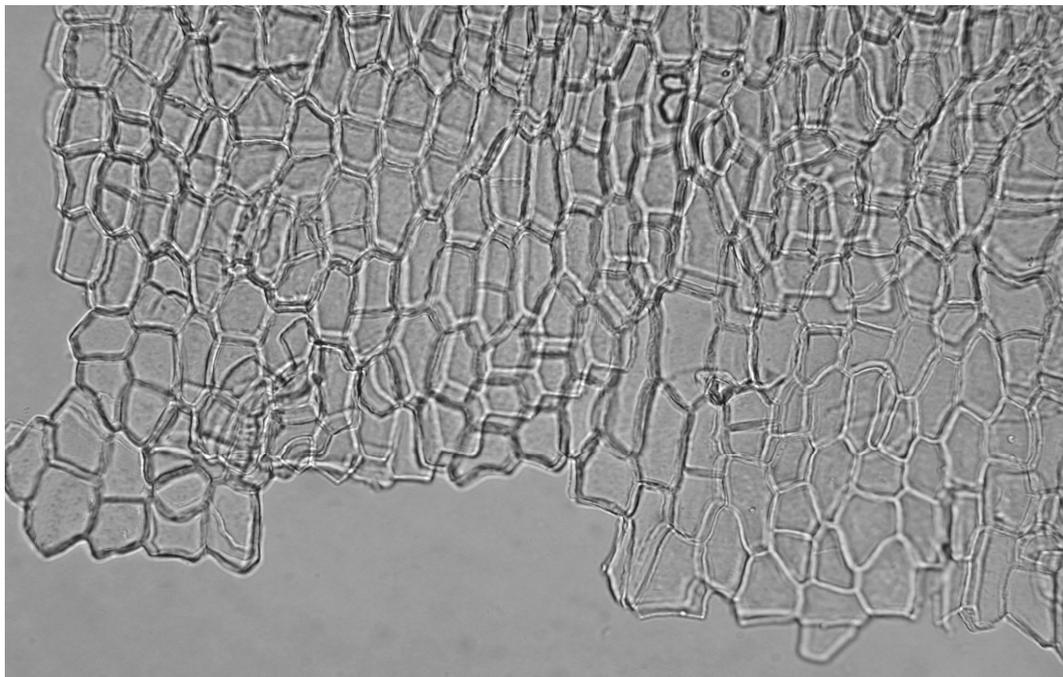


Рисунок - 4.2.2. Цельное сырье, давленный микропрепарат, увел. x200

1.Фрагмент пробки

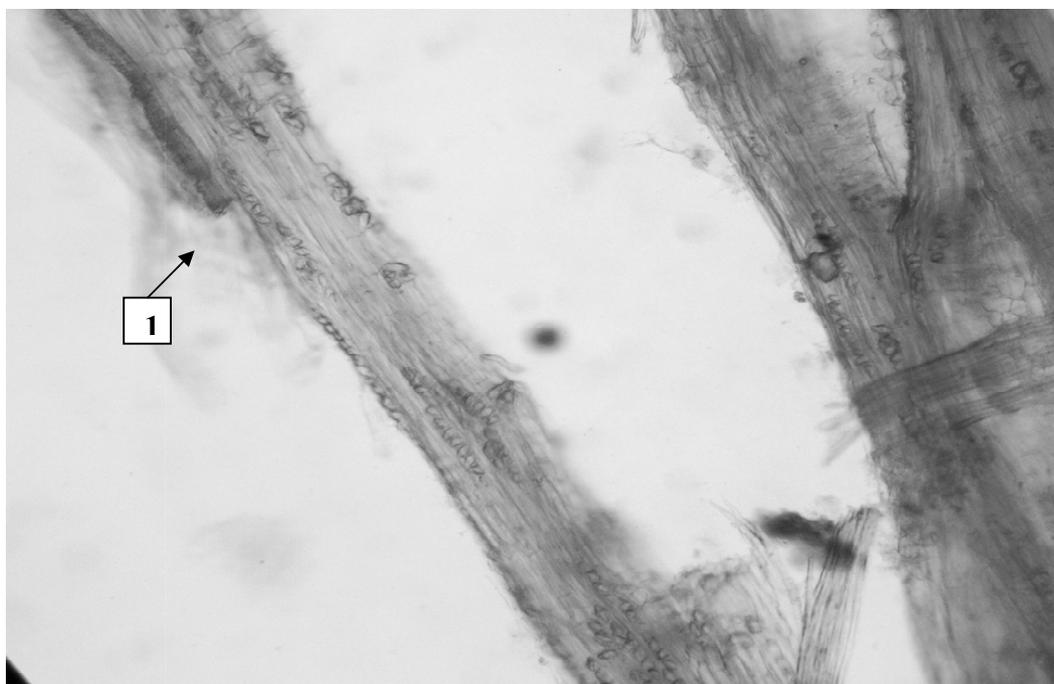


Рисунок - 4.2.3. Крупный порошок, давленный микропрепарат, увел x90.

1. Группа механических волокон с кристаллоносной обкладкой

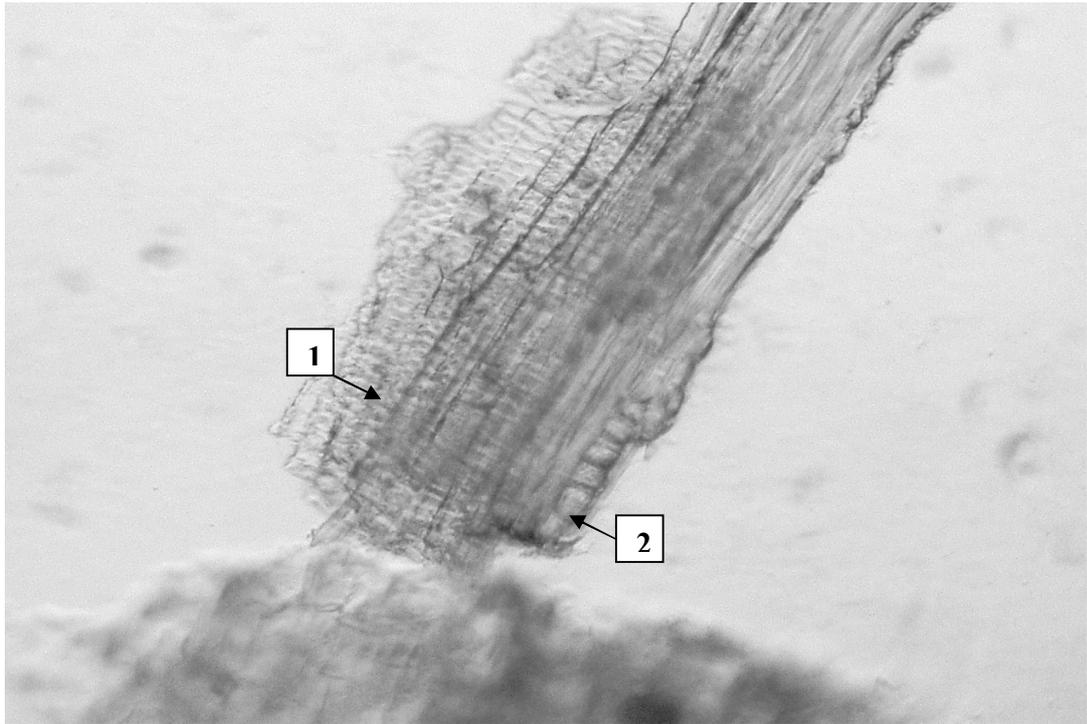


Рисунок - 4.2.4. ГРП солодки, давленный микропрепарат, увел x400.
1. Фрагмент проводящего сосуда. 2. Фрагмент кристаллоносной обкладки

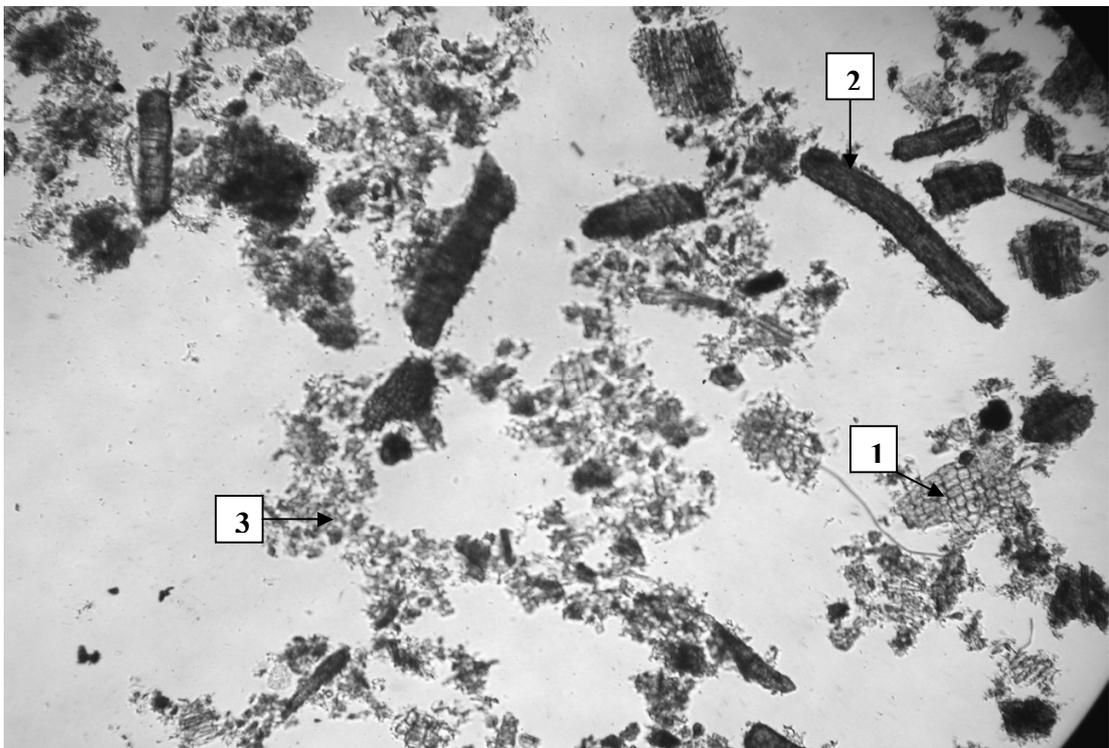


Рисунок - 4.2.5. Композиция, давленный микропрепарат, увел. x40.
1. Фрагмент пробки 2. Обрывки механических волокон
3. Группа недиагностируемых тканей

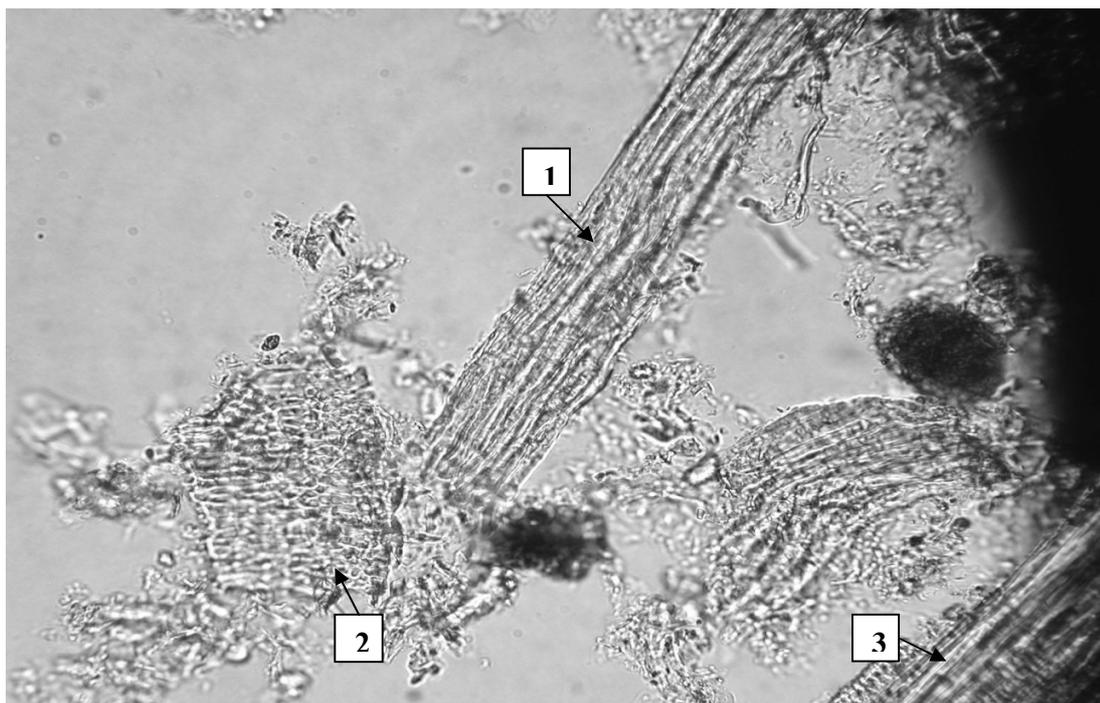


Рисунок - 4.2.6 Композиция, давленный микропрепарат, увел. x200.
1. Группа механических волокон. 2. Обрывки пористых сосудов ксилемы.
3. Группа сосудов ксилемы.

4.3. АНАЛИЗ КАЧЕСТВЕННОГО ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.

Качественный анализ корней солодки проводили по методике Европейской фармакопеи статья 07/2006:0277 «Корни солодки» [160].

Приготовление исследуемого раствора. Около 0,50 г (точная навеска) порошка корней солодки (0,25 мм) помещали в круглодонную колбу объемом 50 мл добавляли 16,0 мл воды очищенной и 4,0 мл 25% соляной кислоты, нагревали на водной ванне с обратным холодильником 30 мин. Охлаждали и фильтровали. Фильтр высушивали при 105 °С 60 мин. в сухожаровом шкафу. Помещали фильтр в круглодонную колбу, прибавляли 20,0 мл эфира и нагревали на водяной бане при 40 °С с обратным холодильником 5 мин. Охлаждали и фильтровали. Выпаривали фильтрат досуха. Растворяли остаток в 5,0 мл эфира.

В качестве эталонных растворов растворяли 5,0 мг глицирризиновой кислоты и 5,0 мг тимола в 5,0 мл эфира.

Наносили на пластинку (Merck DC – Alufolien Kieselgur F-254) по 10 мкл каждого раствора. Приготовление системы. Раствор аммиак, вода, этанол (96%), этилацетат в соотношении 1:9:25:65. Пластины обрабатывают анисовым альдегидом нагревают при 100-105 °С в течение 5-10 мин. Хроматограмма представлена на рис. 4.3.1

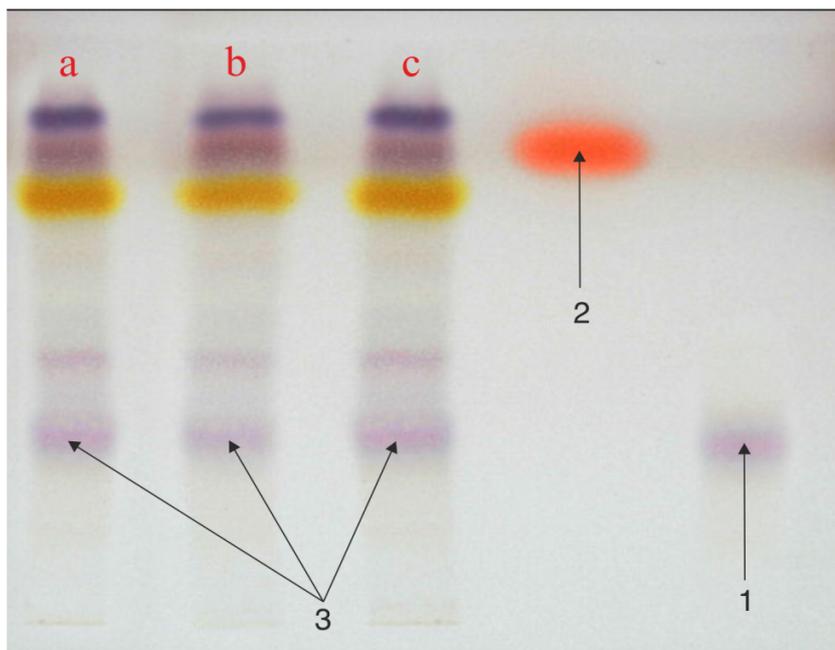


Рисунок-4.3.1. ТСХ – хроматограмма

1. Стандартный раствор ГК, 2. Метчик тимол, 3. Зоны адсорбции ГК испытуемого раствора. В качестве объектов сравнения использовали а - КС (фасованные в пакки), б - ГРП и с - Композиция.

В результате исследования при данных условиях хроматографирования, на хроматограмме четко видны не менее 6 зон адсорбции от темно-розового до фиолетового цвета. Следы глицирризиновой кислоты в нижней части хроматограммы $R_f = 0,36$ (3), стандартный раствор глицирризиновой кислоты $R_f = 0,37$ (1). Метчик – тимол $R_f=0,92$ (2). При указанных условиях хроматографирования данная методика ТСХ четко воспроизводима и позволяет получить стабильные результаты.

В данном разделе для корней солодки разных способов переработки, а именно, КП, ГРП и смеси предусмотрено определение фармакопейных показателей качества.

4.4. АНАЛИЗ ИЗМЕЛЬЧЕННОСТИ СЫРЬЯ КОРНЕЙ СОЛОДКИ, СУБСТАНЦИИ И СМЕСИ (КОМПОЗИЦИИ) ИЗ НЕГО.

Таблица 4.4.1.

Измельченность крупного порошка

№ пп	Крупный порошок	
	Частиц, не проходящих с/с 2,0 мм %	Частиц, проходящих с/с 0,18 мм %
1.	5,0	5,0
2.	4,7	2,9
3.	0,8	4,5
4.	3,0	1,8
5.	4,8	2,3
	Мин.0,8 Макс.5,0	Мин.1,8 Макс.5,0

Таблица 4.4.2.

Фракционный состав крупного порошка (КП) солодки

№пп	Размер частиц фракции, мм	Содержание частиц фракции	
		г	%
1.	Более 2,0	2,03	4,06
2.	2,0-1,0	30,24	60,48
3.	1,0-0,5	6,07	12,14
4.	0,5-0,25	8,92	17,84
5.	0,25-0,18	2,43	4,86
6.	Менее 0,18	0,31	0,62

Полученные результаты об измельченности и фракционном составе КП, приведенные в таблице 4.4.1 - 4.4.2 позволяют установить нормы измельченности для данного продукта. Частицы, не проходящие с/с 2,0 мм варьировали в пределах 0,8% - 4,06 (5,0)%; частицы, размером менее 0,18 мм составляли менее 0,62-1,8%. Данные об измельченности КП показывают, что продукт можно контролировать по нормам, установленным ФС.2.5.0040.15.

Таблица 4.4.3.

Результаты определения измельченности гранул резано-прессованных

№ пп	ГРП	
	Частиц, не проходящих с/с 2,0 мм %	Частиц, проходящих с/с 0,18 мм %
1.	0,90	0,03
2.	0,65	0,21
3.	0,87	0,44
4.	0,74	0,30
5.	0,74	0,26
	Мин.0,65 Макс.0,90	Мин.0,21 Макс.0,44

Таблица 4.4.4.

Результаты определения фракционного состава ГРП солодки

№пп	Размер частиц фракции мм	Масса, г	Содержание частиц, %
1.	более 2,0	0,45	0,90
2.	2,0-1,0	20,44	40,88
3.	1,0-0,5	20,97	41,94
4.	0,5-0,25	7,89	15,78
5.	0,25-0,18	0,25	0,51
	Менее 0,18	нет	Нет

В таблицах 4.4.3-4.4.4 приведены данные об измельченности и фракционном составе ГРП. Указаны минимальные и максимальные значения, которые могут быть учтены при установлении нормы для данного вида продукта. Содержание частиц, не проходящих с/с 2,0 мм варьировало от 0,65 до 0,90%; частиц, проходящих с/с 0,18 мм содержалось от 0,0 до 0,21%.

Таблица 4.4.5.

Результаты определения измельченности композиции (КП:ГРП (80:20))

№ пп	Смесь КП и ГРП	
	Частиц, не проходящих с/с 2,0 мм %	Частиц, проходящих с/с 0,18 мм %
1.	1,72	0,34
2.	1,76	0,28
3.	2,37	0,47
4.	2,00	0,93
5.	1,45	0,70
	Мин.1,45 Макс.2,37	Мин.0,28 Макс.0,93

Согласно таблицам 4.4.5-4.4.6. можно сделать выводы об измельченности смеси (композиции): частицы, не проходящие с/с 2 мм присутствовали в смеси в пределах 1,45 – 2,5%; частицы, проходящие с/с 0,18 мм варьировали в диапазоне 0,28- 0,93%.

Таблица 4.4.6.

Результаты определения фракционного состава композиции (КП:ГРП (80:20))

№пп	Размер частиц фракции мм	Масса, г	Содержание частиц %
1.	Более 2,0	1,25	2,5
2.	2,0-1,0	33,00	66,0
3.	1,0-0,5	6,79	13,58
4.	0,5-0,25	7,37	14,74
5.	0,25-0,18	1,43	2,86
6.	Менее 0,18	0,29	0,58

4.5. ВЛАЖНОСТЬ КОРНЕЙ СОЛОДКИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ.

Таблица 4.5.1.

Результаты исследования *влажности*
в корнях солодки разных способов переработки

№пп	Наименование продукции	Код образца	1 повторность %	2 повторность %
1.	КП корней солодки	211106	7,28	7,19
2.	КП корней солодки	40207	6,43	6,57
3.	КП корней солодки	50307	6,15	6,02
			Мин 6,02 Макс 7,19 Среднее значение 6,65	
4.	ГРП корней солодки	251106	8,94	9,48
5.	ГРП корней солодки	261106	6,72	7,27
6.	ГРП корней солодки	281206	5,76	5,77
			Мин 5,76 Макс 9,48 Среднее значение 7,32	
7.	Композиция <i>КП:ГРП</i> (80:20)	10307	6,66	7,07
8.	Композиция <i>КП:ГРП</i> (80:20)	20307	6,24	5,96
9.	Композиция <i>КП:ГРП</i> (80:20)	30307	5,73	5,78
			Мин 5,73 Макс 7,07 Среднее значение 6,24%	

Согласно таблице 4.5.1. влажность в КП, ГРП и Композиции корней солодки варьировала соответственно: от 6,02 до 7,19 %, среднее значение 6,6%; от 5,76 до 9,48%, среднее значение - 7,32%; от 5,73 до 7,07, среднее значение - 6,24%

4.6 ЗОЛА ОБЩАЯ И ЗОЛА НЕРАСТВОРИМАЯ В 10% ХЛОРИСТОВОДОРОДНОЙ КИСЛОТЕ.

Таблица 4.6.1.

Исследование содержания золы в крупном порошке

Код образца	Зола общая	Зола, не растворимая в 10% HCl
211106	6,45±0,15	0,75±0,05
40207	5,15±0,05	0,25±0,03
50307	4,92±0,12	0,10±0,01

Содержание золы общей в КП (таблица 4.6.1.) изменялось от 4,92 до 6,45%; золы, не растворимой в 10% HCl, составляло от 0,10 до 0,75%.

Содержание золы общей в ГРП (таблица 4.6.2.) изменялось от 6,45 до 8,75%; золы, не растворимой в 10% HCl, составляло от 0,72 до 1,47 %.

Содержание золы общей в смеси изменялось от 5,93 до 6,37%; золы, не растворимой в 10% HCl, составляло от 0,47 до 0,82 %.

Таблица 4.6.2.

Исследование содержания золы в ГРП

Код образца	Зола общая	Зола не растворимая в 10% HCl
251106	8,75±0,08	1,47±0,18
261106	7,21±0,11	1,13±0,17
281206	6,45±0,13	0,72±0,09

Таблица 4.6.3.

Исследование содержания золы в композиции (КП:ГРП (80:20))

Код образца	Зола общая	Зола не растворимая в 10% HCl
10307	6,37±0,04	0,82±0,07
20307	6,04±0,14	0,47±0,12
30307	5,93±0,14	0,54±0,05

Из полученных данных видно, что показатели золы в ГРП завышены, но в составе композиции эти показатели изменяются и приближаются к значениям, характерным для измельченных корней солодки. Завышенное содержание золы обусловлено отчасти значительным содержанием волокон с кристаллоносной обкладкой, что подтверждается микрофотографиями.

4.7. СРАВНИТЕЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В СЫРЬЕ И ПРОДУКТАХ ПЕРЕРАБОТКИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ.

Извлечение экстрактивных веществ выполняли с применением воды.

Содержание экстрактивных веществ в измельченных корнях солодки (таблица 4.7.1 пп.1-3) и в композиции (таблица 4.7.1 пп.7-9) варьирует незначительно и, примерно, в одинаковых пределах: КС - от 44,1 до 45,3%; смесь (композиция) – от 46,7 до 47,7%. В то время как ГРП (таблица 4.7.1. пп.4-6) изменяются от 51,6 до 60,0%. Как видно, смешивание КП и ГРП, приводит к увеличению значений и приближению их к значениям характеризующим КС.

Таблица 4.7.1.

Содержание экстрактивных веществ

№пп	Наименование продукта	Код образца	Экстрактивные вещества %
1.	КП корней солодки	211106	44,7±1,4
2.	КП корней солодки	40207	45,3±3,6
3.	КП корней солодки	50307	44,1±0,8
4.	ГРП корней солодки	251106	57,4±0,3
5.	ГРП корней солодки	261106	60,0±0,2
6.	ГРП корней солодки	281206	51,6±1,0
7.	Смесь КП и ГРП	10307	46,7±0,2
8.	Смесь КП и ГРП	20307	47,7±1,5
9.	Смесь КП и ГРП	30307	46,9±1,3

4.8. ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ СФМ.

Предварительная оценка качественного химического состава исследуемых образцов корней солодки различных способов переработки методом ТСХ, показала их идентичность.

Определение содержания глицирризиновой кислоты.

1. Определение содержания глицирризиновой кислоты в КС (измельченное сырье, фасованное в пачки). Влажность 7,68%.

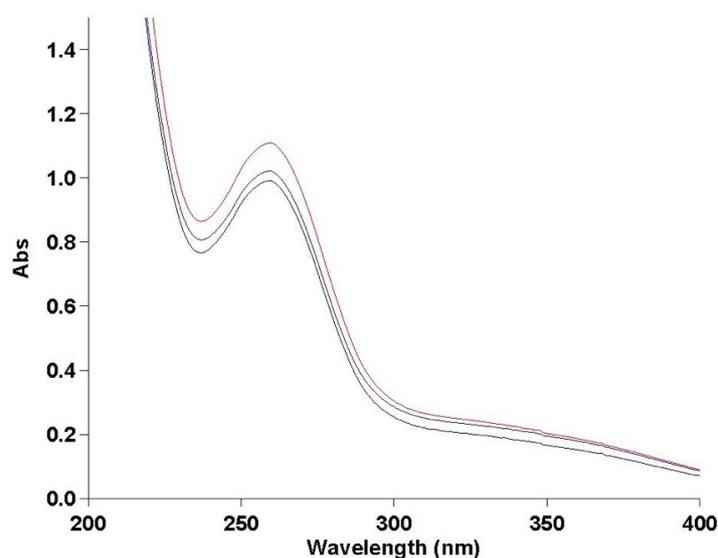


Рисунок - 4.8.1. - Спектр поглощения раствора из трех проб КС

Таблица 4.8.1.

Содержание глицирризиновой кислоты в КС

№ пробы	Навеска сырья, г	Содержание ГК, %
1	2	3
1.	2,0000	15,43
2.	2,0000	15,91
3.	2,0002	17,26
4.	2,0062	14,22
5.	2,0002	15,40
6.	2,0002	15,54
		Мин 14,22 Макс 17,26

Содержание ГК в КС (таблица 4.8.1.) варьировало в диапазоне 14,22 - 17,26%; среднее значение 15,62%.

Таблица 4.8.2.

Метрологическая характеристика метода

№ п/п	x%	\bar{x}	Δx	P%	t(P;f)	E %
	1	2	3	4	5	6
1.	15,43	15,63	1,03	95	2,57	6,59
2.	15,90					
3.	17,26					
4.	14,22					
5.	15,40					
6.	15,54					

2. Аналогично определяли содержание глицирризиновой кислоты в лабораторно-промышленных образцах КП, ГРП и Композиции корней солодки. Влажность соответственно 7,19 %, 9,48%, 7,07%.

Таблица 4.8.3.

Содержание глицирризиновой кислоты в КП корней солодки

Номер пробы	Навеска сырья, г	Содержание глицирризиновой кислоты, %
1.	1,0004	6,51
2.	1,0003	7,72
3.	1,0000	6,31
4.	1,0005	7,31
5.	1,0003	7,66
6.	1,0008	7,03
		Мин 6,31 Макс 7,66 Среднее значение - 7,09

Содержание ГК методом СФМ (таблица 4.8.3.) изменялось в диапазоне 6,31-7,66%; Среднее значение - 7,08%.

Таблица 4.8.4.

Метрологическая характеристика метода

№ п/п	x%	\bar{x}	Δx	P%	t(P;f)	E %
	1	2	3	4	5	6
1.	6,52	7,09	0,6155	95	2,57	8,69
2.	7,71					
3.	6,32					
4.	7,31					
5.	7,66					
6.	7,03					

Таблица 4.8.5.

Содержание глицирризиновой кислоты в ГРП солодки

Номер п/п	Навеска сырья, г	Содержание ГК, %
1.	1,0003	15,78
2.	1,0010	15,12
3.	1,0010	16,05
4.	1,0003	15,61
5.	1,0010	15,52
6.	1,0010	15,83

Содержание ГК в ГРП методом СФМ (таблица 4.8.5.) изменялось в диапазоне 15,12-16,05 %; Средне значение - 15,65%.

Таблица 4.8.6.

Метрологическая характеристика метода

№ п/п	X %	\bar{x}	Δx	P%	t(P;f)	E %
	1	2	3	4	5	6
1.	15,78	15,65	0,33	95	2,57	2,14
2.	15,12					
3.	16,05					
4.	15,61					
5.	15,52					
6.	15,83					

Таблица 4.8.7.

Содержание глицирризиновой кислоты в Композиции (КП:ГРП (80:20))

Номер п/п	Навеска сырья, г	Содержание глицирризиновой кислоты, %
1.	1,0006	11,23
2.	1,0006	11,98
3.	1,0004	10,21
4.	1,0008	12,07
5.	1,0006	11,76
6.	1,0005	11,32
		Мин 10,21 Макс 12,07 Среднее значение 11,43

Содержание ГК в Композиции (табл.4.8.7.) методом СФМ варьировало в пределах от 10,21% до 12,07%.

Таблица 4.8.8.

Метрологическая характеристика метода

№ п/п	x%	\bar{x}	Δx	P%	t(P;f)	E %
	1	2	3	4	5	6
1.	11,23	11,43	0,7210	95	2,57	6,31
2.	11,98					
3.	10,21					
4.	12,07					
5.	11,76					
6.	11,32					

Таблица 4.8.9.

Сравнительные значения содержания ГК

методом СФМ в корнях солодки различных способов переработки

Наименование продукта	Содержание ГК		
	%		
	Минимальное значение	Максимальное значение	Среднее значение
КС	14,22	17,26	15,63
КП	6,31	7,66	7,08
ГРП	15,12	16,05	15,65
Композиция	10,21	12,07	11,43

Результаты определения содержания ГК (Таблица 4.8.9.) свидетельствуют о том, что наибольшее ее количество обнаружено в образцах КС (17,26%) и ГРП (16,05%). Содержание ГК в Композиции (12,07%) приближается к среднему значению содержания ГК (15,63%) в КС. Наиболее низкое содержание ГК обнаружено в КП - 7,66%.

Эти результаты вполне согласуются с технологическими особенностями производства КП и ГРП, а именно в производстве ГРП используется фракция измельченного сырья с размером частиц 0,31-0,18 мм, в которую попадают наиболее хрупкие части корней, как правило, более богатые БАС, в том числе и ГК. Композиция – КП:ГРП в соотношении 80:20 отвечает всем

технологическим характеристикам, необходимым для производства фильтр-пакетов и содержит достаточно высокое количество ГК – среднее значение 11,43%.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4.

1. Определены и описаны внешние и микроскопические признаки КС, КП, ГРП и Композиции из КП и ГРП.

2. Методом ТСХ подтверждена идентичность химического состава исследуемых образцов корней солодки, различных способов переработки.

3. Проведено сравнительное определение (метод СФМ) содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки различных способов переработки. Установлена равноценность по содержанию ГК измельченных корней солодки и композиции, что позволяет использовать композицию для фасовки в фильтр-пакеты.

4. Обобщены числовые значения измельченности, влажности, золы общей и золы, не растворимой в HCL, ГК методом СФМ для каждого конечного продукта, полученного в процессе переработки.

Для *КП*: диапазон варьирования частиц, не проходящих с/с 2,0 мм от 0,8% до 4,06 %; частиц, размером менее 0,18 мм от 0,62% до 1,8%. Содержание золы общей от 4,92% до 6,45%; золы, не растворимой в 10% HCl от 0,1% до 0,75%. Содержание ГК (СФМ) варьировало от 6,31% до 7,66%; Среднее значение- 7,09%.

Для *ГРП*: диапазон варьирования частиц, не проходящих с/с 2,0 мм от 0,65% до 0,90%; частиц, размером менее 0,18 мм от 0,0% до 0,21%. Содержание золы общей от 6,45% до 8,75%; золы, не растворимой в 10% HCl, составляло от 0,72% до 1,47 %. Содержание ГК методом СФМ варьировало от 15,12% до 16,05%; Среднее значение - 15,65%.

Для *Композиции*: диапазон варьирования частиц, не проходящих с/с 2 мм от 1,45% до 2,5%; частиц, размером менее 0,18 мм от 0,28% до 0,93%.

Содержание золы общей в смеси изменялось от 5,93% до 6,37%; золы, не растворимой в 10% HCl, составляло от 0,47 до 0,82 %. Содержание ГК методом СФМ варьировало от 10,21% до 12,07%. Среднее значение - 11,43%.

5. Влажность в КП, ГРП и Композиции корней солодки варьировала соответственно: от 6,02% до 7,19 %, (*среднее 6,6%*); от 5,76 до 9,48%, (*среднее 7,32%*), от 5,73% до 7,07% (*среднее 6,24%*).

6. Содержание экстрактивных веществ в измельченных корнях солодки и в композиции варьирует незначительно и, примерно, в одинаковых пределах: КС - от 44,1% до 45,3%; смесь (композиция) – от 46,7% до 47,7%. В то время как ГРП изменяется от 51,6% до 60,0%. Как видно, смешивание КП и ГРП, приводит к выравниванию значений и приближению их к значениям для КС.

7. Высокое содержание глицирризиновой кислоты в ГРП, а значит, и в исходном продукте – СКП, подтверждает полезность использования хрупких мелких частей корней солодки, позволяющих восполнить содержание ГК в смеси и получить продукт идентичный КС, а также сохранить ценный продукт СКП и не утилизировать его.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ В СЫРЬЕ СОЛОДКИ МЕТОДОМ ВЭЖХ, ПРЕПАРАТАХ И ЕЕ ВАЛИДАЦИЯ.

Применение методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для анализа лекарственного растительного сырья расширяет возможности точного определения БАС в препаратах растительного происхождения [187].

Исходное сырье солодки и препараты на ее основе, издавна применяемые и не менее популярные в настоящее время, имеют богатый химический состав, в числе которого глицирризиновая кислота (ГК), один из главных ингредиентов, обуславливающих фармакологический эффект [76].

Учитывая физико-химические свойства ГК и способность ее экстрагироваться с применением множества растворителей, была разработана и валидирована ВЭЖХ методика количественного определения ГК, новизной которой явились условия пробоподготовки в части подбора экстрагента и метода экстрагирования позволявших максимально извлекать ГК из испытуемых образцов.

Объектами исследований послужили измельченные корни солодки, фасованные в пачки, производства ОАО «Красногорсклекследства» серии 131116.

Определение содержания ГК проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием.

Приготовление 0,5 % раствора ортофосфорной кислоты. 5 мл ортофосфорной кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали. Фильтровали через фильтр типа «Миллипор» с размером пор 0,45 мкм или аналогичный.

Приготовление подвижной фазы. 0,5 % раствор ортофосфорной кислоты и ацетонитрил в соотношении 60:40.

Растворитель. Метанол и вода для хроматографии в соотношении 30:70.

Холостой раствор. В качестве холостого раствора используют растворитель.

Приготовление раствора стандартного образца. 0,0165 г (точная навеска) стандартного образца помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в 10 мл растворителя, доводили объем растворителем до метки и перемешивали (концентрация глицирризиновой кислоты в растворе 0,66 мг/мл).

Раствор проверки чувствительности хроматографической системы. 1,0 мл раствора стандартного образца помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем растворителем до метки и перемешивали (концентрация глицирризиновой кислоты в растворе 0,0066 мг/мл).

Испытуемый раствор. 0,5 г (точная навеска) измельченных корней солодки, размером частиц проходящих сквозь сито 0,2 мм помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 100 мл растворителя, закрывали пробкой, перемешивали и обрабатывали ультразвуком в течение 30 минут. По истечении установленного времени, колбу вынимали из УЗ-ванны, давали раствору остыть в течение 10 мин, затем снова обрабатывали ультразвуком в течение 30 минут. При охлаждении раствора, в перерывах между экстрагированиями, воду в бане заменяли на свежую, с комнатной температурой. Давали раствору отстояться 10 мин. С помощью механического дозатора отбирали 5 мл раствора из центра колбы и фильтровали через фильтр типа «Миллипор» (0,45 мкм) или аналогичный, отбрасывая первый мл фильтрата.

После проверки пригодности, регистрировали последовательно не менее 3 хроматограмм стандартного раствора и не менее 3 хроматограмм испытуемого раствора.

Содержание глицирризиновой кислоты в % (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_x \times a_0 \times 100 \times P}{S_0 \times a_x \times 25},$$

S_x – площадь пика глицирризиновой кислоты на хроматограмме

испытуемого раствора;

S_0 – средняя площадь пика глицирризиновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора;

a_x – навеска препарата, мг;

a_0 – навеска стандартного образца, мг;

P – содержание основного вещества в стандартном образце, %.

Валидацию методики проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 [87].

5.1. ПРИГОДНОСТЬ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ.

В приведенных выше условиях хроматографировали стандартный раствор, зарегистрировали 3 хроматограммы. Полученные данные представлены в таблице 5.1.1.

Таблица 5.1.1.

Пригодность хроматографической системы.

Параметр	Критерий	Полученное значение	Заключение о соответствии
Фактор асимметрии пика глицирризиновой кислоты	0,8-1,5	1,1	Соответствует
Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику глицирризиновой кислоты	Не менее 3000 теоретических тарелок	11436	Соответствует
Относительное стандартное отклонение пика глицирризиновой кислоты, рассчитанное по:			
	- площадям	Не более 2,0%	0,01
- времени удерживания	Не более 2,0%	0,04	Соответствует
Соотношение сигнал/шум	Не менее 10	26,9	Соответствует

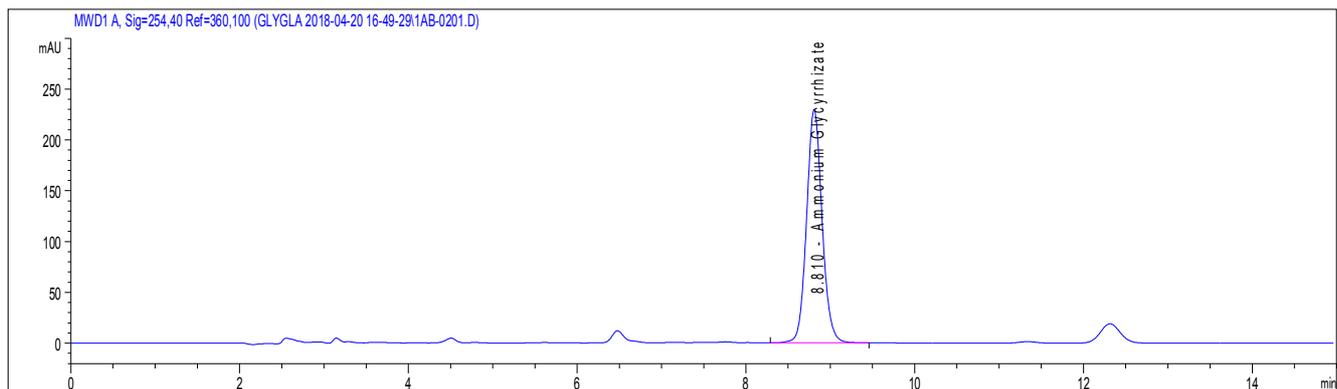


Рисунок - 5.1.1. ВЭЖХ хроматограмма стандартного образца глицирризиновой кислоты.

На основании полученных и представленных в таблице данных можно сделать вывод о том, что хроматографическая система пригодна для анализа.

5.2. СПЕЦИФИЧНОСТЬ.

Для подтверждения способности методики однозначно оценивать входящую в состав пробы глицирризиновую кислоту необходимо подтвердить ее специфичность. Для подтверждения специфичности нами были получены хроматограммы стандартного раствора (рис. 5.1.1), холостого раствора (рис. 5.2.1.) и испытуемого раствора (рис. 5.2.2). Результаты представлены в таблице

2

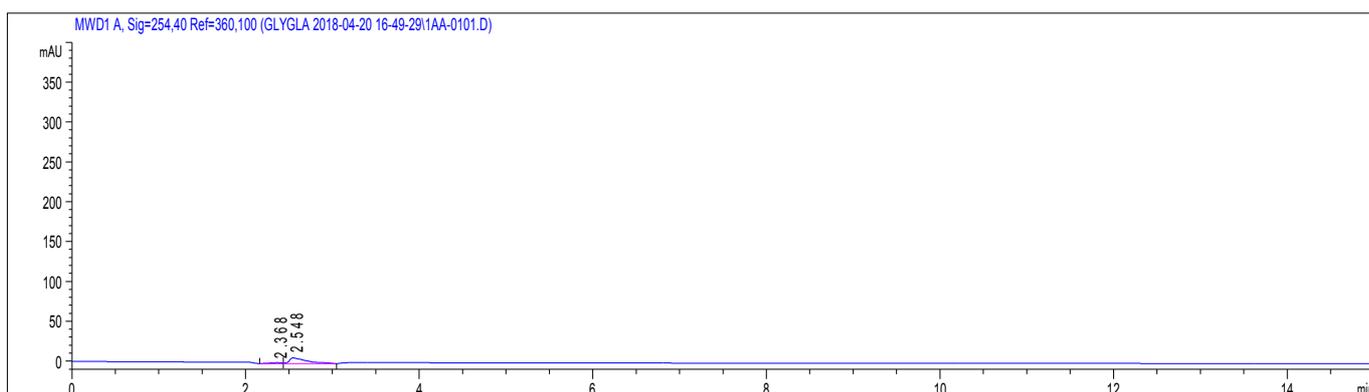


Рисунок - 5.2.1. ВЭЖХ хроматограмма холостого раствора

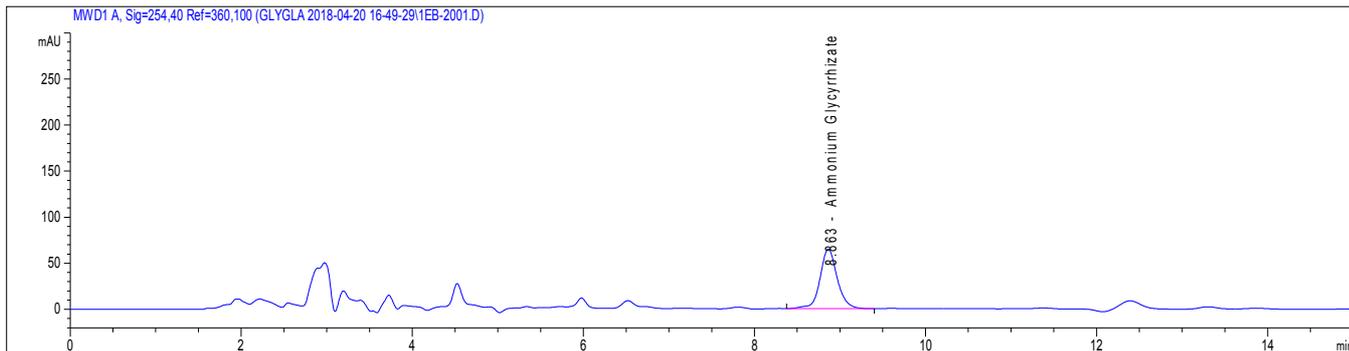


Рисунок - 5.2.2. Типичная ВЭЖХ хроматограмма испытуемого раствора.

На хроматограмме холостого раствора отсутствуют мешающие определению пики, времена удерживания глицирризиновой кислоты на хроматограммах стандартного и испытуемого растворов совпадают. Время удерживания глицирризиновой кислоты составляет около 9 мин. Таким образом, представленная методика позволяет достоверно определить глицирризиновую кислоту в испытуемом растворе.

5.3. ЛИНЕЙНОСТЬ.

Определение линейности методики необходимо для подтверждения возможности получения результатов, с применением данной методики и в пределах установленного диапазона, прямо пропорциональных количеству испытуемого вещества в образце. Для определения линейности приготовили растворы с уровнем концентраций глицирризиновой кислоты 80 %, 90 %, 100 %, 110 % и 120% (0,539-0,808мг/мл). Зарегистрировали по 3 хроматограммы каждого раствора. Полученные данные представлены в таблице 5.3.1.

По результатам измерений, методом регрессионного анализа, установлена математическая зависимость площади пика глицирризиновой кислоты от ее концентрации в растворе. График зависимости имеет линейный вид: $Y = 30,145 \cdot X - 156,11$ ($r = 0,9982$) (рисунок 5.3.1.).

Таблица 5.3.1.

Определение линейности ВЭЖХ методики.

Уровень концентрации, %	Концентрация раствора, мг/мл	Площадь пика ГК, mAU/sec	RSD, %	Среднее значение площади пика, mAU/sec
80	0,539	2270,08	0,01	2270,29
		2270,65		
		2270,14		
90	0,606	2523,60	0,05	2524,09
		2525,54		
		2523,13		
100	0,674	2874,72	0,02	2874,72
		2875,25		
		2874,20		
110	0,741	3164,96	0,06	3166,04
		3168,32		
		3164,85		
120	0,808	3454,99	0,04	3456,54
		3458,04		
		3456,59		

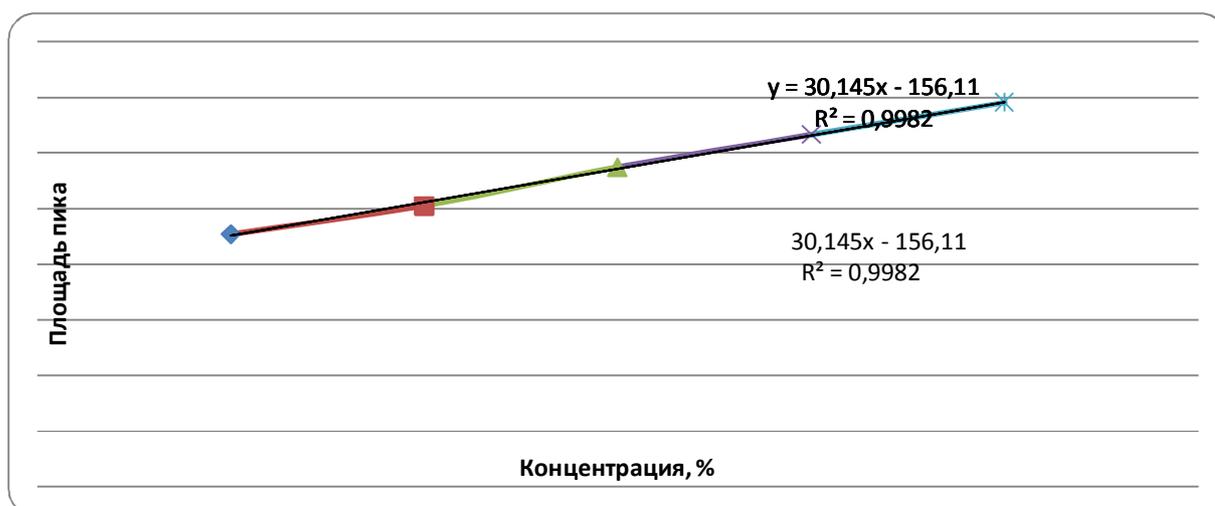


Рисунок - 5.3.1. Зависимость площади пика глицирризиновой кислоты от ее концентрации в растворе.

Результаты корреляционного и регрессионного анализа представлены в таблице 5.3.2.

Таблица 5.3.2.

Результаты корреляционного и регрессионного анализа

Результаты вычислений	
Число пар значений	5
Коэффициент корреляции, r	0,9982
Коэффициент, a	30,145
Sa	1,54
Cl _a	4,28
Коэффициент, b	-156,11
Sb	0,034
Cl _b	2,04
Проверка значимости коэффициента «а»	
Исправленный коэффициент b ₁	30,1445
Sb ₁	0,736
Cl _{b1}	2,04
F расчетное	0,52
Табличное значение F (P=0,95; f ₁ =1; f ₂ =n-2)	10,13
Коэффициент «а» значим:	НЕТ

Таким образом, представленные результаты показывают:

1. Зависимость площади пика глицирризиновой кислоты от её концентрации в растворе описывается уравнением вида $Y=b \cdot X+a$ и имеет линейный характер во всем изученном диапазоне концентраций, что подтверждается коэффициентом корреляции $r = 0,9982$, что соответствует критерию приемлемости $r \geq 0,9900$.

2. Уравнение $Y=b \cdot X+a$ характеризуется коэффициентом «а», равным 30,145. Коэффициент «а» статистически значимо не отличается от нуля.

5.4. ПРЕЦИЗИОННОСТЬ, СХОДИМОСТЬ.

Для подтверждения сходимости результатов испытания его выполняют в одних и тех же условиях в течение сравнительно короткого промежутка времени, используя одно и то же оборудование, проводит испытание один и тот же специалист. Одним химиком-аналитиком было приготовлено 6 испытуемых растворов. Полученные результаты определения сходимости представлены в таблице 5.4.1.

Таблица 5.4.1.

Результаты определения сходимости ВЭЖХ методики

Образец	Масса навески, мг	Площадь пика ГК, mAU/sec	Содержание ГК, %
Растительный препарат солодки ОАО «Красногорсклекследства» серия 131116	506,58	1526,849	7,06
	506,13	1527,299	7,07
	503,38	1525,049	7,09
	505,34	1523,986	7,06
	507,36	1530,266	7,06
	508,30	1536,231	7,08
Среднее значение			7,07
RSD, %			0,18

Относительное стандартное отклонение (RSD) результатов испытания составляет 0,18 %, что соответствует заданному критерию приемлемости (не более 5,0 %).

5.5. ВНУТРИЛАБОРАТОРНАЯ ПРЕЦИЗИОННОСТЬ.

Для определения внутрилабораторной прецизионности проведено испытание содержания пика глицирризиновой кислоты в растительном сырье солодки разными исполнителями в различные дни. Результаты представлены в таблице 5.5.1.

Таблица 5.5.1.

Результаты определения внутрилабораторной прецизионности ВЭЖХ методики.

Химик-аналитик 1		
Масса навески, мг	Площадь пика ГК, mAU/sec	Содержание ГК, %
500,34	1517,302	7,10
498,83	1510,567	7,09
493,49	1505,387	7,14
507,24	1532,195	7,07
505,36	1526,230	7,07
510,30	1540,625	7,07
		Среднее значение 7,09
		RSD, % 0,39
Химик-аналитик 2		
Масса навески, мг	Площадь пика ГК, mAU/sec	Содержание ГК, %
502,55	1521,698	7,09

500,46	1513,210	7,08
496,46	1503,223	7,09
505,69	1522,122	7,05
504,83	1521,963	7,06
512,79	1545,555	7,06
		Среднее значение 7,07
		RSD, % 0,24

Сравнение результатов, полученных разными химиками-аналитиками в различные дни при определении ГК в КС, представлены в таблице 5.5.2.

Таблица 5.5.2.

Сравнительные результаты, полученные разными химиками в различные дни при определении глицирризиновой кислоты в сырье солодки

Ввод исходных данных для выборки 1	Результаты обработки данных выборки 1	
Растительное сырье солодки ОАО «Красногорсклекследства» серия 131116, химик-аналитик 1	Объем выборки n	6
Значение элементов выборки 1, содержание ГК (%):	Число степеней свободы f	5
7,10	Среднее арифметическое	7,09
7,09	Минимальное значение	7,07
7,14	Максимальное значение	7,14
7,07	Дисперсия S^2	0,0008
7,07	Стандартное отклонение S	0,028
7,07	Относительное стандартное отклонение RSD, %	0,39
Табличное значение t (P=0,95; f=n-1): 2,57	Доверительный интервал Δx	0,029
	Относительная ошибка среднего ϵ , %	0,41
Ввод исходных данных для выборки 2	Результаты обработки данных выборки 2	
Растительный препарат солодки ОАО «Красногорсклекследства» серия 131116, химик-аналитик 2	Объем выборки n	6
Значение элементов выборки 2, содержание ГК (%):	Число степеней свободы f	5
7,09	Среднее арифметическое	7,07
7,08	Минимальное значение	7,05
7,09	Максимальное значение	7,09
Ввод исходных данных для выборки 2	Результаты обработки данных выборки 2	
7,05	Дисперсия S^2	0,0003

7,06	Стандартное отклонение S	0,017
7,06	Относительное стандартное отклонение RSD, %	0,24
Табличное значение t (P=0,95; f=n-1): 2,57	Доверительный интервал Δx	0,019
	Относительная ошибка среднего ε, %	0,26
Результаты сравнения двух выборок		
Эмпирическое значение F-критерия		0,39
Табличное значение критерия Фишера при P=0,95, f1; f2		5,05
Табличное значение критерия Фишера при P=0,99, f1; f2		10,97
Вывод:	Выборки однородны по дисперсии с P=0,95	
	Выборки однородны по дисперсии с P=0,99	
Эмпирическое значение t-критерия при точном тесте Стьюдента и числе степеней свободы f= n1+ n2-2		1,38
		10
Табличное значение t-критерия Стьюдента при P=0,95 f= n1+ n2-2		2,23

Выборки однородны по дисперсии, разница между средними значениями двух выборок статистически незначима, что соответствует критерию приемлемости.

5.6. ПРАВИЛЬНОСТЬ.

Для подтверждения правильности необходимо определить степень соответствия результатов между известным истинным значением и значением, полученным по данной методике (коэффициент открываемости). Для определения правильности приготовили 3 испытуемых (модельных) раствора с известным содержанием глицирризиновой кислоты (0,539-0,808 мг/мл). Зарегистрировали по 3 хроматограммы испытуемых растворов (рисунок. 4). Результаты представлены в таблице 5.6.1.

Таблица 5.6.1.

Результаты определения правильности ВЭЖХ методики

Испытуемый раствор, №	Введено, мг/мл x_i	Найдено, мг/мл y_i	Открываемость, найдено к введенному, % $z_i=y_i/x_i \cdot 100\%$
1	0,539	0,532	98,7
		0,532	98,7
		0,533	98,9
2	0,674	0,673	99,9
		0,673	99,9
		0,673	99,9

Испытуемый раствор, №	Введено, мг/мл x_i	Найдено, мг/мл y_i	Открываемость, найдено к введенному, % $z_i=y_i/x_i \cdot 100\%$
3	0,808	0,811	100,4
		0,810	100,3
		0,810	100,3

Результаты статистической обработки представлены в таблице 5.6.2.

Таблица 5.6.2.

Результаты статистической обработки
при определении правильности методики

Ввод исходных данных для выборки	Результаты обработки данных выборки	
	Объем выборки n	9
Значение элементов выборки: открываемость, %:	Число степеней свободы f	8
98,7	Среднее арифметическое	99,7
98,7	Минимальное значение	98,7
98,9	Максимальное значение	100,4
99,9	Дисперсия S^2	0,495
99,9	Стандартное отклонение S	0,704
99,9	Отн. стандартное отклонение RSD, %	0,706
100,4	Относительная ошибка среднего ϵ , %	0,663
100,3	Систематическая погрешность δ , %	0,333
100,3	Доверительный интервал Δx	0,661
Табличное значение t ($P=0,95$; $f=n-1$): 2,36	Нижняя граница доверительного интервала $\bar{x}-\Delta x$	99,0
Принятое опорное значение: 100	Верхняя граница доверительного интервала $\bar{x}+\Delta x$	100,3

Систематическая погрешность составляет 0,333%. Коэффициент открываемости находится в диапазоне от 99,0 до 100,3 %, что соответствует критерию приемлемости: систематическая ошибка не более 2,0 %, что эквивалентно коэффициенту открываемости 98,0-102,0 %.

Проведена валидация ВЭЖХ методики количественного определения содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки промышленного

производства по параметрам: специфичность, линейность, прецизионность (сходимость, внутрилабораторная прецизионность), правильность. Методика удовлетворяет всем вышеперечисленным параметрам. Указанная ВЭЖХ методика является перспективной для стандартизации корней солодки и может рекомендоваться к включению в Государственную Фармакопею Российской Федерации последующего издания.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Разработана ВЭЖХ-методика с УФ-детектированием для идентификации и количественного определения глицирризиновой кислоты в корнях солодки и лекарственных препаратах на их основе. Систематическая погрешность составляет 0,333 %. Коэффициент открываемости находится в диапазоне от 99,0 до 100,3 %, что соответствует критерию приемлемости: систематическая ошибка не более 2,0 %, что эквивалентно коэффициенту открываемости 98,0-102,0 %. Относительное стандартное отклонение (RSD) результатов испытания составляет 0,18 %, что соответствует заданному критерию приемлемости (не более 5,0 %).
2. Методика успешно прошла валидационные испытания по параметрам: специфичность, линейность, предел количественного определения, правильность, прецизионность (повторяемость, сходимость) в соответствии с требованиями ГФ РФ и может быть использована для количественного определения ГК.

ГЛАВА 6. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СЫРЬЯ СОЛОДКИ И ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ.

Следующим этапом исследования являлась оценка качества корней солодки и продуктов их переработки методом ВЭЖХ.

Разработанный нами ВЭЖХ метод количественного определения ГК применен для исследования корней солодки разных способов переработки [16,19,20].

Количественное содержание глицирризиновой кислоты согласно ФС.2.5.0040.15 [118] проводился методом УФ-спектрофотометрии (не менее 6%). В то время как в зарубежных фармакопеях Европейского союза, США, Китая и Японии для стандартизации сырья солодки используется метод ВЭЖХ и содержание ГК нормируется на уровне 2-4%.

Результаты определения содержания ГК методом ВЭЖХ в КС, КП, ГРП и композиции представлены в таблицах 6.1-6.4. Типичные хроматограммы представлены на рисунке 6.1.

Таблица 6.1.

Содержание глицирризиновой кислоты в измельченных корнях солодки

№ пп	Серия	Содержание, %	Ср. значение, %	S ст. откл.	RSD, %
1.	КРЛС 131116	7,08	7,08	0,006	0,08
		7,07			
		7,08			
2.	КРЛС 141216	7,82	7,80	0,025	0,32
		7,77			
		7,8			
3	КРЛС 111017	9,15	9,17	0,021	0,23
		9,19			
		9,16			
4.	КРЛС 141217	8,16	8,16	0,006	0,07
		8,17			
		8,16			
5.	КРЛС 010118	7,79	7,75	0,035	0,45
		7,72			
		7,75			
6.	КРЛС 020218	7,65	7,63	0,020	0,26
		7,61			
		7,63			

№ пп	Серия	Содержание, %	Ср. значение, %	S ст. откл.	RSD, %
7.	ЗД 031117	7,48	7,48	0,006	0,08
		7,48			
		7,49			
8.	ЛС 01122016	7,58	7,58	0,006	0,08
		7,58			
		7,59			

В таблице 6.1. приведены результаты количественного определения ГК ВЭЖХ методом в образцах от промышленных серий трех разных производителей лекарственных препаратов растительного происхождения, представляющих собой измельченные и расфасованные в пачки корни солодки. В образцах ОАО «Красногорсклексредства» от 2016 года среднее значение ГК содержащейся в ЛП, варьировало от 7,08% до 7,80%; в образцах от 2016 года диапазон 8,16% – 9,17%; в образцах от 2018 года среднее значение ГК варьировало от 7,63% до 8,16%. Образцы ЗАО «Здоровье» содержали ГК в интервале от 7,48% до 7,49%. ЛекС от 7,58% до 7,59%. Максимальное содержание ГК согласно данным, представленным в таблице 6.1 - составляет 9,17%. Минимальное значение – 7,08%.

Таблица 6.2.

Содержание глицирризиновой кислоты в крупном порошке

№ пп	Серия	Содержание, %	Ср. значение, %	S ст. откл.	RSD, %
1.	КП 040217	3,80	3,79	0,015	0,40
		3,77			
		3,79			
2.	КП 050217	3,91	3,90	0,012	0,30
		3,89			
		3,89			
3.	КП 070217	3,86	3,87	0,010	0,26
		3,88			
		3,87			

В таблице 6.2. представлены результаты испытаний образцов КП методом ВЭЖХ. Интервал средних значений содержания ГК составлял 3,79% - 3,90%.

Таблица 6.3.

Содержание глицирризиновой кислоты в гранулах резано-прессованных

№ пп	Серия	Содержание, %	Ср. значение, %	S ст. откл.	RSD, %
1.	ГРП 011216	6,85	6,88	0,030	0,44
		6,91			
		6,88			
2.	ГРП 021216	7,02	7,01	0,006	0,08
		7,01			
		7,01			
3.	ГРП 031216	7,09	7,08	0,010	0,14
		7,07			
		7,08			

В таблице 6.3. представлены результаты испытаний гранул резано-прессованных (ГРП) методом ВЭЖХ. Содержание ГК в ГРП варьировало в диапазоне средних значений от 6,88% до 7,08%.

Таблица 6.4.

Содержание глицирризиновой кислоты в композиции

№ пп	Серия	Содержание, %	Ср. значение, %	S ст. откл.	RSD, %
1.	КП 040217 / ГРП 011216	4,87	4,88	0,006	0,12
		4,88			
		4,88			
2.	КП 050217 / ГРП 021216	4,45	4,44	0,006	0,13
		4,44			
		4,44			
3.	КП 070217 / ГРП 031216	4,49	4,50	0,006	0,13
		4,50			
		4,50			

В таблице 6.4. приведены данные о содержании ГК в композиции (смеси КП и ГРП в соотношении 80:20). Интервал средних значений составил 4,44% - 4,88%. Результат свидетельствует о том, что при прибавлении к 80% КП, с содержащем ГК *менее 4%*, двадцати процентов ГРП, содержащих 7,08% ГК, получается *смесь (композиция)* этих продуктов с содержанием ГК около 5%. Качество композиции по содержанию ГК приближается к качеству традиционного продукта, т.е. измельченным корням солодки в пачке (ГК – *около 8%*) Таблица 6.1.

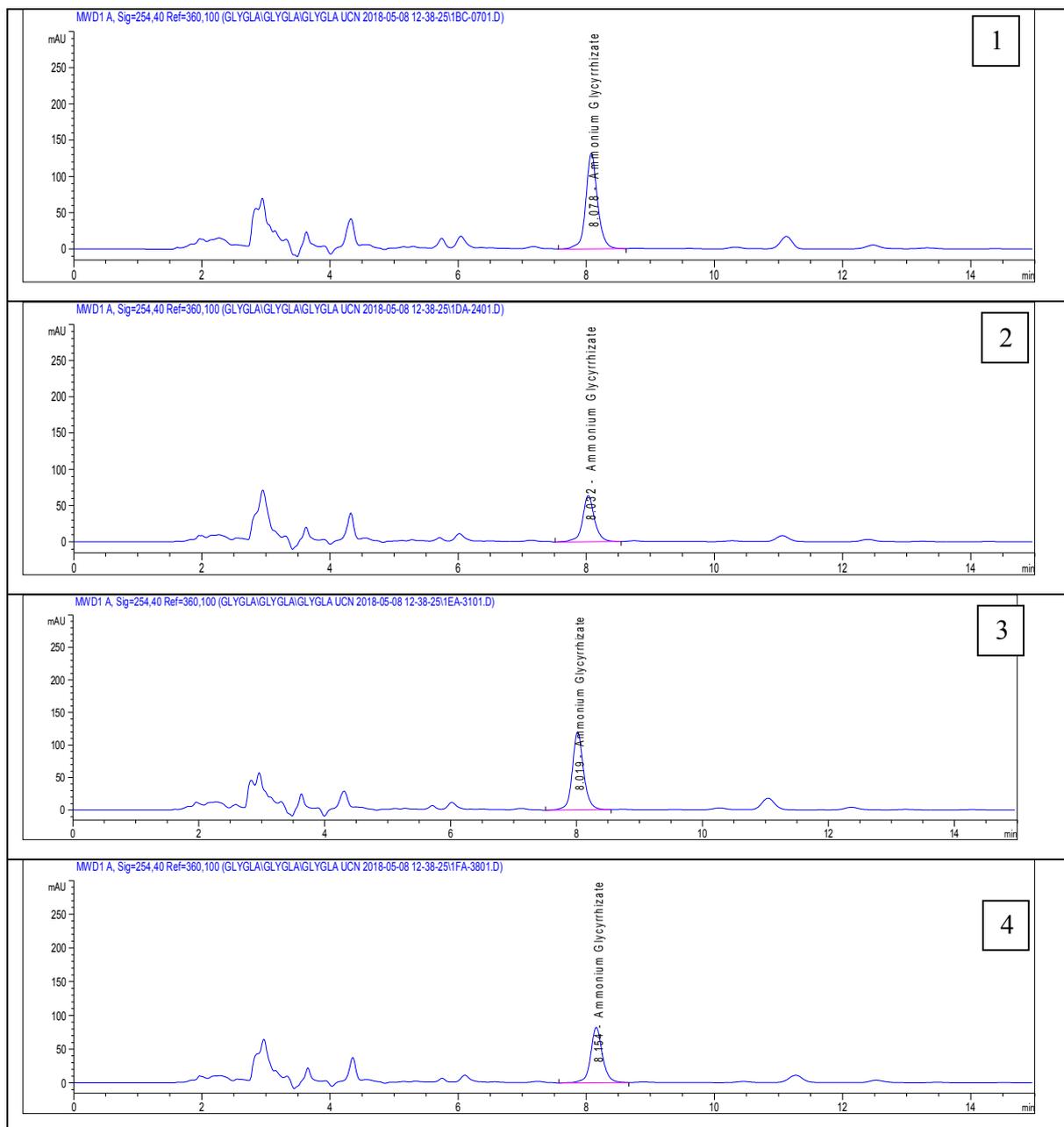


Рисунок - 6.1. Типичные ВЭЖХ хроматограммы:
 1 – КРЛС 131116; 2 – КП 040217; 3 – ГРП 011216;
 4 – композиция (КП 040217/ГРП 011216)

Результаты определения содержания ГК методом ВЭЖХ (табл. 6.5) свидетельствуют о том, что наибольшее ее количество обнаружено в образцах КС (7,83%) и ГРП (6,99%). Достаточно высокое содержание ГК установлено в Композиции (4,88%), а наиболее низкое – в КП (3,90%).

Эти результаты вполне согласуются с технологическими особенностями производства КП и ГРП, а именно в производстве ГРП используется фракция

измельченного сырья с размером частиц 0,31-0,18 мм, в которую попадают наиболее хрупкие части корней, как правило, более богатые БАС, в том числе и ГК. Композиция – КП:ГРП в соотношении 80:20 отвечает всем технологическим характеристикам, необходимым для производства фильтр-пакетов и содержит достаточное количество ГК.

Таблица 6.5.

Сравнительные значения содержания ГК
методами СФМ и ВЭЖХ в корнях солодки различных способов
переработки

Наименование продукта	Содержание ГК %	
	Ср. значение методом ВЭЖХ	Ср. значение методом СФМ
КС	7,83	15,63
КП	3,90	7,08
ГРП	7,08	15,65
Смесь (композиция)	4,88	11,43

При анализе полученных числовых значений (Таблица 6.5), наблюдается системная зависимость между значениями, полученными методом СФМ и методом ВЭЖХ. Оба метода показывают самое высокое содержание ГК в измельченных корнях солодки (КС) и гранулах резано-прессованных. Самое низкое содержание ГК наблюдается в КП. В композиции, состоящей из КП и ГРП, увеличивается содержание ГК по сравнению с КП и приближается своим значением к содержанию ГК в измельченных корнях солодки. Оба метода показывают еще одну взаимную зависимость: каждое значение ГК, полученное методом СФМ, почти в 2 раза превышает соответствующее значение, полученное методом ВЭЖХ. Это свидетельствует о том, что при использовании метода СФМ, кроме ГК, экстрагируется комплекс БАС, показывающий такие высокие значения и делающие этот метод интегральным, определяющим наряду с ГК сумму других веществ.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6.

1. Качество корней солодки разных способов переработки (КС, КП, ГРП, композиция) исследовано с применением валидированной ВЭЖХ методики на содержание глицирризиновой кислоты.

2. Установлено, что в измельченных корнях солодки, представляющих собой образцы от промышленных серий лекарственных препаратов трех отечественных производителей, содержание глицирризиновой кислоты варьировало в пределах **от 7,08% до 9,17%**. В крупном порошке солодки интервал значений содержания ГК составлял **от 3,79% до 3,90%**. В гранулах резано-прессованных содержание ГК варьировало в диапазоне **от 6,88% до 7,08%**. Композиция (смесь) КП и ГРП в соотношении 80:20 содержала ГК в интервале **от 4,44% до 4,88%**.

3. Проведен сравнительный анализ числовых значений глицирризиновой кислоты, характеризующих каждый конечный продукт (КС, КП, ГРП, Композиция) и выполненный разными методами (СФМ и ВЭЖХ), который показывает, что оба метода обнаруживают самое высокое содержание ГК в измельченных корнях солодки (КС) и гранулах резано-прессованных. Самое низкое содержание ГК наблюдается в КП. В композиции, состоящей из КП и ГРП, увеличивается содержание ГК по сравнению с КП и приближается своим значением к содержанию ГК в измельченных корнях солодки.

4. Установлено, что каждое значение ГК, характеризующее конечный продукт (КП, ГРП, Композиция), полученное методом СФМ, почти в 2 раза превышает соответствующее значение, полученное методом ВЭЖХ, что свидетельствует о методе СФМ, как менее точном, по сравнению с более селективным методом ВЭЖХ. Завышенные значения ГК, получаемые методом СФМ, свидетельствуют об экстракции комплекса БАС, в то время как метод ВЭЖХ показывает более точное значение ГК, содержащееся в корнях.

5. Полученные числовые значения содержания ГК методом ВЭЖХ обобщены и положены в основу нормы содержания ГК в проектах ФС на гранулы резано-прессованные и на смесь КП и ГРП, составляющую лекарственный препарат Гранусол.

ГЛАВА 7. ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВА ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ КОРНЕЙ СОЛОДКИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДИКИ ВЭЖХ

Завершающим этапом исследования явилась разработка оптимального режима получения водного извлечения (настоя) из композиции, фасованной в фильтр-пакеты и сравнительная оценка его качества с отваром КС, фасованных в пачки, а также определение содержания ГК в отваре КС и настое композиции.

Водные извлечения в случае КС, получали методом, указанным в инструкции по медицинскому применению, утвержденной МЗ РФ, а в случае композиции по следующей методике: 1 или 2 фильтр-пакета помещали в стакан емкостью 250 мл, прибавляли 100 мл кипящей воды, закрывали и настаивали в течение 30 минут. По истечении установленного времени извлекали фильтр-пакет и отжимали. После охлаждения настоя до комнатной температуры, доводили водой до 100 мл.

Все испытуемые водные извлечения подвергались качественному химическому анализу методом ТСХ в соответствии с ФС.2.5.0040.15: к 15 мл отвара из КС или настоя из Композиции, фасованной в фильтр-пакеты добавляли 20 мл 96% этилового спирта и центрифугировали (скорость 3000 об./мин.). Затем надосадочную жидкость помещали в круглодонную колбу и отгоняли растворитель под вакуумом досуха. Полученный остаток растворяли в 5 мл 50% этилового спирта и этот раствор использовали для ТСХ.

При описанных выше условиях ТСХ на хроматограммах обнаруживались несколько зон адсорбции, одна из которых темно-розового цвета ($R_f=0,83$) соответствовала СО моноаммония глицирризината, а вторая – желто-оранжевого цвета ($R_f=0,85$) СО кверцитина.

Качественный химический состав исследуемых образцов был идентичен.

Полученные водные извлечения из КС, фасованных в пачки и Композиции, фасованной в фильтр-пакеты, представляли собой слегка мутные

жидкости соломенно-желтого цвета со слабым характерным запахом и приторно-сладким вкусом.

pH отвара КС- 5,43; pH настоя композиции – 5,82.

Полученные водные извлечения анализировались по сухому остатку, методом, описанным в ГФ РФ XIV. Результаты представлены в таблицах 7.1 – 7.6.

Таблица 7.1.

Масса сухого остатка в отваре КС

№	Навеска сырья, г	Масса сухого остатка, г	Содержание сухого остатка, %
1	7,9288	0,0400	0,80
2	7,9285	0,0399	0,79
3	7,9290	0,0411	0,82
4	7,9282	0,0405	0,81
5	7,9285	0,0413	0,83
6	7,9288	0,0415	0,83

Таблица 7.2.

Метрологическая характеристика метода

№	x%	\bar{x}	Δx	P%	t(P;f)	E %
1	0,80	0,81	0,0171	95	2,57	2,11
2	0,79					
3	0,82					
4	0,81					
5	0,83					
6	0,83					

Таблица 7.3.

Определение сухого остатка в настое, полученном из композиции
(1 пакет на 100 мл воды)

№	Навеска сырья г	Масса сухого остатка, г	Содержание сухого остатка, %
1	2,2383	0,0263	0,53
2	2,0159	0,0208	0,42
3	2,1102	0,0261	0,52
4	2,2056	0,0258	0,52
5	2,1156	0,0245	0,49
6	2,2028	0,0256	0,51

Таблица 7.4.

Метрологическая характеристика метода

№	X %	\bar{x}	Δx	P%	t(p;f)	E %
1	0,53	0,50	0,04	95	2,57	8,57
2	0,42					
3	0,52					
4	0,52					
5	0,49					
6	0,51					

Таблица 7.5.

Определение сухого остатка в настое, полученном из Композиции (2 пакета на 100 мл воды)

№	Навеска сырья г	Масса сухого остатка г	Содержание сухого остатка %
1	4,1220	0,0503	1,00
2	4,1000	0,049	0,98
3	4,2753	0,0516	1,03
4	4,1547	0,0507	1,00
5	4,2748	0,0512	1,02
6	4,1464	0,0506	1,01

Таблица 7.6.

Метрологическая характеристика метода

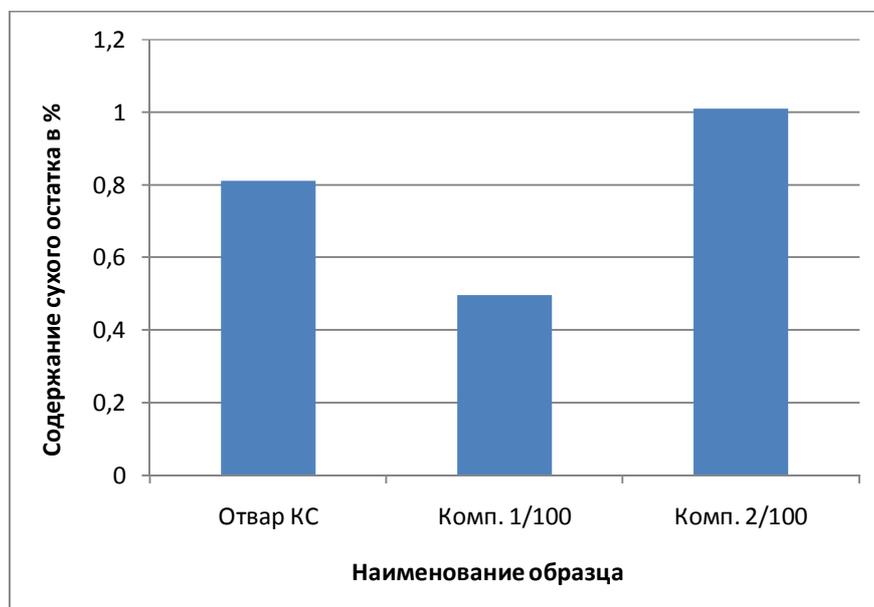
№ п/п	X %	\bar{x}	Δx	P%	t(p;f)	E%
	1	2	3	4	5	6
1	1,00	1,01	0,045	95	2,57	1,83
2	0,98					
3	1,03					
4	1,00					
5	1,02					
6	1,01					

Как показали результаты исследования, содержание сухого остатка в отваре КС, приготовленном по инструкции для медицинского применения корней солодки, составляет в среднем 0,81%. Оптимальным режимом получения настоя из Композиции, фасованной в фильтр-пакет, является приближающийся по содержанию сухого остатка (1,01%) к нормам отвара -

режим: соотношение количества фильтр-пакетов и кипящей воды 2 на 100 мл.
(Диаграмма 1)

Диаграмма 1

Определение сухого остатка в исследуемых объектах.



Все вышеперечисленное является основанием для определения разовой дозы настоя из Композиции - 15 мл, соответствующей разовой дозе отвара КС, утвержденной МЗ РФ в инструкции по медицинскому применению и не потребует длительных клинических исследований для определения дозировки и других клинически значимых свойств препарата.

Финальным этапом нашего исследования явилась проверка содержания ГК в настое, полученном из фильтр-пакетов. Для достижения этой цели мы воспользовались настоем, полученным по предложенному нами методу приготовления водного извлечения из Композиции, фасованной в фильтр-пакеты. Данный метод мы использовали в качестве пробоподготовки для последующего исследования методом ВЭЖХ, условия хроматографирования приведены в таблице 7.7.

Условия хроматографирования.

Колонка	Стальная, 250 x 4,6 мм, Luna C18(2) с размером частиц 5 мкм с предколонкой C18, 4 x 3,0 мм.
ПФ	0,5 % раствора ортофосфорной кислоты - ацетонитрил в соотношении (60:40)
Скорость потока	1,0 мл/мин, изократика
Температура колонки	30 °С
Детектор	УФ, 254 нм
Объем вводимой пробы	10 мкл
Время анализа	15 мин

Растворитель: в качестве растворителя используют воду.

Приготовление раствора стандартного образца. Около 0,0165 г (точная навеска) стандартного образца глицирризиновой кислоты (USP RS) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл растворителя, доводят объем растворителем до метки и перемешивают (концентрация глицирризиновой кислоты в растворе около 0,66 мг/мл).

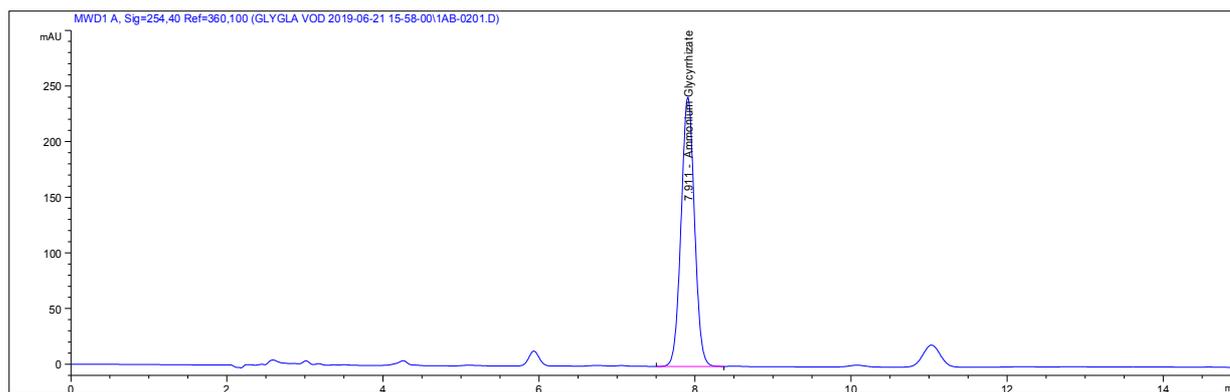


Рисунок - 7.1. Типичная хроматограмма стандартного образца

Испытуемый раствор 1: 1 ф/п на 100 мл воды.

Пробоподготовка проводилась согласно описанным ранее условиям. 1 фильтр пакет взвешивают и помещают в мерный стакан вместимостью 200 мл, прибавляют 100 мл кипящей воды, перемешивают, накрывают и оставляют

настаиваться в течение 30 минут. По истечении установленного времени извлекают фильтр-пакет, отжимают. После охлаждения раствора до комнатной температуры количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят водой до метки и перемешивают. Отбирают 5 мл раствора из центра колбы и фильтруют через мембранный фильтр (0,45 мкм, PVDF, Производитель «Millipore», США), отбрасывая первый миллилитр фильтрата. Фильтрат используют в хроматографическом анализе.

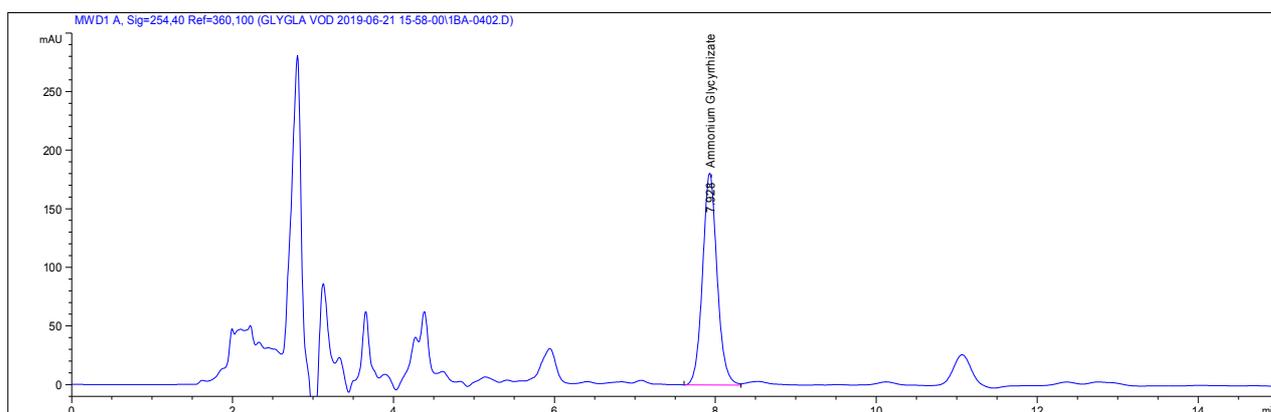


Рисунок – 7.2. Типичная хроматограмма испытуемого образца

Испытуемый раствор 2: 2 ф/п на 100 мл воды.

Пробоподготовка проводится аналогично описанной ранее. 2 фильтр пакета помещают в мерный стакан вместимостью 200 мл, прибавляют 100 мл кипящей воды, перемешивают, накрывают и оставляют настаиваться в течение 30 минут. По истечении установленного времени извлекают фильтр-пакеты, отжимают, доводят водой до метки. С помощью механического дозатора отбирают 5 мл раствора из центра колбы и фильтруют через фильтр типа «Миллипор» (0,45 мкм, PVDF, Производитель «Millipore», США), отбрасывая первый мл фильтрата. Фильтрат использовали в хроматографическом анализе.

Использовалось по 3 навески каждого образца, хроматографировали в трех повторностях, затем полученные данные усредняли.

В ходе исследования были получены данные содержания ГК в миллиграммах и в процентах в водных растворах отваре из КС и настоях из Композиции, полученных в пересчете на 100 мл раствора. Результаты приведены в таблице 7.8.

Таблица 7.8.

Содержание ГК в водном растворе в мг и в %

Водное извлечение КС (отвар)		Водное извлечение ФП 1/100		Водное извлечение ФП 2/100	
ГК, мг	ГК, %	ГК, мг	ГК, %	ГК, мг	ГК, %
154,42	0,154	53,44	0,053	98,24	0,098
157,26	0,157	55,96	0,056	99,17	0,099
153,30	0,153	52,95	0,053	113,26	0,113
Ср. значение	Ср. значение	Ср. значение	Ср. значение	Ср. значение	Ср. значение
154,99±4,14	0,154±0,004	54,11±3,27	0,054±0,003	103,55±17,08	0,103±0,017

Таким образом, результаты определения ГК методом ВЭЖХ в водных извлечениях и КС и из ФП композиции подтвердили, что режим настаивания 2-х ФП со 100 мл кипящей воды является оптимальным и дает настой максимально соответствующий по содержанию ГК отвару КС, полученному в соответствии с Инструкцией по медицинскому применению корней солодки, утвержденной МЗ РФ.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7

1. Качество водных извлечений из КС и Композиции было проанализировано методом ТСХ, установлено, что химический состав исследуемых образцов был идентичным. По результатам исследования качества водных извлечений из КС и Композиции методом ТСХ, установлена идентичность химического состава образцов.
2. Экспериментально обоснован режим получения водного извлечения из фасованной в фильтр-пакеты композиции, который составил 2 фильтр-пакета на 100 мл кипящей воды.
3. Оценено качество настоя и установлена разовая доза для РЛП фасованного в ФП, соответствующая инструкции по медицинскому применению утвержденной МЗ РФ для измельченных корней солодки, фасованных в пачку.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведено информационно-аналитическое исследование литературных данных, которое позволило установить, что основными БАС сырья солодки, находящими практическое применение в медицине являются тритерпеновые соединения ГК, ГЛК, их производные и флавоноиды. Выявлено несоответствие норм и методов контроля ГК в ГФ РФ и мировых фармакопеях, что указывает на необходимость идентификации и количественного определения ГК солодки более современным методом ВЭЖХ, а также подтверждение гистологических особенностей корней солодки, препятствующих фасовке данного вида сырья в фильтр-пакеты, и целесообразность исследований в этом направлении.

2. Разработана и экспериментально обоснована последовательность изготовления измельченных продуктов переработки корней солодки для создания новой лекарственной формы с применением двух субстанций растительного происхождения. Описаны принципы получения дозированной лекарственной формы корней солодки в фильтр-пакетах.

3. В результате сравнительного изучения указанных продуктов, к которым относятся субстанции растительного происхождения - стандартизованный КП и ГРП, а также промежуточный продукт СКП (исходное сырье для получения ГРП), были изучены и описаны фармакопейные показатели качества исследуемых продуктов (сыпучесть, насыпная плотность, распадаемость гранул).

4. Смешивание КП и ГРП в соотношении 80:20 позволило получить смесь (композицию) с приемлемой сыпучестью и преодолеть отрицательное влияние волокнистости корней солодки на процесс её дозирования в ФП. Для полученного продукта, новой лекарственной формы, были разработаны характеристики подлинности на основании сравнительного фармакогностического анализа измельченных корней, порошка и гранул резано-прессованных корней солодки.

5. Разработана и валидирована ВЭЖХ-методика с УФ-детектированием (параметры - специфичность, линейность, предел количественного определения, правильность, прецизионность (повторяемость, сходимость)) для идентификации и количественного определения ГК в корнях солодки, субстанции и РЛП на их основе. Систематическая погрешность составляет 0,333%. Коэффициент открываемости находится в диапазоне от 99,0 до 100,3%, что соответствует критерию приемлемости: систематическая ошибка не более 2,0%, что эквивалентно коэффициенту открываемости 98,0-102,0%. Относительное стандартное отклонение (RSD) результатов испытания составляет 0,18 %, что соответствует заданному критерию приемлемости (не более 5,0%). Методика введена в проекты ФС. Сравнительные исследования количественного определения ГК в корнях солодки различных способов переработки (КС, КП, ГРП, Композиция) методами СФМ и ВЭЖХ, показывают, что содержание ГК (метод СФМ) в 1,5 – 2 раза превышает содержание ГК (метод ВЭЖХ). Это свидетельствует о большей селективности ВЭЖХ методики и подтверждает необходимость ее использования для стандартизации сырья солодки как фармакопейной.

6. Проведено сравнительное изучение качества водных извлечений из корней солодки и продуктов их переработки по содержанию сухого остатка и методом ВЭЖХ. Экспериментально обоснован режим получения настоя из смеси (композиции), фасованной в фильтр-пакеты: 2 фильтр-пакета на 100 мл кипящей воды, с продолжительностью настаивания 30 минут. Для данной дозировки разработан проект Инструкции по медицинскому применению. Именно такое соотношение количества фильтр-пакетов и воды позволяет получить настой, максимально соответствующий отвару корней солодки по инструкции, утвержденной МЗ РФ.

7. С использованием фармакопейных методик определены показатели качества (влажность, измельченность, зола общая, зола, нерастворимая в HCL,) и установлены их нормы, разработаны характеристики подлинности (внешние и

микроскопические признаки) для двух видов продуктов: гранул резано-прессованных (субстанция растительного происхождения) и нового лекарственного препарата, дозированного в фильтр-пакеты - Гранусол.

8. По результатам исследования разработаны 2 проекта НД на субстанцию растительного происхождения ФС «Солодки корни. Гранулы резано-прессованные» и растительный лекарственный препарат Солодки корни. (Смесь крупного порошка и гранул резано-прессованных. Фильтр-пакеты по 1,5 г). Предлагаемое торговое наименование препарата - Гранусол.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные технологические и аналитические результаты представляют интерес для производителей лекарственных препаратов растительного происхождения, заинтересованных в современных методах контроля сырья и препаратов солодки и во внедрении новой формы выпуска солодки, для научных работников, занимающихся изучением растительного сырья и разработкой методов его контроля. Разработанная методика определения глицирризиновой кислоты современным методом ВЭЖХ может быть использована для введения в раздел «Количественное определение» ФС.2.5.0040.15 Солодки корни ГФ XIV. Это позволит гармонизировать требования отечественной фармакопеи к качеству сырья солодки с международными требованиями.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БАС – биологически активные соединения

ВР – вспомогательные работы в описании технологического процесса

ВФС – временная фармакопейная статья

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГК – глицирризиновая кислота

ГЖХ – газожидкостная хроматография

ГЛК глицирретиновая (глицирретовая) кислота

Гранусол – торговое название смеси порошка и резано-прессованного сырья в соотношении 80:20

ГРЛС – Государственный реестр лекарственных средств

ГРП - гранулы резано-прессованные

ГФ – государственная фармакопея

КО – количественное определение

КС – корни солодки

КП – крупный порошок

КРЛС- сокращенно АО «Красногорсклекарства»

ЛП – лекарственный препарат

ЛРП – лекарственный растительный препарат

ЛС – лекарственное средство

ЛРС – лекарственное растительное сырье

Моносырье - далее лекарственный препарат растительного происхождения, состоящий из одного наименования ЛРС

НД – нормативный документ

НФ – неподвижная фаза

ПО – программное обеспечение

П/П – пробоподготовка

ПФ – подвижная фаза

РПС – резано-прессованное сырье (далее гранулы резано-прессованные, ГРП)

СВО – современное высокопроизводительное оборудование дробильное и фасовочное

Смесь (композиция) – смесь порошка и резано-прессованного сырья в соотношении 80:20

СКП – средне крупный порошок

СТП – стандарт предприятия внутренний документ предприятия для контроля качества промежуточного продукта

ТСХ – тонкослойная хроматография

ТП - Технологический процесс

ТУ – технические условия

УФ – ультрафиолетовый спектр

ФП – фильтр-пакет (одноразовый пакет)

ФС – фармакопейная статья

ХП – хроматографическая пластинка

Ф БР – фармакопея Великобритании

Ф ЕС – фармакопея Европейского Союза

Ф США - фармакопея США

Ф Японии - фармакопея Японии

Ф КНР – фармакопея Китая

Ф РБ – фармакопея Беларуси

Ф РК – фармакопея Казахстана

Rf – расстояние от линии старта до середины пятна, отнесенное к расстоянию от линии старта до линии фронта растворителя

RT (retention time) – время удерживания

Ph. Eur. 7th – European Pharmacopoeia 7th edition

USP – Фармакопея США

Ph. of China – Pharmacopoeia of the People's Republic of China (далее Фармакопея Народной Республики Китай)

ЛИТЕРАТУРА

1. Аммосов А.С., Литвиненко В.И. Тритерпеноиды растений родов *Glycyrrhiza L.* и *Meristotropis Fisch. et Mey.* // Хим.фарм. журн. 2003, Т. 37, №2 - с. 31-42.
2. Аммосов А.С., Литвиненко В.И. Фенольные соединения родов *Glycyrrhiza L.* и *Meristotropis Fisch. et Mey.* // Фармаком, 2003, № 2 - с. 34-80.
3. Аммосов А.С., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Использование солодки в мировой практике: обзор патентных источников/ Хим.-фарм.пр-во:Обзорн.информ.-М.:НИИЭМП.-1998, -Вып.1 – с. 83.
4. Андоскина Л.Т. Содержание и качественный состав органических кислот в различных видах солодки// Перспективные сырьевые растения Узбекистана и их культура. Ташкент, 1979 - с. 163-169.
5. Арнольд из Виллановы. Салернский кодекс здоровья. - В кн.: Валфрид Страбон. Одо из Мена. Арнольд из Виллановы. Садик. О свойствах трав. Салернский кодекс здоровья // Перевод с латинского, предисловия Ю. Ф. Шульца. М.: Интербук, 1992 - с. 224.
6. Асеева Т.А., Блинова К.Ф., Яковлев Г.П. Лекарственные растения тибетской медицины. Новосибирск: Наука. 1985 - с.160
7. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР /Гл. ред. П.С.Чиков. - М., 1980 - с. 340.
8. Атлас лекарственных растений России / Под общей ред. В.А. Быкова. М., 2006 - с.345.
9. Барнаулов О.Д. Детоксикационная фитотерапия, или противоядные свойства лекарственных растений. – Спб.: Политехника, 2007 – с. 409.
10. Барнаулов О.Д. Лекарственные свойства пряностей. – Спб.: Информ-Навигатор, 2015 – с. 49.
11. Баронец Н.Г., Адлова Т.П., Мельникова В.А. Влияние экстрактов лекарственных растений на рост микроорганизмов. Журн. микробиологии, 2001, № 5 - с. 71-72.

12. Баторова С.М., Яковлев Г.П., Николаев С.М., Самбуева З.Г. Растения тибетской медицины: Опыт фармакогностического исследования. Новосибирск: Наука, 1989 - 159 с.
13. Бобкова Н.В. Исследование по контролю качества растительных порошков в лекарственных средствах. Автореферат диссертации на соискание ученой степени канд. фарм. наук. Москва, 1998.
14. Бибикова Н.Е. Комплексная технология переработки корня солодки. Дисс. на соискание ученой степени канд. фарм. наук. М., 1999.
15. Бровченко Б.В., Ермакова В.А. Изучение технологических показателей порошка корней солодки и резано-прессованного сырья. V научно-практическая конференция «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» Институт фармации и трансляционной медицины. Издательство Первого МГМУ им. И.М.Сеченова, М., 2017 - с.43-47.
16. Б.В. Бровченко В.А., Ермакова А.Н., Кузьменко И.А., Самылина И.А., Краснюк И.И. (мл.); Оптимизация ВЭЖХ-методики количественного определения глицирризиновой кислоты в корнях солодки. Научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств» №3 (24), М., 2018 - с.162-165.
17. Бровченко Б.В., Ермакова В.А., Козин Д.А., Стручков П.А., Белобородов В.Л. Определение содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки различных способов переработки и оценка качества настоев из них. Сборник научных трудов Международной научной конференции, М., ВИЛАР, 2018 - с. 629-635.
18. Бровченко Б.В., Ермакова В.А., Боков Д.О., Самылина И.А. Оценка содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки промышленного производства методом ВЭЖХ. Научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств», М., 2019, том 8, №2- с.87-91.

19. Бровченко Б.В., Боков Д.О., Ермакова В.А. Совершенствование подходов к стандартизации корней солодки по содержанию глицирризиновой кислоты с применением метода ВЭЖХ-УФ. Сборник трудов седьмой научной конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения», М., ВИЛАР, 2019 - с.170-176.
20. Бровченко Б.В., Ермакова В.А., Боков Д.О., Самылина И.А., Демина Н.Б., Чернова С.В. Валидация ВЭЖХ методики определения содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки. Химико-фармацевтический журнал, том 53, №12, 2019 - с.42-47.
21. Бровченко В.И. Смирнов Ю.Н. Контроль качества брикетов из лекарственного растительного сырья. Материалы тезисов научной конференции, посвященной 50-летию ботанического сада ММА им.И.М. Сеченова. Лекарственные растения ботанического сада. Москва.1996 - с.46.
22. Буранова Е.В., Турумбетов У.А., Адекенов С. М. Усовершенствование метода стандартизации *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. // Фитохимия для развития отечеств. фармац. пром-ти. Тр. Респ. науч.- практ. конф., посвящ.60-летию изв. ученого М. Н. Мухаметжанова.- Караганда, 2000 - с. 236-238.
23. Быков В.А., Зайко Л.Н. Проблемы научного обеспечения создания сырьевой базы и использования видов рода солодка в РФ // «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования». Материалы 1-го международного симпозиума (1-5 августа 1995 г.). Пушино, 1995 - с.765-767.
24. Быков В.А., Запесочная Г.Г. Комплексная технология переработки корня солодки // «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования». Материалы 1-го международного симпозиума (1-5 августа 1995 г.). Пушино, 1995 - с.762-763.
25. Василенко Ю.К. и др. Гепатопротекторная активность растительных веществ / Ю.К. Василенко, Л.М.Фролова, В.Г.Сбежнева, В.А. Югин //

- Климатические и преформированные физические факторы в профилактике и реабилитации больных бронхо-легочными и сердечно-сосудистыми заболеваниями: Тезисы докладов Республиканской научной конференции, посвященной 75-летию Ялтинского НИИ им. И.М.Сеченова. М., 1989 – с. 249.
26. Вичканова С.А., Рубинчик М.А. Противотрихомонадные свойства препарата глицирретината из солодкового корня // Солодковый корень. – М., 1978 – с.11-13.
27. Гаммерман А. Ф. Применение солодки в медицине народов Востока // Вопросы изучения и использования солодки в СССР. М., Л.: Наука, 1966 - с. 15-18.
28. Гаммерман А. Ф., Применение солодки в медицине народов Востока // Вопросы изучения и использования солодки в СССР. Москва, Ленинград: Наука, 1966 - с. 15-18.
29. Гаммерман А.Ф. Обзор лекарственных растений восточной медицины. Дисс. доктора фармацевтических наук. Ленинград, 1941- с.480.
30. Гаммерман А.Ф., Семичев Б.В. Заметка о тибетских лекарственных продуктах Музея Ботанического института АН СССР // Известия Главного бот. сада АН СССР, 1932. Т.30, Вып. 5-6 - с.551-572.
31. Гаммерман А.Ф., Семичев Б.В. Словарь тибетско-латино-русских названий лекарственного растительного сырья, применяемого в тибетской медицине. Улан-Удэ. 1963 – с. 80.
32. Гаврилин М.В., Сенченко С.П., Тамирян А.М., Печенова А.В. Совершенствования способов оценки качества корней и сиропа солодки. Химия растительного сырья. 2009, №4 - с.147-150.
33. Горюнова Л.В., Рубинчик М.А., Вичканова С.А. Изучение антимикробной и противовирусной активности препаратов из солодки голой // Солодковый корень. – М., 1978. – с.26-31.

34. Государственная Фармакопея Республики Беларусь, II изд., Минск, 2016, т.2- с.1315-16.
35. Государственная Фармакопея Республики Казахстан, II изд. Минск, 2015, т.2 – с. 728-730.
36. Государственная Фармакопея СССР. 9-е изд., М., 1961- с. 912.
37. Государственная Фармакопея СССР. 10-е изд., М.,1968 - с.1079.
38. Государственная Фармакопея СССР: Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье/ МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989 - с. 400.
39. Государственная Фармакопея РФ XIII изд. Минздрав РФ. [офиц. сайт] URL: <http://www.femb.ru/feml>. Москва, 2016.
40. Государственная Фармакопея РФ XIV изд. [офиц. сайт] URL: <http://www.femb.ru/feml>. Москва, 2018.
41. Государственный Реестр лекарственных средств <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> М., 2019
42. Гранкина В. П. Солодка уральская (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) в Барабинской и Кулундинской степях Западной Сибири и перспективы её использования. Автореф. дис. канд. биол. наук. Тарту, 1970 - 24 с.
43. Гранкина В.П., Надеждина Т. П. Солодка уральская. Новосибирск: Наука, 1991 - 152 с.
44. Григорьев Ю. С., Васильченко И. Т. Солодка — *Glycyrrhiza* L. // Флора СССР. Т. 13, М.,Л., Изд-во АН СССР, 1948 - с.230-239.
45. Дикорастущие лекарственные растения России: сбор, сушка, подготовка сырья (сборник инструкций). М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2015 - с.344.
46. Евдокимова О.В. Резано-прессованное сырье крапивы и зверобоя, как новый вид продукции. Материалы XIV Росс. Национальный конгресса «Человек и лекарство», М., 2007 - с.820.
47. Егоров М. В. Стандартизация сырья и препаратов солодки. Дисс. канд. фармац. наук. Самара, 2005 - с. 145.

48. Ермакова В.А., Бровченко Б.В., Бобкова Н.В. Изучение характеристик подлинности различных видов переработки сырья солодки. 1 Съезд натуротерапевтов России. Сборник научных трудов. Приложение к специальному выпуску журнала «Традиционная медицина» №3(18), М., 2009.
49. Ермакова В.А., Самылина И.А., Ковалева Т.Ю., Бровченко Б.В., Доровских Е.А., Бобкова Н.В. Корни солодки: анализ фармакопейных требований. Фармация, 2019; 6 (68) - с.16-19.
50. Задорожный А.М. и др. Справочник по лекарственным растениям / А.М.Задорожный, А.Г.Кошкин, С.Я.Соколов, А.И.Шретер. 1988. - с.415.
51. Зайко Л.Н., Семенюк Н.В. Анализ использования природных ресурсов видов рода солодка в России и странах СНГ // «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования». Материалы 1-го международного симпозиума (1-5 августа 1995 г.). Пущино, 1995 - с.768-770.
52. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Авдеева Е.В., Цибулько Н.С. Флавоноиды – целевой продукт технологии комплексной переработки сырья солодки // «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования». Материалы 1-го международного симпозиума (1-5 августа 1995 г.). Пущино, 1995 - с.764.
53. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Пинеев С.А., Бибилова Н.Е., Лапин А.Б. ВЭЖХ в анализе сырья и препаратов солодки. Научно-практическая конференция «Современные тенденции развития фармации. Тезисы докладов, Самара, 1999, с.80-85.
54. Зимницкая С.А. Состояние репродуктивной системы популяций видов рода *Glycyrrhiza L. (Fabaceae)* // Сибирский экологический журнал. 2009. Т. 16. №4 - с. 629–634.
55. Ибрагимов Ф. И., Ибрагимова В. С. Основные лекарственные средства китайской медицины.— Москва: Медгиз, 1960 - с. 412.

56. Ибрагимов Ф.И. Ибрагимова В.С. Основные лекарственные средства китайской медицины. М., 1960 - с. 412.
57. Ибрагимова В.С. Китайская медицина: Методы диагностики и лечения. Лекарственные средства. Чжень-цзю терапия. – М., 1994 – с. 637.
58. Ибрагимова В.С. Китайская медицина: Методы диагностики и лечения. Лекарственные средства. Чжень-цзю терапия. М., 1994. - 637 с.
59. Инструкция по сбору, первичной обработке и сушке солодкового корня // Ресурсы дикорастущих лекарственных растений СССР. Л., «Наука», 1968. с.183-185.
60. Исамбаев А.И., Саурамбаев Б.Н., Кузьмин Э.В., Кукенов М.К. Солодка - ценнейшее лекарственно-техническое растение природной флоры Казахстана. Алма-Ата - 1991. - с.20
61. Каримов М.М. и др. Реабилитационное лечение больных холестатическими поражениями печени, перенесших холецистэктомию (Методические рекомендации) /М.М. Каримов, Ф.И.Хамробоева, С.Рустамова, Э.Дустмухамедова, Ш.Исламова, Ш. Т.Гулямов//НИИ Медицинской реабилитации и физической терапии МЗ РУз, Ташкент. 2002 - с.4.
62. Кашникова М.В. и соавторы. Изучение влияния грануляции на качество лекарственного растительного сырья. Материалы XI Росс. Нац. Конгресса «Человек и лекарство», М., 2004 - с.875.
63. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф., Баркаева Е.Ю. Тритерпеноиды корней *Glycyrrhiza uralensis* // Химия природных соединений. 1974, № 1 - с.102-103.
64. Кит С.М., Турчин И.С. Лекарственные растения в эндокринологии. – Киев, 1986 – с. 80.
65. Козодой Н. Э. О содержании дубильных веществ в солодках голой и уральской культуры новых сырьевых растений. -Ташкент, 1973 - с. 208-209.
66. Кондратенко Р. М. Глицирризиновая кислота и родственные тритерпеноиды солодкового корня в синтезе перспективных биологически активных соединений. Дисс. докт. хим. наук. Уфа, 2006 - с. 378.

67. Кононихина Н.Ф., Пономарев В.Д., Муравьев И.А. Исследование жиростероидного комплекса солодкового корня // Вопросы изучения и использования солодки в СССР. М.Л.: Наука, 1966 - с. 159-162.
68. Красная книга РСФСР, растения. М.: Госагропромиздат, 1988 - с. 591.
69. Круганова Е. А. Обзор видов родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. Et Mey. // Тр. Бот. ин-та АН СССР. Сер. I, Вып. 11. 1955 - с.161-197.
70. Круганова Е. А. Род солодка (*Glycyrrhiza* L.) и его народно-хозяйственное значение. Автореф. дис. канд. биол. наук. Л., 1953 - с.21.
71. Кузнецова М.А., Резникова А.С. Сказания о лекарственных растениях. – М.: Высш. шк., 1992. – с. 272.
72. Куркин В.А., Егоров М.В. Стандартизация корней солодки голой и лекарственного препарата «Солодки экстракт жидкий». Фундаментальные исследования. – 2014. – № 6-6. – с. 1232-1236
73. Лад Васант, Фроули Давид. Травы и специи / Пер. с английского. – М.: Саттва, 1997. - с.304.
74. Леднева И. П. О теоретических основах тибетской медицины //Вестник Бурятского государственного университета. Улан-Удэ: Бурятский государственный университет, 2011. - № 12. - с. 14—15.
75. Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П. Фармако-биологические и терапевтические свойства препаратов солодки (обзор). Харьков, Украина, ГП ГНЦЛС. Электронный ресурс. http://farmacomua.narod.ru/licorice/brief_1.htm
76. Литвиненко В.И. Солодка: систематика, химия, технология, стандартизация, фармакология, клиника / В.И.Литвиненко, В.П.Георгиевский, А.С.Аммосов. Т.П.Попова, Н.С.Фурса - Ярославль: Аверс Плюс, 2014. - с. 466 (научное издание).
77. Марченко Юрий. Лондонский и Лейденский папирусы. Древнеегипетские медицинские папирусы с использованием магии // Твоё здоровье : журнал. — Знание, 1995. - № 4.

78. Машковский М. Д. Лекарственные средства.— 16-е изд., перераб., испр. и доп.— М.: Новая волна, - с. 2012.-1216.
79. Муравьев И. А., Соколов В. С. Состояние и перспективы изучения и использования солодки в народном хозяйстве СССР // Вопросы изучения и использования солодки в СССР. М. - Л.: Наука, 1966, с. 5-14.
80. Муравьев И.А., Пономарев В.Д. Глицирризиновая кислота и ее препараты в качестве новых лекарственных средств (Обзор литературных данных)// Медицинская промышленность СССР -1962.-Т.16, № 8.- с.11-18.
81. Надеждина Т. П. К характеристике возобновления солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*) и строение ее подземных органов в Абакано-Минусинской впадине. (Труды БИН. Сер. 5. Растительное сырье. Вып. 13.) М.-Л.: Наука, 1965 б. - с. 183-197.
82. Надеждина Т. П. О подземных органах солодок секции *Euglycyrrhiza Boiss.*, распространенных на территории СССР // Вопросы изучения и использования солодки в СССР. М. - Л.: «Наука», 1966. - с. 27-44.
83. Надеждина Т.П. Солодка уральская (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*) в Абакано-Минусинской впадине // Растения – источники биологически активных веществ лечебного действия. (Труды БИН. Сер. 5. Растительное сырье. Вып. 13.) М.-Л.: Наука, 1965 а, с. 165-182.
84. Назаров-Рыгдылон В. Э., Малакшинова М. М. Влияние многокомпонентных фитопрепаратов тибетской медицины на систему свертывания крови // Вторая республиканская конференция по медицинской ботанике (Тезисы докладов), Киев, 1988 - с. 387-388.
85. Огай М.А., Степанова Э.Ф., Василенко Ю.К., и др. Разработка и изучение гипогликемического фитокомплекса // Матер. 55 регионал конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров. – Пятигорск. 2000 - с.213-214.
86. Орманов Н.Ж., Пернебекова Р.К., Орманова Л.Н., Жолымбекова Л.Д., Киргизбаева А.А. Биологическая активность и фармакологические свойства

- препаратов из корня солодки // Вестник КазНУ. Серия биологическая. №2 (58). 2013 - с. 147-151.
87. ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик ГФ РФ XIII, том I, М., 2015 – с.222 <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
88. ОФС.1.4.1.0022.15 Гранулы резано-прессованные ГФ РФ XIV, т.II, М., 2018 – с.1987. http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/173/index.html
89. ОФС.1.5.3.0005.15 Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. ГФ РФ XIV, М., 2018, т.II, - с.2355. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
90. ОФС.1.5.1.0001.15 Лекарственное растительное сырье. Фармацевтические субстанции растительного происхождения. ГФ РФ XIV, М., 2018, т.II,- с.2213 <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
91. ОФС.1.4.1.0018.15 Настои и отвары ГФ РФ XIII, т.II, Москва 2015 - с.118 <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
92. ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента. ГФ РФ XIII, том I, М., 2015 – с.234 <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
93. ОФС.1.5.3.0007.15 Определение влажности лекарственного растительного сырья ГФ РФ XIV, т.II, М., 2018 – с.2361.
94. ОФС.1.5.3.0004.15 Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. ГФ РФ XIV, т.II, М., 2018 - с.2349. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
95. ОФС.1.5.3.0009.15 Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. ГФ РФ XIV, т.II, М., 2018 – с.2370. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
96. ОФС 1.5.3.0001.15 Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. ГФ РФ XIV, т.II, М., 2018,-с.2303. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

97. ОФС.1.1.0005.15 Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов ГФ РФ XIII, том I, М., 2015 – с.154.
<http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
98. ОФС.1.5.3.0003.15 Техника микроскопического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. ГФ РФ XIV, т. II, М., 2018 – с.2327.
<http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
99. ОФС.1.1.0015.15 Ситовой анализ ГФ РФ XIII, том II, М., 2015 - с.316.
<http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
100. ОФС.1.5.3.0006.15 Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах ГФ РФ XIV, т. II, М., 2018 – с.2356.
<http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
101. Поверин Д.И., Поверин А.Д. Технология промышленной переработки лекарственного растительного сырья. М., Издательство МСХА, 2001.
102. Приказ Министерства промышленности и торговли РФ от 14.06.2013г. №916 «Правила надлежащей производственной практики». Электронный ресурс <https://legalacts.ru/doc/prikaz-minpromtorga-rossii-ot-14062013-n-916/>
103. Приходько В.А., Мишенкова Е.Л., Мещеряков А.А. Изучение антибиотической активности солодкового корня // Солодковый корень. – М., 1978 – с.13-17.
104. Редкие и исчезающие виды флоры СССР, нуждающиеся в охране. 2-е доп. изд. / Под ред. А.Л. Тахтаджяна - Л.: Наука, 1981.- с. 264.
105. Резенькова О.В. Изучение влияния экстракта солодки голой на процессы адаптации организма // Дисс. канд. биол. наук. Ставрополь, 2003. – с. 32,174.
106. Рукавицына Н.П. Современные подходы к составлению фармакопейных стандартов качества на лекарственные средства растительного происхождения. Дисс. на соискание ученой степени кандидата фарм.наук. Москва, ФГБУ НЦСМП МЗ РФ, 2017.

107. Рукавицына Н.П., Саканян Е.И., Евдокимова О.В. Разработка новой лекарственной формы лекарственных препаратов растительного происхождения. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Том 9, №2 (2019) - с.72-78.
<https://www.vedomostincesmp.ru/jour/article/viewFile/162/223>
108. Рябоконт А.А. Солодка или лакричный корень (аналитический обзор) //Провизор. – 2003 - №2 - с.36-40.
109. Сейтмуратов Е.С., Джумамуратова А. Спектрометрическое определение накопления глицирризиновой кислоты в различных органах солодки. //III Симпозиум по изучению и использованию солодки в народном хозяйстве СССР.- Материалы научн. сообщ.- Ашхабад.- 1988.- с.119.
110. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика: Руководство для врачей. – М.: Медицинское информационное агентство, 2000. – с. 976.
111. Степанова Э.Ф. и др. Надземная масса солодки голой, как возможный источник получения лекарственных средств противовоспалительного действия/ Э.Ф.Степанова, М.С.Околелова, А.М.Самалиева, В.Е.Погорелый // Изучение и использование солодки в народном хозяйстве СССР. Алма-Ата, 1991 - с.133-135.
112. Столярова О.В., Балтина Л.А., Михайлова Л.Р., и др. Оптимизация метода получения моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты из корней солодки уральской сибирских популяций. Химия в интересах устойчивого развития. 2008. Т.16, №5 - с.571-576.
113. Толстикова Г.А., Балтина Г.А., Гранкин В.П. и др. Солодка. Биоразнообразие, химия, применение в медицине. Новосибирск: изд. «ГЕО», 2007. – с.152]. https://www.rfbr.ru/rffi/ru/books/o_60840#65
114. Толстикова Г.А., Балтина Л.А., Сердюк Н.Г. Глицирретовая кислота (обзор)// Хим.-фармац.журн.-1998.-Т.32, № 8 - с.5-14.
115. Толстикова Г.А., Балтина Л.А., Шульц Э.Э., Покровский А.Г. Глицирризиновая кислота (обзор) // Биоорг.химия.1997.-Т.23, № 9 - с.691-709.

116. Толстикова Г.А., Шульц Э.Э., Балтина Л.А., Толстикова Т.Г. Солодка. Неиспользуемые возможности здравоохранения России. // Химия в интересах устойчивого развития.- 1997.- № 5.- с.57-73.
117. Турова А.Д., Сапожникова Э.Н., Вьен Дыок Ли. Лекарственные растения СССР и Вьетнама. М., 1987. - с. 464
118. ФС 2.5.0040.15 «Солодки корни» ГФ РФ XIV, т.IV, М., 2018 – с.6429.
<http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
119. Федеральный закон от 12.04. 2010 г №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (с изменениями от 27 декабря 2019 г.)
<https://legalacts.ru/doc/federalnyi-zakon-ot-12042010-n-61-fz-ob/>
120. Худайбергенов Э. Б. Солодки Казахстана. Алма-Ата, 1979.- с. 128.
121. Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Батиров Э.Х. Влияние флавоноидов на течение гиперлипидемии и атеросклероза в эксперименте // Хим.-фарм.журн. 1991.Т.25, № 4.- с.53-57.
122. Цетлин А.Л. и др. К вопросу о противоопухолевой активности природных кумаринов/ А.Л. Цетлин, Т.К. Никонов, И.Ф. Шварёв, М.Г. Пименов // Растит. Ресурсы 1965, Т.1, Вып. 4. - с. 507-511.
123. Чжома Дунчжи, Баяндуров С.Э. «Тибетская медицина» (учебное пособие для врачей) Украина, Днепрпетровск, 2009 г. - с.375.
124. Чиков П.С. Лекарственные растения – путь к здоровью. М., 1997 - с. 489.
125. Ширинян Э.А. и др. 9,12,13-тригидрокси- 10(E)-октадсеновая, 9,12,13-тригидрокси-10,11-эпоксиоктадекановая кислоты – новые антистрессорные вещества, выделенные из солодки / Э.А.Ширинян, А.Г.Паносян, М.Л.Барикян, О.М.Авакян // Изв. Ан СССР. Сер. Биол. 1988. №6. - с.932-936.
126. Шретер А.И., Асеева Т.А. Методика установления научных названий растений по описаниям, приводимым в древних рукописях // Раст. Рес., 1976. Т.12, вып.4 - с.609-614.

127. Шретер А.И., Валентинов Б.Г., Наумова Э.М. Природное сырье китайской медицины. Справочник (в 3-х томах). Т.1. – М.: «Теревинф», 2004 – с. 506.
128. Шретер Г.К. Лекарственные растения и растительное сырье, включенные в отечественные фармакопеи М., 1972. - с.119.
129. Acharya S.K., Dasarathy S., Tandon A. et al. A preliminary open trial on interferon stimulator (SNMC) derived from Glycyrrhiza glabra in the treatment of subacute hepatic failure. // Indian. J. Med. Res. – 1993. – V. 98. – P.69-74.
130. Adamyan TsI, Gevorkyan ES, Minasyan SM, Oganesyanyan KR, Kirakosyan KA. 2005. Effect of licorice root on peripheral blood indexes upon vibration exposure. *Bull Exp Biol Med* 140: P.197–200.
131. Akamatsu H, Komura J, Asada Y, Niwa Y. 1991. Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: effects on neutrophil functions including reactive oxygen species generation. *Planta Med* 57: P.119–121.
132. Alonso J. Tratado de Pitofarmacos y Nutraceuticos. Barcelona: Corpus, 2004; P.905-911.
133. Aly AM, Al-Alousi L, Salem HA. 2005. Licorice: A possible antiinflammatory and anti-ulcer drug. *AAPS Pharm Sci Tech* 6:E74–E82.
134. Amagaya S, Sugishita E, Ogihara Y, Ogawa S, Okada K, Aizawa T. 1984. Comparative studies of the stereoisomers of glycyrrhetic acid on anti-inflammatory activities. *J Pharmacobiodyn* 79: 923–928.
135. Armanini D, Bonanni G, Palermo M. 1999. Reduction of serum testosterone in men by licorice. *N Engl J Med* 341: 1158.
136. Armanini D, Bonannia G, Mattarello MJ, Fiore C, Sartorato P, Palermo M. 2003. Licorice consumption and serum testosterone in healthy man. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 111: P.341–343.
137. Armanini D, Fiore C, Mattarello MJ, Bielenberg J, Palermo M. 2002. History of the endocrine effects of licorice. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 110: P. 257–261.
138. Armanini D, Mattarello MJ, Fiore C et al. 2004. Licorice reduces serum testosterone in healthy women. *Steroids* 69: 763–766.

139. Armanini D, Nacamulli D, Francini-Pesenti F, Battagin G, Ragazzi E, Fiore C. 2005. Glycyrrhetic acid, the active principle of licorice, can reduce the thickness of subcutaneous thigh fat through topical application. *Steroids* 70: P.538–542.
140. Armanini D, Wehling M, Weber PC. Mineralocorticoid effector mechanism of liquorice derivatives in human mononuclear leukocytes. *J Endocrinol Invest.* 1989, 12: P.303-306.
141. Asha Roshan, Navneet Kumar Verma, Chaudhari Sunil Kumar, Vikash Chandra, Devendra Pratap Singh, Manoj Kumar Panday. Phytochemical constituent, pharmacological activities and medicinal uses through the millennia of *Glycyrrhiza glabra* Linn: A review // International research journal of pharmacy. V.3 (8), P.45-55.
142. Azimov MM, Zakirov UB, Radzhapova ShD. 1988. Pharmacological study of the anti-inflammatory agent glyderinine. *Farmakol Toksikol* 51: P.90–93.
143. Baba M, Shigeta S. 1987. Antiviral activity of glycyrrhizin against varicella-zoster virus *in vitro*. *Antiviral Res* 7: P.99–107.
144. Baker ME. Licorice and enzymes other than 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: an evolutionary perspective. *Steroids* 1994; 59: P.136-41.
145. Benigni R, Capra C, Cattorini PE. Piante medicinali – Chimica Farmacologia e Terapia. Invernì & Della Beffa: Milano 1964 Vol II. P. 840-866.
146. Capasso F, Mascolo N, Autore G, Duraccio MR. 1983. Glycyrrhetic acid, leucocytes and prostaglandins. *J Pharm Pharmacol* 35: P.332–335.
147. Chen M, Christensen S.B., Theander TG, Kharazmi A. 1994a. Antileishmanial activity of licochalcone A in mice infected with *Leishmania major* and in hamsters infected with *Leishmania donovani*. *Antimicrob Agents Chemother* 38:1339–1344.
148. Chen M, Theander T.G, Christensen S.B., Hviid L, Zhai L, Kharazmi A. 1994b. Licochalcone A, a new antimalarial agent, inhibits *in vitro* growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelii* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 38: 1470–1475.

149. Chen M, Zhai L, Christensen S.B., Theander TG, Kharazmi A. 2001. Inhibition of fumarate reductase in *Leishmania major* and *L. donovani* by chalcones. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 2023–2029.
150. Chen M., Christensen S.B., Blom J. et al. Licochalcone A, a novel antiparasitic agent with potent activity against human pathogenic protozoan species of *Leishmania*. // *Antimicrob. Agents. Chemother.* – 1993. – V. 37(12). – P.2550-2556..
151. Fuggersberger-Heinz R., Franz G. Formation of Glycyrrhizic Acid in *Glycyrrhiza glabra* var. *Typica*. // *Planta Med.*- 1984.- V.50.- No. 5.- P.409-413.
152. Purification of glycyrrhizin.// Pat. 57144297, Japan.- 1982. // *Chem. Abstr.*- 1983.-V.98.- P.89815.
153. Chin Y, Jung H-A, Liu Y, Su BN, Castoro JA, Keller WJ *et al.* Anti-oxidant Constituents of the Roots and Stolons of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*). *J Agric Food Chem* 2007, 55: P.4691-4697.
154. Christensen SB, Kharazmi A. 2001. Antimalarial natural products. *In Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation, Characterization and Biological Properties*, Tringali C (ed.). Taylor and Francis Inc: New York, 404.
155. Christensen SB, Ming C, Andersen L *et al.* 1994. An antileishmanial chalcone from Chinese licorice roots. *Planta Med* 60: P.121–123.
156. Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Chandra P, Rabenau H, Doerr HW. 2003. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. *Lancet* 361: P. 2045–2046.
157. Claude B, Morin P, Lafosse M, Belmont AS, Haupt K. Selective solid-phase extraction of a triterpene acid from a plant extract by molecularly imprinted polymer. *Talanta* 2008, Vol.75. P.344–350.
158. Crance JM, Biziagos E, Passagot J, Van Cuyck-Gandre H, Deloince R. 1990. Inhibition of hepatitis A virus replication *in vitro* by antiviral compounds. *J Med Virol* 31: P.155–160.

159. Davis EA, Morris DJ. Medicinal uses of licorice through the millennia: the good and plenty of it. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1991, 78: P.1-6.
160. European Pharmacopoeia 7th edition: Liquorice root - Liquiritiae radix 01/2010: 0277 (under minor revision).
161. Fatima A, Gupta VK, Luqman S, Negi AS, Kumar JK, Shanker K, Saikia D, Srivastava S, Darokar MP, Khanuja SP, Antifungal activity of *Glycyrrhiza glabra* Linn extracts and its active constituent glabridin // *Phytother Res.*, 2009; 23(8): P.1190-1203.
162. Ferrari P, Sansonnens A, Dick B, Frey FJ. 2001. *In vivo* 11 β -HSD-2 activity variability, salt-sensitivity, and effect of licorice. *Hypertension* 38: P.1330–1336.
163. Francischetti IM, Monteiro RQ, Guimaraes JA. 1997. Identification of glycyrrhizin as a thrombin inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 235: P.259–263.
164. Frattini C., Bicchi C., Barettoni C., Nano G.M. Volatile flavor components of licorice // *J. Agric. Food Chem.* 1977. Vol. 25. P. 1238-1241
165. Fu B, Li H, Wang X, Lee FSC, Cui S. 2005. Isolation and identification of flavonoids in licorice and a study of their inhibitory effects on tyrosinase. *J Agric Food Chem* 53: P.7408–7414.
166. Fuhrman B, Volkova N, Kaplan M, Presser D, Attias J, Hayek T, Aviram M. Antiatherosclerotic effects of licorice extract supplementation on hypercholesterolemic patients: increased resistance of LDL to atherogenic modifications, reduced plasma lipid levels, and decreased systolic blood pressure // *Nutrition.* 2002 Mar;18(3): P.268-273.
167. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T. 2002a. Anti-*Helicobacter pylori* flavonoids from licorice extract. *Life Sci* 71: P.1449–1463.
168. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T. 2002b. Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fitoterapia* 73: - P.536–539.

169. Fuggersberger-Heinz R., Franz G. Formation of Glycyrrhizic Acid in *Glycyrrhiza glabra* var. *Typica*. // *Planta Med.*- 1984.- V.50.- No. 5.- P.409-413.
170. Gumpricht E, Dahl R, Devereaux MW, Sokol RJ. 2005. Licorice compounds glycyrrhizin and 18 β -glycyrrhetic acid are potent modulators of bile acid-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *J Biol Chem* 280: P.10556–10563.
171. Hayashi H., Zhang S., Nakaizumi T., Shimura K., Yamaguchi M., Inoue K., Sarsenbaev K., Ito M., Honda G. Field Survey of *Glycyrrhiza* Plants in Central Asia (2). Characterization of Phenolics and Their Variation in Leaves of *Glycyrrhiza* Plants Collected in Kazakhstan. // *Chem. Pharm. Bull.*- 2003-V.51.-NO.10.-P. 1147-1152.
172. Hatano T, Kusuda M, Inada K *et al.* 2005. Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry* 66: P.2047–2055.
173. He J, Chen L, Heber D, Shi W, Lu Q-Y. 2006. Antibacterial compounds from *Glycyrrhiza uralensis*. *J Nat Prod* 69: P.121–124.
174. Homma M., Oka K., Niitsuma T. et al. A novel 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor contained in saiboku-to, a herbal remedy for steroid-dependent bronchial asthma. // *J. Pharm. Pharmacol.* – 1994. – V. 46(4). – P.305-309.
175. Indian Pharmacopoeia. The Indian Pharmacopoeia Commission. Indian Pharmacopoeia laboratory Govt. of India, Ministry of Health & Family Welfare, Sector 23, Raj Nagar, Chaziabad. 201 002, 2010; VIII: P.2551-3.
176. Inoue H, Mori T, Shibata S, Koshihara Y. 1989. Modulation by glycyrrhetic acid derivatives of TPA-induced mouse ear oedema. *Br J Pharmacol* 96: P. 204–210.
177. Isbrucker RA, Burdock GA. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regular Toxicol Pharmacol.* 2006, 46: P.167-92.

178. Ito M, Sato A, Hirabayashi K *et al.* 1988. Mechanism of inhibitory effect of glycyrrhizin on replication of human immunodeficiency virus (HIV). *Antiviral Res* 10: P. 289–298.
179. Jenett-Siems K, Mockenhaupt FP, Bienzle U, Gupta MP, Eich E. 1999. In vitro antiplasmodial activity of Central American medicinal plants. *Trop Med Int Health* 4: P. 611–615.
180. Jeong HG, You HJ, Park SJ, Moon AR, Chung YC, Kang SK *et al.* Hepatoprotective effects of 18beta-glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P450 2E1 expression. *Pharmacol Res.* 2002, 46: P.221-227.
181. Josephs RA, Guinn JS, Harper ML, Askari F. 2001. Licorice consumption and salivary testosterone concentrations. *Lancet* 358: P. 1613–1614.
182. Kassir ZA. 1985. Endoscopic controlled trial of four drug regimens in the treatment of chronic duodenal ulceration. *Ir Med J* 78: P.153–156.
183. Kim JK, Oh SM, Kwon HS, Oh YS, Lim SS, Shin HK. Anti-inflammatory effect of roasted licorice extracts on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages// *Biochem Biophys Res Commun.* 2006 Jul 7;345(3): P.1215-23.
184. Kim KR, Jeong CK, Park KK, Choi JH, Park JH, Lim SS *et al.* Anti-inflammatory effects of licorice and roasted licorice extracts on TPA-induced acute inflammation and collagen-induced arthritis in mice // *J Biomed Biotechnol.* 2010, 2010: P.709378.
185. Kinoshita T, Tamura Y, Mizutani K. The isolation and structure elucidation of minor isoflavonoids from licorice of *Glycyrrhiza glabra* origin // *Chem. Pharm. Bull.* 2005. Vol.53. P. 847– 849.
186. Kiso Y, Tohkin M, Hikino H, Hattori M, Sakamoto T, Namba T. Mechanism of antihepatotoxic activity of glycyrrhizin. I: Effect on free radical generation and lipid peroxidation//*Planta Med.* 1984 Aug; 50(4): P.298-302.

187. Kitagawa I., Chen W.Z., Taniyama T., et al. Quantitative determination of constituents in various licorice roots by means of high performance liquid chromatography // *Yakugaku Zasshi*.-1998. Vol.118, N 11- P.519-528.
188. Kitagawa I., Hori K., Taniyama T., et al. Saponin and Sapogenol. XLVII. On the constituents of the roots of *Glycyrrhiza uralensis Fischer* from northeastern China.(1). Licorice-saponins A₃, B₂ and C₂ // *Chem.Pharm.Bull.*-1993b.-Vol.41, N 1 - P. 43-49.
189. Kitagawa J., Hori K., Sakagami M., et al. Saponin and Sapogenol. XLVIII. On the constituents of the roots *Glycyrrhiza uralensis Fischer* from northeastern China (2). Licorice-saponin D₃, E₂, F₃, G₂, H₂, J₂ and K₂ // *Chem.Pharm.Bull.*1993a.Vol.41, N 8, P.1337-1345.
190. Kobayashi, M., Fujita, K., Katakura, T., Utsunomiya, T., Pollard, R.B., Suzuki, F., 2002. Inhibitory effect of glycyrrhizin on experimental pulmonary metastasis in mice inoculated with B16 melanoma. *Anticancer Research* 22, 4053–4058.
191. Kuroda M, Mimaki Y, Sashida Y *et al.* 2003. Phenolics with PPAR-ligand-binding activity obtained from licorice (*Glycyrrhiza uralensis* roots) and ameliorative effects of glycyrrin on genetically diabetic KK-Ay mice. *Bioorg Med Chem Lett* 13: P.4267–4272.
192. Lin J.C. Mechanism of action of glycyrrhizic acid in inhibition of Epstein-Barr virus replication in vitro. // *Antiviral. Res.* – 2003. – V. 59(1). – P.41-47.
193. Liu Q., Liu Y.L. Flavonoids from *Glycyrrhiza* genus // *Zhongguo Jiaoxue Zazhi*.1989.Vol.24, N 12, P.705-709 (Chem.Abstrs.1989.Vol.113, N 3, 20844 h).
194. Lucas Richard. *Nature's Medicines : The Folklore, Romance, and Value of Herbal Remedies*. West Nyack, 1966 – P. 224.
195. MacKenzie MA, Hoefnagels WH, Kloppenborg PW. 1990. Glycyrrhetic acid and potentiation of hydrocortisone activity in skin. *Lancet* 335: P.1534.
196. Mendes-Silva W, Assafim M, Ruta B, Monteiro RQ, Guimaraes JA, Zingali RB. 2003. Antithrombotic effect of glycyrrhizin, a plant-derived thrombin inhibitor. *Thrombosis Res* 112: P.93–98.

197. Mitscher LA, Park YH, Clark D, Beal JL. Antimicrobial agents from higher plants. Antimicrobial isoflavanoids and related substances from *Glycyrrhiza glabra* L. var. typical // J. Nat. Prod. 1980. Vol.43, №2. P.259-69.
198. Moon A., Kim SH. Effect of *Glycyrrhiza glabra* roots and glycyrrhizin on the glucuronidation in rats. *Planta Med.* 1997 Apr;63(2):P.115-9.
199. Müller R.E. Preparation, properties, and uses licorice // *Forest Prod J.* 1966.Vol.16, №3. P.41-43. Приготовление, свойства и применение лакрицы
200. Nakamura T, Fujii T, Ichihara A. 1985. Enzyme leakage due to change of membrane permeability of primary cultured rat hepatocytes treated with various hepatotoxins and its prevention by glycyrrhizin. *Cell Biol Toxicol* 1: P. 285–295.
201. Nassereddin RA, Yamani MI. Microbiological quality of sous and tamarind, traditional drinks consumed in Jordan. // *J. Food. Prot.* – 2005. – V. 68(4). – P.773-777.
202. Nomura T, Fukai T. Phenolic constituents of licorice (*Glycyrrhiza* species) // *Fortshritte der Chemie Organischer Naturschstoffe.* 1998; Vol. 73, P.1-158.
203. Nose M, Ito M, Kamimura K, Shimizu M, Ogihara Y. 1994. A comparison of the antihepatotoxic activity between glycyrrhizin and glycyrrhetic acid. *Planta Med* 60: P.136–139.
204. Numazaki K, Umetsu M, Chiba S. 1994. Effect of glycyrrhizin in children with liver dysfunction associated with cytomegalovirus infection. *Tohoku J Exp Med* 172: P.147–153.
205. Onkarappa R, Shobha KS, Chaya K. 2005. Efficacy of four medicinally important plant extracts (crude) against pathogenic bacteria. *Asian J Microbiol Biotech Env Sci* 7: P.281–284.
206. Paoletta S, Steventon GB, Wildeboer D, Ehrman TM, Hylands PJ, Barlow DJ. Screening of herbal constituents for aromatase inhibitory activity // *Bioorg. Med Chem.* 2008. Vol.16(18). P. 8466-8470.
207. Pharmacopoeia of the people's republic of China. Vol.1, 2005. P.207-2009.

208. Pharmacopoeia – National Form USP 29-NF 24 (Russian edition). Moscow, t. 2; P.2263-4.
209. Pompei R, Flore O, Marccialis MA, Pani A, Loddo B. 1979. Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles. *Nature* 281: P.689–690.
210. Raggi M.A., Bugamelli F., Nobile L. Et al. The choleric effects of licorice: identification and determination of the pharmacologically active components of *Glycyrrhiza glabra*. // *Boll. Chim. Farm.* – 1995. – V. 134(11). – P.634-638.
211. Reiners W. Cumarine und Hydroxyzimtsäuren aus Süssholzwurzel // *Naturwiss.* 1964. Jg.51, N 8. S.193.
212. Ruzicka L, Leuenberger H. Zur Kenntnis der Glycyrrhetinsäure // *Helv.chim.Acta.*1936.Vol.19.S.1402-1406.
213. Ruzicka L., Jeger O. Zur Lage der Carboxylgruppe bei der Glycyrrhetinsäure // *Helv.Chim.Acta.*1942.Vol.25. S.775-785.
214. Ruzicka L., Furter M., Leuenberger H. Über die Bruttoformel der Glycyrrhetinsäure. *Helv. Chim. Acta.* 1937. Vol.20, №1. S.312-325.
215. Ruzicka L., Jeger O., Ingold W. Neuer Beweis für die verschiedene Lage der Carboxylgruppe bei der Oleanolsäure und der Glycyrrhetinsäure // *Helv.chim.Acta.*1943.Vol.26, S.2278-2300.
216. Saeedi M., Morteza-Semnani K., Ghoreishi M.R. The treatment of atopic dermatitis with licorice gel. // *J. Dermatolog. Treat.* – 2003. – V. 14(3). – P.153-157.
217. Sasaki H., Takei M., Kobayashi M. et al. Effect of glycyrrhizin, an active component of licorice roots, on HIV replication in cultures of peripheral blood mononuclear cells from HIV-seropositive patients. // *Pathobiology.* - 2002-2003. – V. 70(4). – P.229-236.
218. Sato H, Goto W, Yamamura J *et al.* 1996. Therapeutic basis of glycyrrhizin on chronic hepatitis B. *Antiviral Res* 30: P.171–177.
219. Schleimer RP. 1991. Potential regulation of inflammation in the lung by local metabolism of hydrocortisone. *Am J Respir Cell Mol Biol* 4: P.166 –173.

220. Segal R, Pisanty S, Wormser R, Azaz E and Sela MN, Anticariogenic activity of licorice and glycyrrhizine I: Inhibition of in vitro plaque formation by *Streptococcus mutans* // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1985; 74: P.79-81.
221. Sekizawa T., Yanagi K., Itoyama Y. Glycyrrhizin increases survival of mice with herpes simplex encephalitis. // *Acta Virol.* – 2001. – V. 45(1). – P.51-54.
222. Sela MN, Steinberg D and Segal R, Inhibition of the activity of glucosyltransferase from *Streptococcus mutans* by glycyrrhizin. *Journal of Oral Microbiology and Immunology*, 1987; 2: P.125-128.
223. Shiota G, Harada K, Ishida M, Tomie Y, Okubo M, Katayama S *et al.* Inhibition of hepatocellular carcinoma by glycyrrhizin in diethylnitrosamine-treated mice. *Carcinogenesis* 1999, 20: P.59-63.
224. Sianne S & Fanie RVH, Antimalarial activity of plant metabolites // *Natural Product Report.*, 2002; 19: P.675-692
225. Sitohy MZ, el-Massry RA, el-Saadany SS, Labib SM. Metabolic effects of licorice roots (*Glycyrrhiza glabra*) on lipid distribution pattern, liver and renal functions of albino rats. *MS. Nahrung*. 1991;35(8): P.799-806.
226. Stewart PM. 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase: implications for clinical medicine. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996, 44: P.493-499.
227. Takahara T, Watanabe A, Shiraki K. 1994. Effects of glycyrrhizin on hepatitis B surface antigen: a biochemical and morphological study. *J Hepatol* 21: P.601–609.
228. Tamir S, Eizenberg M, Somjen D *et al.* 2000. Estrogenic and antiproliferative properties of glabridin from licorice in human breast cancer cells. *Cancer Res* 60: P.5704–5709.
229. Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, Izrael S, Vaya J. 2001. Estrogen-like activity of glabrene and other constituents isolated from licorice root. *J Steroid Biochem Mol Biol* 78: P.291–298.

230. Tanaka Y., Kikuzaki H., Fukuda S. et al. Antibacterial compounds of licorice against upper airway respiratory tract pathogens. // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* (Tokyo). – 2001. – V. 47(3). – P.270-273.
231. Tawata M, Aida K, Noguchi T *et al.* 1992. Anti-platelet action of isoliquiritigenin, an aldose reductase inhibitor in licorice. *Eur J Pharmacol* 212: P.87–92.
232. Tawata M., Yoda Y., Aida K., et al. Anti-platelet action of GU-7, a 3-aryl coumarin derivative, purified from *Glycyrrhizae radix* // *Planta med.*-1990 Jun; 56(3): P.259-263.
233. Teelucksingh S, Mackie AD, Burt D, McIntyre MA, Brett L, Edwards CR. 1990. Potentiation of hydrocortisone activity in skin by glycyrrhetic acid. *Lancet* 335: P.1060–1063.
234. The Japanese Pharmacopoeia, 14th edition. Ministry of Health, Labour and Welfare, Tokyo, Japan Part 2, 2002. P.932-933.
235. The Ayurvedic Pharmacopoeia of India. Part I, vol. I-v, 1-st ed. Department of AYUSH, Ministry of Health & Family Welfare, Govt. of India, 2005; I:168-9. [Electronic resource]. Access mode: <http://www.ayurveda.hu/api.html>.
236. Thyagarajan S., Jayaram S., Gopalakrishnan V. et al. Herbal medicines for liver diseases in India. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2002. – V. 17. Suppl 3. – P.370-376.
237. Toulemonde B., Mazza M., Bricout J. Composition of the aroma of *Glycyrrhiza glabra* L. rhizome // *Ind. Aliment. Agric.* 1977. Vol. 94(11), P. 1179-1182.
238. Trovato A., Monforte M.T., Forestieri A.M. et al. In vitro anti-mycotic activity of some medicinal plants containing flavonoids. // *Boll. Chim. Farm.* – 2000. – V. 139(5). – P.225-227.
239. Utsunomiya T., Kobayashi M., Herndon D.N. et al. Effects of glycyrrhizin, an active component of licorice roots, on *Candida albicans* infection in thermally injured mice. // *Clin. Exp. Immunol.* – 1999. – V. 116(2). – P.291-298.

240. Utsunomiya T., Kobayashi M., Pollard R.B. et al. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus.// *Antimicrob. Agents. Chemother.* – 1997. – V. 41(3). – P.551-556.
241. Vaidya V.M. Gogte. *Ayurvedic Pharmacology and Therapeutic Uses of Medicinal Plants (Dravyagunavignyan)*, 2009. P.864.
242. Van Hulle C. Über die östrogene Wirkung der Süßholzwurzel // *Pharmazie*.1970. Jg.25, H.10. S.620-621.
243. Van Marle J, Aarsen PN, Lind A, Van Weeren-Kramer J. 1981. Deglycyrrhizinised liquorice (DGL) and the renewal of rat stomach epithelium. *Eur J Pharmacol* 72: P.219–225.
244. Van Rossum TGJ, Vulto AG, De Man RA, Brouwer JT, Schalam SW. 1998. Review article: Glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 12: P.199–205.
245. Vaya J, Belinky PA, Aviram M. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation // *Free Radic Biol Med*. 1997;23(2): P.302-13.
246. Walker BR, Edwards CR. 1991. 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase and enzyme-mediated receptor protection: life after liquorice? *Clin Endocrinol* 35: P.281–289.
247. Wang C.L., Zhang R.Y., Han Y.S., et al. Chemical studies of coumarins from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch // Yao Hsuch Hsuch Pao.-1991.-Vol.26, N 2.-P. 147-151.
248. Wang ZY, Nixon DW. 2001. Licorice and cancer. *Nutr Cancer* 39: P.1–11.
249. Yaginuma T, Izumi R, Yasui H, Arai T, Kawabata M. 1982. Effect of traditional herbal medicine on serum testosterone levels and its induction of regular ovulation in hyperandrogenic and oligomenorrhic women. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zhasshi* 34: P.939–944.

250. Yamaguchi H, Kidachi Y, Kamiie K, Noshita T, Umetsu H, Ryoyama K, Glycyrrhetic Acid Induces Anoikis-Like Death and Cytoskeletal Disruption in the Central Nervous System Tumorigenic Cells. *Biol Pharm Bull* 2010, 33(2): 321-324.
251. Yoon G, Jung YD, Cheon SH. 2005. Cytotoxic allyl retrochalcone from the roots of *Glycyrrhiza inflata*. *Chem Pharm Bull* 53: P.694–695.
252. Yu SM, Kuo SC. 1995. Vasorelaxant effect of isoliquiritigenin, a novel soluble guanylate cyclase activator, in rat aorta. *Br J Pharmacol* 114: P.1587–1594.
253. Yu Z, Ohtaki Y, Kaid K *et al.* 2005. Critical roles of platelets in lipopolysaccharide-induced lethality: effects of glycyrrhizin and possible strategy for acute respiratory distress syndrome. *Int Immunopharmacol* 5: P. 571–580.
254. Zakirov NU, Aizimov MI, Kurmukov AG. 1999. The cardioprotective action of 18-dehydroglycyrrhetic acid in experimental myocardial damage. *Eksp Klin Farmakol* 62: P.19–21.
255. Zhai L, Blom J, Chen M, Christensen SB, Kharazmi A. 1995. The antileishmanial agent licochalcone A interferes with the function of parasite mitochondria. *Antimicrob Agents Chemother* 39: P.2742–2748.
256. Zhang Q, Ye M, Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice). *Journal of Chromatography A*. 2009, Vol.1216. P.1954–1969.

Приложение 1. Проект ФС «Солодки корни. Гранулы резано-прессованные»

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Солодки корни

ФС 42-

Гранулы резано-прессованные

Вводится впервые

Настоящая фармакопейная статья распространяется на субстанцию растительного происхождения - гранулы резано-прессованные, изготовленные из корней солодки *неочищенных* (naturales) - *Glycyrrhizae radices* (*Glycyrrhiza* L., сем. Fabaceae - бобовые), предназначенные для изготовления смеси порошка и гранул резано-прессованных корней солодки.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Гранулы корней солодки резано-прессованные цельные или их части различной формы от коричневатого-желтого, светло-коричневого до коричневого или темно-коричневого цвета, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Иногда встречаются отдельные волокнистые кусочки корней солодки. Запах слабый. Вкус водного извлечения приторно-сладкий.

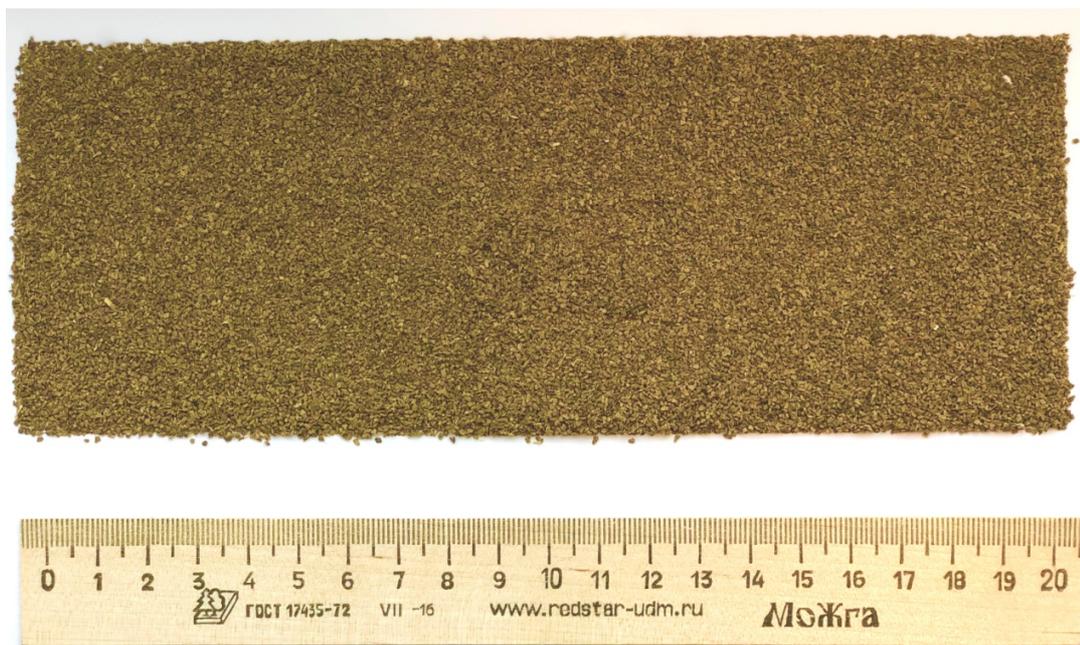


Рис. Гранулы резано-прессованные (ГРП)

Микроскопические признаки. При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны фрагменты тонкостенной паренхимы, состоящие из округлых или округло-многоугольных клеток, часто с группами призматических кристаллов оксалата кальция; группы волокон коры и древесины, обычно, с кристаллоносной обкладкой; фрагменты луба с ситовидными трубками; фрагменты или группы сетчатых сосудов различного диаметра со щелевидными окаймленными порами, нередко в сопровождении пучков волокон (членики широких сосудов, как правило короткие, бочковидные); фрагменты пробки, состоящие из нескольких слоев многоугольных клеток.

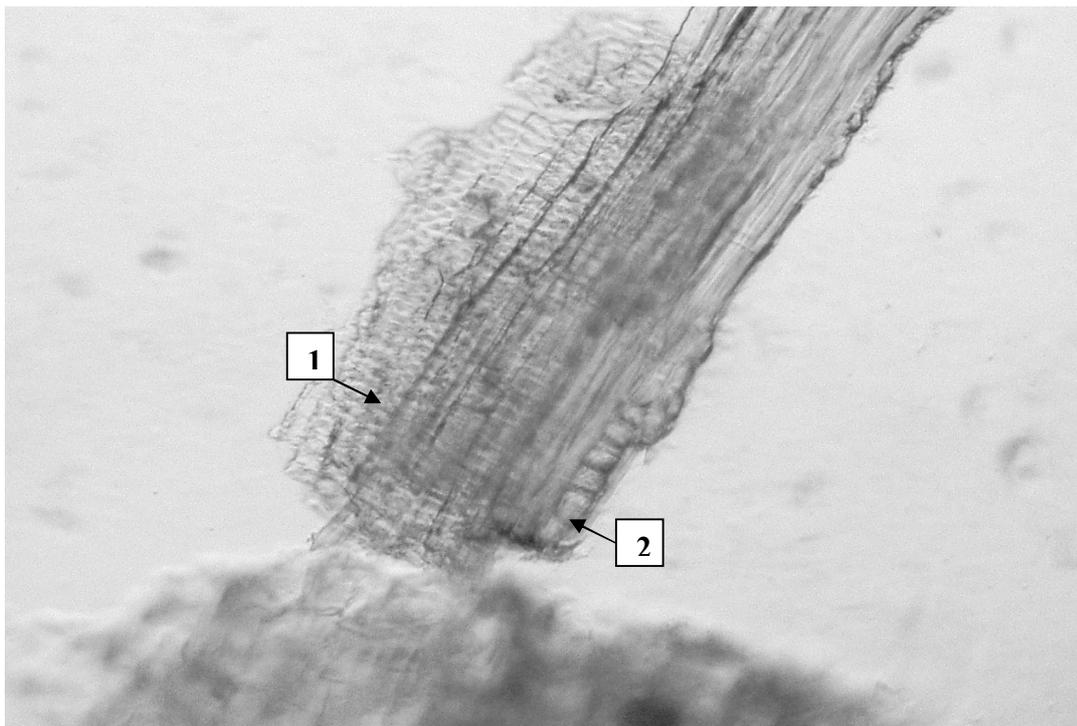


Рис. Давленный микропрепарат ГРП солодки, увел x400 1. фрагмент проводящего сосуда; 2. фрагмент кристаллоносной обкладки

Определение основных групп биологически активных веществ.

Тонкослойная хроматография.

Раствор стандартного образца (СО) глицирризиновая кислота. Около 0,005 г СО моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты растворяют в 1 мл смеси спирт 96%- вода (1:1) и перемешивают. Срок годности раствора не более 3-х месяцев при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор СО кверцетина. Около 0,001 г СО кверцетина растворяют в 10 мл спирта 96% и перемешивают. Срок годности раствора более 3-х месяцев при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 0,5 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, помещают в коническую колбу со шлифом, вместимостью 100 мл, приливают 10 мл смеси спирт 96%-вода (1:1) и кипятят с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения

до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором наносят 5 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл растворов СО глицирризиновой кислоты и СО кверцетина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру (без предварительного насыщения) со смесью растворителей бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (7:1:2) 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, и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

На хроматограмме растворов СО глицирризиновой кислоты раствора СО кверцетина должны обнаруживаться темная зона адсорбции (глицирризиновая кислота) и над ней темная зона адсорбции (кверцетин).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться 2 основные темные зоны адсорбции на уровне зон на хроматограммах раствора СО глицирризиновой кислоты и раствора СО кверцетина, 1 или 2 менее выраженные зоны адсорбции между зонами адсорбции СО. Допускается обнаружение других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. Не более 10 %.

Зола общая. Содержание золы общей, не более 8%.

Зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте. Содержание – не более 2,5%.

Измельченность. Содержание гранул резано-прессованных и их частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм – не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,18 мм – не более 5%.

Насыпная плотность. Насыпная плотность гранул резано-прессованных должна находиться в пределах от 0,50 г/мл до 0,59 г/мл.

Распадаемость. Распадаемость гранул резано-прессованных не более 5 мин.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. Содержание радионуклидов цезия-137 Бк/кг, не более 400; Содержание радионуклидов стронция-90 Бк/кг, не более 200. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. Определение проводят согласно ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. Определение проводят согласно ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Содержание глицирризиновой кислоты не менее 3,0 %.

Приготовление растворов.

Раствор ортофосфорной кислоты 0,5 %. 5 мл ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Фильтруют через фильтр типа «Миллипор» с размером пор 0,45 мкм или аналогичный.

Приготовление подвижной фазы. 0,5 % ортофосфорной кислоты и ацетонитрил в соотношении 60:40.

Подвижную фазу дегазируют любым удобным способом.

Срок годности подвижной фазы 7 суток.

Растворитель. Метанол и вода для хроматографии в соотношении 30:70.

Раствор стандартного образца. Около 0,0165 г (точная навеска) стандартного образца помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл растворителя, доводят объем растворителем до метки и перемешивают (концентрация глицирризиновой кислоты в растворе около 0,66 мг/мл). Раствор используют свежеприготовленным.

Раствор проверки чувствительности хроматографической системы (ПЧХС).

1,0 мл раствора стандартного образца помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем растворителем до метки и перемешивают (концентрация глицирризиновой кислоты в растворе около 0,0066 мг/мл). Раствор используют свежеприготовленным.

Испытуемый раствор. Около 0,5 г (точная навеска) измельченных гранул резано-прессованных солодки, проходящих сквозь сито 0,2 мм помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 100 мл растворителя, закрывают пробкой, перемешивают и обрабатывают ультразвуком в течение 30 минут. По истечении установленного времени, колбу вынимают из УЗ-ванны, дают раствору остыть в течение 10 мин, затем снова обрабатывают ультразвуком в течение 30 минут. При охлаждении раствора, в перерывах между экстрагированиями, воду в бане заменяют на свежую, с комнатной температурой. Дают раствору отстояться 10 мин. С помощью механического дозатора отбирают 5 мл раствора из центра колбы и фильтруют через фильтр типа «Миллипор» (0,45 мкм) или аналогичный, отбрасывая первый мл фильтрата. Раствор используют свежеприготовленным.

Условия хроматографирования.

Колонка	Стальная, 250 x 4,6 мм, заполненная сорбентом Luna C18(2) с размером частиц 5 мкм с предколонкой C18, 4 x 3,0 мм.
ПФ	5 % ортофосфорной кислоты : ацетонитрил - (60:40)
Скорость потока	1,0 мл/мин, изократика
Температура колонки	30 °С
Детектор	УФ, 254 нм
Объем вводимой пробы	10 мкл
Время анализа	15 мин

Система считается пригодной, если:

- Фактор асимметрии пика глицирризиновой кислоты 0,8-1,5.
- Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику глицирризиновой кислоты не менее 3000 теоретических тарелок.
- Относительное стандартное отклонение пика глицирризиновой кислоты, рассчитанное по:
 - площадям не более 2,0 %;
 - времени удерживания не более 2,0 %.
- Соотношение сигнал /шум не менее 10.

После проверки пригодности, регистрируют последовательно не менее 3 хроматограмм стандартного раствора и не менее 3 хроматограмм испытуемого раствора.

Содержание глицирризиновой кислоты в 1 г сырья в % (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \times a_0 \times 100 \times P}{S_0 \times a_x \times 25},$$

Где

S_x – площадь пика глицирризиновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – средняя площадь пика глицирризиновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора;

a_x – навеска препарата, мг;

a_0 – навеска стандартного образца, мг;

P – содержание основного вещества в стандартном образце, %

Упаковка, маркировка и транспортирование. Осуществляется в соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья»

Хранение. Хранение осуществляется в соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Субстанция растительного происхождения.

Научный руководитель доктор фарм.
наук, профессор, профессор кафедры
фармацевтического естествознания
Института фармации им. А.П.
Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова МЗ РФ
(Сеченовский Университет)

Ермакова В.А.

« » _____ 2020 г.

Исполнитель

Бровченко Б.В.

« » _____ 2020 г.

Приложение 2. Проект ФС «Гранусол. Солодки корни. Смесь порошка и гранул резано-прессованных»

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Гранусол

Солодки корни (смесь порошка и гранул резано-прессованных)

Фильтр-пакеты

Срок введения установлен

с « » 20 г.

Срок действия установлен

с « » 20 г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на дозированный лекарственный препарат, представляющий собой смесь порошка и гранул резано-прессованных из корней солодки *неочищенной* (naturales) (*Glycyrrhizae radices* (*Glycyrrhiza* L., сем. Fabaceae - бобовые), расфасованный в фильтр-пакеты.

Состав.

Солодки корней порошка (ГФ XIV изд., ФС.2.5.0040.15)	80%
Солодки гранул резано-прессованных (Проект ФС Солодки корни. Гранулы резано-прессованные)	20%

Внешние признаки. Смесь волокнистых кусочков солодки, резано-прессованных гранул солодки и их частей разной формы от желтого, серовато-желтого, коричневатого-желтого, светло-коричневого до коричневого или темно-коричневого цвета, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Запах слабый. Вкус водного извлечения приторно-сладкий.

Смесь исследуют невооруженным глазом и с помощью лупы (10х) или стереомикроскопа в соответствии с указаниями статьи ГФ РФ XIV.

При наблюдении *в стереомикроскоп* видны: волокнистые кусочки древесинной и коровой части корня желтоватого или серо-желтого цвета; рыхлой мелкозернистой структуры кусочки паренхимной ткани светло-желтого или ярко-желтого цвета; слоистые кусочки пробки и плоской формы (иногда желобовато или трубчато свернутые) темно-коричневого цвета. Гранулы изодиаметричной формы серо-коричневого, иногда темно-коричневого цвета с выступающими на поверхности желтоватыми волокнами.

Запах слабый, вкус водного извлечения сладкий, приторный, слегка раздражающий.



Рисунок-1. Смесь крупного порошка и гранул резано-прессованных
Микроскопические признаки.

При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны фрагменты тонкостенной паренхимы с призматическими кристаллами оксалата кальция; многочисленные сосуды ксилемы с пористым и смешанным типом вторичного утолщения стенок; фрагменты или группы сетчатых сосудов со щелевидными окаймленными порами; группы механических волокон; встречаются не диагностируемые растительные частицы и посторонние примесные частицы.

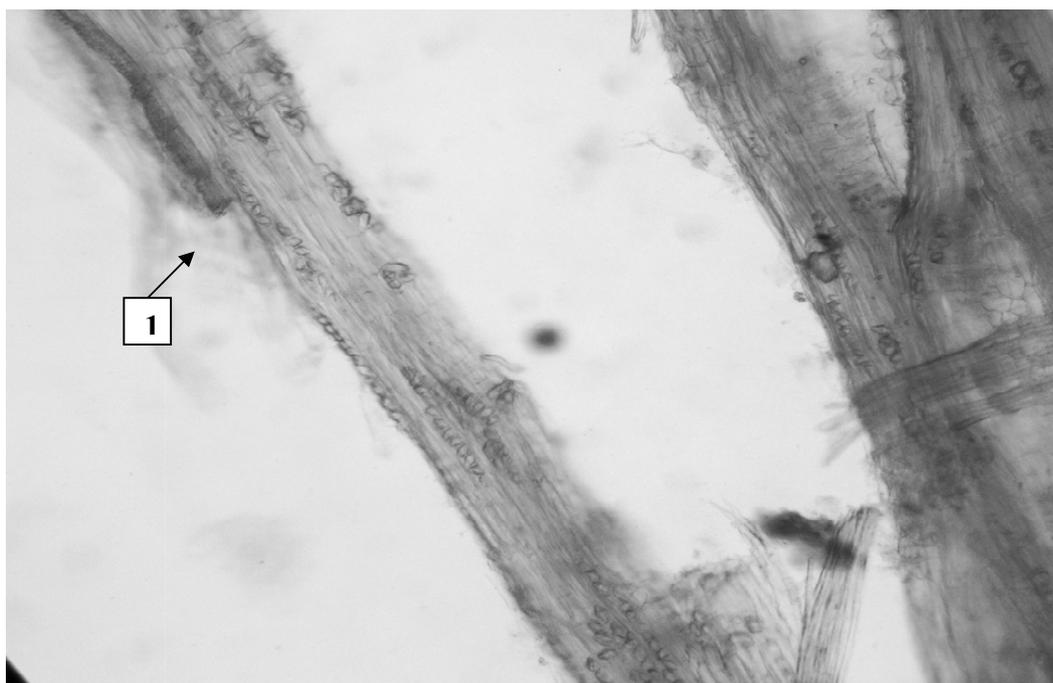


Рисунок 2 Давленный микропрепарат. Крупный порошок увел x90
1. Группа механических волокон с кристаллоносной обкладкой.

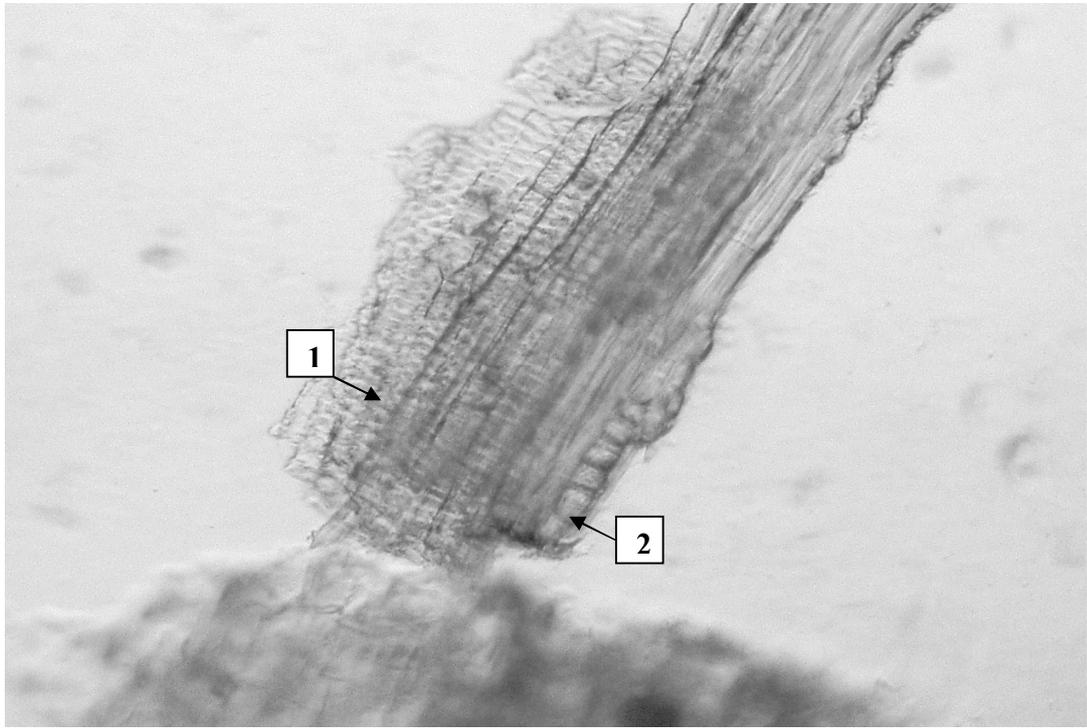


Рисунок 3 Давленный микропрепарат ГРП солодки, увел x400
1. Фрагмент проводящего сосуда 2. Фрагмент кристаллоносной обкладки

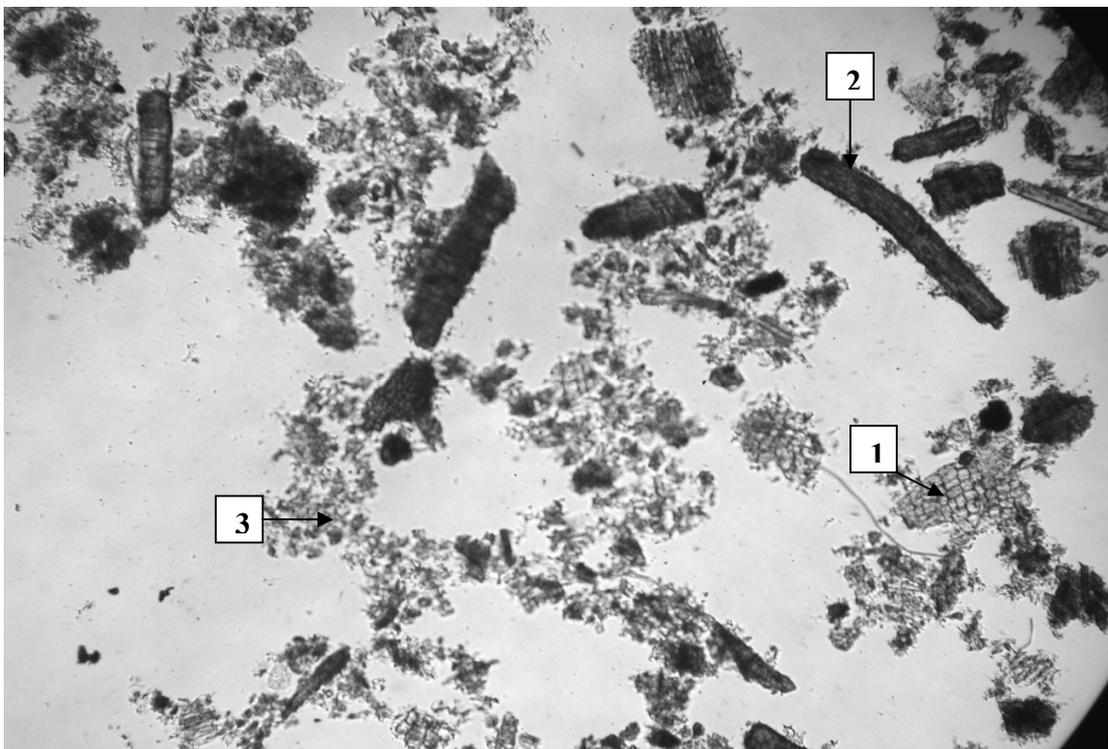


Рисунок. 4 Давленный микропрепарат. КП:ГРП (80:20), увел. x40

- 1.Фрагмент робки 2. Обрывки механических волокон
3. Группа недиагностируемых тканей

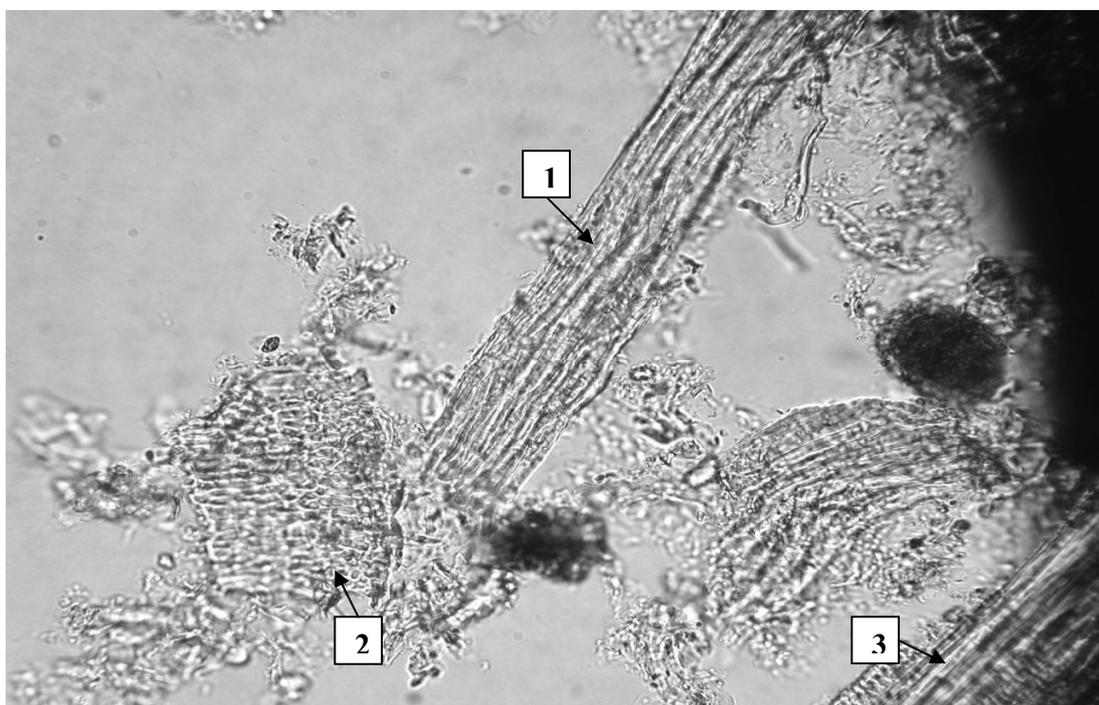


Рисунок. 5 Давленный микропрепарат КП:ГРП (80:20) увел. х200

1. Группа механических волокон 2. Пористые сосуды ксилемы
3. Группа сосудов ксилемы.

Определение основных групп биологически активных веществ.

Тонкослойная хроматография.

Раствор стандартного образца (СО) глицирризиновая кислота. Около 0,005 г СО моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты растворяют в 1 мл смеси спирт 96%- вода (1:1) и перемешивают. Срок годности раствора не более 3-х месяцев при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Раствор СО кверцетина. Около 0,001 г СО кверцетина растворяют в 10 мл спирта 96% и перемешивают. Срок годности раствора более 3-х месяцев при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 0,5 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, приливают 10 мл смеси спирт 96%-вода (1:1) и кипятят с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения

до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором наносят 5 мкл испытуемого раствора по 5 мкл растворов СО глицирризиновой кислоты и СО кверцетина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру (без предварительного насыщения) со смесью растворителей бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (7:1:2) 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, и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

На хроматограмме растворов СО глицирризиновой кислоты раствора СО кверцетина должны обнаруживаться темная зона адсорбции (глицирризиновая кислота) и над ней темная зона адсорбции (кверцетин).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться 2 основные темные зоны адсорбции на уровне зон на хроматограммах раствора СО глицирризиновой кислоты и раствора СО кверцетина, 1 или 2 менее выраженные зоны адсорбции между зонами адсорбции СО. Допускается обнаружение других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. Не более 10 %.

Зола общая. Содержание золы общей, не более 8%.

Зола, не растворимая в 10% хлористоводородной кислоте.

Содержание – не более 2,5%.

Измельченность. Содержание частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм – не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,18 мм – не более 5%.

Насыпная плотность. Насыпная плотность может варьировать от 0,26 до 0,31 г/мл.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. Определение проводят согласно ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. Определение проводят согласно ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Условия хроматографирования:

Колонка	Стальная, 250 x 4,6 мм, заполненная сорбентом Luna C18(2) с размером частиц 5 мкм с предколонкой C18, 4 x 3,0 мм.
ПФ	5 % ортофосфорной кислоты : ацетонитрил - (60:40)
Скорость потока	1,0 мл/мин, изократика
Температура колонки	30 °С
Детектор	УФ, 254 нм
Объем вводимой пробы	10 мкл
Время анализа	15 мин

Приготовление 0,5 % раствора ортофосфорной кислоты. 5 мл ортофосфорной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Фильтруют через фильтр типа «Миллипор» с размером пор 0,45 мкм или аналогичный. Приготовление подвижной фазы. 0,5 % ортофосфорной кислоты и ацетонитрил в соотношении 60:40. Подвижную фазу дегазируют любым удобным способом. Срок годности подвижной фазы 7 суток.

Растворитель. Метанол и вода для хроматографии в соотношении 30:70.

Приготовление раствора стандартного образца. Около 0,0165 г (точная навеска) стандартного образца помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл растворителя, доводят объем растворителем до метки и перемешивают (концентрация глицирризиновой кислоты в растворе около 0,66 мг/мл). Раствор используют свежеприготовленным.

Раствор проверки чувствительности хроматографической системы (ПЧХС). 1,0 мл раствора стандартного образца помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем растворителем до метки и перемешивают (концентрация глицирризиновой кислоты в растворе около 0,0066 мг/мл). Раствор используют свежеприготовленным.

Испытуемый раствор. Около 0,5 г (точная навеска) измельченных корней солодки, размером частиц проходящих сквозь сито 0,2 мм помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 100 мл растворителя, закрывают пробкой, перемешивают и обрабатывают ультразвуком в течение 30 минут. По истечении установленного времени, колбу вынимают из УЗ-ванны, дают раствору остыть в течение 10 мин, затем снова обрабатывают ультразвуком в течение 30 минут. При охлаждении раствора, в перерывах между экстрагированиями, воду в бане заменяют на свежую, с комнатной температурой. Дают раствору отстояться 10 мин. С помощью механического дозатора отбирают 5 мл раствора из центра колбы и фильтруют через фильтр типа «Миллипор» (0,45 мкм) или аналогичный, отбрасывая первый мл фильтрата.

Раствор используют свежеприготовленным.

Система считается пригодной, если:

- Фактор асимметрии пика глицирризиновой кислоты 0,8-1,5

- Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику глицирризиновой кислоты не менее 3000 теоретических тарелок
- Относительное стандартное отклонение пика глицирризиновой кислоты, рассчитанное по:
 - площадям не более 2,0%
 - времени удерживания не более 2,0%
 - Соотношение сигнал /шум не менее 10

После проверки пригодности, регистрируют последовательно не менее 3 хроматограмм стандартного раствора и не менее 3 хроматограмм испытуемого раствора.

Содержание *глицирризиновой кислоты* в 1 г сырья в % (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_x \times a_0 \times 100 \times P}{S_0 \times a_x \times 25},$$

S_x – площадь пика глицирризиновой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – средняя площадь пика глицирризиновой кислоты на хроматограмме стандартного раствора;

a_x – навеска препарата, мг;

a_0 – навеска стандартного образца, мг;

P – содержание основного вещества в стандартном образце, %

Упаковка, маркировка и транспортирование. Осуществляется в соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья»

Хранение. Хранение осуществляется в соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Лекарственный препарат для приготовления настоя.

Научный руководитель доктор фарм.
наук, профессор, профессор кафедры
фармацевтического естествознания
Института фармации им. А.П.
Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова МЗ РФ
(Сеченовский Университет)

Ермакова В.А.

« » _____ 2020 г.

Исполнитель

Бровченко Б.В.

« » _____ 2020 г.

Приложение 3. Проект Инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата растительного происхождения Гранусол

ИНСТРУКЦИЯ

по медицинскому применению лекарственного препарата

СОЛОДКИ КОРНИ

Торговое название препарата: Гранусол

МНН: Glycyrrhizae radices

Лекарственная форма. Смесь порошка корней солодки и гранул резано-прессованных корней солодки

Состав: порошка корней солодки – 80%

гранул резано-прессованных корней солодки – 20%

Характеристика.

Смесь корней солодки содержат глицирризин, глицирризиновую, глицирретовую кислоты и их производные, флавоноиды, слизистые и другие биологически активные соединения.

Описание.

Кусочки корней и гранул различной формы, от желтого до серовато-коричневого или коричневого цвета, с темно-коричневыми вкраплениями, волокнистые. Запах слабый. Вкус водного извлечения сладкий, приторный, слегка раздражающий.

Фармакотерапевтическая группа.

Отхаркивающее средство растительного происхождения.

Фармакологическое действие.

Отхаркивающее и противовоспалительное действие.

Показания к применению.

В комплексной терапии инфекционно-воспалительных заболеваний дыхательных путей (главным образом при наличии трудноотделяемого, густого и вязкого секрета); гиперацидный гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки (в составе комплексной терапии).

Противопоказания.

Повышенная чувствительность к препаратам солодки; беременность, период грудного вскармливания, детский возраст до 1 года; гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, бронхиальная астма в период обострения.

Способ применения и дозы. 2 фильтр-пакета (3 г) помещают в эмалированную или стеклянную посуду, заливают 100 мл (0,5 стакана) кипящей воды, закрывают крышкой, настаивают в течение 30 минут, процеживают, пакет отжимают. Объем полученного настоя доводят кипяченой водой до 100 мл.

Принимают внутрь: взрослые и дети старше 12 лет - по 1 столовой ложке 3-4 раза в день, дети от 5 до 12 лет – по 1 десертной ложке 3-4 раза в день, дети от 3 до 5 лет – по 1 десертной ложке 2-3 раза в день, дети от 1 года до 3 лет – по 1 чайной ложке 2-3 раза в день.

Курс лечения - 2-3 недели.

Перед применением настой рекомендуется взбалтывать.

Побочное действие.

Возможны аллергические реакции; в отдельных случаях - диспепсические явления (диарея).

Передозировка.

При длительном применении в дозах, превышающих рекомендованные, возможно повышение артериального давления, гипокалиемия, появление периферических отеков.

Особые указания.

Перед применением препарата следует проконсультироваться с врачом.

Форма выпуска. Смесь порошка корней солодки и гранул резано-прессованных по 1,5 г в фильтр-пакетах в пачках картонных.

Условия хранения.

В сухом, защищенном от света месте; приготовленный настой – в прохладном месте не более 2-х суток.

Срок годности.

3 года.

Не использовать по истечении срока годности, указанного на упаковке.

Условия отпуска из аптек.

Без рецепта.

Научный руководитель доктор фарм.
наук, профессор, профессор кафедры
фармацевтического естествознания
Института фармации им. А.П.
Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова МЗ РФ
(Сеченовский Университет)

Ермакова В.А.

« » _____ 2020 г.

Исполнитель

Бровченко Б.В.

« » _____ 2020 г.