

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

На правах рукописи

ГРЕЦКИЙ СЕРГЕЙ ВАЛЕРЬЕВИЧ

**РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО
ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ
РАБОТОСПОСОБНОСТИ НА ОСНОВЕ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ**

14.04.01 – Технология получения лекарств

Диссертация на соискание учёной степени кандидата фармацевтических
наук

Научный руководитель:
кандидат фармацевтических наук,
доцент Павлова Людмила Анатольевна.

Москва – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Использование средств коррекции работоспособности в спорте высоких достижений при занятиях физической культурой, а также в профессиональной деятельности, протекающей в экстремальных условиях	13
1.2 Адаптогены	16
1.2.1 Корневища и корни родиолы розовой (<i>Rhizomata et radices Rhodiolae rosea</i>).	25
1.3 Гепатопротекторные средства.....	28
1.4 Витамины.....	31
1.5 Минералы и микроэлементы	31
1.5.1 Плоды шиповника собачьего (<i>Fructus Rosae canina</i>)	34
1.5.2 Столбики с рыльцами кукурузы (<i>Styli cum stigmatibus Zea maydis</i>)	35
1.6 Обоснование лекарственной формы нового комбинированного препарата для повышения работоспособности	39
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	46
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЙ	47
2.1 Объекты исследований.....	47
2.2 Материалы и вспомогательные вещества	47
2.3 Методы и методики исследования.....	48
2.3.1 Определение числовых показателей растительного сырья.....	49
2.3.2 Определение технологических показателей сухих экстрактов растительного сырья, вспомогательных веществ и гранулятов.....	49
2.3.2.1 Микроскопическое изучение сухих экстрактов	49
2.3.2.2 Определение фракционного состава порошков, субстанций и гранулятов	49
2.3.2.3 Определение насыпного объема порошков, субстанций и гранулятов ...	50
2.3.2.4 Определение сыпучести порошков, субстанций и гранулятов	50
2.3.2.5 Определение влагосодержания	50

2.3.2.6	Определение гигроскопичности.....	50
2.3.2.7	Определение тяжелых металлов.....	50
2.3.3	Определение показателей качества готовой лекарственной формы – твердых желатиновых капсул с комбинацией сухих экстрактов.....	50
2.3.3.1	Однородность массы.....	51
2.3.3.2	Однородность дозирования.....	51
2.3.3.3	Распадаемость капсул.....	51
2.3.3.4	Растворение капсул.....	51
2.3.3.5	Микробиологическая чистота капсул.....	51
2.3.3.6	Срок годности капсул.....	51
2.3.4	Методики количественного определения БАВ в составе ЛРС, сухих экстрактов и гранулятов.....	52
2.3.4.1	Подготовка проб для хроматографического анализа.....	52
2.3.4.1.1	ЛРС.....	52
2.3.4.1.2	Сухой экстракт.....	52
2.3.4.1.3	Гранулят.....	52
2.3.4.1.4	Твердые желатиновые капсулы (готовая ЛФ).....	53
2.3.4.2	Количественное определение аскорбиновой кислоты методом ВЭЖХ...53	
2.3.4.3	Количественное определение хлорогеновой кислоты и кверцетина методом ВЭЖХ.....	54
2.3.4.4	Количественное определение рутина методом ВЭЖХ.....	55
2.3.4.5	Количественное определение розарина, розавина, розина, салидрозида и тирозола методом ВЭЖХ.....	56
2.3.4.6	Разработка количественного определения витаминов А, В ₁ , В ₂ , В ₆ , D ₃ , К методом ВЭЖХ/МС.....	57
2.3.4.6.1.	Определение витамина А.....	57
2.3.4.6.2	Определение витамина В ₁	57
2.3.4.6.3	Определение витамина В ₂	58
2.3.4.6.4	Определение витамина В ₆	58

2.3.4.6.5 Определение витамина С.....	58
2.3.4.6.6 Определение витамина D ₃	59
2.3.4.6.7 Определение витамина К.....	59
2.3.3. Статистические методы анализа.....	59
2.3.4 Валидация аналитических методик.....	60
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 2.....	61
ГЛАВА 3. СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРОДУКТОВ И ПОЛУПРОДУКТОВ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ, ШИПОВНИКА СОБАЧЬЕГО И КУКУРУЗЫ МАЙСКОЙ.....	
3.1 Разработка методик подлинности и количественного определения биологически активных веществ в растительном сырье (корневища и корни родиолы розовой, шиповник собачий), извлечениях, готовом продукте.....	62
3.2 Валидация методик определения БАВ.....	67
3.3 Определение витаминов в лекарственном растительном сырье кукурузы майской методом ВЭЖХ/МС.....	73
3.3.1 Разработка методики количественного определения витаминов методом ВЭЖХ/МС.....	74
3.3.2 Хроматографические условия.....	74
3.3.3 Условия ионизации молекулы в масс-спектрометрии.....	75
3.3.4 Масс-спектроскопические параметры.....	76
3.3.5 Количественное определение.....	76
3.3.6 Определение витаминов в ЛРС и СЭ столбиков с рыльцами кукурузы....	77
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3.....	78
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ, ШИПОВНИКА СОБАЧЬЕГО И СТОЛБИКОВ С РЫЛЬЦАМИ КУКУРУЗЫ	
4.1 Получение сухого экстракта родиолы розовой и оценка его качества	79

4.2 Получение сухого экстракта из плодов шиповника собачьего, и оценка его качества.....	85
4.3 Получение сухого экстракта из столбиков с рыльцами кукурузы и оценка его качества.....	94
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4.....	102
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ КАПСУЛ С КОМПЛЕКСОМ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ, ШИПОВНИКА СОБАЧЬЕГО И СТОЛБИКОВ С РЫЛЬЦАМИ КУКУРУЗЫ..	103
5.1 Микроскопическое исследование сухих экстрактов ЛРС: родиолы розовой, шиповника собачьего и столбиков с рыльцами кукурузы (СЭРШК).....	103
5.2 Получение смеси сухих экстрактов СЭРШК и исследование физико-химических и технологических свойств смеси	105
5.3 Определение гигроскопичности смеси СЭРШК	107
5.4 Исследование технологических свойств наполнителей.....	108
5.5 Получение гранулятов растительных экстрактов СЭРШК и оценка их технологических свойств.....	110
5.6 Наполнение твердых желатиновых капсул гранулятом смеси СЭРШК-9.	119
5.7 Определение показателей качества капсул СЭРШК-9.....	121
5.8 Установление срока годности капсул СЭРШК-9.....	123
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5.....	125
ГЛАВА 6 ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КАПСУЛ С ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ.....	126
6.1 Определение острой токсичности	126
6.2 Определение актопротекторного действия	127
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6.....	131
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	132
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАВШИХСЯ В РАБОТЕ.....	133
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	135
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	154

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В настоящее время перед фармакологией спорта остро стоит проблема поиска эффективных и безопасных лекарственных средств (ЛС), способствующих повышению спортивных результатов, ускоряющих восстановительные процессы после нагрузки, снижающих их негативные последствия и улучшающих качество жизни спортсменов. Одним из перспективных направлений в создании лекарственных средств, применяемых в фармакологическом сопровождении спортсменов, является использование комбинации актопротекторов, гепатопротекторов и витаминов.

Среди препаратов с актопротекторной активностью выделяют специфические (бемитил и др. производные имидазола), синтетические (мексидол, вита-мелатонин), витаминные препараты (В, С, Р, Е) и препараты растительного происхождения (экстракты женьшеня, лимонника, родиолы розовой и др.). При этом представляют несомненный интерес ЛС, включающие комплекс актопротекторов, гепатопротекторов и витаминов. В качестве таких средств на российском рынке сегодня представлены только биологически активные добавки, например, Адаптон, Леветон, Элтон и др. [29, 67, 119, 120].

В то же время, известны лекарственные растения, обладающие актопротекторными и гепатопротекторными свойствами. Родиола розовая (*Rhodiola rosea*) известна как одно из растений, обладающих адаптогенными и актопротекторными свойствами, обеспечивающими быстрое восстановление организма после перенесенной нагрузки. Немаловажным фактором является также наличие у Родиолы розовой антигипоксического, антистрессорного, антитоксического и антиоксидантного эффектов [7, 63, 69, 129, 155, 159, 173].

Целесообразность введения в состав комбинированного препарата плодов шиповника собачьего (*Fructus Rosae*) обусловлена наличием у него гепатопротекторного действия [4, 63].

Кроме того, восстановительным процессам в организме необходимы витамины, флавоноиды, микроэлементы, которые содержатся в столбиках с рыльцами кукурузы [24, 87, 156, 181, 187].

Использование комбинаций лекарственных растений, которые в силу своего химического состава, обладают сочетанным действием на организм и имеют при этом невысокий уровень побочных реакций, позволяет решить указанную выше проблему [19, 29, 63, 119, 120].

В то же время, до настоящего времени не разработаны лекарственные средства, содержащие в своем составе комплекс лекарственных растений, обеспечивающих максимальную актопротекторную эффективность применения в спортивной медицине, что обусловило актуальность выбранной темы и стало целью настоящих исследований.

Степень разработанности темы исследования. Разработка эффективных и безопасных лекарственных средств, способствующих восстановительным процессам после нагрузок и снижающих негативные последствия последних, представляет огромный интерес. До настоящего времени не проводилась разработка состава и технологии получения комбинированного лекарственного средства на основе родиолы розовой, шиповника собачьего и кукурузы майской в виде твердых желатиновых капсул с гранулированными сухими экстрактами.

Цель и задачи исследования. разработка и исследование комплексного лекарственного средства на основе родиолы розовой, шиповника собачьего и кукурузы майской, обладающего адаптогенным и актопротекторным действием, обеспечивающим повышение работоспособности.

Задачи исследования:

- 1) Провести информационно-аналитическое исследование в отношении лекарственного растительного сырья (ЛРС), входящего в состав ЛС, его химического состава, фармакологической активности, применения, процессов выделения суммы действующих веществ из него и различных аспектов создания лекарственной формы (ЛФ);
- 2) Разработать ресурсосберегающую технологию получения сухих экстрактов из корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника собачьего и столбиков с рыльцами кукурузы;

- 3) Разработать состав и технологию получения комбинированного ЛС в виде твёрдых желатиновых капсул;
- 4) Определить показатели качества полученных сухих экстрактов и ЛФ на их основе. Отработать оригинальные ВЭЖХ методики по определению показателей подлинности и количественного содержания действующих веществ в ЛРС, сухих экстрактах и готовой ЛФ;
- 5) Исследовать эффективность разработанного ЛС: изучить специфическую активность и осуществить подбор дозы путём исследования на животных;
- 6) Разработать НД на капсулы комплексного препарата родиолы розовой;
- 7) Разработать лабораторный регламент на производство комплексного препарата на основе лекарственного растительного сырья родиолы розовой в твердых желатиновых капсулах.

Научная новизна. Впервые разработана технология получения сухих экстрактов (СЭ) из корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника собачьего и столбиков с рыльцами кукурузы с использованием различных методов экстрагирования. Впервые разработана технология гранулирования смеси данных СЭ современным методом влагоактивизированной грануляции (ВАГ), позволяющим получить продукт с необходимыми технологическими свойствами. Впервые разработана технологическая схема и обоснованы технологические параметры получения лекарственной формы (твёрдые желатиновые капсулы) из сухих экстрактов ЛРС. Предложены и отработаны оригинальные варианты методик ВЭЖХ по определению показателей подлинности и количественного содержания действующих веществ в СЭ и готовой ЛФ (подбраны подвижные фазы, градиент, температура колонки, скорость потока растворителей,). Изучена эффективность и безопасность разработанного комбинированного ЛС *in vivo*: определена острая токсичность и актопротекторное действие.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования. На основании проведенных исследований научно обоснована целесообразность выбора метода экстракции для получения СЭ с высоким содержанием действующих веществ для исследуемого ЛРС и показана перспективность применения ВАГ. Практическая

значимость работы заключается в подборе состава гранулята, содержащего СЭ ЛРС и разработке на технологической схеме получения твёрдых желатиновых капсул; отработке оригинальных вариантов методик ВЭЖХ для подтверждения подлинности и определения содержания действующих веществ в СЭ и готовой ЛФ; разработке комбинированного ЛС в виде твердых желатиновых капсул на основе СЭ родиолы розовой, плодов шиповника собачьего, столбиков с рыльцами кукурузы, обладающего актопротекторным и адоптагенным действием.

Основные положения, выносимые на защиту:

- 1) Результаты исследования по подбору наиболее эффективных методов экстрагирования действующих веществ из корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника собачьего, столбиков с рыльцами кукурузы;
- 2) Результаты качественного и количественного анализа извлечений, полученных из ЛРС;
- 3) Результаты изучения фармако-технологических свойств полученных сухих экстрактов корневищ с корнями родиолы розовой, плодов шиповника собачьего, столбиков с рыльцами кукурузы;
- 4) Результаты обоснования состава, технологии и стандартизации твёрдых желатиновых капсул с полученными сухими экстрактами;
- 5) Результаты оценки фармакологической эффективности полученного комбинированного препарата из ЛРС на основе родиолы розовой, шиповника собачьего, кукурузы майской.

Методология и методы исследования. Методологическую основу исследования составили работы российских ученых (Давыдовой В.Н., Николаевой И.Г., Кауховой И.Е., Деминой Н.Б. и др.) в области разработки научных основ получения лекарственных средств на основе ЛРС.

В ходе проведения экспериментальных исследований были использованы различные методы экстракции (противоточное многоступенчатое экстрагирование, мацерация с принудительной циркуляцией экстрагента, вакуум-фильтрационная экстракция, реперколяция с законченным циклом), а также метод ВАГ. Для определения показателей качества полученных извлечений, сухих экстрактов и

гранулятов, использованы методы градиентной ВЭЖХ, ВЭЖХ/МС, комплекс фармакопейных физико-химических и технологических методов анализа, математические методы анализа и обработки результатов.

Достоверность научных положений и выводов. Степень достоверности результатов диссертационной работы подтверждается использованием современных методик исследования, сертифицированного оборудования, валидацией методик анализа и статистической обработкой экспериментальных данных.

Апробация результатов исследования. Основные положения экспериментальных исследований диссертационной работы представлены и обсуждены на международной научно-практической конференции «Новые химико-фармацевтические технологии» (2012, Москва); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» (2013, Санкт-Петербург); научно-практической конференции «Аспирантские и докторантские чтения: моделирование научного исследования – форсайт-технологии» (2013, Москва); научно-практической конференции «Современные аспекты использования РС и сырья природного происхождения в медицине» (2013, Москва); Научном совете НИИ фармации «Достижения и перспективы молодых ученых НИИ фармации» (2014, Москва); межкафедральной конференции кафедр фармацевтической технологии, фармацевтической технологии и фармакологии, фармацевтического естествознания Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (ноябрь 2018, Москва).

Личный вклад автора. Автором лично были определены цели и задачи исследования, разработаны методологические подходы к их решению, проведён анализ научной литературы, проведены экспериментальные исследования, анализ полученных результатов и их статистическая обработка. Автором написаны публикации и проект лабораторного регламента. Диссертация и автореферат написаны лично автором. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном его участии в качестве исполнителя на всех этапах исследования.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования внедрены в учебный процесс курса фармацевтической технологии, кафедры организации фармацевтической деятельности фармацевтического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России (Акт внедрения от 29.12.2014 года), в учебный процесс и научную деятельность кафедры фармацевтической технологии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России (Акт внедрения от 07.12.2018 года), в учебный процесс и научную деятельность кафедры фармацевтической технологии и фармакологии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Акт внедрения от 07.12.2018 года), разработан проект НД и лабораторный регламент на производство комплексного препарата на основе ЛРС родиолы розовой в твердых желатиновых капсулах. Апробация технологии разработанного ЛС проведена на базе предприятия ООО «Хармс» (Акт апробации технологии № 3 от 25.05.2018 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.01 – «технология получения лекарств» (фармацевтические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3 и 4 паспорта специальности 14.04.01 - Технологии получения лекарств.

Связь задач исследования с проблемами фармацевтической науки. Работа выполнена в соответствии с тематикой и планом ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России «Развитие научных и научно-методических основ, базовых и инновационных подходов при разработке, внедрении и применении лекарственных средств» (№ государственной регистрации 01201261653).

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 167 страницах машинописного текста (134 страницы основного текста), состоит из введения, обзора литературы, главы 2, посвященной объектам и методам исследования, 3-6 глав собственных исследований, общих выводов, списка

литературы, приложений, содержит 43 таблицы и 38 рисунков. Библиографический указатель включает 190 источников, из которых 40 на иностранных языках.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 12 печатных работ, в том числе 4 статьи опубликованы в изданиях, входящих в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации, рекомендуемых ВАК РФ, 1 статья - в зарубежном журнале.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Использование средств коррекции работоспособности в спорте высоких достижений, при занятиях физической культурой, а также в профессиональной деятельности, протекающей в экстремальных условиях

В современном обществе в последнее время постоянно повышается значимость спорта, растет его коммерциализация, что влечет внедрение современных достижений спортивной фармакологии в практику подготовки спортсменов. Тенденция ориентации на силу и здоровье постепенно распространяется и на более широкие слои общества. Под влиянием средств массовой пропаганды резко возрос интерес населения к практике здорового образа жизни: выполнению регулярных физических упражнений для укрепления здоровья, предупреждения заболеваний, повышения устойчивости, сопротивляемости и поддержанию тонуса организма. *(Согласно Всероссийскому центру изучения общественного мнения (ВЦИОМ), за последние 7 лет, число людей, ежедневно проявляющих физическую активность в РФ, выросло с 6 до 10 %, а несколько раз в неделю – с 8 до 14 %) [113, 115, 118].* Кроме того, повышаются требования к результатам выполнения профессиональных задач лицами, деятельность которых происходит в экстремальных условиях.

В целом, увеличение нагрузок, как физического, так и психоэмоционального характера, характерно для современного человека [18, 37, 104, 107, 132]. Однако, их влияние при предельных величинах нагрузки, негативно сказывается на здоровье человека, способствуя развитию перенапряжения, переходных и предпатологических состояний [44, 62, 121]. В условиях нервных и физических напряжений, при частой смене климатических и временных условий, у человека нарушается механизм компенсаторных функций организма. На этом фоне, в организме, наряду с комплексом защитных реакций различного характера, которые характеризуются как утомление, обнаруживаются резкие сдвиги гомеостаза, что неизбежно ведёт к физическому перенапряжению, снижению работоспособности и иммунитета [39, 59, 77, 144].

Несмотря на то, что в настоящее время не существует общепризнанной

теории возникновения утомления, многие ученые в качестве активатора процесса рассматривают накопление продуктов энергетического обмена и недостаток источников энергии для выполнения работы [5, 90, 105, 158].

В спорте и профессиях, сравнимых с ним по затрачиваемым усилиям, запредельные нагрузки постоянны. В связи с этим, в практику активно внедряются фармакологические препараты и БАД: аминокислоты, витамины, адаптогены, анаболизаторы, энергизаторы, гепатопротекторы, иммуномодуляторы, а также их комбинации [29].

Применительно к спортивной медицине и фармакологии использование фармакологически активных препаратов и БАД в значительной степени зависит от этапов процесса спортивной деятельности.

Для достижения максимальных спортивных результатов процесс спортивной деятельности разбивают на периоды (этапы). Выделяют подготовительный, базовый, предсоревновательный, соревновательный и восстановительный периоды.

В подготовительном периоде спортсмен подготавливает организм к восприятию физических и психоэмоциональных нагрузок. На этом этапе рекомендуется приём поливитаминных комплексов, в частности витаминов группы В, для регуляции пластического обмена, чему, к тому же, способствуют препараты анаболизирующего профиля. Также рационален приём препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, для поддержания синтеза АТФ и процессов клеточного дыхания [21, 41, 80, 165].

В базовом периоде начинаются интенсивные тренировки и поэтому необходим приём иммуномодуляторов, для поддержания полной функциональности иммунной системы. Наряду с этим, рекомендуется приём антигипоксантов - средств, улучшающих реологические свойства крови, гепатопротекторов и ноотропов [19, 22, 127, 142].

В предсоревновательном периоде проводится непосредственно подведение спортсмена к соревновательному периоду. Значительно сокращается количество применяемых фармакологических средств. Рекомендуется снижение

объёма поливитаминных препаратов, а для предотвращения падения мышечной массы и ускорению процессов адаптации к возможным изменениям условий среды – прием адаптогенов и витамина Е. Применение иммуномодулирующих препаратов по-прежнему остаётся необходимым условием.

Задачами спортивной фармакологии в соревновательный период являются максимальная реализация возможностей спортсмена, поддержание его работоспособности на высоком уровне, подавления при этом, нежелательных реакций. Поэтому количество принимаемых препаратов является минимальным. Основное внимание уделяется адаптогенам, энергонасыщенным, актопротекторным препаратам и ноотропам. Это позволяет ускорить процессы восстановления между нагрузками, обеспечить стимуляцию процессов клеточного дыхания и высокую сократительную способность мышечных волокон [8, 29, 62].

На восстановительном этапе, в основном, происходит восстановление организма после физических нагрузок. Это включает в себя выведение токсичных метаболитов, устранение перенапряжения органов и систем, подготовка к восприятию новых интенсивных физических и психоэмоциональных нагрузок. Для решения этих задач назначают витаминные комплексы, адаптогены, седативные и снотворные средства, гепатопротекторы, иммуномодуляторы, применяют тонизирующие средства. При использовании этих средств отмечается преобладание анаболических процессов над катаболическими. К группе таких препаратов относят актопротекторы – группа препаратов, повышающих устойчивость организма к физическим нагрузкам без увеличения потребления кислорода. Они непосредственно стимулируют биосинтез белков и повышают работоспособность. Показаниями к их применению являются состояния, возникающие при интенсивных физических нагрузках [73, 168].

Выделяют 4 группы препаратов с актопротекторной активностью: 1) специфические (бемитил и другие производные имидазола); 2) синтетические (мексидол, вита-мелатонин); 3) витаминные препараты группы В, С, Р, Е; 4)

препараты растительного происхождения (экстракты женьшеня, лимонника, родиолы розовой и др.) [29, 121].

1.2 Адаптогены

Адаптогены представляют собой лекарственные средства, проявляющие общетонизирующие свойства, влияющие на деятельность основных органов и систем. Они способствуют укреплению организма при неблагоприятных условиях и в стрессовых ситуациях, способствуют скорейшему восстановлению после переутомления и тяжелых физических нагрузок [2, 175].

По происхождению адаптогены делят на две группы: природные и синтетические. К синтетическим адаптогенам относят такие препараты, как дибазол [145], дибунол, фезонал калия и др. [13]. К природным адаптогенам относят препараты, получаемые из природного сырья (животные, микроорганизмы, наземные и водные растения, минеральные источники). Их эффект в значительной степени проявляется на фоне утомления, реализуя действие через нервную и гипофиз-адреналовую системы [8, 91].

Растения, использующиеся как источник получения адаптогенов, произрастают в различных регионах земного шара. В Южной Америке используют извлечения из падуба парагвайского (*Ilex paraguariensis*), ункарии (*Uncaria Tomentosa*), гуараны (*Paullinia cupana*), сарсапариллы (*Smilax officinalis*), тернеры раскидистой (*Turnera diffusa*), брунфельсии (*Brunfelsia australis*, *Brunfelsia calycina*, *Brunfelsia hopeana*, *Brunfelsia lactea*, *Brunfelsia latifolia* и др. виды) муиры пуама или катуабы (*Ptychopetalum olacaceae olacoides*), макуны (*Mucuna pruriens*) [151, 152, 167].

К числу растений – источников адаптогенов Северной Америки относят баптизию (*Baptisia australis*, *Baptisia tinctoria*, *Baptisia leucantha*), хамелириум желтый (*Chamaelirium luteum*), гидрастис канаденсис (*Hidrastis canadensis*), стилингию сильватику (*Stillingia sylvatica*), горный виноград (*Vitis monticola*), лаконос или фитолакку американскую (*Phytolacca americana*) и др. [151].

В Африке произрастают мартиния душистая (*Harpagophytum procumbens*), сутерландия кустарниковая (*Sutherlandia frutescens*), готу-кола

(*Centella asiatica*), ро́йбуш (*Aspalathus linearis*), ирвингия габонская (*Irvingia gabonensis*) и другие виды растений, широко используемые как в народной, так и в аллопатической медицине, как адаптогены [161, 162, 207].

Растения Китая, широко используемые, как адаптогены: гиностемма (*Gynostemma pentaphyllum* и др. виды), солодка (*Glycyrrhiza glabra*), кодонопсис (*Codonopsis tangshen*), унаби (*Ziziphus jujuba*), гинкго билоба (*Ginkgobiloba*), а также грибы: кордицепс (*Cordyceps*), рейши (трутовик лакированный/*Ganoderma Lucidum*), мейтаке (грифола курчавая/*Grifola frondosa*), пория кокосовидная (*Wolfiporia extensa*).

К растениям - источникам адаптогенов Юго-Западной Азии, относят гарцинию камбоджийскую (*Garcinia cambogia*), базилик священный (*Ocimum sanctum*), шалфей многокорневищный (*Salvia multiorrhiza*). Кроме того, широко применяется лист камелии китайской (*Camélliasinénsis*), обработанный различными способами и известный, как черный, зеленый, белый и пр. чай [164, 171].

Адаптогенные средства широко используются в аюрведической медицине (Индия). К их числу относятся извлечения из эмблики лекарственной (*Emblica officinalis*), различных видов растений семейства комбретовых (*Combretaceae*), получивших название мироболана, а также эглы мармеладной или бенгальской айвы (*Aegle marmelos*), премны широколистной (*Premna latifolia*), витании снотворной (*Withania somnifera*), азадирахты индийской (*Azadirachta indica*), гмелины древесной (*Gmelina arborea*), стереосперма душистого (*Stereospermum suaveolens*), десмодия гангского (*Desmodium gangeticum*), представители различных видов *Uraria* (семейство *Fabaceae*), и других растений [159, 178, 179, 188].

На территории Российской Федерации наиболее известными и распространёнными природными адаптогенами (табл. 1.1) являются препараты из растений, произрастающих на Дальнем Востоке и относящиеся к семейству аралиевых: аралия маньчжурская (*Aralia mandshuricae*), женьшень (*Panax ginseng*), лимонник (*Schisandra chinensis*), элеутерококк колючий

(*Eleutherococcus senticosus*), родиола (*Rhodiola rosea*), левзея (*Rhamnopticum carthamoides*) и др. Выбор лекарственных препаратов представлен настойкой аралии, сапаралом, настойкой корней заманихи, настойкой семян лимонника, элеутерококка экстрактом жидким, препаратами из родиолы розовой (экстракт родиолы жидкий), левзеи сафлоровидной (экдистен, леветон, адаптон), лагохилуса (таблетки экстракта, настойка). Ряд препаратов этой группы являются зарубежными (таблица 1.1): шизандра плюс, элеутерококк плюс, Energety женьшень сибирский и т.д. Кроме того, можно отметить препараты чеснока, зверобоя, калины, а также препараты животного происхождения из пантов марала, продукты жизнедеятельности пчел [29, 45, 67, 99, 119].

Согласно Реестру лекарственных средств [31], на современном российском фармацевтическом рынке адаптогены представлены 123 торговыми наименованиями, из которых более 85% - лекарственные препараты (рисунок 1.1).



Рисунок 1.1. Соотношение ЛП и БАД среди лекарственных средств из фармакологической группы «Общетонизирующие средства и адаптогены», согласно Государственному Реестру лекарственных средств

Таблица 1.1. Перечень ЛС и БАД из ЛРС, обладающих общетонизирующими и адаптогенными свойствами
(Согласно справочнику ВИДАЛЬ) [126]

Растение	Орган растения	Препарат	Производитель
ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА			
Аралия маньчжурская (<i>Aralia mandshuricae</i>)	Корни	Аралии настойка	Дальхимфарм (Россия), Владивостокская Фармфабрика (Россия), Тверская фармфабрика (Россия), Кировская фармфабрика (Россия)
Женьшень обыкновенный (<i>Panax ginseng</i>)	Корень	Женьшень с витамином С	Московская фармацевтическая фабрика (Россия)
		Доппельгерц Женьшень	Queisser Pharma GmbH & Co. KG (Германия)
		Гербион Женьшень	KRKA (Словения)
		Геримакс Женьшень	Dansk Droge (Дания)
		Гинсана	Swiss Caps (Швейцария)
		Женьшеня настойка	Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга (Россия), Тверская Фармацевтическая фабрика (Россия), Фармстандарт-Фитофарм-НН (Россия), Дальхимфарм (Россия), Ярославская Фармацевтическая Фабрика (Россия), Московская Фармацевтическая фабрика (Россия), ВИФИТЕХ (Россия), Владивостокская фармфабоика (Россия), Камелия НПП (Россия), Адамантан-Пенза (Россия), Асфарма (Россия), Барнаульская Фармфабрика (Россия), Екатеринбургская Фармфабрика (Россия), Калининградская Фармфабрика (Россия), Компания ДЕКО (Россия), Краснодарская Фармфабрика (Россия), ЛЕККО (Россия), Муромский Приборостроительный Завод (Россия), Новосибирская Фабрика (Россия), Псковская Фармацевтическая фабрика (Россия), Пятиорская фармацевтическая фабрика (Россия)
Лимонник китайский (<i>Schisandra chinensis</i>)	Плоды	Лимонника настойка	Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга (Россия)

Растение	Орган растения	Препарат	Производитель
	Семена	Лимонника настойка	ВИФИТЕХ (Россия), Дальхимфрм (Россия), Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга (Россия), Тверская Фармацевтическая фабрика (Россия), Владивостокская фармфабрика (Россия), Тульская Фармацевтическая Фабрика (Россия)
Элеутерококк колючий (<i>Eleutherococcus senticosus</i>)	Корневища с корнями	Элеутерококка экстракт жидкий	ВАТХЭМ-ФАРМАЦИЯ (Россия), Фармстандарт – Фитофарм - НН (Россия), Московская Фармацевтическая фабрика (Россия), Дальхимфрм (Россия), Татхимфармпрепараты (Россия), ВИФИТЕХ (Россия), Камелия НПП (Россия),
		Элеутерококка экстракт	ВИФИТЕХ (Россия)
		Элеутерококка экстракт сухой	ХАРМС (Россия), ВИЛАР (Россия)
Родиола розовая (<i>Rhodiola rosea</i>)	Корневища и корни	Родиолы экстракт жидкий	Камелия НПП (Россия), Тверская Фармацевтическая Фабрика (Россия), Владивостокская фармфабрика (Россия), ВИФИТЕХ (Россия)
Левзея сафлоровидная (<i>Rhampnoticum carthamoides</i>)	Корневища с корнями	Левзеи экстракт жидкий	Камелия НПП (Россия)
Ламинария пальчаторассеченная (<i>Laminaria digitata</i>)	Слоевища	Гипоролам	Биофармкомбинат (Россия)
		Лимановит Е	Гиппократ (Россия)
Чеснок посевной (<i>Alium sativum</i>)	Луковица	Аллитера	Biogal (Венгрия)
Алоэ древовидное (<i>Aloe arborescens</i>)	Листья	Алоэ сироп с железом	ВИФИТЕХ (Россия)
		Алоэ сок	ВИФИТЕХ (Россия)
		Алоэ экстракт жидкий	Ереванская химико-фармацевтическая фирма, ВИФИТЕХ (Россия), Дальхимфарм (Россия)
Шиповник (<i>Rosa</i>)	Плоды	Витаминный сбор №2	Здоровье Фирма (Россия), Фитофарм ПКФ (Россия), Иван-Чай (Россия), Лек С+ (Россия)

Продолжение таблицы 1.1

Растение	Орган растения	Препарат	Производитель
	Семена	Шиповника масло	Марбиофарм (Россия), Алтайвитамины (Россия), ВИФИТЕХ (Россия)
Зверобой продырявленный (Hypericum perforatum)	Трава	ДоппельгерцНервотоник	Queisser Pharma GmbH & Co. KG (Германия)
Калина обыкновенная (Viburnum opulus)	Плоды	Калины Сироп	ВИФИТЕХ (Россия)
Овёс посевной (Avena sativa)	Трава	Овса настойка	Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга (Россия)
Маточное молоко		Апилак	ВИФИТЕХ (Россия), Гриндекс (Латвия)
Панты Марала		Пантокрин «Пантея»	Эвалар (Россия)
		Пантокрин	Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга (Россия), Фармстандарт-томскхимфарм (Россия), Дальхимфарм (Россия)
		Панциол	Планета Здоровья-2000 (Россия)
Многокомпонентные препараты		Алтайский эликсир	ЛЮМИ (Россия), Мелиген ФП (Россия)
		Бальзам «Первопрестольный»	Московская фармацевтическая фабрика (Россия)
		Бальзам Московия	Брынцалов-А (Россия)
		Ван Би	LUPIN Ltd (Индия)
		Севитин	Белмедпрепараты РУП (Республика Беларусь)
		Эликсир Эвалар	Эвалар (Россия)
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ			
Женьшень обыкновенный (Panax ginseng)	Корень	Геримакс Женьшень Экстра	Orkla Health A/S (Дания)
		Геримакс Энерджи	Axellus A/S (Дания)

Элеутерококк колючий (<i>Eleutherococcus senticosus</i>)	Корневища с корнями	Элеутерококка экстракт в таблетках	Внешторг Фарма (Россия)
		Экстракт элеутерококка сухой	Finzelberg GmbH & Co. KG (Германия),
		Элтон-П	Парафарм (Россия)
		Элтон форте	Парафарм (Россия)
Йохимбе	Кора	Новый Супер Йохимбе- Плюс	Irwin Naturals (США)
		Супер Йохимбе-Плюс	Irwin Naturals (США)
Левзея сафлоровидная (<i>Rhampnoticum carthamoides</i>)	Корневища с корнями	Леветон П	Парафарм (Россия)
		Леветон форте	Парафарм (Россия)
Чеснок посевной (<i>Allium sativum</i>)	Луковица	Алисат-супер	ИНАТ-ФАРМА (Россия)
Зверобой продырявленный (<i>Hypericum perforatum</i>)	Трава	Зверобой с витамином С	Ками медикал (Болгария)
Маточное молоко		Real Provite	Dynamic Labs (Испания)
Панты Марала		Марал энергия	Алтайвитамины (Россия)
		Пантогематоген-био	Фармгруп (Россия)
Витаминосодержащие препараты		ВиМиЛайн	Академия-Т (Россия)
		АЛФАВИТ® Биоритм	АКВИОН (Россия)
Биомасса мицелия гриба <i>Fusarium sambucinum</i>		Милайф	Алина Фарма (Россия)
		Энергия дня	ЕвроФармСпорт (Россия)

Многие фитоадаптогены проявляют анаболизующие свойства, гонадотропное действие, стимулируют регенеративные процессы, моделируют иммунные реакции, активируют психическую деятельность и др. При действии адаптогенов изменяется углеводный и белковый обмен, что вызывает цепь других метаболических сдвигов, наблюдается более экономичное расходование энергетических ресурсов организма, усиление окислительных процессов, связанных с фосфорилированием [73, 90, 134, 190].

Адаптогены способствуют сбережению гликогена печени для продления функций углеводзависимых органов (мозг, сердце), мобилизации незатерифицированных жирных кислот, как источника энергии при физических нагрузках и стрессе. Важным отличием адаптогенов от психомоторных стимуляторов является повышение их эффективности при длительном, курсовом приёме и отсутствие стадии истощения после стадии проявления тонизирующего действия. Адаптогены не вызывают привыкания и зависимости [29, 64, 143, 177].

Адаптогены не влияют на организм, находящийся в нормальных условиях, и начинают оказывать свое защитное действие при чрезмерных физических и психоэмоциональных нагрузках [63, 102].

Механизм действия адаптогенов реализуется через нейрогуморальную регуляцию эффекторных исполнительных органов и действие на клеточном уровне. Адаптогены оказывают действие, как на внеклеточные системы (ЦНС и эндокринная система), так и на клеточные рецепторы, при этом изменяя их чувствительность к гормонам и нейромедиаторам. Путём взаимодействия с липидами и белками клеточной мембраны, адаптогены изменяют её селективную проницаемость и активность мембранных ферментов. Попав внутрь клетки, адаптогены могут активизировать систему метаболизма ксенобиотиков, активируя, таким образом, эндогенную антиокислительную систему [29, 63, 64, 143, 170].

Действуя на различные клеточные системы, адаптогены провоцируют адаптационную перестройку метаболизма клетки, которая начинает экономичнее расходовать субстраты. При этом организм начинает нормально функционировать, затрачивая, при этом, меньшее количество энергии. Необходимо отметить, что адаптогенное действие присуще многим антиоксидантам, т.к. основным звеном механизма развития стрессовых состояний является свободно-радикальное окисление липидов [7, 90, 158, 170, 172].

Растения, обладающие адаптогенным действием, имеют богатый химический состав. Согласно литературным данным, за адаптогенное действие растений, в большинстве случаев, отвечают фенольные соединения: флавоноиды, кумарины, дубильные вещества, фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты [64, 189]. Доказано, что фенольные соединения способствуют снижению интенсивности свободно-радикального окисления липидов, предотвращают воспалительные реакции, снижая при этом уровень повреждения тканей, провоцируют адаптационную перестройку организма путём активации защитно-компенсаторных и восстановительных механизмов [6]. Именно гидроксильная группа в ароматическом ядре обуславливает антиоксидантное действие фенольных соединений [116].

Среди фенольных соединений, основное место занимают флавоноиды. Флавоноиды обладают разнообразными биологическими свойствами и поступают в организм извне, т.к. не синтезируются в нём [70]. В организме флавоноиды выполняют множество функций, из которых выделяют 4 наиболее важные [163]:

- образование хелатных комплексов с ионами металлов;
- взаимодействие со свободными радикалами;
- транспорт электронов;
- изменение активности различных ферментов.

Доказано, что наряду с другими биологическими свойствами, характерными для флавоноидов, они также обладают антиоксидантными [28, 81, 170] и гепатопротекторными свойствами [69, 106, 148].

Применение таких адаптогенов, как препараты женьшеня, носит сезонный характер: было установлено, что терапевтическое действие его наиболее выражено в зимне-весенний период, что возможно связано с характерным для того сезона возрастающим ослаблением неспецифической сопротивляемости организма.

Аналогичным действием обладают препараты левзеи, серпухи, лимонника и эллеутерококка, что затрудняет использование препаратов из этих растений в практике.

Следует отметить, что среди наиболее известных адаптогенов, препараты родиолы розовой выделяются наименьшей сезонной зависимостью терапевтического воздействия на организм [53, 63, 69].

1.2.1 Корневища и корни родиолы розовой (*Rhizomata et radices Rhodiolae roseae*)

Родиола розовая (*Rhodiola rosea, L.*) - многолетнее травянистое растение, относящееся к семейству толстянковых (*Crassulaceae*). Произрастает на Алтае, Саянах, в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке. В высоту достигает 70 см. ЛРС являются корневища и корни. Корневища и корни родиолы розовой толстые, снаружи золотистого цвета, на изломе белого цвета, после сушки — розового. Вкус горьковато-вяжущий, свежие корневища и корни имеют характерный запах, похожий на запах розового масла [63, 66, 69, 102].

Химический состав родиолы, в значительной степени зависит от вида растения.

Корни родиолы розовой содержат следующие БАВ: фенольные гликозиды, антрагликозиды, органические кислоты (галловая кислота, кофейновая кислота, хлорогеновая кислота, щавелевая, лимонная, яблочная,

янтарная), флавоноиды (катехины и проантоцианидины), таннин, сахара, белки, жиры, воски, стерины, третичные спирты, непредельные соединения и большое количество марганца. Фармакологические свойства «золотого корня» (стимулирующие и адаптогенные) обусловлены наличием п-тирозола, фенольного гликозида - родиолозида и родозина. Родиолозид является аналогом гликозида салидрозид, который был выделен из ивы трехтычинковой, брусники и листьев рододендрона понтийского [42, 69]. Кроме того, в родиоле содержатся производные гербацетина – родионин и родиозин [69, 144]. Только в родиоле розовой содержатся циннамилгликозиды, основным из которых является розавин. В работе Титовой И.Н., при исследовании влияния фенилпропаноидов на актопротекторное действие у мышей, было показано, что розавин влиял на показатель выносливости, увеличивая его на 32,8 % по сравнению с контролем [131]. Данных соединений не обнаружено в других видах родиолы [69].

Родиола розовая широко используется в народной медицине различных стран. В народной медицине Алтайя корневища и корни родиолы розовой применяются в виде настоя при переутомлении, для снятия усталости, повышения работоспособности и выносливости. В виде отвара и настойки в спирте - при малокровии, импотенции, диарее, лихорадке, заболеваниях желудка, нервной системы и для общего оздоровления. Алтайские охотники во время трудных переходов пьют чай (отвар) из золотого корня.

Во многих странах в пищу употребляют листья родиолы розовой, в Европе их используют в качестве салата [69, 154].

В монгольской народной медицине подземные части растения используются при переломах костей для ускорения срастания, и как жаропонижающее средство, для лечения туберкулёза лёгких, кожных заболеваний, опухолей и ран [63, 140, 172].

Анализ опыта применения родиолы розовой в народной медицине свидетельствует, что показания к применению препаратов могут различаться в зависимости от этномедицинских практик, и, соответственно, от вида ЛФ и используемого органа растений. Эти различия обусловлены методами приготовления извлечений из ЛРС и химическими составами получаемых ЛС. Например, наружно сок из наземной части родиолы розовой применяется при желтухе и для обострения слуха, а отвары и настои сухих корневищ и корней— наружно при кожных заболеваниях, а также для повышения общего тонуса организма [10, 47]. В тибетской медицине родиола розовая применяется при сердечно-сосудистых заболеваниях [144].

Препараты родиолы относятся к адаптогенам и обладают выраженным стимулирующим действием, существенно увеличивают выносливость, особенно повышая работоспособность на фоне утомления и при выполнении тяжелой физической работы. При этом энергетические ресурсы расходуются экономично, быстрее восстанавливаются [128, 158]. При применении препаратов родиолы розовой нормализуются обменные процессы, улучшается энергетический обмен в мышцах и мозге. Наиболее сильное влияние препарат оказывает на мышечную ткань: происходит увеличение мышечной силы и силовой выносливости, так как возрастает активность сократительных белков актина и миозина. Увеличивается размер митохондрий [29, 63]. Препараты родиолы розовой активизируют умственную работоспособность человека, в некоторой степени улучшают память и внимание. В малых дозах препараты растения оказывают центральное н-холиномиметическое действие, а в больших дозах - адрено- и м-холинолитическими действие. Препараты родиолы розовой оказывают выраженное иммунокорректирующее действие, легко переносятся, не имеют выявленных противопоказаний и не обладают аллергенными свойствами [63, 69].

Многочисленные исследования показывают, что экстракт родиолы

препятствует возникновению у кроликов гипер- и гипогликемии, лейкоцитоза и лейкопении. Он также уменьшает продолжительность сна, индуцированного гексеналом, барбитал-натрием, эфиром, хлоралгидратом. Установлено, что под влиянием галеновых препаратов растения несколько повышается устойчивость к токсическому действию стрихнина, хлорофоса, нитрита натрия, анилина. Отмечено повышение резистентности животных к некоторым инфекционным болезням при введении родозина [173].

Несмотря на широкое распространение в медицине, спортивной медицине, список ЛП родиолы розовой весьма ограничен. Согласно данным Государственного Реестра Лекарственных средств [31], в настоящее время в Российской Федерации зарегистрированы всего четыре препарата, содержащие данное ЛРС, среди которых два являются препаратами, содержащими в комбинации корневища и корни родиолы розовой и плоды шиповника – Алтайский эликсир и Эвалар жидкий экстракт (таблица 1.1). Как свидетельствуют данные, приведенные в базовых монографиях по спортивной медицине, основным препаратом, используемым для применения, является 40% спиртовой жидкий экстракт 1:1 [63, 69].

1.3 Гепатопротекторные средства

Гепатопротекторами являются вещества, оказывающие избирательное действие на клетки печени, повышая их устойчивость к повреждающему воздействию различных патогенных факторов. Достигается это путём усиления детоксикационной функции печени, стимуляции активности её ферментных систем, в первую очередь, цитохрома Р-450 и других микросомальных ферментов [46, 84].

Работами ученых Института общей и экспериментальной биологии РАН в серии исследований, проведенных на животных, было выявлено воздействие ряда официальных гепатотропных растений, растительных препаратов и сборов на физическую работоспособность человека и экспериментальных животных.

Физическую работоспособность оценивали по тесту PWC₁₇₀, продолжительности педалирования на велоэргометре до отказа и динамометрической силе мышц, а также по тесту плавания у лабораторных мышей. Эксперименты показали, что ряд растений, обладающих гепатопротекторным действием, оказывали выраженное биостимулирующее, эргогенное действие. Это проявлялось в значительном увеличении продолжительности плавания мышей в воде и длительности бега в тредбане до полного утомления. Полученные данные позволили выдвинуть положение о роли печени в мобилизации резервных возможностей и оптимизации адаптивных процессов организма [9, 110, 111]

Это положение явилось одним из отправных при разработке состава комбинированного препарата, повышающего работоспособность.

В спортивной медицине гепатотропные препараты нашли широкое применение вследствие того, что выполнение интенсивных физических нагрузок создаёт особые условия функционирования для печени атлета. В особенности, это проявляется при занятиях дисциплинами, требующими проявления скоростно-силовых качеств [29, 62, 124].

На фоне повышенного поступления белков с пищей или при использовании специальных аминокислотных или белковых препаратов происходит интенсификация обмена веществ, соответственно происходит повышенный распад белков и обмен аминокислот в гепатоцитах [29, 109]. Вследствие повышения внутрибрюшинного давления при больших напряжениях, осложняется выделение и отток желчи: нарушаются функции желчного пузыря по гипотоническому типу, наблюдается деформация желчного пузыря, застой желчи [62, 73]. В значительной степени эти явления осложняются постоянным приёмом ЛП, входящих в схемы фармакологического обеспечения тренировочной и соревновательной деятельности спортсменов [67, 91, 134].

Прием гепатотропных средств целесообразен в периоды развивающихся нагрузок в подготовительном периоде (при возрастании интенсивности или объема выполняемых упражнений), в восстановительном периоде, а также при возникновении печеночного болевого синдрома (боли в правом подреберье). Учитывая, что прием желчегонных и гепатопротекторов рекомендуется проводить в течение длительного времени, особенно в периоды наиболее интенсивных и продолжительных тренировок, становится понятным пристальный интерес к созданию эффективных и безопасных ЛС [29, 67, 121].

Внимание, уделяемое гепатотропным препаратам в спортивной медицине, объясняется также с позиций повышения актопротекторного эффекта, вызываемого нормализацией функциональных характеристик печени [23, 74, 65].

Чёткая классификации гепатопротекторных препаратов является сложной задачей, поскольку этот эффект приписывается многим группам ЛС, которые могут улучшать процессы метаболизма в организме. Поэтому, в той или иной степени, гепатопротекторный эффект могут оказывать препараты витаминов, антиоксидантов, аминокислот и т.д. [4, 71].

Негативное воздействие истощающих физических нагрузок на печень обусловлено нарушением окислительно-восстановительных реакций. Уровень свободных радикалов в мышцах и печени, в конце тренировки, может повышаться в 2-3 раза. Исследованиями, проведенными в последние годы, доказано выраженное актопротекторное действие многокомпонентных средств, содержащих в себе гепатопротекторные компоненты, обусловленное снижением выраженности окислительного стресса [35, 75, 90, 117, 133]. С другой стороны, рядом исследований доказано устранение отрицательного воздействия физических нагрузок различной интенсивности на функции печени адаптогенными растительными препаратами, опосредованного тоже через устранение окислительного стресса [50, 51, 120].

1.4 Витамины

Для обеспечения биохимических и физиологических процессов в организме необходимы витамины. Это органические соединения, которые участвуют в регуляции биохимических процессов. Несмотря на то, что потребность в них невелика, тем не менее, эта потребность носит обязательный характер, так как витамины не образуются в организме либо вообще, либо в достаточном количестве. Дефицит витаминов в организме вызывает расстройство обмена веществ и нарушение всех его функций. Основными причинами возникновения дефицита витаминов в организме являются недостаточное их содержание в пище и увеличенная потребность в них [3, 146].

Суточная потребность здоровых людей в витаминах зависит от интенсивности физической и умственной работы, нервно-психического напряжения, климатических и других внешних условий. При изменении этих факторов потребность в витаминах может возрастать в 2-3 раза. Поскольку эффекты различных витаминов носят разнонаправленный характер, их приём назначают в виде комплексов, чтобы добиться влияния сразу на несколько различных биохимических процессов.

Витамины и коферменты обеспечивают более эффективное протекание энергетического обмена [11, 27].

В спорте применение витаминов носит обязательный характер в подготовительный период вне зависимости от вида спорта. В соревновательном же периоде витамины почти не используются [67, 73, 124, 119].

К числу поливитаминовых препаратов, широко используемых в спорте, относятся: квадевит, аэровит, декамевит, компливит и другие одно- и многокомпонентные лекарственные витаминные препараты [119, 134].

1.5 Минералы и микроэлементы

Минеральные вещества и микроэлементы участвуют в построении тканей организма и в биохимических процессах в организме. К

микроэлементам относят минеральные вещества, которые содержатся в организме в малых количествах. Многие из них участвуют в энергетическом обмене, который при физической нагрузке увеличивается в 20-100 раз. Также при регулярных длительных физических нагрузках происходит потеря микроэлементов организмом: они выводятся из организма в составе пота и мочи (магний, калий, кальций, витамины группы В, железо, цинк, медь), с увеличением расхода энергии ускоряются и окислительные процессы, что увеличивает потребность в микроэлементах [32]. Недостаток в микроэлементах приводит к снижению работоспособности, сопротивляемости организма инфекциям, увеличению продолжительности восстановительного периода. Установлено, что основными микроэлементами для сохранения спортивной формы спортсмена являются магний, цинк и медь. Концентрация этих микроэлементов в крови при повышенной физической активности понижается, т.к. они выступают в качестве кофакторов в антиоксидативном процессе, вызванном фактом кислородного голодания [138, 141].

Некоторые лекарственные растения содержат значительные количества микро- и макроэлементов, что позволяет целенаправленно использовать их для профилактики и недостатка микроэлементов в организме. Так, например, наиболее богаты калием такие растения, как вишня, абрикосы, калина, рябина; боярышник, шиповник, одуванчик - кальцием, магнием – капуста, кукуруза; картофель и свекла богаты как калием, так и магнием. Кобальт содержится в сушенице топяной, а эрва шерстистая содержит ещё и хром [57, 114].

Суточная потребность взрослого человека в вышеуказанных минералах представлена в таблице 1.2.

Таблица 1.2 - Средняя суточная потребность взрослого человека, вне зависимости от пола, в минералах и микроэлементах [68]

Макро- микроэлемент	и	Суточная потребность для взрослого человека
МАКРОЭЛЕМЕНТЫ		
Бор		2 мг
Калий		3,5 мг
Кальций		700 мг
Магний		300 мг
Натрий		1,6 мг
Фосфор		550 мг
МИКРОЭЛЕМЕНТЫ		
Кобальт		50 – 200 мкг
Медь		1,2 мг
Хром		25 – 100 мкг
Алюминий		30 – 50 мкг
Барий		0,3 – 0,9 мг
Селен		75 мкг
Никель		100 – 300 мкг
Цинк		9,5 мг
Йод		140 мкг
Марганец		3 – 20 мг
Железо		8,7 мг
Молибден		150 – 500 мкг

Комбинация минералов и витаминов, как правило, рассматривается в их совокупном воздействии на организм. В частности, это касается антиоксидантной активности, иммунной активности. Синергическое воздействие на иммунную систему поддерживается витаминами С, Е и цинком. Соответствующее дополнение рациона спортсмена этими микроэлементами способно значительно усилить сопротивляемость организма к внешним вредным воздействиям, в том числе различным инфекциям, и поддержать иммунную систему организма. Антиоксидативный эффект витаминов С и Е, бета-каротина повышается при комбинации их с таким микроэлементом, как селен [1, 12, 17]. Такое сочетание ведет к уменьшению стрессовых показателей (стессмаркеров, таких как протеин-карбонил и малондиальдегид) [2, 48]. К числу хорошо изученных лекарственных растений, широко используемых, как в медицинской практике, так и практике спортивной фармакологии, относятся

такие растения, как шиповник собачий и столбики с рыльцами кукурузы [67, 119, 123].

1.5.1 Плоды шиповника собачьего (*Fructus Rosae canina*)

Шиповник собачий (*Rosa canina*) относится к семейству розоцветные (*Rosaceae*). Кустарник. Широко распространён на территории Российской Федерации, стран СНГ и Европы. Местами произростания шиповника служат горы, горные склоны, леса, луга, морские побережья, речные поймы [60]. В качестве лекарственного сырья используют плоды, как в нативном виде, так и в составе различных фитопрепаратов. Среди всех видов шиповника, по содержанию аскорбиновой кислоты в плодах, лидирует шиповник коричный [66]. Кроме витамина С, в шиповнике содержатся витамины В₁, В₂, Р и РР, К, бета-каротин (провитамин А) и токоферолы (витамин Е), флавоноиды (кверцетин, изокверцетин, кемпферол, рубиксантин, ликопин и др.), липиды, органические кислоты (яблочная, лимонная, олеиновая, линолевая, линоленовая), дубильные вещества, эфирные масла, углеводы, пектины, соли железа, марганца, фосфора, магния и кальция, амино- и фенолкарбоновые кислоты [66, 85]. Из шиповника изготавливают настои, экстракты, сиропы, порошки, поливитаминные «чай».

В плодах шиповника собачьего содержатся каротины, эфирные масла, флавоноиды (изокверцетин, кемпферолы, кверцетины), каротин, ликопин, арумин, сорбузин и ксантофилл [14, 15]. В небольших количествах содержится витамин С [54, 122].

В медицине плоды шиповника с XVI в. используются как поливитаминное средство в виде отвара с целью профилактики и лечения гипо- и авитаминозов С и Р [66]. В частности, содержание аскорбиновой кислоты в шиповнике собачьем является невысоким, поэтому данный вид шиповника относят к низко витаминным. Поэтому плоды шиповника собачьего, в основном, используют в качестве желчегонного средства. Примером является

препарат «Холосас», который назначают при гепатитах и холециститах.

В последние годы препараты шиповника все больше рекомендуются как общеукрепляющее средство, нормализующее обмен веществ, стимулирующее рост и регенерацию, что связано с наличием флавоноидных гликозидов — кемпферола и кверцетина. В настоящее время экспериментально доказано противосклеротическое действие плодов шиповника, связанное с содержанием полисахаридов растительного происхождения, которые, за счёт способности образовывать комплексы с белками и липопротеидами плазмы крови, снижают концентрацию холестерина в крови и ингибируют отложение атероматозных масс в стенках кровеносных сосудов [66, 149]. Так называемые «холестериновые бляшки», сужают просвет сосудов, затрудняя кровоток, что снижает доступ крови к мышцам. Также, известно, что выполнение физической нагрузки вызывает увеличение концентрации в крови липопротеинов высокой плотности и снижение концентрации липопротеинов низкой плотности. Кроме того, плоды шиповника усиливают регенерацию тканей, синтез гормонов (стероидных), благоприятно влияют на углеводный обмен, проницаемость сосудов и обладают противовоспалительным, желчегонным и диуретическим действием. В зависимости от содержания в растении комплекса витаминов, ЛП из плодов шиповника обладают разнообразной фармакологической активностью [14, 122].

1.5.2 Столбики с рыльцами кукурузы (*Styli cum stigmatibus Zea mays*)

Кукуруза (*Zea mays*) — однолетнее растение семейства злаковых (*Gramineae*). В качестве лекарственного сырья заготавливают кукурузные столбики с рыльцами (*Styli cum stigmatibus Zea mays*). Основными, районами выращивания, кукурузы в РФ являются центральные черноземные районы Северный Кавказ, Нижнее Поволжье, южные районы Дальнего Востока. Высота растения может достигать 4 метров; Стебли прямые, цилиндрической формы, иногда бороздчатые, образующие в нижних междоузлиях воздушные корни.

Листья длинные, ланцетные, по краю реснитчатые, с влагалищем, шириной около 10 см., до полуметра в длину, с язычком или, очень редко, без язычка. Цветет в июле-августе. Цветки мужские и женские находятся в разных соцветиях на одном и том же растении. Мужские цветки образуют верхушечное метельчатое раскидистое соцветие. Женские цветки (столбики с рыльцами кукурузы, кукурузные рыльца) собраны у основания листа угловатым колосом-початком.

В кукурузных столбиках с рыльцами содержатся β -ситостерин, жирное масло, горечи, эфирное масло, хлорофилл, камеди, смолы, гликозиды, сапонины, сахаристые вещества, алкалоиды, витамин К в большом количестве, витамины группы В, витамины D и E, аскорбиновая кислота, криптосантин, инозит, ситостерол, стигмастерол, макроэлементы: калий, кальций, магний, железо; микроэлементы: марганец, медь, цинк, кобальт, хром, алюминий, барий, селен, никель, свинец, бор, йод [24, 87, 182].

Препараты кукурузных столбиков с рыльцами применяют в качестве желчегонных, мочегонных средств. Показаниями к применению являются: холецистит, холангиогепатит, желчекаменная болезнь, нефрит, цистит, почечнокаменная болезнь, хронические заболевания сердца с декомпенсацией, гипертоническая болезнь, атеросклероз, отеки сердечного и почечного происхождения, кровотечения внутренних органов, сахарный диабет [66, 137].

Столбики с рыльцами кукурузы, обладая выраженным желчегонным действием, увеличивают секрецию желчи и её поступление в кишечник. При этом выделяемая желчь имеет меньшую вязкость и относительную плотность за счёт уменьшения в ней концентрации сухого остатка [137]. Длительный приём препаратов кукурузных рылец способствует растворению карбонатных, фосфатных и уратных камней в мочеточниках и почках.

В народной медицине Украины и Белоруссии при заболеваниях печени, желтухе, маточных, легочных, геморроидальных кровотечениях, отеках

сердечного происхождения и, как успокаивающее средство успешно применяется водный отвар из столбиков с рыльцами кукурузы. В Китае и Японии – он используется, как диуретическое средство [156, 181, 187].

В официальной медицине применяются жидкий экстракт 1:1, настой и отвар из кукурузных рылец. Клиническими исследованиями доказано, что препараты кукурузных рылец, в качестве желчегонного средства, особенно эффективны при застое желчи: при систематическом применении у больных постепенно исчезало чувство тяжести и боли в области печени, прекращались тошнота, рвота, уменьшались размеры печени. При желчекаменной болезни препараты не купируют острые печеночные приступы, однако длительное (3-5 недель) применение кукурузных рылец приводит к заметному улучшению состояния [24].

Необходимо отметить уникальную биологическую активность витамина К (филлохинона), содержащегося в столбиках с рыльцами кукурузы. Помимо повышения свёртываемости крови, сравнительно недавно, была обнаружена способность филлохинона усиливать синтез белка в печени и мышцах [11, 32, 60, 85, 114]. Он также способствует усилению синтеза коллагена, который участвует в построении связок [67], повышает синтез АТФ и креатинфосфата в мышцах [29].

Наряду с такими микроэлементами, как железо, марганец, медь, хром, алюминий, столбики с рыльцами кукурузы богаты селеном. В организме селен выполняет следующие функции: участвует в процессе биосинтеза белка, поддерживает нормальное функционирование печени, укрепляет иммунную систему, выступает в роли антиоксиданта, выводя из организма ионы тяжёлых металлов [25, 33].

1.6 Обоснование лекарственной формы нового комбинированного препарата для повышения работоспособности

Для проведения научно-обоснованного создания нового

комбинированного лекарственного препарата для повышения работоспособности необходимо провести выбор лекарственной формы, после изучения препаратов-аналогов и физико-химических и технологических свойств действующих веществ осуществить выбор вспомогательных веществ, технологии, упаковки, провести обоснование дозировки и дать рекомендации по срокам приема препарата.

С точки зрения удобства применения, компактности ЛП, сухие экстракты являются предпочтительной ЛФ. В последнее время, производство сухих экстрактов постоянно совершенствуется, увеличивается их ассортимент, растет тоннажность выпуска [38, 76, 82].

В основе технологии получения сухих экстрактов лежит экстракционный процесс. Существует большое разнообразие способов экстрагирования. В общем виде их можно классифицировать как статические, когда сырьё периодически заливают экстрагентом и настаивают определённое время, так и динамические, при которых происходит постоянная смена экстрагента, либо и экстрагента и сырья. И статические и динамические способы экстракции делятся на периодические и непрерывные. К периодическим относятся способы, в которых производится экстрагирование одной или нескольких порций сырья в течение определенного времени. К непрерывным — в которых сырьё непрерывно поступает в экстракционный аппарат. Периодический способ делится на одноступенчатый, простой многоступенчатый и противоточный многоступенчатый [61, 108]. Всем названным выше способам экстрагирования соответствуют способы мацерации, ремацерации, перколяции, реперколяции, непрерывного экстрагирования, циркуляции. Используемые в фармацевтической промышленности способы экстрагирования имеют различные модификации, отличающиеся друг от друга временем экстрагирования, количеством диффузоров в батарее, количеством сырья в каждом диффузоре, типом применяемого аппарата, объёмом сливаемого

экстрагента и другими факторами [94].

При получении сухих экстрактов извлечения отстаивают, фильтруют, и направляют на выпаривание и сушку, которая также может осуществляться различными методами: распылительная, сублимационная, вакуумная.

Сухие экстракты из ЛРС наряду с преимуществами, обладают рядом недостатков, главным из которых является их гигроскопичность. Это в значительной степени затрудняет хранение и производство ЛФ на их основе. Вследствие этого активно ведутся поиски технологии получения стабильных лекарственных препаратов на основе сухих экстрактов, в том числе и путем использования современных методов гранулирования материалов, а также подбором вспомогательных веществ, в значительной степени улучшающих качество готового продукта [97, 98, 176].

На сегодняшний день, одним из перспективных методов грануляции является метод ВАГ [125, 166, 171]. Данный способ получения гранул производится с использованием минимального количества связующего вещества, из-за чего полученный гранулят не требует дополнительного нагревания для сушки и не подвергается размалыванию. Метод, включает в себя две стадии: стадию агломерации и стадию распределения влаги. На стадии агломерации происходит смешивание ингредиентов и опрыскивание их небольшим количеством связующего вещества (1-4 %). Такие условия не позволяют смеси слипаться в большие комки, средний размер получаемых агломератов составляет 150-500 мкм. На второй стадии, стадии распределения влаги, к смеси добавляют влагопоглощающие вещества. Эти вещества вызывают перераспределение влаги в смешиваемых компонентах, забирая всю влагу на себя. По завершении этой стадии, смесь становится сравнительно сухой. К числу преимуществ можно отнести следующее: подходит для 90% прописей, используемых при производстве гранул, подходит для непрерывного производства, имеет низкий расход энергии. Перечисленные обстоятельства

делают метод ВАГ практически идеальным для гранулирования сухих экстрактов.

Учитывая структуру сухих экстрактов, их физико-химические и технологические свойства: высокую сорбционную способность, неудовлетворительную сыпучесть, особое внимание уделяется использованию вспомогательных веществ, применяемых при гранулировании.

Одним из основных этапов разработки ЛФ с гигроскопичными сухими растительными экстрактами является подбор вспомогательных веществ. Этот подбор должен основываться на многостороннем анализе, который включает в себя оценку физико-химических и технологических характеристик, изучение влияния выбранных веществ на эффективность, безопасность и стабильность ЛС. Данный комплекс мероприятий позволяет оптимизировать технологию грануляции. Вспомогательные вещества вводятся в состав гранулируемой массы для улучшения технологических свойств, например, таких, как сыпучесть и гигроскопичность. Наряду с этим, состав вспомогательных веществ в готовой ЛФ, существенно влияет на её структурно-механические показатели, потребительские свойства.

Основными требованиями к вспомогательным веществам, используемым при гранулировании сухих экстрактов являются: устойчивость при хранении, малая гигроскопичность, обеспечение быстрой распадаемости гранул, и, соответственно достижение фармакологического эффекта.

Применяемые в процессе грануляции вещества классифицируют в зависимости от их назначения и поставленных задач.

При анализе ассортимента вспомогательных веществ, используемых при создании пероральных ЛФ растительных экстрактов, среди наполнителей следует отметить такие вещества, как крахмал, глюкоза, сахароза, лактоза (молочный сахар) магния карбонат основной, магния окись, натрия хлорид, натрия гидрокарбонат, глина белая (каолин), желатин, целлюлоза

микрористаллическая (МЦК), метилцеллюлоза (МЦ), натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (NaКМЦ), кальция карбонат, кальция фосфат двузамещенный, глицин (аминоуксусная кислота), декстрин, амилопектин, ультраамилпектин, сорбит, маннит, пектин и др.

Информацию о свойствах вспомогательных веществ, применяемых при гранулировании сухих экстрактов представлены в таблице (табл.1.3).

Актуальной проблемой, требующей решения, остаются вкусовые качества сухих экстрактов. На основании анализа научной и технической литературы можно сделать вывод о существовании двух возможных путей решения данной задачи: введение вспомогательных веществ, маскирующих запах и вкус растительного экстракта, и введение гранулята в твёрдую желатиновую капсулу.

При получении ЛФ сухих экстрактов зачастую используют прием заключения сухих экстрактов в оболочку (твердые желатиновые капсулы) или таблетирование с последующим покрытием таблеток оболочкой [52, 147]. Существует также способ упаковки смеси экстрактов с коррегентами в саше - плоский трех или четырех шовный пакет. В качестве материала упаковки саше используют полиэтилен или ламинированную плёнку, иногда снабжённую слоем пластика из акрилонитрила - метилакрилатного сополимера. Эти материалы обеспечивают удовлетворительную защиту содержимого от воздействия воздуха и влаги, но при наполнении саше внутри остаётся воздух, который не удаляется, что представляет проблематичным сохранение фармакологических свойств препарата на основе растительного экстракта в течение 2-х и более лет (срок годности). Кроме того, при упаковке в саше могут происходить потери действующих веществ при приеме в виду налипания их на стенки, западания в складки упаковки и возможные потери при вскрытии упаковки.

Таблица 1.3 - Характеристики вспомогательных веществ, используемых в процессе гранулирования

Наименование вспомогательных веществ	Характеристика вспомогательных веществ
Starlac® (Roquette, Франция)	Starlac® представляет собой смесь, состоящую на 85% из моногидрата альфа-лактозы и на 15% кукурузного крахмала. Обеспечивает улучшение сыпучести. Сбалансированная упругость и нестабильные трибологические свойства Starlac® придают грануляту прочность
Vivapur® (JRS, Германия)	Микрористаллическая целлюлоза. Белый сыпучий порошок, имеет нейтральный вкус и запах. Обладает хорошей сыпучестью, высокой степенью кристалличности, низкой электропроводностью, улучшает связывающие свойства компонентов в гранулируемой смеси. При хранении способна впитывать влагу
Крахмал кукурузный (Химфармпродукт, Россия)	Сыпучий порошок белого или слегка желтоватого цвета. Применяется в грануляции как связывающий агент. Используют в качестве стабилизатора, загустителя и структурообразователя. Регулирует влажность, усиливает действие ароматизаторов
Лактозы моногидрат (Panreac, Испания)	Порошок белого цвета, дисахарид, молекула которого состоит из остатков молекулы глюкозы и молекулы галактозы. Обладает высокой уплотняемостью и стабильностью, его сферические частицы обеспечивают удовлетворительные свойства сыпучести. Используется как наполнитель и связующее вспомогательное вещество в грануляции. Уменьшает пылеобразование и расслоение порошка, с другой стороны, улучшает текучесть смеси вспомогательного и активного веществ
Лактоза моногидрат (Sigma-Aldrich, США)	
Лактоза гранулированная (DFE Pharma, Нидерланды)	
Lycatab C (Roquette, Франция)	Прежелатинизированный кукурузный крахмал. Представляет собой белый или бледно-кремовый порошок с нейтральным вкусом, текучий, полностью диспергируется в воде. Обладает связующими свойствами, используют для грануляции
ProSolv® SMCC 90 (JRS Pharma, Германия)	Силифицированная микрористаллическая целлюлоза. Продукт совместной обработки микрористаллической целлюлозы (98 %) и коллоидного диоксида кремния (2%). Обладает лучшей уплотняемостью, чем микрористаллическая целлюлоза и подходит, как для влажной грануляции, так и для прямого прессования. Используется в качестве связующего вещества и наполнителя
Pearlitol DC (Roquette, Франция)	Гранулированный D-маннитол, белый кристаллический порошок без запаха, со слегка сладковатым вкусом, оставляет охлаждающее ощущение во рту. Обладает хорошей растворимостью в различных растворителях, не гигроскопичен, химически устойчив, используется как наполнитель в твёрдых ЛФ, подходит как для влажной, так и для сухой грануляции

Наименование вспомогательных веществ	Характеристика вспомогательных веществ
Aeroperl® 300 Pharma (Evonik, Германия)	Инертное аморфное вещество, состоящее из коллоидного кремния диоксида с размером частиц в 30 мкм. Используют как влагопоглощающее вещество, а также для улучшения растворимости веществ, устранения химического взаимодействия между ними, совмещения плохо совмещаемых компонентов
Kollidon 30 (BASF, Германия)	Белый или светло-жёлтый слоёный гигроскопичный порошок, способен поглощать до 40 % своего веса в атмосферной воде. Легко растворяется в воде и спирте. Применяется как связующее вещество, образует водорастворимые комплексы, улучшает биодоступность и растворимость ЛВ

Упаковка экстрактов и вспомогательных веществ в саше практически всегда предполагает последующее их растворение и применение в виде раствора. Поэтому, несмотря на то, что упаковка в саше является более экономичным способом, актуальным решением проблемы является помещение гранулята сухого экстракта в твёрдую капсулу, с последующей упаковкой в блистер. В этом случае отпадает надобность повышать в значительных количествах объем вспомогательных веществ в прописи, не происходит траты ресурсов на дополнительные вспомогательные вещества для маскировки запаха и вкуса. Таким образом капсулирование обеспечивает защиту ЛВ от воздействия света, воздуха и влаги, а также маскировку неприятного вкуса и запаха. Капсулы, как ЛФ, характеризуются быстрой распадаемостью и высокой биодоступностью [20, 89]. С этой стороны капсулы являются весьма подходящей ЛФ для применения в спортивной медицине. Они обладают такими характеристиками, как: высокая биодоступность, удобство применения, возможность регулирования скорости высвобождения и направленности действия ЛВ, точность дозирования, предохраняют неустойчивые субстанции от воздействия внешней среды, обладают высокой стабильностью и производительностью.

Анализируя ассортимент российских фирм - производителей БАД для спортсменов (Еврофармспорт, Академия-Т) можно отметить, что более 50 % БАД этих производителей, выпускаются в капсулах. Остальное приходится на таблетки, ЛФ в жидкой форме, порошки. При анализе распределения ЛП из фармакологической группы общетонизирующих средств и адаптогенов (рис.1.2), было показано, что 44 % процента этих препаратов также выпускаются в виде твердых ЛФ, больше трети из которых представляют собой твердые капсулы. Это вполне объяснимо, учитывая все достоинства твёрдых капсул как ЛФ [86].



Рисунок 1.2. Распределение лекарственных препаратов из фармакологической группы общетонизирующих средств и адаптогенов в зависимости от их лекарственной формы, согласно данным Государственного Реестра Лекарственных средств [31]

Важнейшим этапом для реализации научно-обоснованной разработки комбинированной лекарственной формы для улучшения работоспособности является обоснование вводимых доз действующих компонентов.

Суточная доза стандартизованного сухого экстракта родиолы розовой (содержащий не менее 2-3 % розавинов и 0,8-1 % салидрозида) составляет 200-600 мг, для нестандартизованного сухого экстракта – 3000 мг [63, 69, 135]. Жидкий экстракт родиолы розовой принимают по 5-10 капель 2-3 раза в день. Ежедневная потребность организма человека в аскорбиновой кислоте может варьироваться в зависимости от возраста, пола, рода занятий, климатических условий и др. И норма физиологических потребностей составляет 60-100 мг в день. Обычная терапевтическая доза витамина С составляет 500-1500 мг ежедневно [64, 122]. Отвар плодов шиповника принимают по 1,5 стакана 2-3 раза в день, а отвар столбиков с рыльцами кукурузы принимают по 1-3 столовые ложки каждые 3-4 часа.

Выводы к главе 1

1. На основании проведенного обзора литературы, можно сделать вывод, что при увеличении нагрузок, как физического, так и психоэмоционального характера наиболее перспективным является использование лекарственных недопинговых средств, в том числе комбинированного действия, обладающих совокупностью различных фармакологических эффектов и изготовленных на основе ЛРС.

2. Анализ зарегистрированных ЛС и БАД, обладающих адаптогенным, гепатопротекторным и витаминным действием показал отсутствие на российском фармацевтическом рынке многокомпонентного ЛП, на основе лекарственного растительного сырья, обладающего перечисленными свойствами, изготовленного на основе ЛРС, произрастающего в Российской Федерации.

3. Рассмотрены возможные вспомогательные вещества, представленные на современном фармацевтическом рынке, и используемые для получения пероральных дозированных ЛП с сухими экстрактами; оценены возможные технологии получения гранул растительных экстрактов и последующего их капсулирования для удобства в применении.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Объекты исследований

Объектами исследования служило лекарственное растительное сырьё: измельчённые корневища и корни родиолы розовой (фирмы ОАО «Красногорск лексредства»), плоды шиповника собачьего (ЗАО «Фито-ЭМ»), измельчённые столбики с рыльцами кукурузы (ЗАО «Здоровье»).

2.2 Материалы и вспомогательные вещества

В работе использовали реактивы, растворители, стандартные образцы (СО), вспомогательные вещества, отвечающие требованиям соответствующей нормативной документации [30].

При разработке методик количественного определения были использованы хроматографически чистые стандартные образцы: розина, розарина, розавина, салидрозида, тирозола, рутина (Chromadex, США), а также, кверцетина, аскорбиновой, хлорогеновой кислот (Sigma-Aldrich). При определении витаминов использованы СО витаминов В₁, В₂, В₆, А, D и К (Chromadex, США).

Вспомогательные вещества, применявшиеся в ходе исследований: Starlac® (Roquette, Франция), Vivapur®102 (JRS, Германия), крахмал кукурузный (Россия), Лактоза моногидрат (Panreac, Испания), лактоза моногидрат (Sigma-Aldrich, США), лактоза гранулированная (DFE Pharma, Нидерланды), LycatabС (Roquette, Франция), ProSolv®SMCC 90 (JRS, Германия), PearlitolDC (Roquette, Франция), Aeropearl® 300 Pharma (EvonikIndustries, Германия), Kleptose® (Roquette, Франция), Kollidon 30 (BASF, Германия), а также растворители фармакопейного качества [30, 183].

При выполнении работы использовали следующие приборы:

- ✓ Весы аналитические Adventurer OHAUS AR 2140 (США)
- ✓ Роторно-вакуумный выпарной аппарат ВУСНІ (Швейцария)
- ✓ Термостат Binder ED 53 (Германия)
- ✓ Микроскоп Hirox Numerique КН-7700 (Япония)
- ✓ Дистиллятор GFL 2001/2 (Германия)

- ✓ Электронная мешалка ЭКРОС БП8000 (Россия)
- ✓ Сублимационная сушилка HetoDrywinner (США)
- ✓ Роторно-вакуумный насос VacuumbrandRZ 2 (Германия)
- ✓ Универсальный Y-образный смеситель фирмы ERWEKA YB 5
- ✓ Весовой анализатор влажности MB35 OHAUS (США)
- ✓ Тестер сыпучести GTB, ERWEKA (Германия)
- ✓ Тестер насыпной плотности SVM 121, ERWEKA (Германия)
- ✓ Ситовой анализатор Cisa с виброситом RP 200N (Испания)
- ✓ Хроматограф WatersBreeze (США)
- ✓ Хроматограф Agilent 1200 (США)
- ✓ Универсальный лабораторный гранулятор GlattTMG серии «Mini» (Германия)
- ✓ Настольная капсульная машина ACGPamMF 30 (Индия)
- ✓ Тестер распадаемости ERWEKA CZ 221 (Германия)
- ✓ Тестер растворения ERWEKA DT 600 (Германия)
- ✓ Батарея из пяти стеклянных диффузоров на 1000 мл

2.3 Методы и методики исследования

В процессе исследования использовано различное растительное сырье «Корневища и корни родиолы розовой» (фирмы ОАО «Красногорск лексредства»), серия 31211, «Плоды шиповника» (ЗАО «Фито-ЭМ»), серия 010212, «Столбики с рыльцами кукурузы» (ЗАО «Здоровье»), серия 010512, из которого, при разработке технологии получали сухие экстракты. В ходе экспериментальных исследований было выявлено, что для оценки качества как самого растительного сырья, промежуточных и конечных продуктов его переработки, так и для оценки готовой лекарственной формы необходима адаптация существующих методик идентификации и количественного определения основных действующих веществ родиолы розовой – салидрозида, розарина, розавина, розина, тирозола; аскорбиновой кислоты, хлорогеновой кислоты (родиола розовая и шиповник собачий) а также модификация существующих методик определения витаминов в столбиков с рыльцами

кукурузы (витамины В₁, В₂, В₆, А, D и К). Все методики выполнены на базе Лаборатории «Разработки и доклинических исследований лекарственных средств» Института фармации и трансляционной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России.

2.3.1 Определение числовых показателей растительного сырья

Определение числовых показателей сырья «Корневища и корни родиолы розовой», сырья «Плоды шиповника» (содержание экстрактивных веществ, влажности, золы общей, содержания примесей), и сырья «Столбики с рыльцами кукурузы» (содержание экстрактивных веществ, влажности, золы общей, золы, нерастворимой в 10 % растворе хлористоводородной кислоты, содержание примесей) было проведено по фармакопейным методикам (ГФ XI, вып. 2). Определение содержания салидрозида для сырья «Корневища и корни родиолы розовой», аскорбиновой кислоты для сырья «Плоды шиповника» проводили по разработанным методикам, приведенным ниже.

2.3.2 Определение технологических показателей сухих экстрактов растительного сырья, вспомогательных веществ и гранулятов

2.3.2.1 Микроскопическое изучение сухих экстрактов

Микроскопическое изучение сухих экстрактов проводили в соответствии с ГФ РФ ОФС. 1.2.1.0009.15 «Оптическая микроскопия» с помощью микроскопа Nirox Numerique KH-7700, линза MX(G)-5040Z, разрешение 0,953 мкм, увеличение x200.

2.3.2.2 Определение фракционного состава порошков, субстанций и гранулятов

Определение фракционного состава проводили в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ» путём просеивания точной навески исследуемого вещества через стандартный набор из 4-х сит с отверстиями диаметром 0,5; 0,3; 0,2; и 0,1 мм. Просеивание проводили на ситовом анализаторе Cisa-вибросито RP 200N в течение 5 минут. Навеску вещества помещали на верхнее сито, с самым большим диаметром отверстий. По завершению просеивания, сита снимали. Просеивание считали законченным,

если при дополнительном встряхивании в течение 1 минуты, количество материала, прошедшего через сито, составляло по массе менее 1 % материала, оставшегося на сите. Отсев каждый раз добавляли на верхнее сито. Затем определяли массу и содержание в процентах по массе каждой фракции.

2.3.2.3 Определение насыпного объема порошков, субстанций и гранулятов

Определение насыпного объема (относительной насыпной массы) проводили по методике, описанной в ГФ РФ ОФС. 1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков», на тестере насыпной плотности порошков и гранулятов SVM 121, ERWEKA.

2.3.2.4 Определение сыпучести порошков, субстанций и гранулятов

Сыпучесть определяли путём пропускания определённой массы порошка (100-50 г) на тестере сыпучести GTB, фирмы ERWEKA по методике, описанной в ГФ РФ ОФС. 1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков».

2.3.2.5 Определение влагосодержания

Определение остаточной влажности проводили на весовом анализаторе влажности MB35 фирмы OHAUS по методике, описанной в ГФ РФ ОФС. 1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании».

2.3.2.6 Определение гигроскопичности

Определение гигроскопичности проводили в климатической камере ThermotronS (США), в течение 8 часов при температуре $20,0 \pm 1,0$ °С и относительной влажности $65 \pm 1,0$ %. Каждый час снимали показания прибора.

2.3.2.7. Определение тяжёлых металлов

Испытания на тяжёлые металлы проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ ОФС. 1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы». Сухие экстракты корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника, столбиков с рыльцами кукурузы должны содержать не более 0,01 %.

2.3.3 Определение показателей качества готовой лекарственной формы – твердых желатиновых капсул с комбинацией сухих экстрактов

Согласно требованиям, описанным в ГФ РФ ОФС. 1.4.1.005.15

«Капсулы», готовую ЛФ стандартизовали по следующим показателям: однородность массы, однородность дозирования, распадаемость, растворение.

2.3.3.1 Однородность массы

Определяли по методике, описанной в ГФ РФ ОФС. 1.4.2.009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

2.3.3.2 Однородность дозирования

Испытание проводили согласно требованиям, описанным в ГФ РФ ОФС. 1.4.2.008.15 «Однородность дозирования» по способу 2 – точным определением массы нетто отобранной для испытания единицы препарата.

2.3.3.3 Распадаемость капсул

Проводили по методике ГФ РФ ОФС 1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул» на приборе «Качающаяся корзинка» ERWEKA CZ2 21 в среде 0,1 М хлористоводородной кислоты, объем среды 800 мл, как указано в ГФ РФ ОФС. 1.4.1.005.15 «Капсулы».

2.3.3.4 Растворение капсул

Растворение капсул определяли по методике, описанной в ГФ РФ ОФС. 1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» на тестере растворения ERWEKA DT600 на приборе «Лопастная мешалка» (скорость вращения 50 об/мин) в среде 0,1 М хлористоводородной кислоты в течение 45 минут. Объем среды растворения – 800 мл, температура 37±2 °С. Отбор проб проводили через 45 минут после начала испытания. В пробах с использованием разработанных методик количественного определения методом ВЭЖХ определяли содержания салидрозида.

2.3.3.5 Микробиологическая чистота капсул

Определение микробиологической чистоты проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота» по общему числу аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов, энтеробактерий, отсутствию *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*.

2.3.3.6 Срок годности капсул

Определение срока годности полученных твёрдых желатиновых капсул

проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств» путём заложения 5 серий капсул на хранение при температуре 18-22 °С и влажности воздуха 64±2 %. Срок наблюдения составил 24 месяца.

2.3.4 Методики количественного определения БАВ в составе ЛРС, сухих экстрактов и гранулятов

2.3.4.1 Подготовка проб для хроматографического анализа

2.3.4.1.1. ЛРС

Точную навеску измельчённого ЛРС (10,00 мг) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли воду очищенную до метки и тщательно перемешивали. Полученный раствор перемещали в пластиковые виалы и помещали в автосемплер хроматографа.

2.3.4.1.2. Сухой экстракт

Отбирали точную навеску анализируемого образца (30-40 мг) и прибавляли к ней 1 мл подвижной фазы В. Давали настояться в течении 5 минут при температуре 50 °С. Полученный раствор центрифугировали в течение 3 минут при 3000 об/мин. Затем фильтровали через фильтр с размером пор 0,45 мкм. Фильтрат переносили в емкость для хроматографирования и хроматографировали при указанных ниже условиях.

Количественное определение анализируемых веществ осуществляли методом калибровочной кривой, построенной с использованием данных стандартного раствора.

2.3.4.1.3. Гранулят

Отбирали точную навеску гранулята, содержащего СЭРШК 1:1:1 (30-40 мг) и прибавляли к ней 1 мл подвижной фазы В. Давали настояться в течении 5 минут при температуре 50 °С. Полученный раствор центрифугировали в течение 3 минут при 3000 об/мин. Затем фильтровали через фильтр с размером пор 0,45 мкм. Фильтрат переносили в емкость для хроматографирования и хроматографировали при указанных ниже условиях.

Количественное определение анализируемых веществ осуществляли

методом калибровочной кривой, с использованием данных калибровок стандартного раствора.

2.3.4.1.4. Твердые желатиновые капсулы (готовая ЛФ)

Извлекали содержимое (точная навеска) путём вскрытия взятых для анализа 20 капсул, помещали в ступку, перемешивали и отбирали точную навеску около 375 мг, эквивалентную 0,57 мг активных веществ. Навеску переносили в колбу на 50 мл и прибавляли небольшое количество 70 % этанола, взбалтывали до полного растворения и доводили объем раствора до метки тем же растворителем. Полученный раствор отфильтровывали через бумажный фильтр (раствор А).

Количественное определение анализируемых веществ осуществляли методом калибровочной кривой, с использованием данных калибровок стандартного раствора.

2.3.4.2 Количественное определение аскорбиновой кислоты методом ВЭЖХ

Количественное определение аскорбиновой кислоты проводили на жидкостном хроматографе WatersBreeze с УФ-детектором 2487 при следующих условиях:

Колонка Symmetry C-18, 4.6x150 мм, 5 мкм.

Подвижная фаза: А - 0,1 % раствор трифторуксусной кислоты в воде, В – ацетонитрил (HPLC grade, Chromadex).

При приготовлении подвижной фазы А, в колбу вместимостью 1 л вносили около 1 л воды очищенной и прибавляли 1 мл трифторуксусной кислоты (Sigma for HPLC). Перемешивали. Раствор хранили в закрытой таре, срок хранения составлял один год со дня изготовления.

Элюирование – градиентное, режим представлен в таблице 2.1.

Таблица 2.1 - Подбор градиента концентрации при обнаружении аскорбиновой кислоты

Время (мин)	%А (трифторуксусная кислота в воде)	%В (ацетонитрил)
0,0	100	0
4,0	97	3
6,0	100	0
10	100	0

Объем пробы:	10 мкл
Скорость потока:	1 мл/мин
Температура колонки:	30 °С
Длина волны детектора:	260 нм
Объем вводимой пробы	10 мкл

Калибровку проводили по стандарту аскорбиновой кислоты (Sigma-Aldrich, CAS: 50-81-7). Был приготовлен стандартный раствор с концентрациями: аскорбиновой кислоты(стандарт) 10,0мг в 10 мл воды очищенной. Для построения калибровочного графика анализируемого вещества последовательно вкалывали 5, 10, 15, 20 мкл стандартного раствора.

2.3.4.3 Количественное определение хлорогеновой кислоты и кверцетина методом ВЭЖХ

Количественное определение проводили на жидкостном хроматографе WatersBreeze с УФ-детектором 2487 при следующих условиях:

Колонка Symmetry C-18, 4.6x150 mm, 5 µm

Подвижнаяфаза: А - 0,1 % трифторуксусная кислота в воде, В – ацетонитрил (Chromadex)

Элюирование – градиентное, режим представлен в таблице 2.2.

Таблица 2.2 - Подбор градиента концентрации при обнаружении хлорогеновой кислоты и кверцетина

Время (мин)	%А (0,1 % трифторуксусная кислота в воде)	%В (ацетонитрил)
0,0	97	3
4,0	97	3
6,0	85	15
15	80	20
25	40	60
30	97	3

Объем вкола:	10 мкл
Поток:	1,4 мл/мин
Температура колонки:	30 °С

Длина волны детектора: 330 нм

Калибровку проводили по стандартам кверцетина (Sigma-Aldrich, CAS: 117-39-5) и хлорогеновой кислоты (Sigma-Aldrich, CAS: 327-97-9). Были приготовлены стандартные растворы с концентрациями: хлорогеновой кислоты 2,8 мг, кверцетин 2,8 мг в 10 мл смеси мобильной фазы А и В (50:50). Для построения калибровочных графиков анализируемых веществ последовательно вкалывали 5, 10, 15, 20 мкл стандартного раствора кверцетина и хлорогеновой кислоты.

2.3.4.4 Количественное определение рутина методом ВЭЖХ

Количественное определение рутина проводили на жидкостном хроматографе WatersBreeze с УФ-детектором 2487 при следующих условиях:

Колонка SymmetryC-18, 4.6x150 мм, 5 мкм

Подвижная фаза: А - 0,1 % трифторуксусная кислота в воде, В – спирт метиловый (Chromadex).

Элюирование – градиентное, режим представлен в таблице 2.3.

Таблица 2.3 - Подбор градиента концентрации при обнаружении рутина

Время (мин)	%А (0,1% трифторуксусная кислота в воде)	%В (спирт метиловый)
0,0	60	40
15,0	0	100
20,0	60	40

Объем вкола: 10 мкл

Поток: 1 мл/мин

Температура колонки: 30 °С

Длина волны детектора: 210 нм

Калибровку проводили по стандарту рутина (Chromadex, CAS: 153-18-4). Были приготовлен стандартный раствор с концентрацией рутина 7,1 мг в 10 мл подвижной фазы В. Для построения калибровочных графиков анализируемого вещества последовательно вкалывали 5, 10, 15, 20 мкл стандартного раствора. Количественное определение анализируемого вещества осуществлялось с использованием данных калибровок стандартного раствора.

2.3.4.5 Количественное определение розарина, розавина, розина, салидрозида и тирозола методом ВЭЖХ

Количественное определение данных веществ в экстракте родиолы проводили на жидкостном хроматографе WatersBreeze с УФ-детектором 2487 при следующих условиях:

Колонка SymmetryC-18, 4.6x150 мм, 5 мкм

Подвижная фаза: А - 0,1 % трифторуксусная кислота в воде, В – метанол (Chromadex)

Элюирование – градиентное, режим представлен в таблице 2.4.

Таблица 2.4 - Подбор градиента концентрации при обнаружении розарина, розавина, розина, салидрозида и тирозола

Время (мин)	%А (0,1 % трифторуксусная кислота в воде)	%В (метанол)
0,0	70	30
20,0	40	60
25,0	70	30

Объем вкола: 10 мкл

Поток: 1 мл/мин

Температура колонки: 30 °С

Длина волны детектора: 245, 276 нм

Калибровку проводили по стандартам розина (Chromadex, CAS: 85026-55-7), розавина (Chromadex, CAS: 84954-92-7), розарина (Chromadex, CAS: 84954-93-8), салидрозида (Chromadex, CAS: 10338-51-9) и тирозола (Chromadex, CAS: 501-94-0). Были приготовлены стандартные растворы розарина, розавина, розина, салидрозида и тирозола с концентрацией каждого компонента 100 мкг/мл мобильной фазы В. Для построения калибровочных графиков анализируемых веществ последовательно вкальвали 5, 10, 15, 20 мкл стандартного раствора.

Идентификацию всех действующих веществ проводили по относительному времени удерживания в сравнении со стандартом, используя описанные выше хроматографические методики.

2.3.4.6. Разработка количественного определения витаминов А, В₁, В₂, В₆, D₃, К методом ВЭЖХ/МС

Для количественного определения витаминов, содержащихся в сырье, сухом экстракте столбиков с рыльцами кукурузы, а также грануляте СЭРШК были приготовлены стандартные растворы: витамин А в 96 % спирте (14,35 мкг/мл), витамин В₁ в воде деионизированной (11,71 мкг/мл), витамин В₂ в воде деионизированной (10,51 мкг/мл), витамин В₆ в воде деионизированной (17,17 мкг/мл), витамин С в воде деионизированной (17,17 мкг/мл), витамин D₃ в 96 % спирте (14,12 мкг/мл), витамин К в метаноле HPLC grade (6,94 мкг/мл).

Определение витаминов в измельченном сырье столбики с рыльцами кукурузы, сухом экстракте, грануляте проводили на приборе «Agilent 1200» с масс-спектрометрическим детектором с программным обеспечением ChemStation B.03.01-SR1. Для расчета количества витаминов использовался метод внешнего стандарта.

2.3.4.6.1 Определение витамина А

Объем пробы:	10 мкл
Колонка:	Agilent XDB-C18 4,6x50 мм; 1,8 мкм
Подвижная фаза:	вода, подкисленная HCOOH (1 мл муравьиной кислоты на 1 л воды, pH=4,5)/ацетонитрил (50/50)
Скорость потока:	1,0 мл/мин
Условия детектирования:	SIM режим в позитивной полярности, m/z=537,30; фрагментатор 130

2.3.4.6.2 Определение витамина В₁

Объем пробы:	10 мкл
Колонка:	Agilent XDB-C18 4,6x50 мм; 1,8 мкм
Подвижная фаза:	вода, подкисленная HCOOH (1 мл муравьиной кислоты на 1 л воды, pH = 4,5) /ацетонитрил (50/50)

Скорость потока: 1,0 мл/мин
Условия детектирования: SIM режим в позитивной полярности, $m/z=381,20$; 381,30; фрагментатор 130

2.3.4.6.3 Определение витамина В₂

Объем пробы: 10 мкл
Колонка: Agilent XDB-C18 4,6x50 мм; 1,8 мкм
Подвижная фаза: вода, подкисленная HCOOH (1 мл муравьиной кислоты на 1 л воды, pH = 4,5) /ацетонитрил (50/50)
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Условия детектирования: SIM режим в позитивной полярности, $m/z=353,20$; фрагментатор 130

2.3.4.6.4 Определение витамина В₆

Объем пробы: 10 мкл
Колонка: Agilent XDB-C18 4,6x50 мм; 1,8 мкм
Подвижная фаза: вода, подкисленная HCOOH (1мл муравьиной кислоты на 1 л воды, pH = 4,5) /ацетонитрил (50/50)
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Условия детектирования: SIM режим в негативной полярности, $m/z=168,10$; фрагментатор 130

2.3.4.6.5 Определение витамина С

Объем пробы: 10 мкл
Колонка: Agilent XDB-C18 4,6x50 мм; 1,8 мкм
Подвижная фаза: вода, подкисленная HCOOH (1 мл муравьиной кислоты на 1 л воды, pH = 4,5) /ацетонитрил (50/50)
Скорость потока: 1,0 мл/мин
Условия детектирования: SIM режим в негативной полярности,

$m/z=175,00$; фрагментатор 70

2.3.4.6.6 Определение витамина D₃

Объем пробы:	10 мкл
Колонка:	Agilent XDB-C18 4,6x50 мм; 1,8 мкм
Подвижная фаза:	вода, подкисленная HCOOH (1 мл муравьиной кислоты на 1 л воды, pH = 4,5) /ацетонитрил (10/90)
Скорость потока:	1,0 мл/мин
Условия детектирования:	SIM режим в позитивной полярности, $m/z=391,20$; фрагментатор 130

2.3.4.6.7 Определение витамина К

Объем пробы:	10 мкл
Колонка:	Agilent XDB-C18 4,6x50 мм; 1,8 мкм
Подвижная фаза:	вода, подкисленная HCOOH (1 мл муравьиной кислоты на 1 л воды, pH = 4,5) /ацетонитрил (25/75)
Скорость потока:	0,8 мл/мин
Условия детектирования:	SIM режим в негативной полярности, $m/z=450,30$; 450,40; фрагментатор 170

Поскольку стандартизация готовой ЛФ - твердых желатиновых капсул с СЭРШК проводилась по основным действующим веществам, содержащимся в наибольших количествах – салидрозиду, аскорбиновой кислоте и кверцетину, разработанная методика ВЭЖХ/МС для определения витаминов применялась для их идентификации в составе ЛРС столбиков с рыльцами кукурузы, сухого экстракта кукурузы и выбора на основе количественных показателей наиболее эффективного метода экстракции – валидация данной методики не проводилась.

2.3.3 Статистические методы анализа

Математические методы статистической обработки экспериментальных

данных были проведены в соответствии с требованиями ГФ РФ ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Экспериментальные данные, представленные в работе, являются результатом не менее пяти определений.

2.3.4. Валидация аналитических методик

Валидация методик количественного определения стандартизуемых веществ (салидрозид, аскорбиновая кислота) ВЭЖХ проводилась в соответствии с требованиями ГФ РФ ОФС. 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по параметрам: линейность, специфичность, правильность, прецизионность, предел количественного определения.

Выводы к главе 2:

1. В работе использовано современное высокоточное аналитическое и технологическое оборудование, своевременно прошедшее поверку, что гарантирует точность и правильность полученных результатов.
2. Используемые в экспериментах вспомогательные вещества и лекарственное растительное сырье соответствует требованиям НД.
3. Для оценки качества ЛРС, гранулята и готовой лекарственной формы использовались фармакопейные методики.
4. Описаны методики идентификации и количественного определения БАВ в составе ЛРС, гранулята и готовой лекарственной формы методами ВЭЖХ.

ГЛАВА 3. СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРОДУКТОВ И ПОЛУПРОДУКТОВ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЛРС РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ, ШИПОВНИКА СОБАЧЬЕГО И КУКУРУЗЫ МАЙСКОЙ

3.1 Разработка методик подлинности и количественного определения биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье (корневища и корни родиолы розовой, плоды шиповника собачьего), извлечениях, готовом продукте

При анализе данных литературы установлено, что химический состав растительного сырья «Корневище и корни родиолы розовой», «Плоды шиповника собачьего» весьма разнообразен. В растениях содержатся флавоноиды, органические кислоты, в частности, хлорогеновая, что даёт повод к разработке методики обнаружения и количественного определения с использованием одного метода определения этих БАВ как в извлечениях из них, так и в ЛП на их основе (твердые желатиновые капсулы с гранулятом).

Согласно нормативной документации – ГФ РФ, отсутствуют рекомендации по идентификации действующих веществ в плодах шиповника собачьего, а количественное определение проводится методом титрования, который является трудоёмким [30]. Методы идентификации основных действующих веществ в корневищах и корнях родиолы розовой также разнообразны. К числу наиболее распространённых относят метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) и качественная реакция на салидрозид [30, 43, 69, 88, 103, 128, 129].

Определение содержания салидрозида, содержащегося в корневище и корнях родиолы розовой по ГФ РФ проводится спектрофотометрическим методом, пробоподготовка является многостадийным процессом, в ходе которого возможны значительные потери. Кроме того, биологическую активность родиоле розовой придают также и такие БАВ, как розарин, розавин, розин и тирозол, но их определение в сырье и получаемых продуктах не

проводится.

Распространенный метод идентификации действующих веществ в родиоле розовой – ТСХ, в основном применяется при качественном анализе ЛРС. Количественное определение проводят либо после элюирования действующих веществ с хроматографической пластины и дальнейшим анализом спектрофотометрическим методом, либо с применением денситометра. Также, идентификация салидрозида методом ТСХ требует применения таких токсичных веществ, как метанол и хлороформ. Возможно также использование хроматографии на бумаге, однако к недостаткам этого метода следует отнести то, что бумага может быть изготовлена только из материалов на основе целлюлозы, что не позволяет применять ее для разделения неполярных веществ.

Использование хроматографии на бумаге имеет ряд существенных недостатков: зависимость процесса разделения от состава и свойств бумаги, изменение содержания воды в порах бумаги при изменении условий хранения, очень низкая скорость хроматографирования (до нескольких суток), низкая воспроизводимость результатов. Эти недостатки серьезно влияют на использование хроматографии на бумаге как хроматографического метода.

Необходимо было разработать методику определения таких БАВ, как розарин, розавин, розин и тирозол, салидрозид.

К числу современных наиболее часто используемых инструментальных методов исследования относится метод ВЭЖХ [36, 49, 58]. Благодаря мягкости условий проведения ВЭЖХ (почти все разделения можно проводить при температурах, близких к комнатной, при отсутствии контакта с воздухом), эффективности разделения, которую дает ВЭЖХ, высокой чувствительности, этот метод является незаменимым в анализе БАВ растительного происхождения.

Решение проблемы идентификации и количественного определения групп действующих веществ было реализовано при помощи разработанной методики ВЭЖХ, позволяющей в полной мере определить БАВ в сырье, полупродуктах и

готовом экстракте.

Принимая во внимание физико-химические свойства анализируемых соединений, а также литературные данные в отношении методик определения соединений, находящихся в растительном сырье «Корневища и корни родиолы розовой», «Плоды шиповника собачьего», было принято решение разработки методик для следующих групп, именуемых в дальнейшем:

- 1 группа (аскорбиновая кислота);
- 2 группа (хлорогеновая кислота, кверцетин);
- 3 группа (рутин);
- 4 группа (розарин, розавин, розин, салидрозид и тирозол).

В качестве стандартов использовали стандарты фирмы «Cromodex» (вещества 4 группы), и стандарты фирмы «Sigma-Aldrich» для веществ 1-3 группы.

ВЭЖХ анализ полифенольных соединений проводили на жидкостном хроматографе фирмы Waters Breeze с УФ-детектором 2487.

Для количественного определения соединений 1-4 группы были приготовлены стандартные растворы: для 1-ой группы был приготовлен 10 мг аскорбиновой кислоты в 10 мл воды для хроматографии; 2-ой группы — по 2,8 мг хлорогеновой кислоты и кверцетина в 10 мл смеси 0,1 % трифторуксусной кислоты и ацетонитрила (в соотношении 50:50); для 3-ей группы — стандартный раствор: 7,1 мг рутина в 10 мл смеси 0,1 % трифторуксусной кислоты и метанола (в соотношении 50:50), и наконец, для определения соединений 4-й группы готовили стандартные растворы розарина, розавина, розина, салидрозида и тирозола в метаноле, с концентрацией каждого компонента 100 мкг/мл подвижной фазы. Для построения калибровочный графиков анализируемых веществ, последовательно вводили 5, 10, 15 и 20 мкл каждого стандартного раствора.

Учитывая различные химико-физические характеристики перечисленных соединений, требовалось разработать методики количественного определения, включающие в себя следующие стадии:

1) подбор подвижной фазы на основе растворимости исследуемых веществ. Установлено, что рутин необходимо определять отдельно от кверцетина, т.к. он не растворяется в ПФ с ацетонитрилом. При определении аскорбиновой кислоты, кверцетина, хлорогеновой кислоты, в качестве подвижной фазы использовали раствор 0,1 % трифторуксусной кислоты в воде и ацетонитрил; при определении рутина, розарина, розина, салидрозида, тирозола в качестве подвижной фазы использовали раствор 0,1 % трифторуксусной кислоты в воде и метанол.

2) в составе каждой группы анализировали индивидуальные соединения на предмет возможности их детектирования на УФ-детекторе.

3) следующим этапом был подбор максимума поглощения (длины волны), обеспечивающего оптимальную чувствительность.

Для наилучшего разделения анализируемых компонентов проводили подбор соотношения растворителей в различные моменты времени (градиент). Подобрал условия анализа, переходили к реальным экстрактам, содержащим наряду с анализируемыми веществами целый ряд соэкстрактивных веществ, в большинстве случаев, мешающих определению целевых компонентов. На этом этапе, изменяя условия (градиент, температура колонки, скорость потока растворителей) добивались полного разделения компонентов сложной матрицы.

Калибровка прибора проводилась по стандартам анализируемых веществ и включала в себя измерение площадей пиков анализируемых веществ, соответствующих различным концентрациям (не менее четырех для каждого вещества). Далее были проанализированы точные навески реальных образцов. Данные калибровки должны были отвечать определенным параметрам (линейность в диапазоне анализируемых концентраций, сходимости – коэффициент вариации для предела количественного определения составляет 20 %, для остальных – 15 %.) (табл. 3.1, 3.2).

Таблица 3.1 Подбор оптимальных условий хроматографирования (скорости потока)

	Скорость потока, мл/мин				
	0,5	1,0	1,4	1,8	2,0
Фактор ассимиляции пика	0,5	0,9	1,0	1,2	1,25
Число теоретических тарелок	12000	12000	18000	14000	16000
Разрешение	0,8	0,7	1,5	0,7	1,3

Таблица 3.2 Подбор оптимальных условий хроматографирования (температуры колонки)

	Температура колонки, °С				
	25	30	35	40	45
Фактор ассимиляции пика	0,5	1,0	0,7	1,3	1,3
Число теоретических тарелок	15000	18000	12000	17000	16000
Разрешение	1,1	1,5	0,9	1,1	0,5

Была проведена попытка проанализировать содержимое капсул на испытуемые вещества методом градиентной ВЭЖХ, не разбивая их на группы. Определение проводили на жидкостном хроматографе фирмы Waters Breeze с УФ-детектором 2487, колонка SymetryC-18, 4.6x150 мм, 5 мкм. Подвижной фазой являлся метанол:0,1 % трифторуксусная кислота (рис.3.1).

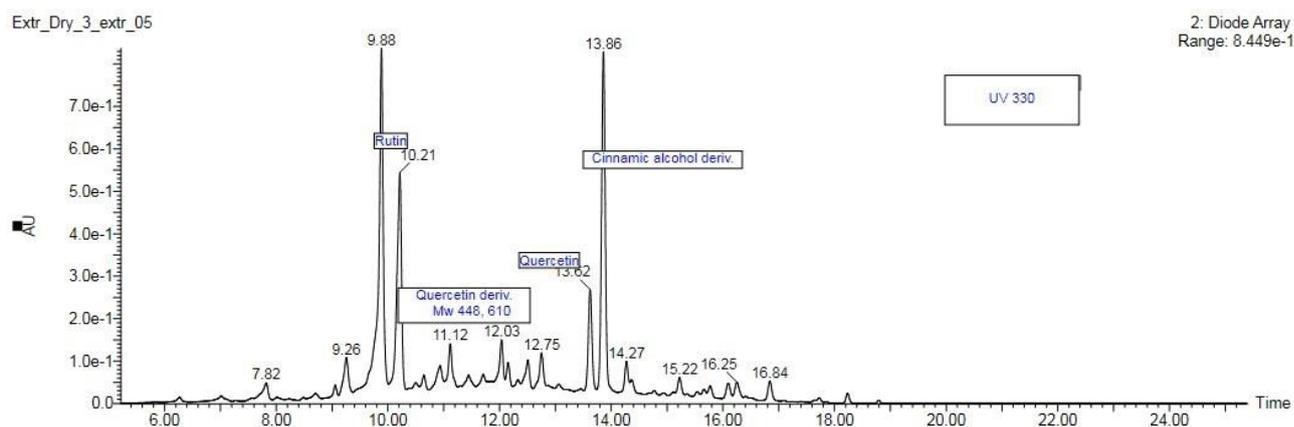


Рисунок 3.1. ВЭЖХ-хроматограмма содержимого капсул СЭРШК

В результате эксперимента было выявлено, что не представляется возможным выявить анализируемые вещества на одной хроматограмме, т.к. аскорбиновая кислота попадает в «мёртвый объём» вместе с растворителем. Пики стандартизуемых компонентов – салидрозида и аскорбиновой кислоты близки и при совместном определении могут накладываться друг на друга. Таким образом, была показана целесообразность отдельного количественного определения компонентов СЭРШК.

Подготовка проб и условия хроматографирования подробно описаны ранее, в главе 2.3.4.

3.2 Валидация методик определения БАВ

Валидация методик проводилась по параметрам: специфичность, линейность, правильность и прецизионность, предел количественного определения – согласно рекомендациям FDA и EMA, а также ГФ РФ ОФС «Валидация аналитических методик».

Несмотря на то, что методики идентификации и количественного определения были разработаны для всех 4 групп соединений, содержащихся в смеси СЭРШК, валидацию проводили только для разработанных методик на стандартизуемые БАВ для определения показателей качества готовой ЛФ – салидрозид и аскорбиновая кислота.

Специфичность. Для определения специфичности проводили анализ экстрактов (навеска 30-40 мг в 1 мл подвижной фазы В), содержащих рутин, кверцетин, аскорбиновую кислоту, хлорогеновую кислоту, розавин, розарин,

розин, салидрозид, тирозол. На полученных хроматограммах (рис.3.2-3.5) показано, что соэкстрактивные вещества не мешают определению БАВ.

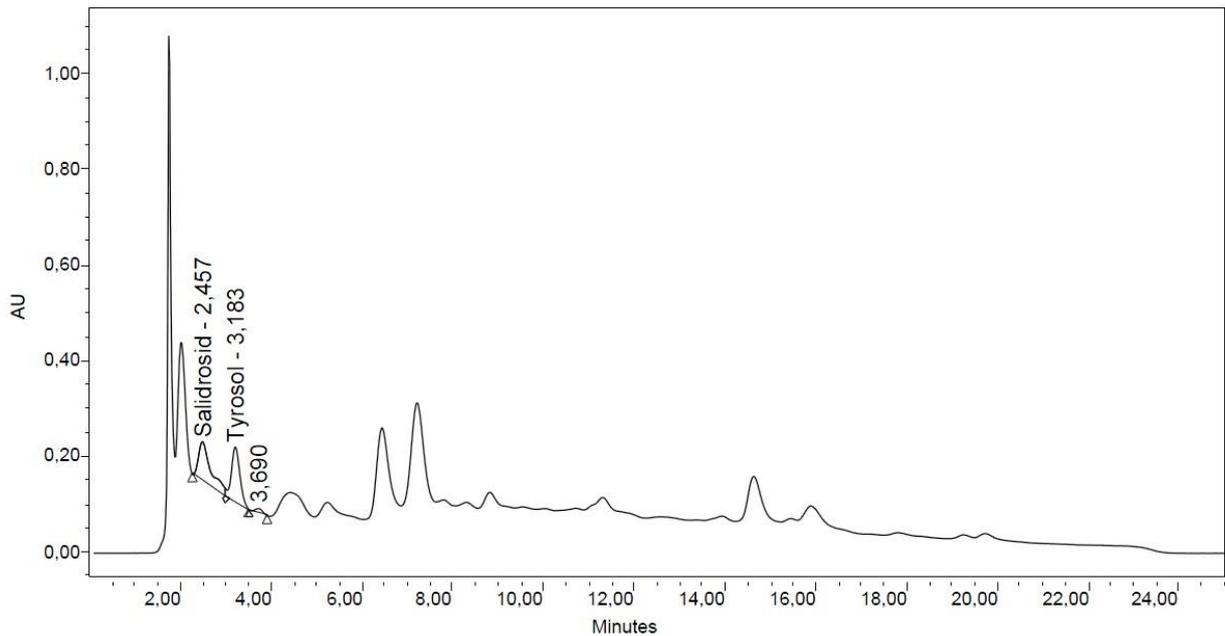


Рисунок 3.2 - ВЭЖХ-хроматограмма экстракта родиолы розовой, содержащего салидрозид и тирозол

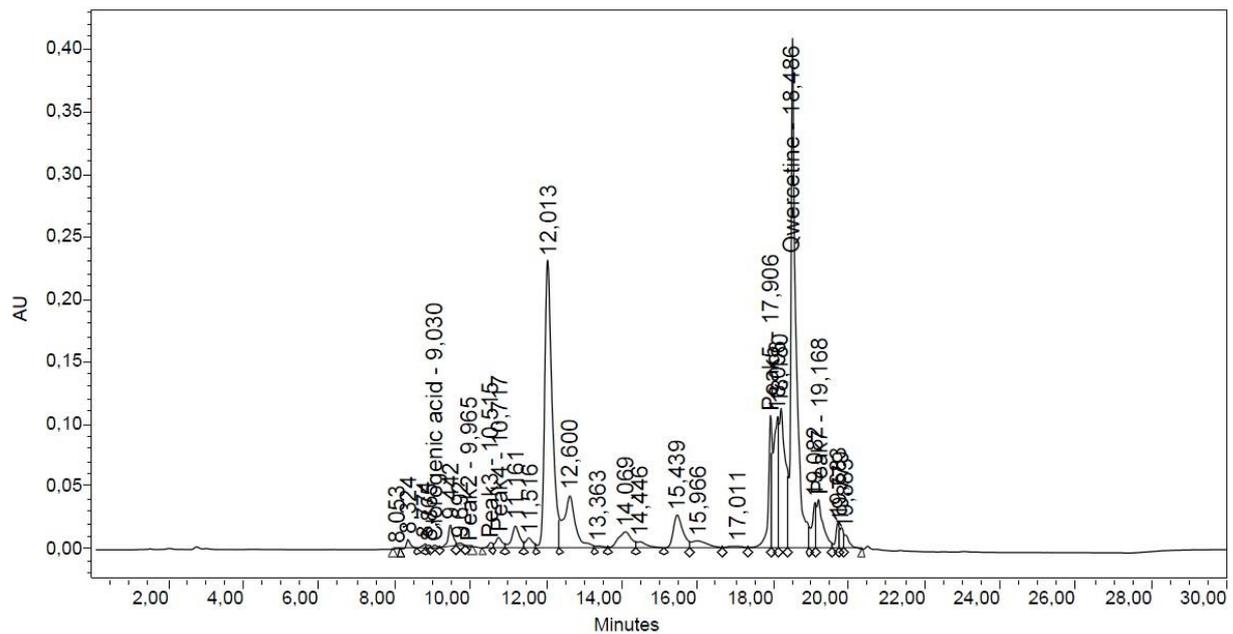
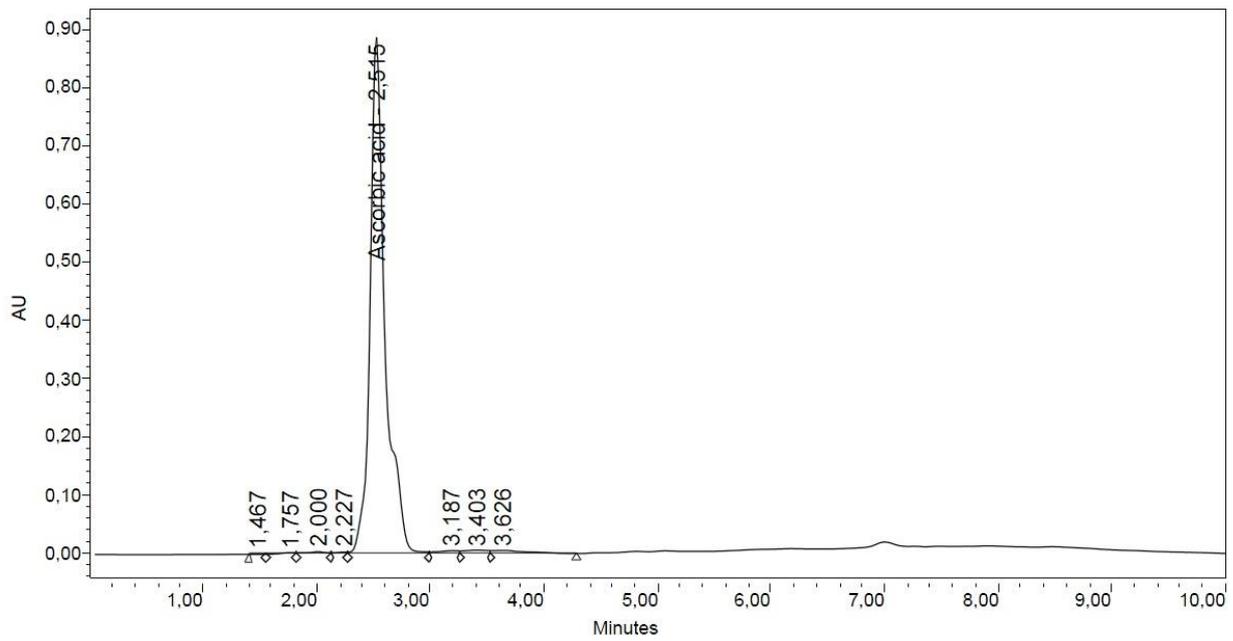


Рисунок 3.3 - ВЭЖХ-хроматограмма экстракта родиолы розовой, содержащего кверцетин и хлорогеновую кислоту



Р

Рисунок 3.4 - ВЭЖХ-хроматограмма экстракта шиповника собачьего, содержащего аскорбиновую кислоту

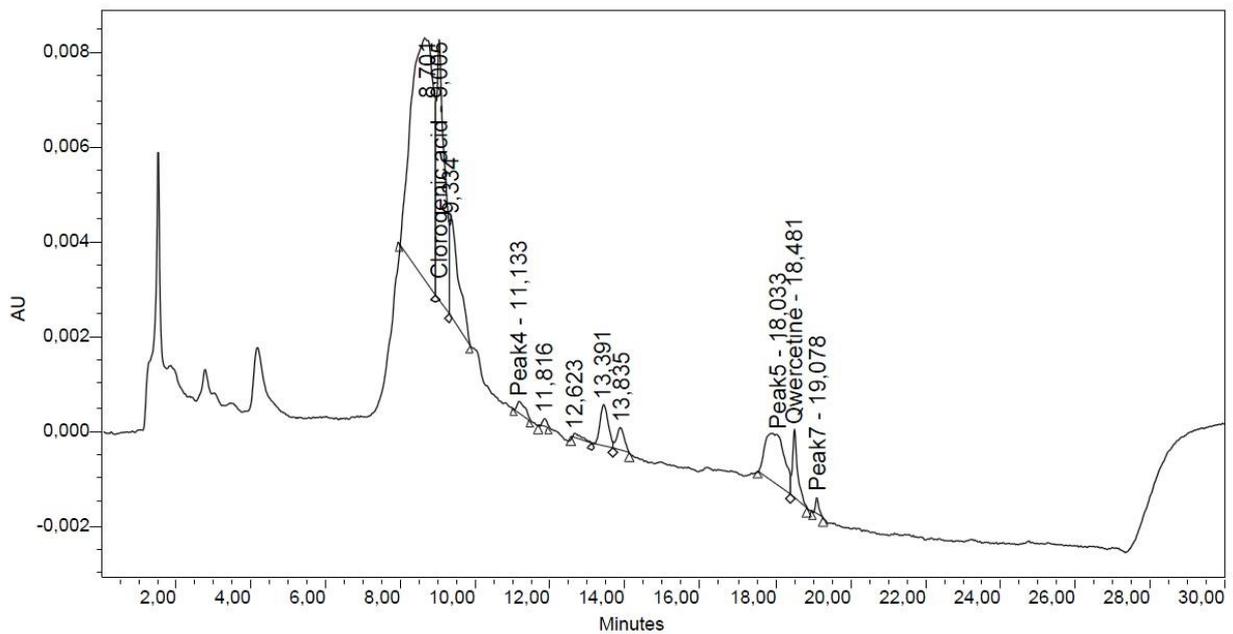


Рисунок 3.5 - ВЭЖХ-хроматограмма экстракта шиповника собачьего, содержащего кверцетин и хлорогеновую кислоту

Линейность. Проводили анализ четырёх образцов стандартных растворов, определяемых БАВ. Концентрации, калибровочный график и уравнение калибровочной кривой представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 - Значения концентраций, уравнения калибровочной кривой и калибровочный график определяемых БАВ

Определяемое вещество	Концентрация, мкг/мл	Коэффициент корреляции	Уравнение калибровочной кривой
Аскорбиновая кислота	500,000	$R^2=0,999937$	$Y=1,24e+(-4,07e)+006$
	1000,000		
	1500,000		
	2000,000		
Салидрозид	50,000	$R^2=0,999039$	$Y=2,53e+006,43e+004$
	100,000		
	150,000		
	200,000		
Кверцетин	140,000	$R^2=0,828422$	$Y=7,25e+003,81e+005$
	280,000		
	420,000		
	560,000		

По полученным данным были построены калибровочные графики (Рис. 3.6-3.8).

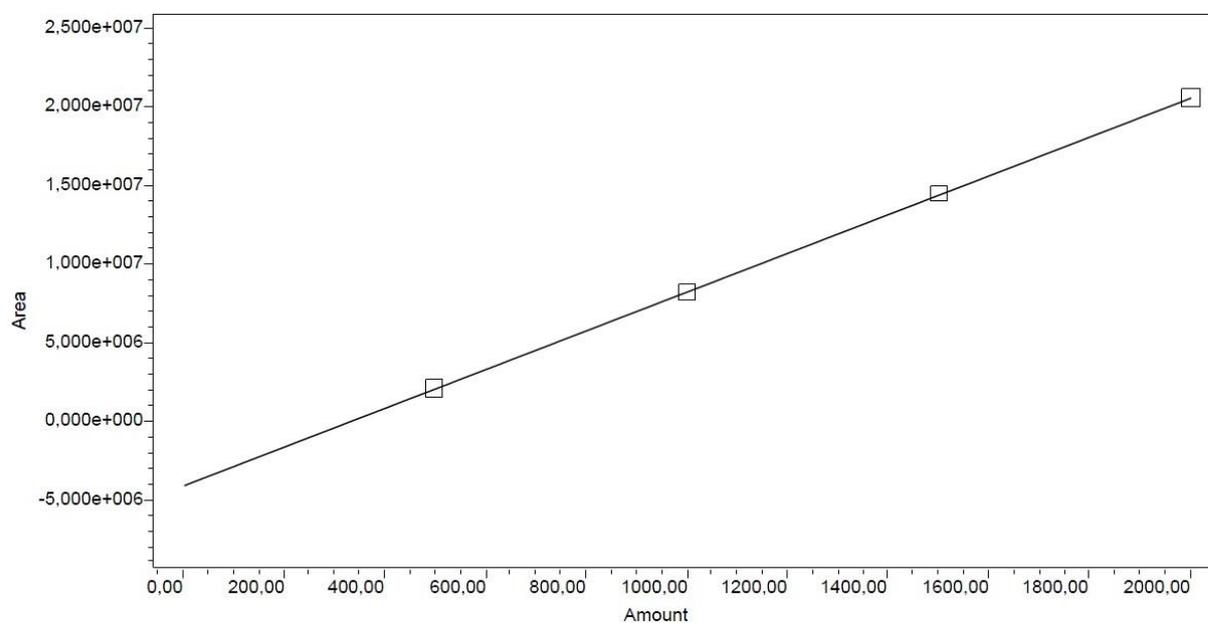


Рисунок 3.6 - Калибровочный график зависимости площади пика от концентрации аскорбиновой кислоты

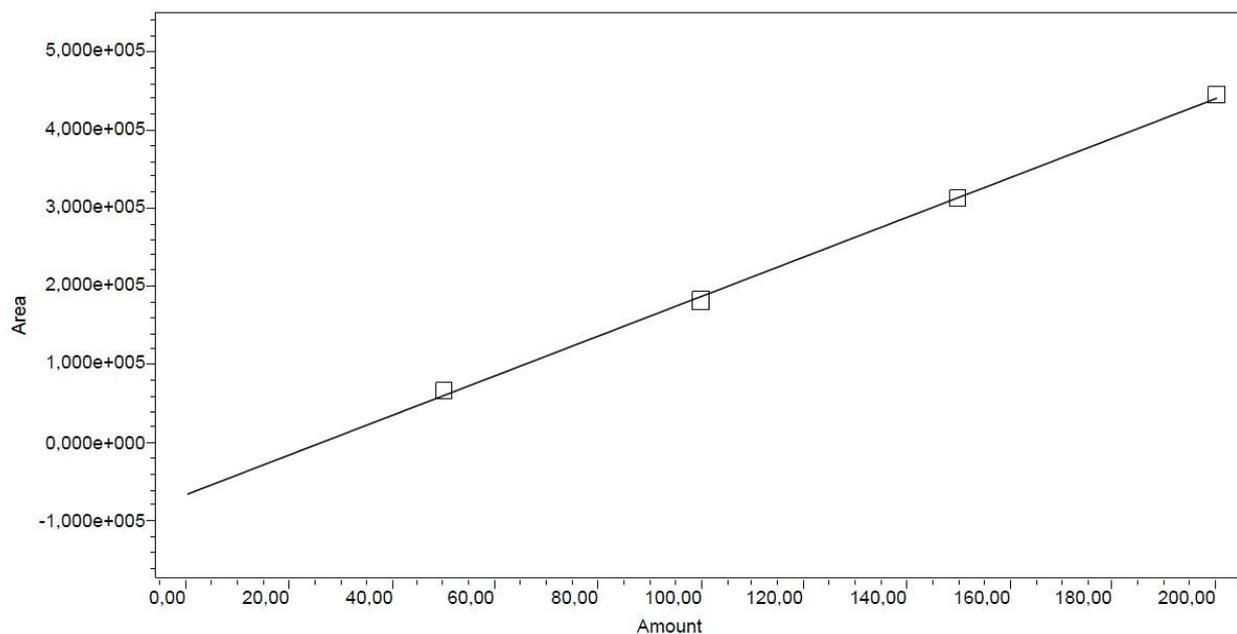


Рисунок 3.7 - Калибровочный график зависимости площади пика от концентрации салидрозида

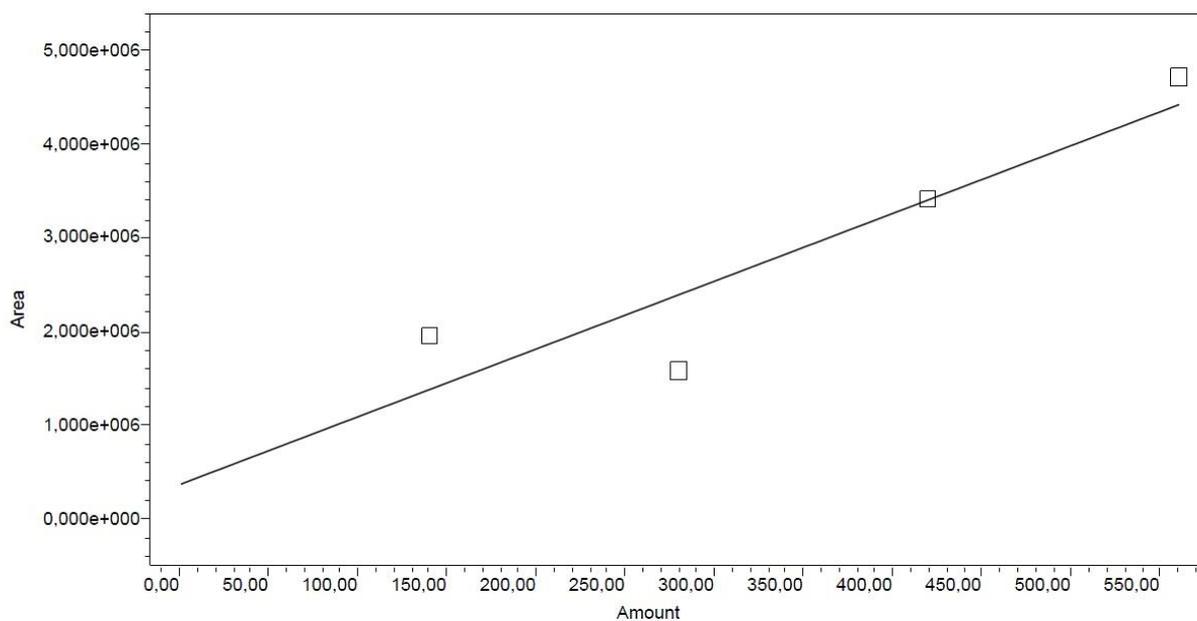


Рисунок 3.8 - Калибровочный график зависимости площади пика от концентрации кверцетина

Отклонения концентраций калибровочных растворов рассчитаны по уравнениям линейной зависимости от фактических значений и приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 - Отклонения концентраций калибровочных растворов БАВ от фактических значений

Название образца	Номер образца	Количество	Рассчитанное количество	Отклонение
Аскорбиновая кислота	st_1	500,000	500,399335	0,080
	st_2	1000,000	995,861559	-0,414
	st_3	1500,000	1507,078876	0,472
	st_4	2000,000	1996,660230	-0,167
Салидрозид	st_rod	50,000	51,893534	3,787
	st_rod	100,000	97,588615	-2,411
	st_rod	150,000	149,142168	-0,572
	st_rod	200,000	201,375683	0,688
Кверцетин	st_qc1	140,000	216,405093	54,575
	st_qc2	280,000	166,307899	-40,604
	st_qc3	420,000	418,168922	-0,436
	st_qc4	560,000	599,118085	6,985

Полученные данные соответствуют нормам отклонений FDA и EMA (не более 20 % для нижнего диапазона линейности, не более 15 % для остальных точек).

Правильность и прецизионность. Анализировали по 3 образца каждого вещества в различных концентрациях. Каждый раствор хроматографировали по 3 раза. Данные анализа представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 - Величины стандартного отклонения (SD), относительного стандартного отклонения (RSD) и относительной погрешности (ϵ).

Вещество	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Среднее значение найденного, мкг/мл (n=3)	SD, (n=3)	RSD, (n=3) %	ϵ , %
Аскорбиновая кислота	500,0	499,0	499,33	3,51	0,7	0,13
		496,0				
		503,0				
	1000,0	1002,0	1000,00	4,36	0,43	0
		1003,0				
		995,0				
	1500,0	1502,0	1497,60	3,79	0,25	0,16
		1495,0				
		1496,0				

Салидрозид	50,0	54,0 46,0 48,0	49,33	4,20	8,51	1,40
	100,0	99,0 105,0 96,0	100,00	4,60	4,60	0
	150,0	154,0 147,0 151,0	150,70	3,51	2,33	0,46
Кверцетин	140,0	141,0 135,0 145,0	140,33	5,03	3,6	0,24
	280,0	282,0 281,0 283,0	282,00	1,00	0,4	0,71
	420,0	422,0 415,0 419,0	418,70	3,51	0,83	0,31

Полученные величины стандартного отклонения (S.D), относительного стандартного отклонения (RSD, %) и относительной погрешности (ϵ , %) соответствуют нормам FDA и EMA (не более 20 % минимальной концентрации, не более 15 % для остальных двух концентраций).

Предел количественного определения. Предел количественного определения (ПКО) рассчитывали по формуле:

$$S \div N \times 10, \quad (1)$$

где S – сигнал, N – шум.

Предел количественного определения методики составил 50,0 мкг/мл для кверцетина, розавина, салидрозида, аскорбиновой кислоты.

3.3 Определение витаминов в лекарственном растительном сырье кукурузы майской методом ВЭЖХ/МС

Данные литературы свидетельствуют о высокой концентрации БАВ в ЛРС столбики с рыльцами кукурузы, за счет содержания в них витаминов группы В, аскорбиновой кислоты, жирорастворимых витаминов D₃, К. Вместе с тем, при анализе литературных данных было выявлено, что для определения жирорастворимых витаминов в различных объектах, широко используется метод ВЭЖХ [56, 161].

Для определения витаминов в ЛРС и продуктах, получаемых на его основе, был выбран метод ВЭЖХ/МС, т.к. он обеспечивает большую чувствительность методики, при примерно равных затратах, что положительно сказывается на определении органических соединений в ЛРС, препаратах на основе ЛРС.

Также метод ВЭЖХ/МС обладает более высокой селективностью в сравнении с градиентной ВЭЖХ.

3.3.1 Разработка методики количественного определения витаминов методом ВЭЖХ/МС

Для облегчения селективности количественного определения содержащихся в сырье витаминов необходимо было разработать методики количественного определения методом ВЭЖХ/МС, учитывающие различные физико-химические свойства изучаемых соединений. Ввиду своей высокой селективности, метод масс-спектрометрии позволяет качественно и количественно определить изучаемые вещества в смеси отдельно друг от друга, без полного хроматографического разделения веществ. Однако, для повышения эффективности хроматографического разделения, требуется подбор подвижной фазы, позволяющей получить хроматограмму, удовлетворяющую необходимому числу теоретических тарелок, индивидуального компонента разделяемой смеси.

3.3.2 Хроматографические условия

В качестве подвижных фаз были исследованы: метанол/вода, ацетонитрил/вода, метанол/0,1 % раствор НСООН в воде, ацетонитрил/0,1 % раствор НСООН в воде и ацетонитрил/0,2 % раствор НСООН в воде в различных соотношениях. Для оценки пригодности хроматографической системы были использованы следующие значения: число теоретических тарелок (ЧТТ), фактор асимметрии (F_{as}), коэффициент разделения (R_s) (таблица 3.6). Режим элюирования изократический, скорость элюирования – 1 мл/мин для витаминов А, В₁, В₂, В₆, С, D₃ и 0,8 для витамина К. В качестве неподвижной фазы была использована колонка С18 Agilent Eclipse XDB-C18 (50 × 4,6 мм, 5 мкм, США). Объем пробы, вводимой в хроматограф – 20 мкл.

Таблица 3.6 Оценка пригодности хроматографической системы

Состав ПФ	Параметры пригодности хроматографической системы		
	ЧТТ	F _{as}	R _s
Метанол/вода	24000 ± 100	0,93 ± 0,01	2,20 ± 0,01
Ацетонитрил/вода	23000 ± 100	0,94 ± 0,01	2,37 ± 0,01
Метанол/0,1 % раствор НСООН в воде	24500 ± 100	0,97 ± 0,01	2,21 ± 0,01
Ацетонитрил/0,1 % раствор НСООН в воде	25000 ± 100	1,00 ± 0,01	2,30 ± 0,01
Ацетонитрил/0,2 % раствор НСООН в воде	23000 ± 100	0,92 ± 0,01	2,40 ± 0,01

Согласно полученным результатам, наиболее высокую эффективность хроматографии показали подвижная фаза составом ацетонитрил/0,1 % раствор НСООН в воде в соотношении 50/50 для витаминов А, В₁, В₂, В₆, С; для таких неполярных веществ, как D₃ и К, эффективный состав подвижной фазы составил 90/10 и 75/25, соответственно.

3.3.3 Условия ионизации молекулы в масс-спектрометрии

Для анализа витаминов было проверено три типа ионизации – ESI (ионизация электроспреем), APCI (химическая ионизация при атмосферном давлении) и смешанный тип ионизации. В результате исследований было доказано, что тип ESI имеет чувствительность и селективность, удовлетворяющую целям нашего исследования, чем APCI или смешанный тип, поэтому был выбран ESI тип ионизации (таблица 3.7).

Таблица 3.7 Сравнительная характеристика типов ионизации по параметру S/N

Тип ионизации/параметр	ESI	APCI	DUIS (ESI + APCI)
S/N	10,1	8,7	8,9

3.3.4 Масс-спектрометрические параметры

Тип ионизации – ESI, полярность – позитивная для витаминов А, В₁, В₂, В₆, D₃ и негативная для витаминов С и К, напряжение на капилляре – 3000 В, давление распылительного газа – 2,0 - 5,5 атм., температура камеры – 350 °С; режим детектирования – SIM (Single Ion Mode); значения m/z, показавших наивысшую селективность определения изучаемых веществ, приведены для каждого витамина в таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Величина m/z для исследуемых витаминов

Витамин	m/z
Витамин А	537,30
Витамин В ₁	381,20; 381,30
Витамин В ₂	353,20
Витамин В ₆	168,10
Витамин С	175,00
Витамин D ₃	391,20
Витамин К	450,30; 450,40

Отдельные хроматографические параметры для каждого витамина приведены в главе 2.3.4.6.

3.3.5 Количественное определение

Для количественного определения использовался метод внешнего стандарта. Для этого готовили стандартные растворы витаминов (см. раздел 2.3.4.6.). Концентрация витаминов C_X (мкг/мл) в испытуемом растворе рассчитывалась по формуле:

$$C_X = \frac{C_{st} \times A_X}{A_{st}}, \quad (2)$$

где C_{st} – концентрация стандартного раствора (мкг/мл), A_X - площадь пика определяемого вещества в испытуемом растворе, A_{st} – площадь пика определяемого вещества в стандартном растворе.

Расчет количественного содержания витаминов в ЛРС столбиков с рыльцами кукурузы проводят по формуле:

$$X = \frac{C_X \times 50 \times V}{m_{\text{навески}}} \times 100\%, \quad (3)$$

где C_X – концентрация витамина в испытуемом растворе, мкг/мл; V – объем испытуемого раствора, мл; $m_{\text{навески}}$ – масса навески для приготовления испытуемого раствора, мкг.

3.3.6 Определение витаминов в ЛРС и СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

Определение витаминов в измельченном сырье столбика с рыльцами кукурузы и сухом экстракте проводили на приборе «Agilent 1200» методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором с программным обеспечением ChemStation vB.03.01-SR1. Для расчета количества витаминов использовался метод внешнего стандарта. Пики по времени удерживания стандартных растворов соответствовали растворам ЛРС и СЭ. Хроматограммы стандартного и исследуемого растворов приведены в приложении 4.

Выводы к главе 3:

1. Разработана методика, позволяющая проводить как качественный, так и количественный анализ корневищ и корней родиолы розовой методом градиентной ВЭЖХ по содержанию в них рутина, розарина, розина, салидрозида, тирозола, аскорбиновой кислоты, кверцетина и хлорогеновой кислоты, а также плодов шиповника собачьего по содержанию аскорбиновой кислоты, кверцетина и хлорогеновой кислоты ВЭЖХ методом.
2. Предложена стандартизация готовой ЛФ по двум основным БАВ – салидрозиду и аскорбиновой кислоте. Проведена валидация методики ВЭЖХ по показателям: линейность, специфичность, правильность, прецизионность, предел количественного определения.
3. Разработана методика ВЭЖХ/МС, позволяющая проводить как качественный, так и количественный анализ витаминов (А, В₁, В₂, В₆, D₃, К) в ЛРС и СЭ столбиков с рыльцами кукурузы.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ, ШИПОВНИКА СОБАЧЬЕГО И СТОЛБИКОВ С РЫЛЬЦАМИ КУКУРУЗЫ

При разработке технологии получения ЛП методы экстракции ЛРС направлены на максимально возможное извлечение действующих веществ.

4.1. Получение сухого экстракта родиолы розовой и оценка его качества

В исследовании использовано сырьё фирмы ОАО «Красногорск лексредства». Определяли качество сырья по показателям и методикам, описанным в ФС (ЛСР-008315/08-211008). Определяли содержание основного действующего вещества - салидрозид по методике, описанной в главах 2 и 3. Результаты исследования представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 - Числовые показатели растительного сырья «Корневища и корни родиолы розовой»

№ п/п	Показатель	Содержание, %
1.	Салидрозид	1,36±0,04
2.	Влажность	6,3±0,2
3.	Зола общая	7,53±0,02
6.	Частицы, не проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм	4,7±0,1
7.	Частицы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм	0,5±0,2
8.	Органическая примесь	0,6±0,3
9.	Минеральная примесь	0,4±0,1

Согласно полученным результатам, лекарственное растительное сырьё корневища и корни родиолы розовой соответствует требованиям ГФ РФ ФС.2.5.0036.15 по всем изученным показателям.

С целью получения сухого экстракта на первом этапе исследования получали извлечение из ЛРС родиолы розовой. Использовали наиболее распространенный и эффективный метод экстракции - метод противоточного многоступенчатого экстрагирования в батарее из 5-х диффузоров [139]. По данным литературы, при этом способе экстрагирования достигается максимально

возможный выход действующих веществ, а энергетические затраты, при этом оказываются минимальными [69, 103, 128].

Экстрагентом служил 40 % спирт этиловый, соотношение сырьё: готовый продукт составляет 1:1, сырьё измельчали до 2 – 5 мм на дисковой мельнице [101, 102]. Выбор метода экстракции и экстрагента основан на литературных данных и технологии выпускаемого промышленностью жидкого экстракта родиолы розовой (ФС 42-2163-96 Экстракт родиолы розовой).

Общий объем экстрагента, с учетом коэффициента поглощения, составлял 1055 мл. Экстрагирование вели в батарее из 5-х экстракторов (перколяторов). В первый засыпали 50 г измельчённых до 2 - 5 мм и просеянных корневищ и корней родиолы розовой. Сырьё утрамбовывали и заливали 40 % спиртом в соотношении 1:1 с учётом коэффициента поглощения ($K_p=1,6$ мл/г) до «зеркала». Объём экстрагента составлял 580 мл. Время настаивания – 24 ч. На второй день во 2-ой диффузор загружали 50 г измельчённого сырья и переносили извлечение из первого экстрактора во второй в количестве до «зеркала». Первый заливали 580 мл экстрагента - спирта этилового 40 %. Оставляли на 24 ч. По аналогии с вышеперечисленным, загружали перколяторы 3 и 4. На пятый день в 5-й экстрактор вносили 50 г измельчённого сырья и заливали его извлечением из 4-го перколятора, перемещая вытяжки из 4-го перколятора в 5-й перколятор, из 3-го перколятора в 4-й перколятор, из 2-го перколятора в 3-й перколятор, из 1-го перколятора во 2-й перколятор. Первый экстрактор отключали, рекуперировали спирт этиловый, поглощенный сырьем, отработанный шрот помещали в отходы. Во 2-й экстрактор с максимально истощённым сырьём заливали чистый экстрагент.

На 6-й день из 5-го перколятора сливали 50 мл экстракта родиолы розовой и фильтровали через фильтровальную бумагу марки Ф. В последующие дни осуществляли передвижение извлечения аналогично вышеописанной схеме, при этом из «головного» (5-го по счету) перколятора сливали готовый продукт и фильтровали его, а из «хвостового» рекуперировали спирт этиловый и удаляли шрот.

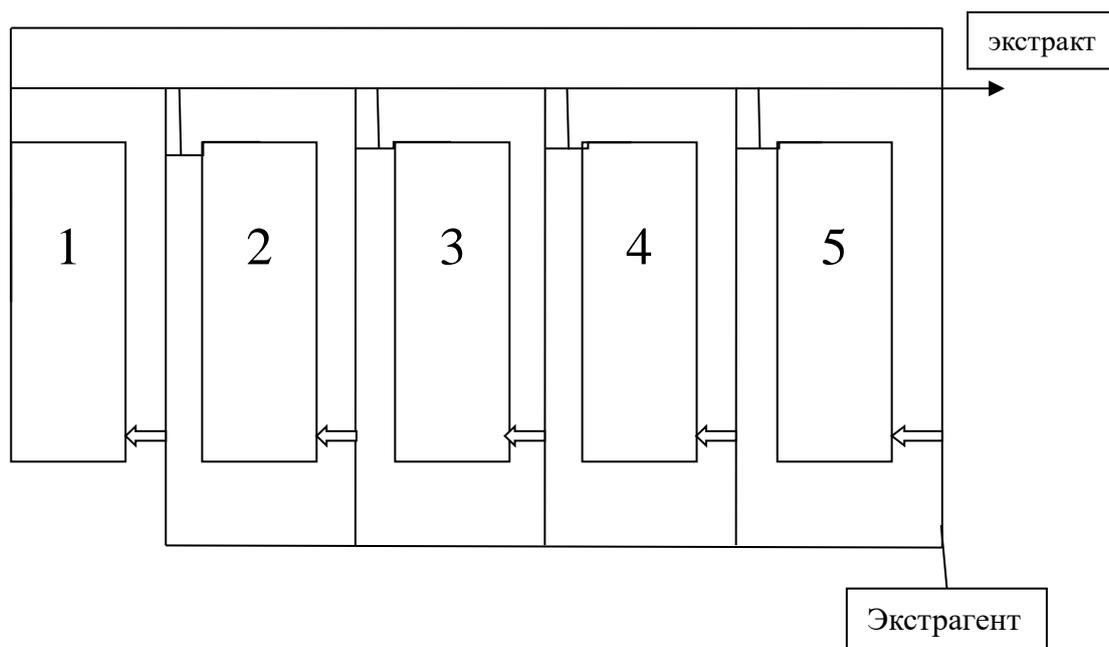


Рисунок 4.1 - Схема получения извлечения из корневищ и корней родиолы розовой методом противоточного многоступенчатого экстрагирования в батарее из 5-х диффузоров.

Проводили определение содержания основных биологически активных веществ в полученном извлечении: органических кислот, флавоноидов, полисахаридов, а также соединений группы фенольных гликозидов, проводили методом ВЭЖХ, в соответствии с методикой, описанной в 3-й главе (3.1.). Результаты определения представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 - Содержание основных биологически-активных веществ в жидком экстракте родиолы розовой

Наименование соединения	Числовой показатель полученного экстракта
Аскорбиновая кислота, мкг/мл	не обнаружена
Хлорогеновая кислота, мкг/мл	0,0061±0,0002
Кверцетин, мкг/мг	1,43±0,12
Рутин, мкг/мг	0,83±0,3
Розавин мкг/мг	0,2±0,01
Розарин мкг/мг	0,51±0,02
Розин мкг/мг	0,17±0,01
Салидрозид мкг/мг	3,14±0,17
Тирозол мкг/мг	1,31±0,05

Полученное спиртовое извлечение из корневищ и корней родиолы розовой отстаивали в течение суток при температуре 2-8 °С. Затем экстракт фильтровали через фильтровальную бумагу марки Ф и упаривали с помощью вакуум-выпарного аппарата (BUCHI, Швейцария) сначала при давлении 175 мБар, температуре бани 60 °С и скорости вращения колбы 120-140 об/мин, а затем, после отгона этанола при 72 мБар для сгущения водной фракции с целью уменьшения объёма жидкости.

Полученное сгущённое извлечение помещали в морозильную камеру с температурой – 25 °С на 6-8 часов и затем высушивали в сублимационной сушилке HetoDrywinner СТ/DW 60E с вакуумно-роторным насосом RZ 2 (Vacuubrand, Германия) при давлении 0,010 мБар и температуре 21 °С, в течении не менее 18 часов.

Идентификацию и количественное определение действующих веществ в сухом экстракте родиолы розовой проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, по методике, описанной в 3-й главе, разделе 3.1. Результаты анализа представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Результаты анализа сухого экстракта родиолы розовой

Показатель	Результат полученного экстракта, мкг/мг
Хлорогеновая кислота	0,052±0,0026
Кверцетин	12,05±1,2
Рутин	6,96±0,35
Розавин	1,69±0,1
Розарин	4,35±0,2
Розин	1,49±0,1
Салидрозид	26,47±1,4
Тирозол	11,08±0,5

Данные, приведённые в таблице 4.3, свидетельствуют, что сухой экстракт из корневищ и корней родиолы розовой содержит идентичный с ЛРС комплекс биологически активных веществ.

Кроме того, проводили изучение показателей качества сухого экстракта родиолы розовой по ГФ РФ ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты».

Таблица 4.4 – Результаты изучения показателей качества сухого экстракта родиолы розовой

Показатель	Нормы	Метод определения	Соответствие ГФ РФ
Описание	порошок оранжево-коричневого цвета с характерным запахом	визуально	Соотв.
Насыпная плотность	$0,53 \pm 0,30$ г/мл	ГФ РФ, ОФС.1.4.2.0016.15 Степень сыпучести порошков	Не более 0,6 г/мл
Тяжелые металлы	$0,002 \pm 0,0005$ %	ГФ РФ, ОФС.1.4.2.0016.15	Не более 0,01%
Потеря в массе при высушивании	$4,7 \pm 0,2$ %	ГФ РФ ОФС.1.2.1.0010.15	Соотв.

Технологическая схема получения сухого экстракта из корневищ и корней родиолы розовой представлена на рисунке (Рис. 4.1)

Полученный сухой экстракт родиолы розовой упаковывали в тару из тёмного стекла по 50,0 г., укупоривали навинчивающейся крышкой и для герметичности и обрабатывали расплавленным парафином. Хранили в прохладном, защищённом от света месте.

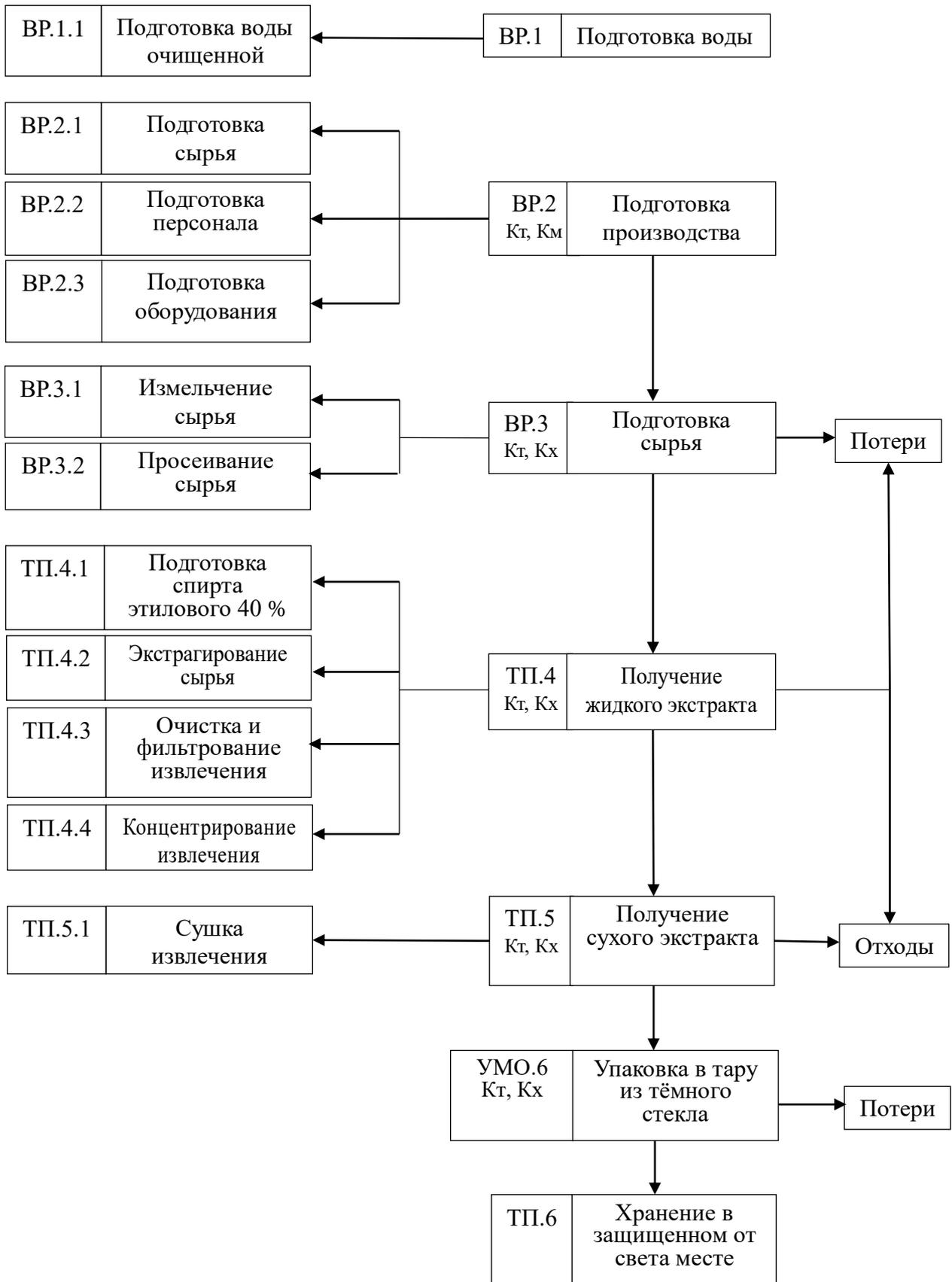


Рисунок 4.2 - Технологическая схема получения сухого экстракта из корневищ и корней родиолы розовой

4.2 Получение сухого экстракта из плодов шиповника собачьего, и оценка его качества

Плоды шиповника были закуплены у фирмы ЗАО «Фито-ЭМ», определение числовых показателей проводили по методикам, описанным в ФС (ЛП 000111-271210) и химический состав изучали по методикам, описанным в главах 2 и 3. Результаты исследования представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 Числовые показатели растительного сырья шиповника собачьего

№ п/п	Показатель	Значение показателя, %
1.	Аскорбиновая кислота	8,0±0,1
2.	Влажность	6,8±0,1
3.	Другие части шиповника (кусочки веточек, чашелистиков и плодоножек)	0,51±0,03
4.	Зола общая	1,27±0,03
5.	Измельчённые части плодов, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм	2,0±0,3
6.	Минеральная примесь	0,3±0,1
7.	Органическая примесь	0,2±0,2
8.	Частицы сырья, утратившие окраску (побуревшие, потемневшие, выцветшие)	0,7±0,2

Учитывая характер биологически активных соединений, представленных в плодах шиповника собачьего, применительно к данному виду растительного сырья, различными авторами разработаны разнообразные методы экстракции, основная цель которых в максимальном истощении лекарственного сырья, и увеличении выхода действующих веществ [78, 92, 93, 96].

Работами сотрудников ВИЛАР установлено, что оптимальным температурным режимом экстракции, с учётом наличия термолабильных веществ, является диапазон 50-55 °С при соотношении сырьё : экстрагент, не превышающем 1:10 [34].

Актуальным также остается вопрос измельчения сырья. Алтарев С. Н. использовал измельченные плоды, в то время как, в исследованиях Мясникова

Д.Н. использованы цельные плоды [93, 94]. Данное обстоятельство может быть объяснено различными подходами к получению целевого продукта: доказано, что измельчение плодов шиповника приводит к повышению выхода пектинов, и к образованию опалесцирующих извлечений [93]. Однако, данное обстоятельство в нашем исследовании не является нежелательным, т.к. предполагалось впоследствии получение сухого экстракта. Повышение выхода пектинов и, соответственно, их присутствие в готовом продукте, не влияет на его актопротекторную активность, что доказано работами [55, 95].

Среди всего многообразия схем экстрагирования БАВ из плодов шиповника был выбран метод, предложенный Давыдовой В.Н., который заключается в экстрагировании измельченных плодов шиповника водой очищенной в соотношении 1:10 при постоянной температуре 50 ± 5 °С, методом дробной мацерации, где время 1-ой экстракции – 2 часа, 2-й – 1,5 часа, 3-ей – 1 час 15 минут. Далее извлечения объединяют, отстаивают в течение 24 часов при температуре 2-8 °С, фильтруют и направляют на стадию упаривания под вакуумом [34]. Технологическая схема, предложенная Давыдовой В.Н., была взята за основу исследований, с внесением в неё некоторых изменений: использование неизмельчённого сырья и циркуляция экстрагента, при сохранении соотношения 1:10.

Экстракция с принудительной циркуляцией экстрагента является одним из способов ускорения процесса мацерации и повышения выхода готового продукта. На производстве этот способ может быть реализован при помощи мацерационного бака с ложным дном и насоса, который прокачивает экстрагент до достижения равновесной концентрации извлечения во всем объеме экстрактора.

В ходе отработки процесса экстракции, после 2 часовой экспозиции настаивания сырья при помощи экстрагента — воды очищенной (температура 50-55° С) в соотношении 1:10, сливали образовавшуюся концентрированную вытяжку объемом 1/5 от общего объема извлечения, и проводили принудительную циркуляцию оставшегося экстрагента с помощью насоса.

Предварительно было определено время, в течение которого должен был циркулировать экстрагент. С этой целью проводили экстракцию методом 3-х кратной мацерации как измельчённого, так и цельного сырья с циркуляцией экстрагента в течение различных промежутков времени. Полученные результаты приведены в таблице 4.6.

Таблица 4.6 - Зависимость выхода рутина, кверцетина, аскорбиновой и хлорогеновой кислот от времени циркуляции экстрагента

Время циркуляции, мин.	Содержание аскорбиновой кислоты, мкг/мл		Содержание хлорогеновой кислоты, мкг/мл		Содержание кверцетина, мкг/мл		Содержание рутина, мкг/мл	
	Измельчённые плоды	Неизмельчённые плоды	Измельчённые плоды	Неизмельчённые плоды	Измельчённые плоды	Неизмельчённые плоды	Измельчённые плоды	Неизмельчённые плоды
20	42,41±0,02	38,11±0,04	0,08±0,04	0,02±0,04	0,055±0,04	0,036±0,01	0,103±0,02	0,101±0,03
30	53,33±0,04*	50,19±0,03*	0,20±0,04*	0,18±0,01*	0,061±0,02*	0,056±0,01*	0,118±0,02*	0,116±0,02*
40	49,12±0,02*	47,17±0,02*	0,11±0,03*	0,14±0,03*	0,062±0,02*	0,044±0,02*	0,107±0,03*	0,110±0,02*

Примечание. Число наблюдений (n) = 5.

* - Достоверные различия с результатом экстрагирования с циркуляцией в 20 мин. (P<0,05).

Исследования показали, что циркуляция сверх 30 минутной экспозиции не является целесообразной, т.к. при дальнейшем увеличении времени циркуляции не происходит увеличения выхода действующих веществ.

Принимая во внимание результаты проведенного исследования, было выбрано 4 варианта экстрагирования, из которых необходимо было выбрать наиболее эффективный. Первый - проводили в соответствии с методикой, предложенной Давыдовой В.Н. В перколятор засыпали 10,0 г предварительно измельченных плодов шиповника собачьего и заливали 100 мл воды очищенной, предварительно нагретой до 50-55 °С. Настаивали в течение 2 ч. Затем декантировали полученный экстракт и снова заливали горячей водой очищенной на 1 час 30 минут, по истечении этого времени, экстракт декантировали и проводили 3-ю стадию экстракции в течение 1 часа 15 минут. Готовый раствор снова декантировали и объединяли сливы.

Второй метод являлся аналогичным первому, за исключением того, что использовали неизмельченное сырьё. Третий метод повторял первый, но при этом, во время стадии мацерации, декантировали концентрированное извлечение в количестве 1/5 от общего объёма, а оставшееся извлечение подвергали циркуляции. Четвёртый метод был аналогичен третьему, однако, использовали неизмельченные плоды. Различия методов экстрагирования представлены в таблице (табл. 4.7).

Таблица 4.7- Используемые методы экстракции

Номер метода	Способ экстракции	Измельчение сырья	Экстрагент	Циркуляция экстрагента
Метод 1	3-кратная мацерация	+	Вода очищенная	—
Метод 2	3-кратная мацерация	—	Вода очищенная	—
Метод 3	3-кратная мацерация	+	Вода очищенная	30 мин.
Метод 4	3-кратная мацерация	—	Вода очищенная	30 мин.

Затем изучали содержание действующих веществ в извлечениях методом градиентной ВЭЖХ, описанном в 3-й главе (раздел 3.1.). Результаты исследования представлены в таблице 4.8.

Полученные извлечения представляли собой жидкость тёмно-коричневого цвета со специфическим запахом, извлечения из измельчённых плодов обладали меньшей опалесценцией.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что метод трёхкратной мацерации из измельчённых плодов шиповника с циркуляцией экстрагента, с точки зрения полноты извлечения действующих веществ, являлся наиболее предпочтительным, т.к. согласно полученным данным, в экстракте, полученном Методом 3 содержание аскорбиновой кислоты и флавоноидов в среднем на 28 % больше, чем в экстракте, полученном Методом 1 (таблица 4.8).

Полученное методом 3-кратной мацерации с циркуляцией экстрагента извлечение отстаивали в течение суток при температуре 2-8 °С. Затем экстракт фильтровали через фильтровальную бумагу марки Ф и упаривали с помощью вакуум-выпарного аппарата (BUCHI, Швейцария) при давлении 72 мБар, температуре бани 60 °С и скорости вращения колбы 120-140 об/мин. Затем упаренное извлечение помещали в морозильную камеру с температурой 25 °С на 6-8 часов и высушивали в сублимационной сушилке HetoDrywinner СТ/DW 60E с вакуумно-роторным насосом RZ 2 (Vacuumbrand, Германия) при давлении 0,010 мБар и температуре 21 °С, в течении не менее 18 часов (рисунок 4.2).

Таблица 4.8 - Содержание биологически активных веществ в извлечениях плодов шиповника

Метод экстракции	Содержание аскорбиновой кислоты, мкг/мл	Содержание хлорогеновой кислоты, мкг/мл	Содержание кверцетина, мкг/мл	Содержание рутина, мкг/мл
Метод 1	49,10±0,03	0,143±0,02	0,041±0,02	0,112±0,03
Метод 2	46,54±0,02*	0,134±0,02	0,050±0,02	0,117±0,04
Метод 3	54,92±0,03*	0,201±0,01	0,063±0,03	0,121±0,01
Метод 4	45,64±0,02*	0,161±0,01	0,051±0,04	0,119±0,04

Примечание. Число наблюдений (n) = 5.

* - Достоверные различия с результатом экстрагирования методом 1 (P<0,05).

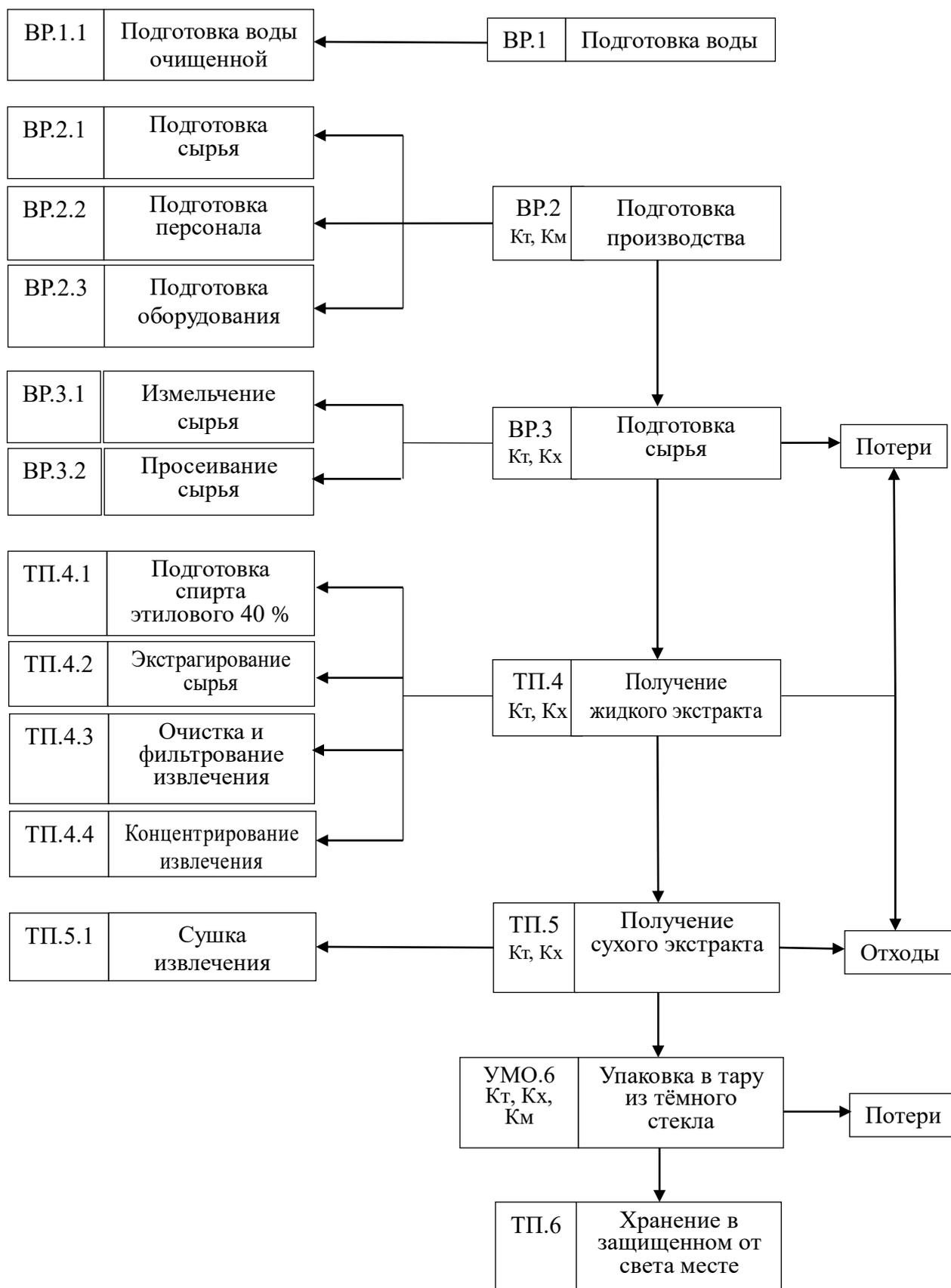


Рисунок 4.3 - Технологическая схема получения сухого экстракта из измельчённых плодов шиповника собачьего методом 3-х кратной мацерации с циркуляцией экстрагента

Проводили определение содержания основных действующих веществ в полученном сухом экстракте шиповника собачьего по методикам, описанным в 3-й главе. Результаты исследования представлены в таблице 4.9.

Таблица 4.9–Анализ содержания действующих веществ в сухом экстракте плодов шиповника собачьего

Показатели	Содержание, мкг/мг
Аскорбиновая к-та	52,17±0,01
Хлорогеновая к-та	0,188±0,02
Кверцетин	0,06±0,01
Рутин	0,11±0,01

Для стандартизации сухого экстракта шиповника собачьего рекомендуется определение аскорбиновой кислоты, так как это соединение специфично для данного вида ЛРС и содержится в максимальных количествах.

Кроме того, проводили изучение показателей качества сухого экстракта шиповника собачьего ГФ РФ (ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты») (табл. 4.10).

Таблица 4.10 – Результаты изучения показателей качества сухого экстракта шиповника собачьего

Показатель	Результат определения	Метод определения	Соответствие ГФ РФ
Описание	Порошок коричневого цвета со специфическим запахом	Визуально	Соотв.
Насыпной объем	0,48±0,30 г/мл	ГФ РФ, ОФС.1.4.2.0016.15 Степень сыпучести порошков	Соотв.
Тяжёлые металлы	0,003±0,0008 %	ГФ РФ, ОФС.1.2.2.2.0012.15	Не более 0,01% Соотв.
Потеря в массе при высушивании	4,5±0,2 %	ГФ РФ ОФС.1.2.1.0010.15	Соотв.

Технологическая схема получения сухого экстракта из плодов шиповника собачьего представлена на рисунке (Рис. 4.2)

Полученный сухой экстракт шиповника собачьего упаковывали в тару из

тёмного стекла по 50,0 г. (ГОСТ Р 53416-2009), укупоривали навинчивающейся крышкой и для герметичности обрабатывали расплавленным парафином. Хранили в прохладном, защищённом от света месте (12-15 °С).

4.3. Получение сухого экстракта из столбиков с рыльцами кукурузы и оценка его качества

В исследовании использовано сырьё фирмы ЗАО «Здоровье», определение числовых показателей которого, проводили по методикам, описанным в ФС (ФСП Р N003326|01-080909) и количественное определение биологически активных соединений в растительном сырье проводили по методикам ГФ РФ и методам, приведенным в главах 2 и 3. Полученные данные приведены в таблице 4.11.

Таблица 4.11 - Числовые показатели растительного сырья столбиков с рыльцами кукурузы

№ п/п	Показатель	Значение показателя, %
1.	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид	1,35±0,02
2.	Влажность	5,4±0,2
3.	Зола общая	8,52±0,04
4.	Зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты	1,60±0,03
5.	Минеральная примесь	0,6±0,2
6.	Органическая примесь	0,8±0,2
7.	Частицы сырья, утратившие окраску (побуревшие, потемневшие, выцветшие)	0,9±0,2
8.	Частицы, не проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм	4,6±0,2
9.	Частицы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 0,2 мм	0,6±0,3

Классическими способами экстрагирования столбиков с рыльцами кукурузы являются перколяция, реперколяция, ускоренная дробная мацерация [83, 87, 145, 182].

Однако, согласно литературным данным и проведённым исследованиям,

эти методы не позволяют максимально экстрагировать биологически активные вещества из сырья [87].

Как прототип способа получения извлечения из столбиков с рыльцами кукурузы был взят метод, используемый в исследованиях Никифоровой Е.Б. и соавт. Суть метода заключалась в измельчении сырья до среднего размера 0,28 мм и использовании метода вакуум-фильтрационного экстрагирования 70 % спиртом для получения жидкого экстракта столбиков с рыльцами кукурузы. Затем спирт отгоняли и получали из шрота сухой экстракт методом ремацерации горячей водой [87].

Поскольку целью данного исследования являлось получение сухого экстракта, то в способ экстрагирования принятый за прототип, (предложенный в работе Никифоровой Е.Б.), были внесены следующие изменения: спиртовую вытяжку из ЛРС и водную вытяжку из шрота столбиков с рыльцами кукурузы объединяли и упаривали на сублимационной сушилке, получая сухой экстракт. В качестве варианта сравнения был рассмотрен аналогичный метод, в котором была осуществлена экстракция водой. Третьим вариантом был традиционный метод, применяемый при производстве жидких экстрактов столбиков с рыльцами кукуруза – реперколяция с законченным циклом.

Учитывая наличие термолабильных веществ в кукурузных рыльцах, представлялось целесообразным не повышать температуру экстрагирования на стадии извлечения водой выше 65 °С [26]. В связи с этим были проведены исследования по отработке температурного режима, в которых температуру нагревания варьировали от 20 до 65 °С. В начале проводили вакуум-фильтрационную экстракцию, а затем - экстракцию из шрота при различных температурах (табл. 4.12).

Таблица 4.12 - Зависимость выхода анализируемых витаминов от температуры экстракции*

Анализируемое вещество	Температура экстракции, °С				
	20-25	30-35	40-45	50-55	60-65
Витамин А	0,00165	0,00171	0,00171	0,00175	0,00169
Витамин В ₁	0,01012	0,01015	0,01020	0,01038	0,01020
Витамин В ₂	0,06195	0,06204	0,06542	0,07400	0,07200
Витамин В ₆	0,00145	0,00158	0,00256	0,00314	0,00247
Витамин С	0,60061	0,62399	0,63108	0,70828	0,64748
Витамин К	0,00667	0,00751	0,00767	0,00968	0,00748

**В таблице приведены средние данные по трем измерениям*

Из данных таблицы следует, что экстракцию из шрота следует проводить в температурном диапазоне 50 °С - 55 °С., так как выход экстрактивных веществ при этом максимален. При повышении температуры происходит уменьшение выхода витаминов [11, 60, 114].

Описанные выше варианты экстрагирования из ЛРС столбики с рыльцами кукурузы были воспроизведены в лабораторных условиях с учётом результатов исследования по зависимости выхода сухого экстракта от температурного режима. Характеристики исследуемых методов экстракции представлены в таблице 4.13.

Таблица 4.13 - Схемы экстрагирования сырья

№	Стадия	Вакуумно-фильтрационная экстракция с рекуперацией этанола	Вакуумно-фильтрационная экстракция без рекуперации этанола	Реперколяция с законченным циклом
1.	Загрузка сырья	Соотношение 1:2	Соотношение 1:2	Батарея из 3-х перколяторов, соотношение сырья и готового продукта 1:1
2.	Экстрагирование 70 % спиртом	Метод вакуумно-фильтрационной экстракции	Метод вакуумно-фильтрационной экстракции	Настаивание в течение 24 ч. в каждом из перколяторов
3.	Рекуперация спирта	Рекуперация спирта горячим паром	Отсутствует	Отсутствует
4.	Экстрагирование водой (50-55 °С)	Метод ремацерации, первая ступень при соотношении сырья : экстрагента - 1:10, вторая и третья ступень – 1:5, время экстракции 2 ч. на каждой из стадий.	Метод ремацерации, первая ступень при соотношении сырья : экстрагента - 1:10, вторая и третья ступень – 1:5, время экстракции 2 ч. на каждой из стадий.	Отсутствует
5.	Очистка и фильтрование	Отстаивание в течение 24 ч. при t 10 °С, фильтрация через фильтровальную бумагу марки Ф.	Отстаивание в течение 24 ч. при t 10 °С, фильтрация через фильтровальную бумагу марки Ф.	Отстаивание в течение 24 ч. при t 10 °С, фильтрация через фильтровальную бумагу марки Ф.

Отвешивали 100 г столбиков с рыльцами кукурузы, предварительно измельченных до размера частиц, проходящих через сито 1 мм и помещали в перфорированную воронку, присоединенную к колбе, подключенной к стеклянному водоструйному вакуум-наосу. При образованном вакууме, заливали сырьё 70 % спиртом до полного смачивания сырья, затем, получали извлечение, поддерживая «зеркало» экстрагента. Полученный слив оставляли, а шрот переносили в лабораторный экстрактор с паровой рубашкой, при помощи которой поддерживалась постоянная температура в экстракторе около 90 °С. Первая ступень заключалась в помещении 100 г шрота и прибавлении к нему горячей воды (50-55 °С) в соотношении 1:10 и настаивании в течение 2 ч. Полученный экстракт декантировали, и на второй и третьей ступени заливали горячей водой в соотношении 1:5. Время настаивания на 2-й и 3-й стадиях, также составляло по 2 ч. Готовые извлечения декантировали, объединяли со спиртовым извлечением, отстаивали в течение суток при температуре 10 °С, а затем фильтровали через фильтровальную бумагу марки Ф.

Полученные жидкие спиртовые экстракты кукурузных рылец представляли собой прозрачную жидкость красно-бурого цвета со специфических запахом. Для оценки эффективности сравниваемых методов экстрагирования, проводили определение содержания в них витаминов (табл. 4.14).

Таблица 4.14 - Сравнительная оценка содержания витаминов в жидких экстрактах столбиков с рыльцами кукурузы

Показатель	Вытяжка, схема 1, %	Вытяжка, схема 2, %	Вытяжка, схема 3, %
Витамин А	0,00181*	0,00293***	0,00154
Витамин В ₁	0,01020*	0,01053***	0,01014
Витамин В ₂	0,07692*	0,08741***	0,06705
Витамин В ₆	0,00196*	0,00363***	0,00192
Витамин С	0,60849*	0,73176***	0,60197
Витамин К	0,00669*	0,01020***	0,00854

* - достоверное различие с экстракцией методом реперколяции с законченным циклом (схема 3) ($P < 0.05$); ** - достоверное различие с методом вакуум-фильтрационного экстрагирования с рекуперацией этанола (схема 1) ($P < 0.05$).

На основе полученных из исследования по подбору оптимального режима экстрагирования результатов, было установлено, что технология получения сухого экстракта из кукурузных рылец по схеме 2 является наиболее оптимальной, т.к. увеличивает выход витаминов по сравнению с 1-м методом в среднем на 40 %.

Идентификация и количественное определение БАВ в вытяжках из ЛРС проводили методом ВЭЖХ-МС, описанном ранее во 3-й главе.

При получении сухого экстракта столбиков с рыльцами кукурузы экстракт помещали в колбу вакуум-выпарного аппарата фирмы ВУСНІ, состоящего из роторно-выпарного аппарата, водяной бани, вакуумного насоса с контроллером. Упаривали сначала при давлении 175 мБар, температуре бани 60 °С и скорости вращения колбы 120-140 об/мин, а затем, после отгона этанола, при 72 мБар для сгущения водной фракции. Температура бани составляла 60 °С. После упаривания экстракты подвергали заморозке в морозилке при температуре –25 °С в течение не менее 8 часов. Затем их помещали в лиофильную сушилку, состоящую из вакуумного насоса RZ 2 фирмы Vacuumbrand и холодильника HetoDrywinner. Замороженные сгущённые экстракты сушили досуха в течение 24 ч. при остаточном давлении 0,03±0,1 мБар и комнатной температуре.

Оценка качества и количественное определение БАВ в сухом экстракте кукурузных проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, по методике, описанной в главе 3.2. Результаты анализа представлены в таблице 4.15.

Таблица 4.15 – Основные показатели анализа сухого экстракта столбиков с рыльцами кукурузы

Витамин	Содержание в сухом экстракте, мкг/мг
А	0,0278
В ₁	0,1000
В ₂	0,8391
В ₆	0,0352
С	6,9517
К	0,1009
Рутин	9,10
Кверцетин	4,03

**В таблице приведены средние данные по трем измерениям*

Для стандартизации сухого экстракта столбиков с рыльцами кукурузы рекомендуется определение аскорбиновой кислоты (так как по ней планируется стандартизация готовой лекарственной формы), рутину и кверцетину, так как эти соединения специфичны для данного вида ЛРС и содержатся в значительных количествах.

Кроме того, проводили изучение показателей качества сухого экстракта столбиков с рыльцами кукурузы ГФ РФ (ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты»). Данные приведены в таблице 4.16.

Таблица 4.16 – Результаты изучения показателей качества сухого экстракта столбиков с рыльцами кукурузы

Показатель	Результат определения	Метод определения	Соответствие ГФ РФ
Описание	порошок светло - коричневого цвета	Визуально	Соотв.
Насыпная плотность	0,40±0,20 г/мл	ГФ РФ, ОФС.1.4.2.0016.15 Степень сыпучести порошков	Соотв.
Тяжёлые металлы	0,001±0,0006 %	ГФ РФ, ОФС.1.2.2.2.0012.15	Не более 0,01% Соотв.
Потеря в массе при высушивании	4,8±0,2 %	ГФ РФ ОФС.1.2.1.0010.15	Соотв.

Полученный сухой экстракт помещали в стеклянную тару тёмного стекла по 50,0 г. (ГОСТ Р 53416-2009), герметично закрытую навинчивающейся крышкой, заливали парафином и помещали на хранение в сухое, защищённое от света место, при температуре 12-15 °С. Технологическая схема процесса представлена на рисунке 4.3.

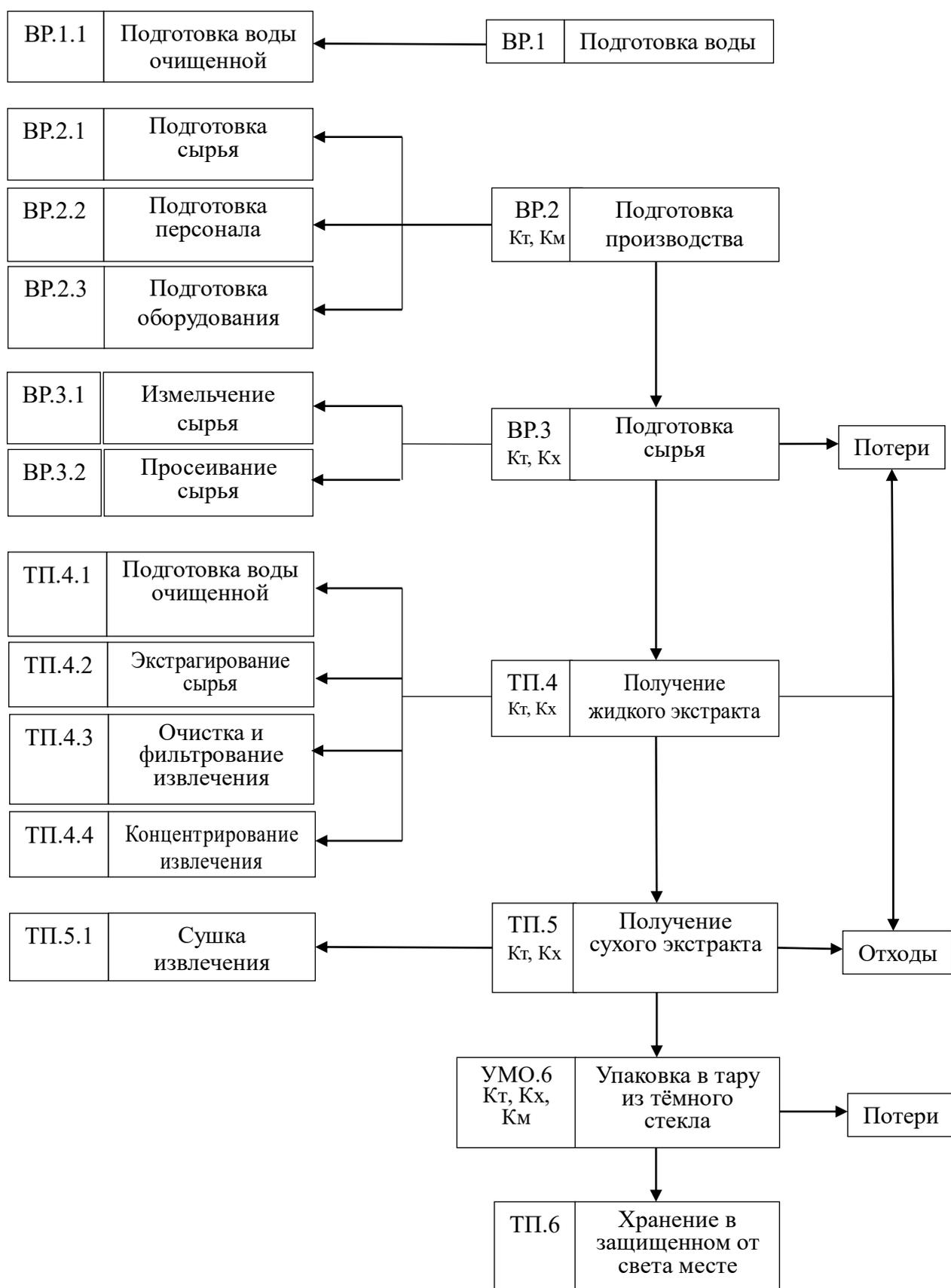


Рисунок 4.4 - Технологическая схема получения сухого экстракта столбиков с рыльцами кукурузы

Выводы к Главе 4:

1. Теоретически и экспериментально обоснованы экстрагенты и методы экстракции для получения вытяжек с максимальным содержанием БАВ.
2. Разработаны технологические схемы получения сухих экстрактов родиолы розовой, шиповника собачьего и столбиков с рыльцами кукурузы.
3. Изучено содержание основных БАВ в вытяжках и сухих экстрактах. Определены основные показатели качества полученных сухих экстрактов.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ КАПСУЛ С КОМПЛЕКСОМ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ, ШИПОВНИКА СОБАЧЬЕГО И СТОЛБИКОВ С РЫЛЬЦАМИ КУКУРУЗЫ

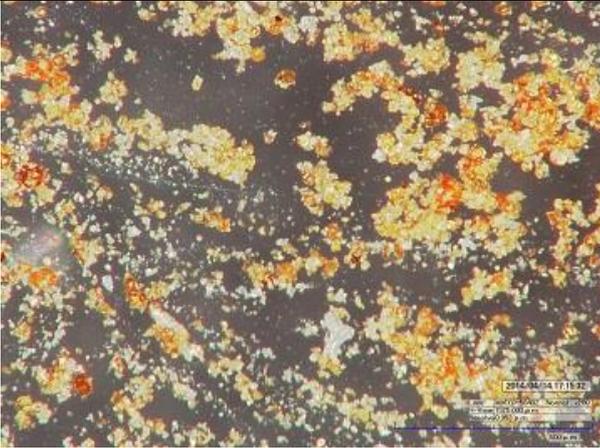
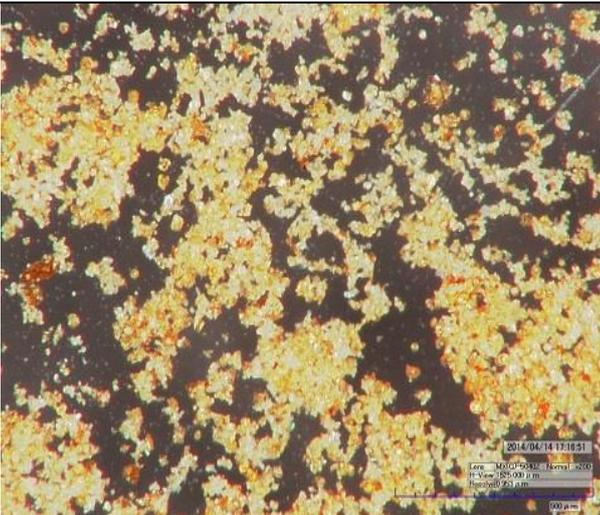
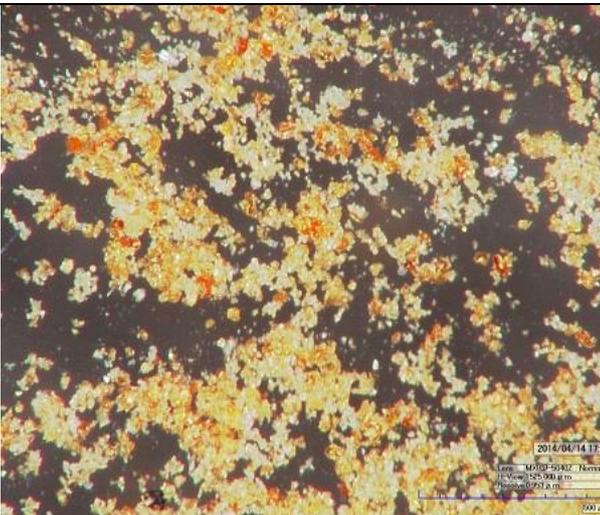
Сухие экстракты, как фармацевтические субстанции, обладают рядом недостатков. Они гигроскопичны, могут слеживаться при хранении, в значительной степени подвержены влиянию температуры с протеканием окислительно-восстановительных реакций и образованием примесей. Кроме того, с технологической точки зрения, частицы сухих экстрактов, вследствие низкой влажности (не более 5 %), обладают повышенной ломкостью, что приводит к образованию значительного количества пыли при фасовке, транспортировке и пр. С целью существенного снижения проявления вышеуказанных негативных свойств сухих экстрактов, в фармацевтической технологии применяют метод гранулирования. При гранулировании происходит агломерация частиц вещества, что способствует значительному уменьшению суммарной поверхности частиц, и, следовательно, уменьшению свободной энергии. Превращение порошкообразного материала в гранулы увеличивает его прочность, уменьшая при этом истираемость и повышая сыпучесть. Гранулы становятся практически равных размеров, что улучшает насыпную массу продукта. Улучшение технологических параметров сухих экстрактов с помощью гранулирования способствует улучшению точности их дозирования, путём изменения таких технологических свойств, как объёмная масса, вязкость, текучесть, влажность и др. [92, 165].

Получение гранулята из сухого экстракта ЛРС связано с добавлением в гранулируемую смесь вспомогательных веществ. Вспомогательные вещества для гигроскопичных препаратов должны обладать малой гигроскопичностью, устойчивостью при хранении, а также обеспечивать быструю растворимость и распадаемость гранул [125].

5.1 Микроскопическое исследование сухих экстрактов ЛРС: родиолы розовой, шиповника собачьего и кукурузы майской (СЭРШК)

Исследование полученных сухих экстрактов проводили с помощью микроскопа Nirox Numerique KH-7700, линза MX(G)-5040Z, разрешение 0,953 мкм, увеличение x200 (таблица 5.1).

Таблица 5.1 - Микроскопическое исследование сухих экстрактов

№ п/п	Наименование	Снимок микроскопии
1.	Сухой экстракт из корневищ и корней родиолы розовой (×200)	
2.	Сухой экстракт из плодов шиповника (×200)	
3.	Сухой экстракт из столбиков с рыльцами кукурузы (×200)	

Как известно, форма и размер частиц сухих экстрактов имеют большое

значение, они обуславливают их технологические свойства, такие как: насыпная плотность, сыпучесть, прессуемость и другие. Из таблицы 5.1 видно, что частицы всех экстрактов неправильной формы, полидисперсны и имеют размер 300-5000 мкм.

5.2 Получение смеси сухих экстрактов СЭРШК и исследование физико-химических и технологических свойств смеси

При разработке твёрдых ЛФ важную роль играют технологические свойства субстанции (сыпучесть, насыпная плотность, влажность и гигроскопичность порошков). Они влияют на качество конечного продукта и определяют выбор технологии получения лекарственного средства.

В эксперименте исследовали характеристики смеси сухих экстрактов родиолы, шиповника и кукурузных рылец. Предварительно получали смесь сухих экстрактов СЭРШК путём смешивания родиолы, шиповника и кукурузных рылец в соотношении 1:1:1 (Дозы рассчитывали из средне суточных доз монопрепаратов ЛРС (стр. 47)). Для этого в универсальный Y смеситель фирмы ERWEKA YB 5, вместимостью 1500 мл загружали по 200 г сухих экстрактов каждого наименования. Выбор типа смесителя обусловлен свойствами полученных экстрактов: сыпучестью, гигроскопичностью. Смеситель YB 5 обладает рядом преимуществ перед прочими лабораторными смесителями: он обеспечивает равномерное смешивание, кроме того, продукт практически не подвергается истиранию, и, следовательно, электризуется в незначительной степени.

Общая масса полученной смеси составила 600 г. Определяли содержание биологически активных соединений в смеси СЭРШК, с использованием методов градиентной ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС, описанными в гл.3. Результаты приведены в табл. 5.2.

Таблица 5.2 - Содержание биологически активных соединений в смеси СЭРШК

Наименование БАВ	Содержание
	В 100 г (смеси сухих экстрактов), мкг/мг
Хлорогеновая кислота	0,240±0,023
Кверцетин	12,11±1,2
Рутин	7,07±0,36
Розавин	1,69±0,1
Розарин	4,35±0,2
Розин	1,49±0,1
Салидрозид	26,47±1,4
Тирозол	11,08±0,5
Аскорбиновая к-та	54,12±0,01
Витамин А	0,0278±0,003
Витамин В ₁	0,1±0,01
Витамин В ₂	0,8±0,02
Витамин В ₆	0,04±0,005
Витамин К	0,1 ±0,02

В составе смеси СЭРШК максимально содержание следующих БАВ: аскорбиновая кислота, салидрозид, кверцетин. Салидрозид является основным действующим веществом экстракта родиолы розовой, аскорбиновая кислота входит в состав шиповника и рылец кукурузы, кверцетин входит в состав всех трёх СЭ. Капсулы предполагается стандартизовать по действующим веществам: кверцетину, салидрозиду и аскорбиновой кислоте.

По внешним признакам СЭРШК представлял собой светло-коричневый аморфный порошок с характерным запахом. Технологические свойства смеси СЭРШК определены по методикам, описанным в главе 2 и представлены в таблице 5.3.

Таблица 5.3 - Технологические свойства смеси сухих экстрактов

№ п/п	Технологические показатели	Смесь сухих экстрактов СЭРШК
1.	Сыпучесть, г/с	$2,4 \pm 0,05$
2.	Угол естественного откоса, °	$45 \pm 1,90$
3.	Свободная насыпная плотность, кг/м ³	$725 \pm 3,10$
4.	Предельная насыпная плотность, кг/м ³	$874 \pm 2,41$
5	Влажность, %	$4,86 \pm 0,01$

Полученная субстанция обладает низкой сыпучестью, которую отражают показатели «сыпучесть» ($2,4 \pm 0,05$ г/с) и «угол естественного откоса» ($45 \pm 1,9$ °С). Сумма сухих экстрактов будет значительно уплотняться (42 %), что может создавать проблемы при фасовке и транспортировке. Таким образом, смесь СЭРШК обладает неудовлетворительными технологическими характеристиками, поэтому для получения капсул на ее основе необходимо проводить стадию гранулирования.

5.3. Определение гигроскопичности смеси СЭРШК

Влагосодержание смеси сухих экстрактов родиолы, шиповника и кукурузных рылец составляет $4,7 \pm 0,2$ % (согласно общим требованиям ГФ РФ к сухим экстрактам, содержание влаги в них должно составлять до 5 %).

Для оценки условий изготовления гранулята на основе СЭРШК, представлялось целесообразным провести определение интервала влагосодержания, при котором СЭРШК сохраняет своё качество. Оценку гигроскопичности СЭРШК проводили по методике, описанной в главе 2 при 20 °С и относительной влажности 65 %, (данные условия моделируют стандартные условия окружающей среды помещений).

Результаты исследования представлены на рисунке 5.1.



Рисунок 5.1 - Динамика влагопоглощения СЭРШК

По результатам исследования можно отметить, что СЭРШК является относительно гигроскопичным и через 4 часа пребывания в нормальных условиях, поглощает влагу из окружающего воздуха и его влагосодержание становится выше 5 %. Сухой экстракт перестаёт удовлетворять требованиям ГФ РФ по показателю влажности и начинает терять свои технологические свойства. В связи с этим, следует учитывать скорость адсорбции влаги СЭРШК при производстве ЛФ на его основе и уменьшить длительность контакта сухого экстракта с воздухом и влагой, для чего необходимо оптимизировать длительность технологического процесса и провести выбор вспомогательных веществ.

5.4. Исследование технологических свойств наполнителей

Для выбора вспомогательных веществ с технологическими свойствами, обеспечивающими коррекцию свойств сухого экстракта, проводили их сравнительную характеристику по параметрам: свободная и предельная насыпные плотности, сыпучесть, угол естественного откоса. Все показатели технологических свойств вспомогательных веществ определяли по методикам, описанным в главе 2. Результаты определения представлены в таблице 5.4.

Таблица 5.4 - Технологические свойства вспомогательных веществ

Наполнитель	Свободная насыпная плотность, кг/м ³	Предельная насыпная плотность, кг/м ³	Сыпучесть, г/с	Угол естественного откоса, град
Лактоза моногидрат (Sigma-Aldrich, США)	555,6±1,20	639±5,01	7,52±0,31	43,0±0,03
Лактозы моногидрат (Panreac, Испания)	534±2,02	910±2,03	Не сыпется	45,0±0,02
Лактоза гранулированная (DFE Pharma, Нидерланды)	704±2,32	895±2,12	21,7±0,05	40±2,5
Крахмал картофельный (Химфармпродукт, Россия)	686±2,03	862±1,97	1,2±0,2	38±0,02
Lycatab C (Roquette, Франция)	783±3,05	832±3,52	14,7±0,02	32±0,03
Starlac® (Roquette, Франция)	605±2,00	788±3,36	13,2±0,02	32,5±0,03
ProSolv® SMCC 90 (JRS, Германия)	394,80±0,10	291±0,02	3,06±0,02	32,6±0,03
Vivapur® (JRS, Германия)	517,40±0,30	635±2,5	1,79±0,01	45±1,97

Полученные данные свидетельствуют, что использование лактозы моногидрата (Panreac), нецелесообразно, т.к. ее собственная сыпучесть не является удовлетворительной, и, вероятнее всего, смесь растительных экстрактов и вспомогательных веществ потребует значительных количеств связывающих веществ для образования гранул, что является нежелательным при гранулировании растительных экстрактов из-за последующего увеличения времени сушки.

5.5 Получение гранулятов растительных экстрактов СЭРШК и оценка их технологических свойств

Обработку технологического процесса гранулирования смеси СЭРШК проводили с использованием вспомогательных веществ, охарактеризованных ранее, и используемых в различных соотношениях (таблица 5.5).

Таблица 5.5 - Составы гранулируемых смесей (на 100 г смеси)

№	Состав смеси	№	Состав смеси
1	СЭРШК— 66 % Starlac® — 33 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 4 % от массы смеси	7	СЭРШК — 66 % Starlac® — 33 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70% - 5 % от массы смеси
2	СЭРШК — 66 % Kleptose® — 4 % Aeroperl® 300 pharma — 2 % Лактоза моногидрат — 28 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 5 % от массы смеси	8	СЭРШК — 70 % Крахмал— 20 % Лактоза моногидрат — 9 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 4 % от массы смеси
3	СЭРШК — 57 % Лактоза — 28 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Kleptose® — 14 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 3 % от массы смеси	9	СЭРШК — 66 % Крахмал — 26 % Лактоза моногидрат — 7 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 3 % от массы смеси
7	СЭРШК — 66 % Kleptose® — 4 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Лактоза — 29 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 4 % от массы смеси	10	СЭРШК — 77 % Ликатаб — 15 % Vivapur® 101 — 5 % Aeroperl® 300 pharma — 3 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 4 % от массы смеси

5	СЭРШК — 65 % Kleptose® — 2 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Лактоза моногидрат — 32 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 4 % от массы смеси	11	СЭРШК — 86 % Крахмал — 6 % Лактоза моногидрат — 7 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 4 % от массы смеси
7	СЭРШК — 66 % Starlac® — 25 % Vivapur® 200 — 8 % Aeroperl® 300 pharma — 1 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 3 % от массы смеси	12	СЭРШК — 66 % ProSolv®SMCC — 34 % Гранулирующий агент - спирт этиловый 70 % - 4 % от массы смеси

В качестве способа получения гранулята, был выбран перспективный метод получения гранул — метод ВАГ. Метод прост в исполнении, а полученный гранулят не требует дополнительной операции - сушки, что предупреждает разрушение термолабильных веществ.

Грануляцию проводили на универсальном лабораторном грануляторе модели TMG Glatt. Рабочий объём от 0,25 л до 0,75 л. Возможности мешалки гранулятора составляют 50-1000 об/мин, возможности измельчителя — 300-3000 об/мин. Выбор режима работы гранулятора был основан на предварительных испытаниях, в ходе которых визуально оценивали состояние смеси внутри гранулятора при перемешивании.

На первой стадии процесса происходило перемешивание всей смеси до равномерного смешивания ингредиентов. Вторая стадия являлась стадией агломерации, происходило добавление связующего вещества, в количестве 3-5 % от гранулируемой массы. Третья стадия являлась стадией распределения и поглощения влаги и досушивания.

На первой стадии загружали сухие растительные экстракты и вспомогательные вещества, кроме скользящего вещества. В течении 3 минут проводили смешивание ингредиентов. Равномерность перемешивания

оценивалась визуально, по равномерности окрашивания смеси (без видимых белых/темных включений). По предварительным испытаниям выявлено, что на данной стадии оптимальным режимом работы гранулятора является режим скоростей вращения мешалки 150 об/мин, а измельчителя 700 об/мин.

При скоростях вращения мешалки и измельчителя, ниже заявленных, получить равномерно окрашенную смесь удавалось только через значительный промежуток времени (10-15 мин). Скорости вращения мешалки и измельчителя выше указанных приводили к разбрасыванию смеси по поверхности всего реактора, что обуславливало значительные потери в технологическом процессе.

На следующих стадиях (стадия агломерации и стадия распределения увлажняющего агента) в гранулируемую смесь вводили гранулирующую жидкость, распыляемую на поверхность гранулята при помощи форсунки прибора. По предварительным данным, оптимальным режимом работы гранулятора был выбран режим в диапазоне вращения мешалки 300-400 об/мин, а измельчителя 700-1200 об/мин. Скорость распыления связующей жидкости составляла 0,05 мл/сек. Для распределения влаги и предотвращения слипания смеси требовалось увеличение оборотов мешалки и чоппера, чтобы обеспечить максимально полное соприкосновение гранулируемой смеси и увлажнителя.

Скоростей вращения мешалки ниже указанных было недостаточно для перемешивания гранулируемой смеси и приводило к переувлажнению отдельных участков и образованию впоследствии крупных агломератов. При скоростях вращения выше указанных происходило разбрасывание смеси по поверхности реактора, что привело к потерям и неравномерному распределению связующей жидкости.

Результаты исследования отработки технологии перемешивания смесей различного состава, приведены в таблице 5.6.

Таблица 5.6–Сравнительное изучение процесса получения гранулятов из раличных смесей для грануляции при выбранном технологическом режиме

№	Состав смеси	Количество связующего агента	Постадийный режим грануляции (мешалка/измельчитель)	Время грануляции на каждой стадии (мин)	Результат
1.	СЭРШК— 66 % Starlac® — 33 % Aeropearl® 300 pharma — 1 %	Спирт этиловый — 4 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Мелкий сухой порошок без видимых гранул
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	
2.	СЭРШК — 66 % Kleptose® — 4 % Aeropearl® 300 pharma — 2 % Лактоза моногидрат — 28 %	Спирт этиловый — 5 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Гранулят не образовывался, происходило расслаивание, образование мелкого сухого порошка с большим количеством частиц, размер которых ниже 0,2 мм
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	
3.	СЭРШК — 57 % Лактоза — 28 % Aeropearl® 300 pharma — 1 % Kleptose® — 14 %	Спирт этиловый — 3 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Слипание смеси, образование аморфных крупных агломератов.
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	

4.	СЭРШК — 66 % Клеptose® — 4 % Аероpearl® 300 pharma — 1 % Лактоза — 29 %	Спирт этиловый — 4 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Гранулят с большим количеством частиц, размер которых ниже 0,2 мм
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	
5.	СЭРШК — 65% Клеptose® — 2% Аероpearl® 300 pharma — 1% Лактоза моногидрат — 32%	Спирт этиловый — 4 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Происходило образование крупных аморфных гранул
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	
6.	СЭРШК — 66% Starlac® — 25% Vivapur® 200 — 8% Аероpearl® 300 pharma — 1%	Спирт этиловый — 3 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Происходило расслаивание смеси, образование агломератов
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	
7.	СЭРШК — 66% Starlac® — 33% Аероpearl® 300 pharma — 1%	Спирт этиловый — 5 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Гранулят с большим количеством частиц, размер которых ниже 0,2 мм
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	

8.	СЭРШК — 70% Крахмал— 20% Лактозамоногидрат — 9% Aeroperl® 300 pharma — 1%	Спирт этиловый — 4 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Происходило образование крупных аморфных гранул
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	
9.	СЭРШК — 66% Крахмал — 26% Лактоза моногидрат — 7% Aeroperl® 300 pharma — 1%	Спирт этиловый — 3 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Визуально удовлетворительный гранулят
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	
10.	СЭРШК — 77% Ликатаб — 15% Vivapur® 101 — 5% Aeroperl® 300 pharma — 3%	Спирт этиловый — 4 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Происходило расслаивание смеси, образование агломератов
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	
11.	СЭРШК — 86% Крахмал — 6% Лактоза моногидрат — 7% Aeroperl® 300 pharma — 1%	Спирт этиловый — 4 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Гранулят с большим количество частиц, размер которых ниже 0,2 мм
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	

12.	СЭПШК — 66% ProSolv® smcc — 34%	Спирт этиловый — 4 %	Ст. I: 150/700 об/мин	3 мин.	Гранулят с большим количество частиц, размер которых ниже 0,2 мм
			Ст. II: 300/700 об/мин, 400/1000 об/мин	3 мин 7 мин	
			Ст. III: 400/1200 об/мин	10 мин	

По завершении получения гранулятов их анализировали, изучая внешний вид, сыпучесть, содержание целевой фракции (частицы размером 0,2 – 4 мм) [30]. Затем проводили оценку качества гранулятов по следующим показателям: сыпучесть, насыпная масса, влагосодержание, гранулометрический состав.

Технологические свойства полученных гранулятов представлены в таблицах 5.7 и 5.8.

Таблица 5.7- Технологические показатели полученных гранулятов смеси СЭРШК

№	Сыпучесть, г/с	Угол естественного откоса, град	Свободная насыпная плотность, кг/м ³	Предельная насыпная плотность, кг/м ³	Влажность, %
Смесь экстрактов СЭРШК	0,47±0,02	25±0,02	725±3,10	874±2,41	4,86±1,02
2	2,88±0,02	28±0,03	625±3,23	798±2,40	4,38±1,02
4	3,62±0,04	27±0,01	663±2,42	789±3,32	5,08±0,97
5	5,61±0,02	29±0,04	532±3,20	610±3,13	4,40±2,13
7	3,42±0,02	26±0,04	494±3,01	658±1,22	4,95±1,72
8	4,24±0,04	24±0,02	537±1,34	671±2,34	4,73±1,54
9	3,53±0,03	25±0,02	471±2,10	623±1,20	3,62±1,76
11	4,52±0,04	26±0,01	545±2,21	689±2,15	2,70±1,15
12	3,35±0,03	33±0,01	446±2,20	636±3,43	4,36±2,13

Таблица 5.8- Фракционный анализ гранулятов смеси СЭРШК

№	m <0,2 мм, %	m <0,5 мм, %	m >0,5 мм, %
2	54,4±0,02	22,6±0,03	23,0±0,02
4	56,4±0,02	23,2±0,02	20,4±0,01
5	62,3±0,03	27,4±0,02	7,3±0,01
7	24,3±0,02	51,2±0,04	24,5±0,02
9	21,7±0,02	44,9±0,04	33,4±0,04
11	54,3±0,03	31,2±0,04	14,5±0,02
12	37,9±0,02	44,4±0,02	17,8±0,03

Таким образом, анализируя результаты, представленные в таблицах 5.7 и 5.8 наилучшей сыпучестью, обладали грануляты под № 9 и 11. Наибольшей насыпной плотностью обладали грануляты под № 2 и 4. А наименьшей влажностью обладал гранулят № 11 (рис. 5.2).

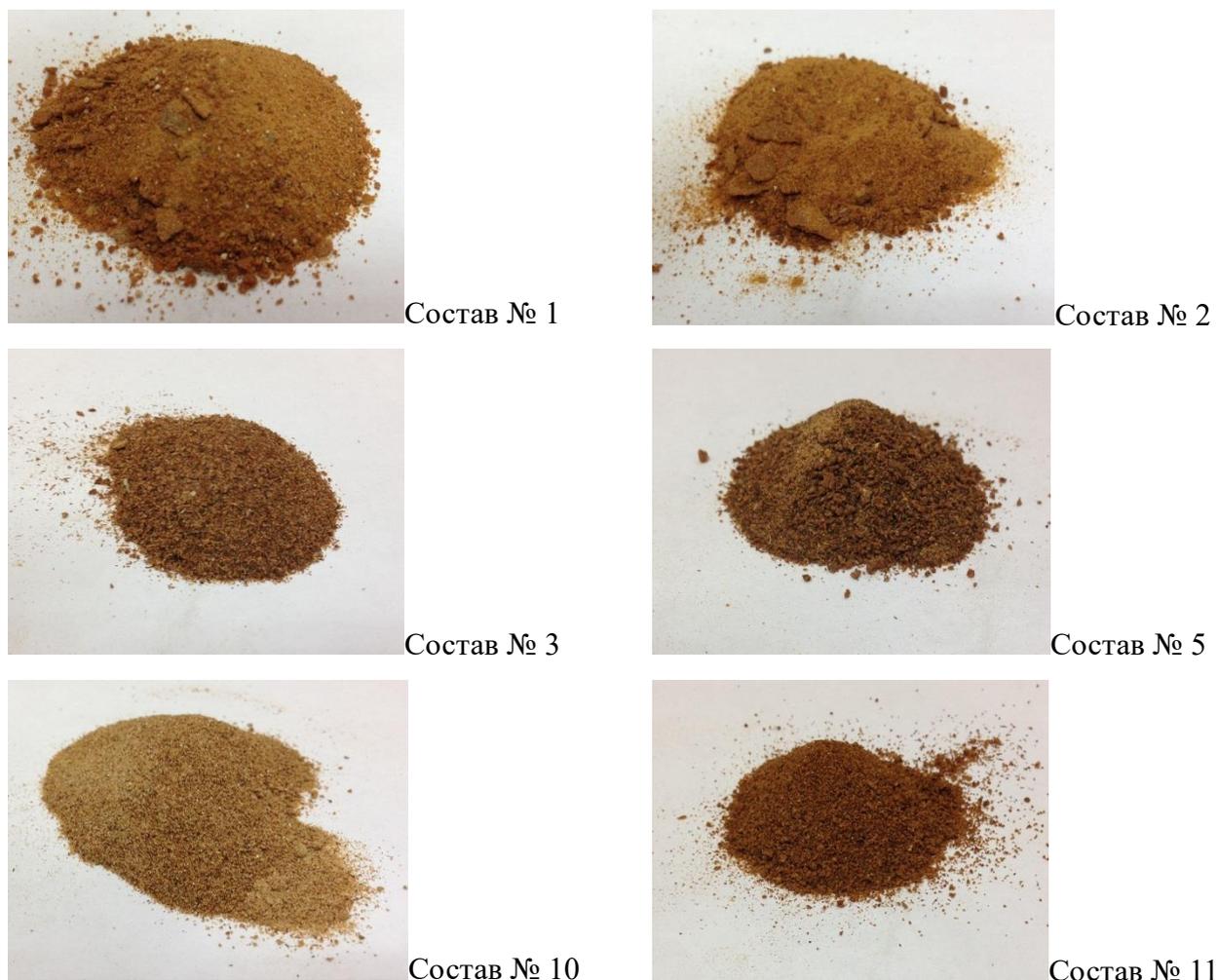


Рисунок 5.2 - Внешний вид полученных гранулятов смеси СЭРШК

Удовлетворительными характеристиками по всем показателям обладал гранулят № 9 (таблица 5.7). Данный гранулят был получен в следующих условиях: перемешивание смеси осуществляли при 150 об/мин для мешалки и 700 об/мин для измельчителя, в течение 3-х минут. Затем добавляли этиловый спирт в количестве 3 мл на 100 г смеси и перемешивали в том же режиме, 300/700 об/мин., увеличивая обороты измельчителя до 1200 в минуту. Перемешивание в таких условиях вели в течение 7 минут. Затем добавляли кремния диоксид, и продолжали перемешивание при вышеуказанных условиях,

в течение 10 минут.

Таблица 5.9 - Внешний вид и состав гранулята СЭРШК-9

Состав	Внешний вид
Гранулят СЭРШК-9 — 66% Крахмал картофельный — 26% Лактоза моногидрат — 7% Аэроpearl® 300— 1%	

5.6 Наполнение твердых желатиновых капсул гранулятом смеси СЭРШК-9

На следующем этапе необходимо было отработать технологию капсулирования полученного гранулята. На основании литературных данных была определена доза гранулята, необходимая для обеспечения фармакологического эффекта [63, 69, 135]. Для выполнения поставленной задачи были выбраны капсулы № 00 (табл. 5.10)

Таблица 5.10 - Содержание действующих и вспомогательных веществ в одной капсуле

Наименование вещества	Содержание, мг
Гранулят СЭРШК-9	375
Крахмал картофельный	148
Лактоза моногидрат	40
Аэроpearl® 300	6
Итого	569

Наполнение твердых желатиновых капсул проводили в настольной капсульной машине ACG – PamMF 30, в соответствии с технологической схемой, представленной на рисунке 5.3.

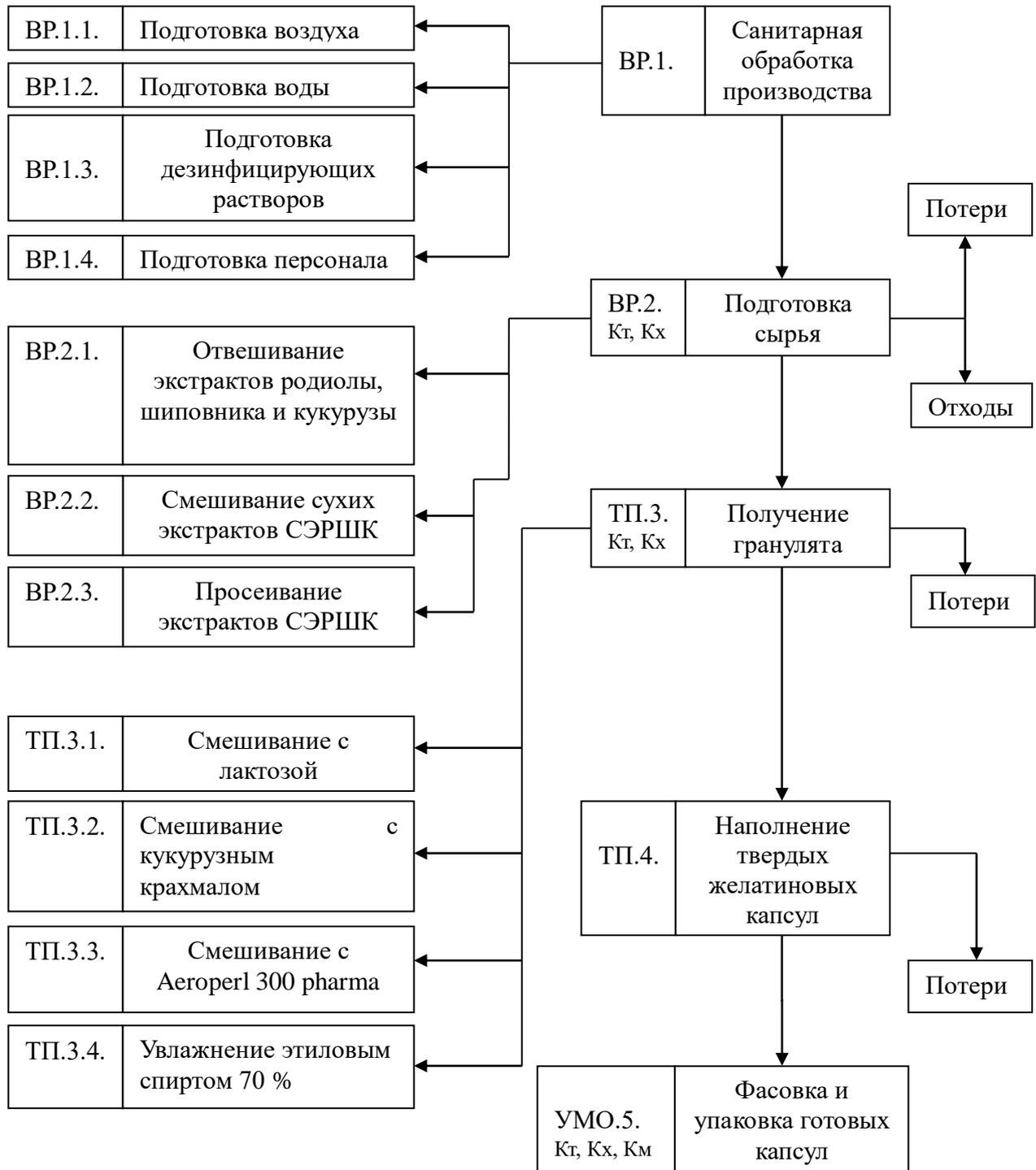


Рисунок 5.3. Технологическая схема получения твёрдых желатиновых капсул, содержащих СЭРШК-9

Капсулы упаковывали в блистерную ячейковую упаковку из поливинилхлорида и алюминиевой фольги на многоцелевой упаковочной машине MaxiPack. Данный вид упаковки позволяет обеспечивать стабильность действующих веществ и отсутствие контакта капсул с влагой или воздухом.

Затем капсулы, упакованные в блистеры, помещали в картонные коробки и

закладывали на хранение на 2 года при температуре 20 ± 2 °С, влажности 35-65 %.

5.7 Определение показателей качества капсул СЭРШК-9

Оценку качества капсул проводили в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.4.1.0005.15 «Капсулы».

Определение средней массы невскрытых капсул и их содержимого

Среднюю массу невскрытых капсул определяли на аналитических весах, она составила $0,673 \pm 0,0021$ г, отклонение от массы каждой из 20 капсул, взятых для анализа, не превышало ± 10 %.

Средняя масса содержимого капсул составила $0,568 \pm 0,003$ г., отклонение от средней массы каждой из 20 капсул, взятых на анализ, не превышало допустимого (± 10 %).

Подлинность и количественное определение капсул СЭРШК-9 и однородность дозирования

Проводили согласно методике, описанной в главах 2 и 3. Стандартизацию готовой лекарственной формы проводили по показателю «Количественное определение» салидрозида и аскорбиновой кислоты методом ВЭЖХ.

Распадаемость капсул СЭРШК-9

Распадаемость капсул определяли на приборе «качающаяся корзинка», методика приведена в главе 2. По результату шести измерений трех серий капсул распадемость не превышала 20 минут.

Растворение капсул СЭРШК-9

Растворение определяли по методике, описанной в главе 2. В среде растворения определяли содержание салидрозида в СЭРШК методом ВЭЖХ.

По результату шести измерений трех серий капсул количество перешедшего в раствор СЭРШК было не менее 80 %.

Таблица 5.11. Фармакопейные показатели качества капсул СЭРШК-9

ПОКАЗАТЕЛИ	МЕТОДЫ	НОРМЫ
Описание	Визуально	Белые, желатиновые капсулы размера 00, наполненные гранулами светло-коричневого цвета
Подлинность	ВЭЖХ	Время удерживания основного пика салидрозида на хроматограмме испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме СО салидрозида
Однородность массы	ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм»	Невскрытых капсул: 0,673 г ± 10 %; Содержимое капсул: 0,568 г ± 10 %
Распадаемость	ОФС «Распадаемость таблеток и капсул»	Не более 20 минут
Растворение	ОФС «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм»	За 45 минут в раствор 0,1 Н хлористоводородной кислоты должно перейти не менее 75% салидрозида
Микробиологическая чистота	ОФС «Микробиологическая чистота»	Категория 3Б
Количественное определение	ВЭЖХ	Аскорбиновая кислота – не менее 19,24 – не более 21,26 мг Салидрозид – не менее 9,26 – не более 10,24 мг Кверцетин – не менее 4,31 – не более 4,77 мг
Упаковка	Блистерная ячейковая упаковка из поливинилхлорида и алюминиевой фольги	
Хранение	В защищенном от света месте при температуре от 15°C до 25 °C	

5.8 Установление срока годности капсул СЭРШК-9

Установление срока годности твердых желатиновых капсул, содержащих гранулят СЭРШК, проводили путём заложения 5 серий капсул на хранение при температуре 18-22 °С и влажности воздуха 64±2 % в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств». Срок наблюдения составил 24 месяца. Анализ проводили каждые 3 месяца по следующим показателям: внешний вид, средняя масса, подлинность, количественное определение, распадаемость, растворение. Результаты проведенного исследования представлены в таблице 5.12. Было установлено, что при хранении в естественных условиях показатели качества твердых желатиновых капсул остаются неизменными в течении всего срока наблюдения, 2 года.

Выводы к главе 5:

- 1 Выбран оптимальный состав гранулируемой смеси, обеспечивающий удовлетворительные технологические свойства полученного гранулята.
- 2 Разработана технология получения гранулята содержащего смесь сухих экстрактов корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника собачьего, столбиков с рыльцами кукурузы.
- 3 Проанализированы по показателям технологических свойств различные комбинации смеси сухих экстрактов корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника собачьего, столбиков с рыльцами кукурузы с различными вспомогательными веществами.
- 4 Разработана технологическая схема получения капсул СЭРШК-9.
- 5 Определены показатели качества капсул СЭРШК-9 и разработана спецификация на ГЛФ.
- 6 Изучена стабильность полученных капсул с гранулятом СЭРШК-9 при хранении в естественных условиях в течение 24 месяцев.

ГЛАВА 6. Фармакологическое исследование капсул с лекарственным средством

6.1 Определение острой токсичности

На первом этапе оценки эффективности лекарственного средства проводили определение острой токсичности в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [79].

Данное исследование проводилось с целью выявления токсической дозы полученного препарата и определения его безопасности. Учитывая, что наиболее удовлетворительными технологическими свойствами, из всех исследованных гранулятов, обладал гранулят № 9, то все дальнейшие исследования проводили с ним. Следовательно, исследуемые капсулы с препаратом получили название «СЭРШК-9». Опыты проводились в начале лета на 86 мышах-самцах массой 18-26 г, пробывших в карантине 14 дней. СЭРШК вводили внутрижелудочно, через зонд, предварительно растворив его в воде. Поскольку высокие дозы не удавалось растворить в объёме воды на одно введение (2 мл), из-за того, что образовывалась очень густой раствор, то дозировку разбивали на три части и вводили в три приёма с интервалом в 45 минут. Учёт гибели животных проводили в течение 2-х недель с момента введения вещества. Первые сутки за животными наблюдали непрерывно.

Экстракт вводили в возрастающих дозах по методу Кёрбера [9, 63] в следующих дозах: 15 г/кг, 21 г/кг, 27 г/кг, 33 г/кг, 36 г/кг, 42 г/кг.

При введении низких доз у животных наблюдалось уменьшение двигательной активности, снижалась реакция на прикосновение. С повышением дозы у животных наблюдалось беспокойство, урежение дыхания, снижение тонуса тела и чередование передвижения и лежания. При введении больших доз у животных отмечалось наступление сна и быстрая смерть (в течение 24 часов с момента введения вещества).

LD_{50} рассчитывали по методу Кербера:

$$\log(10)ED_{50} = 0,5[\log(10)D_N + \log(10)D_{N-1} - \sum (\log(10)D_{i+1} - \log(10)D_{i-1}) \cdot L_i] \quad (6)$$

где,

D_N - наибольшая (последняя) из испытанных доз;

D_{N-1} - предшествующая D_N доза;

D_{i-1} - доза, предшествующая дозе с номером i ;

D_{i+1} - доза, следующая за D_{i-1} ;

L_i - отношение числа животных, у которых от введения дозы с номером i наступила положительная реакция, к общему числу животных, которым введена эта доза.

Результаты исследования острой токсичности представлены в таблице (табл. 6.1). Статистическая обработка результатов эксперимента по исследованию острой токсичности экстракта по показателю смертности экспериментальных животных по методу Кербера показала, что при однократном внутрижелудочном введении белым беспородным мышам-самцам сухого экстракта СЭРШК, LD_{50} составляет $33,3 \text{ г/кг} \pm 0,18 \text{ г}$.

Таблица 6.1 – Результаты определения LD_{50} препарата СЭРШК-9

Наименование препарата	Дозы г/кг	Количество животных			LD_{50} , г/кг
		В группе, шт	Выжило, шт	Погибло, шт	
СЭРШК-9	15	6	6	0	$33,3 \pm 0,18$
	21	6	5	1	
	27	6	3	3	
	33	6	3	3	
	36	6	1	5	
	42	6	0	6	

Таким образом, было установлено, что СЭРШК-9 является малотоксичным лекарственным средством и по степени токсичности относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные).

6.2 Определение актопротекторного действия

Изучение актопротекторного действия СЭРШК-9 осуществляли при помощи теста «повторное плавание», определяющего среднюю устойчивость к физической нагрузке животного при плавании с грузом весом 7% от массы тела животного. Данный тест позволяет оценить способность животных выполнять

физическую нагрузку до отказа. А также оценить такие показатели, как: выносливость организма, физическая работоспособность, восстановление после физической нагрузки до полного утомления (рассчитывался как продолжительность повторного плавания, выраженная в процентах от продолжительности первичного плавания). Он является довольно простым в техническом отношении, что позволяет широко применять его в лабораторных исследованиях. Существенным недостатком данного метода является широкий разброс экспериментальных данных (до 30 %). Для существенного снижения колебаний разброса используются следующие методические рекомендации [79, 136]:

- ✓ в плавательном бассейне использовалась только кипячёная вода, чтобы удалить из неё пузырьки воздуха;
- ✓ температура воды держалась на постоянном уровне и составляла 28 °С;
- ✓ масса груза отягощения составляла 7 % от массы животного;
- ✓ критерием завершения эксперимента являлся отказ животного от продолжения выполнения нагрузки и окончательное погружение под воду.

Эксперимент был проведён на 108 нелинейных мышах-самцах массой 19-26 г. Животные отбирались по результатам предварительного плавания, которые попадали в интервал 13-19 минут. Затем мыши были распределены случайным образом на пять групп:

- первая (контроль) – 24 животных, получавших воду очищенную;
- вторая (опыт) и третья (опыт) – 42 животных, получавших водный раствор СЭРШК в дозах 1,8 г/кг и 3,6 г/кг;
- четвертая и пятая (препарат сравнения) – 40 животных, получавших водный раствор деалкоголизированного экстракта родиолы розовой (Камелия) в дозах 0,5 г/кг и 1,0 г/кг.

Исследовали следующие показатели: время первичного плавания, время вторичного плавания и показатель восстановления работоспособности (продолжительность повторного плавания в процентах, относительно первичного плавания).

Животных опытной группы делили на две подгруппы, которые в течение 3 недель получали водный раствор СЭРШК в дозах 1,8 г/кг и 3,6 г/кг. Животные контрольной группы получали дистиллированную воду в эквивалентном количестве. Животных группы сравнения делили на две группы, которые получали водный раствор dealкоголизированного аптечного экстракта родиолы розовой в дозах 0,5 г/кг и 1,0 г/кг.

В 21-й день эксперимента проводили испытания на физическую выносливость. Мышам крепили груз весом 7% от массы тела мыши и заставляли плавать до полного утомления в сосуде с водой, позволяющем и свободно двигаться. Время плавания фиксировалось при помощи электронного секундомера. За состояние полного утомления принимали полное погружение животного под воду и отказ от дальнейшей работы. Животное извлекали, обсушивали полотенцем и помещали в обогреваемую клетку для восстановления. Через час снова проводили плавание до полного утомления. Результаты заносили в таблицу 6.2.

Препарат СЭРШК-9 достоверно увеличивал продолжительность повторного плавания мышей в дозе 1,8 г/кг. Введение препарата СЭРШК-9 в дозе 3,6 г/кг увеличивало работоспособность на 160 %.

Таблица 6.2 - Влияние введения СЭРШК-9 на общую физическую выносливость мышей по тесту продолжительности повторного плавания

Исследуемые препараты	Доза, г/кг	Число наблюдений	Продолжительность первого плавания в минутах ($M \pm m$)	Продолжительность повторного плавания	
				мин.	%
Контроль		24	15,1±2,2	9,8*±1,2	65
СЭР	0,5	20	17,3±1,2	22,8**±1,8	132**
	1,0	20	20,1±1,4	28,1**±1,8	140**
СЭРШК-9	1,8	21	18,2±1,3	28,2**±2,8	155**
	3,6	21	21,4±1,4	34,2**±2,8	160**

Примечание: * - достоверное различие с результатом первого плавания животных той же группы ($P < 0,05$); ** - достоверное различие с соответствующим результатом контрольной группы ($P < 0,05$).

В процессе эксперимента было выявлено, что у группы «контроль» не наблюдалось полного восстановления физической работоспособности после восстановительного периода. Продолжительность их повторного плавания составила 65 % от продолжительности первичного. В группе, принимавшей СЭР в дозах 0,5 г/кг и 1,0 г/кг, было выявлено полное восстановление физической работоспособности и увеличение её в среднем на 36 %. У животных, которым давали СЭРШК-9, также наблюдалось полное восстановление работоспособности, с последующим её увеличением на 55 % у животных, принимавших СЭРШК-9 в дозе 1,8 г/кг и на 60 % - у животных, принимавших СЭРШК-9 в дозе 3,6 г/кг.

**Исследование проводилось в Лаборатории «Разработки и доклинических исследований лекарственных средств» Института фармации и трансляционной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России.*

Выводы к главе 6:

1. Проведено исследование острой токсичности гранулята СЭРШК. Было установлено, что при однократном внутрижелудочном введении, LD₅₀ гранулята СЭРШК составляет 33,3 г/кг±0,18 г. и данное лекарственное средство является малотоксичным и по степени токсичности относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные).
2. Исследована актопротекторная активность гранулята СЭРШК на животной модели в эксперименте повторного плавания. Установлено, что курсовое применение исследуемого лекарственного средства достоверно увеличивает продолжительность повторного плавания у животных и оказывает актопротекторное действие, которое, в виду своего проявления на измененном функциональном фоне, свидетельствует о наличии адаптогенного эффекта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На основе проведенного информационно-аналитического исследования выбраны экстрагенты и методы экстракции, наиболее перспективные для получения СЭ корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника, столбиков с рыльцами кукурузы, обоснован подбор ВВ для получения ГЛФ и вид ЛФ – твердые желатиновые капсулы.
2. Разработаны ресурсосберегающие технологии выделения комплекса действующих веществ из столбиков с рыльцами кукурузы и плодов шиповника собачьего методами трёхкратной мацерации измельченных плодов с циркуляцией экстрагента и методом вакуумно-фильтрационной экстракции без рекуперации спирта, соответственно. Обосновано использование метода противоточного экстрагирования для получения СЭ ЛРС.
3. Разработан состав и технология получения комбинированного ЛС для повышения работоспособности в виде твёрдых желатиновых капсул, содержащих гранулят сухих экстрактов корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника собачьего, столбиков с рыльцами кукурузы.
4. Определены показатели качества полученных СЭ и готовой ЛФ на их основе. Разработаны методики идентификации и количественного определения аскорбиновой и хлорогеновой кислот, флавоноидов (кверцетин, рутин), производных гликозидов (розавин, розин, розарин, салидрозид, тирозол) методом градиентной ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием, а также витаминов групп А, В, С, D и К методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием. Установлен срок годности капсул СЭРШК-9, который составил 2 года.
5. Изучена эффективность и безопасность полученного комбинированного ЛС *in vivo* (острая токсичность, тест повторного плавания). Определена доза LD₅₀. Установлено увеличение актопротекторного действия по сравнению с контрольным препаратом.
6. Разработан лабораторный регламент на технологию получения препарата актопротекторного действия, представляющего собой твердые желатиновые капсулы, наполняемые гранулятом СЭРШК-9. Разработан проект НД на лекарственную форму.

СОКРАЩЕНИЯ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В РАБОТЕ

LD ₅₀	- ПОЛУЛЕТАЛЬНАЯ ДОЗА, 50
НА КМЦ	- НАТРИЕВАЯ СОЛЬ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ
PWC ₁₇₀	- МОЩНОСТЬ МЫШЕЧНОЙ РАБОТЫ ПРИ ЧАСТОТЕ СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ В 170 УД/МИН
АТФ	- АДЕНОЗИНТРИФОСФАТ
БАВ	- БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЕ ВЕЩЕСТВО
БАД	- БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА
ВАГ	-ВЛАГОАКТИВИЗИРОВАННОЕ ГРАНУЛИРОВАНИЕ
ВЭЖХ	- ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ
ВЭЖХ-МС	- ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ
ГФ	- ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАКОПЕЯ
КМЦ	- КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗА
ЛВ	- ЛЕКАРСТВЕННОЕ ВЕЩЕСТВО
ЛРС	- ЛЕКАРСТВЕННОЕ РАСТИТЕЛЬНОЕ СЫРЬЕ
ЛС	- ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО
ЛФ	- ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА
МКЦ	- МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ЦЕЛЛЮЛОЗА
МЦ	- МЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗА
НТД	- НОРМАТИВНО ТЕХНИЧЕСКАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ
ОПМЦ	- ОКСИПРОПИЛМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗА
ОЭЦ	- ОКСИЭТИЛЦЕЛЛЮЛОЗА
ПВП	- ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОН
ПВС	- ПОЛИВИНИЛОВЫЙ СПИРТ
ПКО	- ПРЕДЕЛ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
РНК	- РИБОНУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА
СМКЦ	- СИЛИФИЦИРОВАННАЯ МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ЦЕЛЛЮЛОЗА

СО	- СТАНДАРТНЫЙ ОБРАЗЕЦ
СЭР	- СУХОЙ ЭКСТРАКТ РОДИОЛЫ
СЭРШК	- СУХОЙ ЭКСТРАКТ РОДИОЛЫ, ШИПОВНИКА И КУКУРУЗНЫХ РЫЛЕЦ
ТСХ	- ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ
УФ	- УЛЬТРАФИОЛЕТ
ЦНС	- ЦЕНТРАЛЬНАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авцын А.П. Недостаточность эссенциальных микроэлементов и ее проявление в патологии // Арх. пат. – 1990. – №3. – С.3-8.
2. Агаджанян Н.А. Стресс, физиологические и экологические аспекты адаптации, пути коррекции. – Оренбург: ИПК ГОУ ОГУ. – 2009. – 274 с.
3. Алборов Р.Г. Зависимость между антиоксидантными свойствами витаминов и их влиянием на толерантность к тромбину // Медицинская наука и образование Урала. – 2005. – № 3. – С.64-66.
4. Аюшиева С.Ц. Основные группы гепатопротекторных препаратов // Сибирское медицинское обозрение. – 2006 – № 4. – Т. 41. – С. 10–16.
5. Баимуродов Р.С., Кароматов И. Дж., Нурбобоев А.У. Шиповник – профилактическое и лечебное средство // Биология и интегративная медицина. – 2017. – № 10. – С. 87-105.
6. Барабой В.А., Биологическое действие растительных фенольных соединений. – Киев: Наукова думка. – 1976. – 260 с.
7. Белый В.А., Печникова А.А., Кочева Л.С., Москалев А.А., Карманов А.П. Лигнины родиолы розовой и серпухи венценосной: особенности химической структуры и антиоксидантные свойства // Успехи геронтологии. – 2010. – Т.23, № 2. – С. 221-227.
8. Бобков, Ю.Г., Виноградов, В.М., Катков, В.Ф. Фармакологическая коррекция утомления. М.: Медицина. – 1984. – 208 с.
9. Болдогуев В.М. Адаптогенное действие растительного средства «Адаптофит-28»: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.06 / Болдогуев Валерий Михайлович– Улан-Удэ, 2011 – 138 с.
10. Болотов Б. Травник. Сборник рецептов народной медицины / Б.Л. Воробьев – М.: СТ. – 1997. – 392 с.
11. Бреженер С.М. Витамины. – М.: Медицина, 1966. – 420 с.
12. Бурцева Т.И., Бурлуцкая О.И. Селен: эссенциальный микроэлемент (обзор) // Вестник ОГУ. – 2006. – №2 (52-2). – С.7-9.

13. Быков В.А., Шикова Ю.В. Изучение антиокислительной активности оксиметилурацила, дибунола и экстракта прополиса в опытах *invitro* // Вестник ВГУ. – 2004. – № 2. – С. 172-174.
14. Вдовенко-Мартынова Н.Н., Кобыльченко Н.В., Блинова Т.И. Фармакогностическое исследование корней шиповника (*Rosa Canina*) флоры Северного Кавказа // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2011. – №16 (111). – С.229-232.
15. Вершинина В.В., Куркин В.А. Определение подлинности плодов и сиропа шиповника с использованием тонкослойной хроматографии. Медицинский альманах. – 2011. – № 2 (15). – С. 144-146.
16. Винницкая Е.В. Гепатопротекторы: рациональное применение при алкогольной болезни печени // Фарматека. – 2008. – №2. – С. 41-45.
17. Волкотруб Л.П., Андропова Т.В. Роль селена в развитии и предупреждении заболеваний (обзор) // Гигиена и санитария. – 2001. – №3. – С.57-61.
18. Воробьев Л.В. Пороговая ЧСС, как критерий безопасных нагрузок на сердце // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 2 . – С. 7-11.
19. Воробьева В.В. Фармакологическая коррекция антигипоксантами последствий воздействия экстремальных факторов физической и химической природы: дис... док. мед. наук. – СПб. 2014. – 286 с.
20. Гаммель И. В., Запорожская Л. И., Петров П. Т. Сравнительное Изучение возможности промышленного капсулирования осетрового жира витойл капельным и ротационно-матричным методами // Медицинский альманах –. 2013. – №1 (25). – С.188-191.
21. Ганапольский В.П. Разработка и изучение новых метеoadаптогенов: дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.25 / Ганапольский Вячеслав Петрович – Спб., 2008. – 257 с.
22. Ганапольский В.П., Елистратов А.А. Сравнительная характеристика метеoadаптогенных свойств субстратных антигипоксантов. //

Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 8. – № 1-22. – С. 2357.

23. Ганчо В.Ю., Л.Л. Бобров, И.Н. Гук, А.В. Смирнов Направление использования актопротекторов в лечебной практике и фармакологии здорового человека // Человек и лекарство: тез. док. 11 Рос. нац. конгр. В Москве. – М., 1995. – С. 13-30.

24. Гарезина О.В. Особенности клинических проявлений и оптимизации терапии у больных врожденными коагулопатиями, инфицированных вирусами гепатита С и В: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.29/ Гарезина Ольга Васильевна. – СПб., 2004. – 138 с.

25. Голубкина Н.А. Селен в медицине и экологии / Н.А. Голубкина, А.В. Скальный, А.Я. Соколов, Л.Ф. Щелкунов. КМК. – М., 2002. – 134 с.

26. Голубятникова М.В. Система интеллектуальной поддержки при выборе оптимального технологического режима: дис. ... канд. тех. наук: 05.13.01 / Голубятникова Марина Владиславовна. – Астрахань, 2011. – 188 с.

27. Гольдштейн В.И. О механизме действия витамина С // Биохимия. – 1950. – Т. 2, № 15 – С.173-177.

28. Гордиенко А.Д. Гепатопротекторный механизм действия флавоноидов // Фармация. – 1990. – № 3. – С. 75-78.

29. Горчакова Н.А. Фармакология спорта [под общ. Ред. С.А. Олейника, Л.М. Гуниной, Р.Д. Сейфуллы]. – К.: Олимп. Л-ра, 2010. – 640 с.

30. Государственная Фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIII изд. – Т.1. – 1470 с. – Т.2. – 1040 с. – Т.3. – 1294 с. – Москва, 2015.

31. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание. – М.: ООО «Информационно-издательское агентство «Ремедиум», 2008. – Т.1. – 1398 с.

32. Громова О.А.Намазова Л.С. (редакторы) Витамины и минералы в современной клинической практике. – М.: Союз педиатров России, 2003. – 56 с.

33. Гусейнова С.Я., Гусейнов Т.М., Гулиева Р.Т., Яхьяева Ф.Р., Дадашов М.З., Джафаров А.И. Регуляция селеном окислительных процессов в крови крыс,

индуцированных нитритом натрия // Микроэлементы в медицине. – 2017. – № 4. – Т. 18. – С. 13-17.

34. Давыдова В.Н. Получение сухих экстрактов из растений и создание на их основе препаратов и биологически активных добавок: дис. ... д-ра фарм. наук: 15.00.02/15.00.01 / Давыдова Валентина Николаевна. – М., 2002. – 236 с.

35. Двалишвили Э.Г., Лосев А.С., Курочка А.В. и др. Взаимопотенцирование актопротекторами действия психотропных препаратов, биологически активных веществ и микронутриентов // Человек и лекарство: Тез. докл. VI Росс. Нац. конгр. – М., 1999. – С. 26.

36. Дейнека В.И., Подкопайло Р.В., Дейнека Л.А. Определение каротиноидов плодов облепихи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. – 2011. – Т. 15. – № 9-1 (104). – С. 374-381.

37. Деминская Л.А. Оздоровительная физическая культура в процессе сохранения и восстановления здоровья современного человека // Педагогика, психология и медикобиологические проблемы физического воспитания и спорта. – 2007. – № 11. – С. 33-35.

38. Ермолаева Е.О., Позняковский В.М. Разработка новой промышленной технологии сухих экстрактов // Современные наукоемкие технологии. – 2004. – № 6. – С. 10-13.

39. Жаданюк А.С. Психологические особенности динамики личностных качеств в условиях профессионального стресса: на материале деятельности работников спецподразделений на Северном Кавказе: дис. ... канд. психол. наук: 19.00.03 / Жаданюк Александр Сергеевич. – Ярославль, 2005. – 195 с.

40. Жилиякова Е.Т., Шевченко Н.А. Методология создания лекарственных форм с использованием современных информационных технологий // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Том XIV. – № 3. – С. 157-159.

41. Жумашева А.Б. Фармакология иммуномодулятора трекрезана: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.25 / Жумашева Айжангуль Бакитовна. – Спб., 2009. – 136 с.

42. Запесочная Г.Г. Химическое изучение корневищ и надземной части *Rhodiolarosea*. L./ Г.Г. Запесочная, В.А. Куркин, А.Н. Щавлинский // Результаты и перспективы научных исследований в области создания лекарственных средств из растительного сырья: тез.докл.всесоюз. науч. конф. – М., 1985. – С. 92-93.
43. Запесочная, Г.Г. К вопросу о подлинности и качестве корневищ родиолы розовой / Г.Г. Запесочная, В.А. Куркин, А.Н. Щавлинский // Новые лекарственные препараты из растений Сибири и Дальнего Востока: Тезисы докладов конференции. – Томск, 1986. – С. 37.
44. Захарова С.И., Калинин А.В. Электромиографические особенности перенапряжения опорно-двигательной системы легкоатлетов // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. – 2012. – Т. 86. – №4. – С. 43-48.
45. Земцова Н.П. Сравнительная общетонизирующая активность измельченных пантов марала // Фундаментальные исследования. – 2014. – С. 100-103.
46. Ильченко Л.Ю., Карлович Т.И. Гепатопротекторы при хронических заболеваниях печени // Фарматека. – 2007. – № 8-9. – С. 54-58.
47. Ионова А.А. Большая энциклопедия народной медицины / науч. ред. Васильева О.П. – М.: ОЛМА Медиа Групп, 2011. – 895 с.
48. Казаков, Ю.Н. Психология безопасности. Устойчивость «акме» психического здоровья субъекта в стрессах чрезвычайных ситуаций / Ю.Н. Казаков. – М.: РАСН 2012. – 288 с.
49. Канунникова Ю. С. Определение флавоноидов в траве Володушки золотистой (*Herba Vulpuri aurei*) методом ВЭЖХ / Ю. С. Канунникова, М. А. Джавахян // Новые задачи современной медицины: материалы II междунар. науч. конф. (г. Санкт-Петербург, май 2013 г.). – СПб.: Реноме, 2013. – С. 88-90.
50. Катулина Н.П., Стратиенко Е.Н., Кухарева О.В., Цеева Ф.Н., Гнеушева И.М. Актуальные вопросы фармакологической коррекции экстремальных состояний. – Брянск: Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского, 2017. – 136 с.

51. Катунина Н.П., Стратиенко Е.Н., Кухарева О.В., Цеефа Ф.Н., Гнеушев И.М. Актуальные вопросы фармакологической коррекции экстремальных состояний. – Брянск: Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского, 2017. – 136 с.
52. Качалина Т.В. Разработка технологии получения твердых лекарственных форм, содержащих растительные экстракты: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01 / Качалина Татьяна Владимировна. – М., 2005. – 147 с.
53. Ким Е.Ф. Влияние почвенно-климатических условий на содержание салидрозида родиолы розовой // Совершенствование научно-теоретического и методического уровня преподавания физиологии растений. – Смоленск, 1993. – С. 99.
54. Киселева В.Н. Аминокислотный состав шиповника собачьего корней / В.Н. Киселева, Н.В. Кобыльченко, Н.Н. Вдовенко-Мартынова, А.Н. Сепп // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 61-62.
55. Кодониди М.И. Химическое исследование цветков хризантемы корейской (*Chrysanthemum x koreanum* Makai) с целью получения фармакологически активных суммарных фитокомплексов: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Кодониди Максим Иванович. – Пятигорск, 2009. – 133 с.
56. Кожанова Л.А., Федорова Г.А., Барам Г.И. Определение водо- и жирорастворимых витаминов в поливитаминных препаратах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журнал Аналитической Химии. – 2002. – Т. 57. – № 1. – С. 49-54.
57. Кожин А.А., Владимирский Б.М. Микроэлементозы в патологии человека экологической этиологии. Обзор литературы // Экология человека. – 2013 – № 9. – С. 56-64.
58. Кокорина Н.О., Новоселов В.П., Ханина М.А. Определение лекарственных препаратов в биожидкостях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т.23. – № 4-2. – С. 51-53.

59. Колбая Л.И., Михайлова А.В., Смоленский А.В. Обоснование целесообразности применения Alfa-Оху-Spa капсул в программах реабилитации спортсменов с симптомами перетренированности и хронического физического перенапряжения. // «Лечебная физкультура и спортивная медицина» научно-практический журнал. – 2009. – № 9 (69) – С. 21-28.
60. Колошилова А.И., Глушанков Е.П. Витамины (химия, биохимия, физиологическая роль). – Л.: Медицина, 1976. – 248 с.
61. Коничев А.С., Баурин П.В., Федоровский Н.Н., Марахова А.И., Якубович Л.М., Черникова М.А. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки // Вестник МГОУ. Серия «Естественные науки». – 2011. – № 3 – С. 49–54.
62. Коц Я.М. Спортивная физиология / Я.М. Коц. – Л.: Медицина, 1986. – 240 с.
63. Крендаль Ф.П., Козин С.В., Левина Л.В. Сравнительная характеристика препаратов из группы фитоадаптогенов — женьшеня, элеутерококка и родиолы розовой. – М.: ПРОФИЛЬ, 2007, – 392 с.
64. Кривошеева Е.М., Фефелова Е.В., Кохан С.Т. Спектр фармакологической активности растительных адаптогенов // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 6 – 85-88.
65. Кудашкин С.С., Фазлова И.Х., Волкова Н.Г. и др. Актопротекторное действие некоторых антиоксидантов // Человек и лекарство: Тез. докл. VII Росс. нац. конгр. – М., 2000. – С. 410.
66. Кукес В.Г., Свистунова А.А., Булаев В.М., Сычев Д.А., Ших Е.В. Лекарственные растения – М.: ПМГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава и социального развития РФ, 2011. – 108 с.
67. Кулиненко О.С. Фармакологическая помощь спортсмену. – М.: Советский спорт, 2007. – 240 с.
68. Кулиненко О.С. Фармакология и физиология силы. Советы спортивного врача. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 208 с.

69. Куркин В.А. Родиола розовая (Золотой корень): стандартизация и создание лекарственных препаратов. – Самара: ООО «Офорт», 2015. – 240 с.
70. Куркин В.А., Авдеева Е.В., Куркина А.В., Правдивцева О.Е., Браславский В.Б., Егоров М.В., Рыжов В.М. Фенольные соединения как критерий подлинности и качества лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов // Традиционная медицина. – 2014. – № 4 (39). – С. 39-42а.
71. Курушина А.А., Любина Е.Н. Показатели углеводного обмена у свиней на фоне применения воднодиспергированной формы витамина А с гепатопротектором // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014 – № 2. – С. 84-88.
72. Литвиненко В.И. [и др.]. Некоторые аспекты технологии получения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья // Фармаком. – 2003. – №4. – С.27-31.
73. Макарова Г.А. Спортивная медицина: Учебник. – М.: Советский спорт, 2003. – 480 с.
74. Максимов А.Л., Носов В.Н., Голубев В.Н. Сравнительная эффективность применения актопротекторов и гипоксически-гиперкапнических воздействий для повышения работоспособности в процессе реабилитации спецконтингентов // International Journal on Immunorehabilitation. – 2009. – № 1. – С.135.
75. Малахов В.А. Ромелашвили Е.С. Актопротекторы // Новости медицины и фармации. – 2011. – № 360. – С. 39-42.
76. Малашенко Н.Л. Технологическая и экономическая стратегия производства и применения СО₂-экстрактов // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. – № 8. – С. 1-10.
77. Малышева Е.В., Гулин А.В., Засядько К.И. Оценка физиологической адаптации к экстремальным видам деятельности // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2013 – Т. 18. – № 5-3. — С. 2828-2830.

78. Мартинсон Е.А. Технология комплексной переработки плодов шиповника: дис. ... канд. техн. наук: 03.00.23 / Мартинсон Екатерина Александровна. – М., 2005. – 138 с.
79. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунятян. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
80. Михин В.П. Кардиопротекторы – новое направление клинической кардиологии // Архивь внутренней медицины. – 2011. – № 1. – С. 21-28.
81. Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Фаткуллина Л.Д., Воробьева А.К., Медведева И.Б., Бурлакова Е.Б. Влияние состава смесей эфирных масел на их антиоксидантные и антирадикальные свойства // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012 г. – Т. 48. – № 1. – С. 117.
82. Молчанов М.В. Разработка технологии экстрактов и сиропа из плодов черники обыкновенной: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01 / Молчанов Максим Васильевич. – Пятигорск, 2008. – 153 с.
83. Мягкая Л.И. Использование мацерации с прессованием при производстве жидкого экстракта кукурузных рылец / Л.И. Мягкая, Г.Д. Ягодкин // Всесоюз. науч. конф. по совершенствованию производства лекарств и галеновых препаратов (Ташкент, 1969): материалы. – Ташкент: Медицина, 1969. – С. 202-203.
84. Никитин И.Г. Гепатопротекторы: мифы и реальные возможности // Фарматека. – 2007. – № 13. – С. 14-18.
85. Никитина Л.П., Соловьева Н.В. Клиническая витаминология. – Чита: ООО «Читинская городская типография», 2002. – 84 с.
86. Никитюк В. Г., Шемет Н. А. История, преимущества и современная классификация желатиновых капсул // Провизору – 1999. – № 2. – С. 65-70.
87. Никифорова Е.Б. Совершенствование технологии, стандартизации жидкого экстракта и получение водоекстрагируемого фитокомплекса в условиях малоотходной переработки кукурузных рылец: дис. ...канд. фарм. наук: 15.00.01 / Никифорова Елена Борисовна. – Пятигорск, 2007. – 174 с.

88. Николаева И.Г. Разработка и стандартизация средств растительного происхождения, обладающих адаптогенной активностью: дис. д-ра фарм. наук: 14.04.02 / Николаева Ирина Геннадьевна. – Улан-Удэ, 2012. – 294 с.
89. Огай М. А., Степанова Э. Ф., Погодин И. С., Коробкова Е. А., Пак А. А., Гаврась В. В., Пантюхин А. В. Мягкие желатиновые капсулы с расторопшей пятнисотой и таурином // Омский Научный Вестник. – 2012. – №2-114. – С. 45 – 48.
90. Окнин В.Ю. Проблема утомления, стресса и хронической усталости // РМЖ. Человек и лекарство. – 2004. – Т. 12. – № 5. – С. 276-279.
91. Олейник С.А., Гунина Л.М. Спортивная фармакология и диетология. – М.: Вильямс Диалектика, 2008. – 256 с.
92. Палечкин, А.В. Разработка технологии гранул экстракта липы, таблеток экстракта гибискуса и таблеток экстракта шиповника: дис. ...канд. фарм. наук: 15.00.01 / Палечкин Анатолий Владимирович. – СПб., 2009. – 194с.
93. Пат. 193855 Рос. Федерация. Способ переработки сушеных плодов шиповника / Алтарев С.Н., Новичкова О.А., Мичник И.Б. – 2001129384/13; заявл. 31.10.2001; опубл. 10.12.2002.
94. Пат. 2229302 Рос. Федерация. Средство, снижающее токсическое действие алкоголя и способ его получения / Мясников Д.Н., Кашлинский А., Нужный В.П., Ефремов А.П., Буланов А.Е. 2003112021/15; заявл. 25.04.2003; опубл. 27.05.2004.
95. Пат. 2233666 Рос. Федерация. Таблетки «Апиплар» на основе трутневого расплода, обладающие анаболическим, актопротекторным действием. – 2002135833/15; заявл. 30.12.2002; опубл. 10.08.2004.
96. Пат. 2263138 Рос. Федерация. Комплексная переработка плодов шиповника / Рубчевская Л.П., Шанина Е.В. – 26237; заявл. 08.07.2004; опубл. 27.10.2005.
97. Пат. 2333207 Рос. Федерация. Способ получения кверцетина / Борисенко Н.И., Борисенко Р.Н. – 2006119548/04; заявл. 06.06.2006; опубл. 10.09.2008.

98. Пат. 2369383 Рос. Федерация. Фосфолипидная эмульсия, включающая дигидрокверцетин, и способ ее получения / Григорьев А.М., Евтеев А.В., Смыслов П.А., Цветков М.В., Сыслов А.П. – 2007139865/15; заявл. 30.10.2007; опубл. 10.10.2009.
99. Пат. 2477143 Рос. Федерация. Биологически активная добавка актопротекторного, адаптогенного действия из растительного сырья и способ ее получения / Кершенгольц Б. М., Аньшакова В. В.– 2011143083/15; заявл. 26.10.2011; опубл. 10.03.2013.
100. Пат. 2506089 Рос. Федерация. Сухой экстракт фикуса, способ его получения и антикоагулянтная мазь на его основе. Облучинская Е.Д. – 2012130594/15; заявл. 17.07.2012; опубл. 10.02.2014.
101. Пат. № 2133620 Рос. Федерация. Способ получения средства, обладающего иммуномодулирующей активностью / Куркин В.А., Запесочная Г.Г.; Авдеева Е.В., Маковецкая Г.А., Ежков В.Н., Егоров В.А., Русакова Н.В., Абрамочкина И.Г. – 97112422/14; заявл. 16.07.1997; опубл. 27.07.1999.
102. Паутова, И.А. Род *Rhodiola* (CrassulaceaeDC) в культуре на Северо - Западе России / И.А. Паутова, К.Г. Ткаченко // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения Фитофарм 2004: тез. 8 Междунар. съезда 21-23 июня 2004 г. – Миккели, 2004. – С.496-498.
103. Петрова Е.С. Совершенствование методов стандартизации лекарственных средств на основе корневищ родиолы розовой: дис. ...канд. фарм. наук: 15.00.02 / Петрова Елена Сергеевна. – Самара, 2005. – 147 с.
104. Петрова Т.Г. Влияние спортивных и физических нагрузок на функциональное состояние нервной системы и аэробные возможности организма студентов: дис. ...канд. биол. наук: 03.03.01 / Петрова Татьяна Геннадьевна. – Майкоп, 2012. – 209 с.
105. Пискарев Ю.Г., Трофимов С.А. Влияние условий труда на состояние здоровья лиц с различным уровнем физической активности // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 3. – С. 114–118.

106. Поветьева Т.Н. Особенности адаптогенного действия лекарственных растений. – Томск: Томский государственный педагогический университет, 2005. – 171 с.
107. Покровский В.М. Коротько Г.Ф. Физиология человека. – 2003. – С. 235.
108. Пономарёв В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья. – М.: Медицина, 1976. – 202 с.
109. Португалов С.Н, Арансон М.В. Образовательные программы по спортивному питанию // Вестник спортивной науки. 2008. – № 4. – С. 90-92.
110. Раднаева Д.Б. Адаптогенные свойства и механизмы действия растительного средства «Сок каллизии душистой»: дис. ...канд. мед. наук: 14.00.25 / Раднаева Дарима Базаровна. – Улан-Удэ, 2009. – 123 с.
111. Раднаева И.Э. Влияние растительного средства «Полигепафит» на течение экспериментального острого и хронического гепатита: дис. ...канд. мед. наук: 14.03.06 / Раднаева Ирина Элбековна. – Улан-Удэ, 2011. – 105 с.
112. Рамш С.М. История создания отечественного лекарственного препарата Дибазол // Историко-биологические исследования. – 2011. – Т.3. – № 4 – С. 36-59.
113. Распоряжение Правительства РФ N 1433-р.: Концепция Федеральной целевой программы «Развитие физической культуры и спорта в Российской Федерации на 2006-2015 годы». – М., 2005.
114. Ребров В.Г., Громова О.А. Витамины, макро- и микроэлементы – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 960 с.
115. Результаты опросов общественного мнения: март-апрель 20013. Мониторинг общественного мнения: экономические и социальные перемены. – 2013. – № 2 (114). – С. 64-92.
116. Рогинский В.А., Фенольные антиоксиданты: реакционная способность и эффективность. – М.: Наука, 1988. – 247 с.
117. Рыжикова М.А. О возможности использования растительного сырья пажиты в качестве антиоксидантного препарата и гепатопротектора // Здоровье в XXI веке: Матер. Всеросс. науч.-практ. конф. – Тула, 2000. – С. 211.

118. Санина А.Г., Козлова А.А. Тригонос О.В. Влияние Олимпийских игр в Сочи на формирование государственной идентичности молодых россиян: результаты эмпирического исследования // Мониторинг общественного мнения: экономические и социальные перемены. – 2014. – № 3 (121). – С. 130-146.
119. Сейфулла Р.Д. и др. Лекарства и БАД в спорте. – М.: Литтерра, 2003. – 320 с.
120. Сейфулла Р.Д., Орджоникидзе З.Г., Куликова Е.С., Ким Е.К., Рожкова Е.А. Фармакологическая коррекция утомления у спортсменов высокой квалификации // Наука в олимпийском спорте. – 2006. – № 2. – С. 12-21.
121. Сейфулла Р.Д., Рожкова Е.А., Типикин И.С., Орджоникидзе З.Г., Панюшкин В.В., Кузнецов Ю.М. Структурные и функциональные нарушения мембран эритроцитов при физическом перенапряжении и их профилактика флавоноидами // Вестник спортивной науки. – 2011. – № 5. – С. 25-28.
122. Сергунова Е.В. Исследования по стандартизации плодов шиповника и лекарственных форм на его основе: дис. ...канд. фарм. наук: 15.00.02 / Сергунова Екатерина Вячеславовна. – М., 2002. – 149 с.
123. Серебрянская Т.С., Разработка и стандартизация нейропротективных средств растительного происхождения: дис. ...канд. фарм. наук: 14.04.02 / Серебрянская Татьяна Степановна. – Улан-Удэ, 2011. – 159 с.
124. Сокуренок М.С., Бессонов В.В., Соловьева Н.Л. Полифенольные соединения в спортивном питании: биохимия и направленность действия // Вопросы питания. – 2015. – № S3. – С. 69.
125. Сосипатрова А.А., Чернобаева М.В., Демина Н.Б., Скатков С.А. Современные подходы к оптимизации процесса гранулирования // Вестник Здоровье и образование в XXI веке. – 2011. – №11. – С.547-548.
126. Справочник ВИДАЛЬ. Лекарственные препараты в России: Справочник. – М.: АстраФармСервис, 2011 г. – 1728 с.
127. Суншева Б.М., Пшикова О.В., Шаов М.Т. Роль природных антигипоксантов в повышении адаптационного резерва человеческого

организма // Вестник Российского Университета Дружбы Народов. Серия: медицина. – 2010. – № 1. – С. 25-30.

128. Темирбулатова А. М. Разработка состава, технологии и норм качества для БАД адаптогенного действия с экстрактом родиолы розовой: дис. ...канд. фарм. наук: 15.00.01 / Темирбулатова Анна Михайловна. – Пятигорск, 2007. – 134 с.

129. Темирбулатова А.М., Лежнева Л.П., Хаджиева З.Д., Погорельный В.Е., Глижова Т.Н., Никитина Н.В. Фармакологическое исследование экстракта родиолы розовой // Известия самарского научного центра российской академии наук. – 2015. – Т. 17. – № 5-1. – С. 219-223.

130. Титов П.А., Влияние физической культуры и спорта на социально-экономическое развитие // Вестник МГТУ. – 2010. – Т. 13. – № 1 – С. 215-217.

131. Титова И.Н. Определение фармакологической активности фитопрепаратов, содержащих фенилпропаноиды: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.25 / Титова Ирина Николаевна. – Самара, 2004. – 22 с.

132. Ткаченко Б.И. Нормальная физиология человека, 2005. – С. 396–398.

133. Тулесонова А. С., Елбаева П.Ц., Шантанова Л.Н. Актопротекторное действие комплексного растительного средства // Бюллетень восточносибирского научного центра СО РАМН. – 2010. – № 3. – С. 264–266.

134. Уилмор Дж.Х., Костилл Д.Л. Физиология спорта и двигательной активности. – К.: Олимпийская литература, 2001. – 459 с.

135. Фадеева М. Разработка технологии и норм качества родиолы розовой экстракта сухого. Тезисы докладов всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения». – Пятигорск, 2013. – С. 24 – 25.

136. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному и доклиническому изучению новых фармакологических веществ. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

137. Халилова Р.С., Кароматов И.Д. Лечебные свойства кукурузы // Биология и интегративная медицина. – 2017. – № 11. – С. 230-235.

138. Ходос М.Я., Казаков Я.Е., Видревич М.Б., Брайнина Х.З. Окислительный стресс и его роль в патогенезе // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2017. – № 4. – С. 381-398.
139. Хоружая Т. Г., Чучалин В. С. Растворы, настойки, экстракты промышленного производства. Деловая игра: учебное пособие. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2009. – 177 с.
140. Цицилин А. Н. Русские лекарственные растения. – М.: Эксмо, 2010. – 736 с.
141. Чанчаева Е.А., Айзман Р.И., Герасев А.Д. Современное представление об антиоксидантной системе организма // Экология Человека. – 2013. – № 7. – С. 50-58.
142. Чернова Л.В. Антигипоксанты: миф или реальность // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2013. – Е. 15. – № 6. – С. 20-23.
143. Черноградская Н.М., Черкашина А.Г. Адаптогены в животноводстве Якутии // Успехи современного естествознания. – 2010. – № 9. – С. 197-198.
144. Чжома Д., Баяндуров С.Э. Основы тибетской медицины. – М.: ВУНМЦ Росздрава, 2006. – 187 с.
145. Чхатарашвили Л.Е. [и др.]. Совершенствование процесса производства жидкого экстракта кукурузных рылец // Материалы II съезда фармацевтов Каз. ССР. – Чимкент, 1981. – С.386-387.
146. Шаповалова Е.М. Механизмы гемостатических сдвигов при отсутствии, дефиците и избытке витаминов С антиоксидантными свойствами в рационе питания: дис. ...д-ра биол. наук: 03.03.01 / Шаповалова Елена Михайловна. – Тюмень, 2010. – 238 с.
147. Шевченко А.М., Науменко А.Г., Благоразумная Н.В. Разработка технологии и методов анализа таблеток с сухими экстрактами расторопши, бессмертника и биомассой гриба *Fusarium sambucinum*, покрытых плёночной оболочкой // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 10-3. – С. 615–618.

148. Щекина М.И., Панчук М.С. Роль гепатопротекторов в терапии пациентов с метаболическим синдромом // Гастроэнтерология. Приложение к журналу *Consilium Medicum*. – 2013. – № 1. – С. 65-68.
149. Яшин Я.И., Веденин А.Н., Яшин А.Я. Лекарственные препараты, лекарственные растения и БАДы с антиоксидантной активностью // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2017. – Т. 17. – № 3. – С. 496-505.
150. Allamneni Y., Allamneni N., Kumar G., Kalekar A., Chary P., Pottori P., Reddy B. Foam Granulation Technology as a New Innovation in Granulation of Pharmaceutical Drugs: An Overview // *IJPFR*. – 2012. – N 2(2). – P. 68-79.
151. Allen LV. Featured excipient: capsule and tablet diluents // *Int J Pharm Compound*. – 2000. – N 4 (4). – P. 306–310; 324–325.
152. Baskin, C. C., J. M. Baskin, and E. W. Chester. Morphophysiological dormancy in seeds of *Chamaelirium luteum*, a long-lived dioecious lily // *Journal of the Torrey Botanical Society*. – 2001. – N 128. – P. 7-15.
153. Beuscher N, Kopanski L. Stimulation of immunity by the contents of *Baptisia tinctoria* // *Planta Med*. – 1985. – N 5. – P. 381–384.
154. *British Pharmacopea*. 2005. – V.2. – №1. – P. 1538.
155. Brown RP, Gergbarg PL, Graham B. *The Rhodiola Revolution*. – Rodale Press: Emmaus, PA, 2004. – 260 p.
156. Buléon A, Colonna P, Planchot V, Ball S. Starch granules: structure and biosynthesis // *Int J Biol Macromol*. – 1998. – N 23. – P. 85–112.
157. Chen, J.K., Chen, T.T. *Chinese medical herbology and pharmacology*. – Art of Medicine Press, 2004. – 1336 p.
158. Dionex Corporation. Determination of Water- and Fat-Soluble Vitamins by HPLC. // *Technical Note 89, LPN 2533*, 2010.
159. Dorbinyan, V., Kteyan A., Panossian A., Gabrielian E., Wikman G., Wagner H. *Rhodiola rosea* in stress induced fatigue--a double blind cross-over study of a standardized extract SHR-5 with a repeated low-dose regimen on the mental

performance of healthy physicians during night duty // *Phytomedicine* – 2000. – N 7 (5). – P. 365-371.

160. Duke J.A. Handbook of medicinal herbs. 2nd ed. – CRC Press, 2002. – 896 p.

161. European Pharmacopea 8.0. Council of Europe. – Strasbourg, 2014. – P. 626.

162. Fetrow CW, Avila JR. Professional's Handbook of Complementary & Alternative Medicines. – Lippincott Williams & Wilkins; 2004. – 785 p.

163. Gnanapragasam A, Ebenezar KK, Sathish V, Govindaraju P, Devaki T. Protective effect of *Centella asiatica* on antioxidant tissue defense system against adriamycin induced cardiomyopathy in rats // *Life Sci.* – 2004. – N 76. – P. 585-597.

164. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency // *Biochemical Pharmacology.* – 1983. – Vol. 32. - № 7. – P. 1141-1148.

165. Himanshu K., Tarashankar B., Jalaram H., Chirag A. Recent advances in granulation technology // *Int. J of Pharm Science Review and Research.* –2010. – Vol. 5. – No 3. – P. 48-54.

166. Ismat Ullah. Moisture-Activated Dry Granulation // *Pharmaceutical Technology Europe.* – 2011. – Vol. 23. – Issue 3. – P. 22.

167. Livesey, R. G. A discussion of the effect of chamber pressure on heat and mass transfer in freeze-drying / *J. Parenter // Sci. and Technol.* –1987. – N 41 (5). – P. 169 – 173.

168. Majhenic L., Skerget M., Knez Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts // *Food Chemistry.* – 2007. – Vol. 104. – Issue 3. – P. 1258–1268.

169. Mamedov N. Adaptogenic, geriatric, stimulant and antidepressant plants of Russian Far East // *Journal of Cell and Molecular Biology.* – 2005. – N 4. – P. 71-75.

170. Morillas-Ruiz JM, Villegas Garcia JA, Lopez FJ, Vidal-Guevara ML, Zafrilla R. Effects of polyphenols antioxidants on exercise-induced oxidative stress // *Clin Nutr.* – 2006. – N 25(3). – P. 444-453.

171. Namdeo Shinde, Nagesh Aloorkar, Ajit Kulkarni, Bhaskar Bangar, Suyog Sulake, Pratik Kumbhar. Recent Advances in Granulation Techniques // *Asian J. Res. Pharm. Sci.* – 2014. – Vol. 4. – Issue 1. – P. 38-47.

172. Onakpoya I, Hung SK, Perry R, Wider B, Ernst E. The Use of Garcinia Extract (Hydroxycitric Acid) as a Weight loss Supplement: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Clinical Trials // *Journal of Obesity*. – 2011. – 2011:509038.
173. Pannossian A, Wikman G, Sarris J. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy // *Phytomedicine*. – 2010. – N 17(7). – P. 481-493.
174. Pooja, Bawa AS, Khanum F. Anti-inflammatory activity of *Rhodiola rosea*--«a second-generation adaptogen» // *Phytother Res*. – 2009. – N 23(8). – P. 1099-1102.
175. Powers, S.K., Nelson W.B., Hudson M.B. Exercise-induced stress in humans: cause and consequences // *Free Radic. Biol. Med*. – 2011. – V. 51. – N 5. – P. 942-950.
176. Pradeep H., Sam S., Ketan D., Ganesh B., Deepika R.. A review on melt granulation technique // *J Pharm Phytother*. – 2013. – N 1 (3). – P. 6-10.
177. Sahelian R. *Mind Boosters: A Guide to Natural Supplements that Enhance Your Mind, Memory, and Mood*. – St. Martin's Griffin, 2000. – 320 p.
178. Savrikar S.S., Ravishankar B. Bhaishjya Kalpanaa – The Ayurvedic Pharmaceutics – An Overview // *Afr J radit Complement Altern Med*. – 2010. – N 7 (3). – P. 174-184.
179. Shivakumar H, Javed T, Prakash T, Nagendra R, Jayakumar S, Goud A.V. Adaptogenic Activity of Ethanolic Extract of *Tribulus terrestris* L. // *Journal of Natural Remedies* 6. – 2006. – N 1. – P. 87-95.
180. Stahl S.M. *Essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical application*. – 2nd ed. – 2002. – 662 p.
181. Sunnyvale, CA., Gazdik Z., Zitka O., Petrlova J., Adam V., Zehnalek J., Horna A., Reznicek V., Beklova M., Kizek R. Determination of Vitamin C (Ascorbic Acid) Using High Performance Liquid Chromatography Coupled with Electrochemical Detection // *Sensors*. – 2008. – N 8. – P. 7097-7112.
182. Tang L, Ding X, You L, Gu W, Yu F: Bio-activesubstances from corn silk // *Wuxi Qingong Daxue Xuebao*. – 1995. – N 14. – P. 319-324.

183. United States Pharmacopeia 34th edition. [Электронный ресурс] // United States Pharmacopeia Convention. <http://www.uspnf.com/uspnf/login>.
184. US 20140275242 A1 Hot melt granulation formulations of poorly water-soluble active agents.
185. US 4489504 Steam granulation apparatus and method.
186. US 5403593 A Melt granulated compositions for preparing sustained release dosage forms.
187. US 8846088 B2 Melt granulation of a composition containing a calcium-containing compound.
188. Vipin K., Vikas A., Mahesh K., Manoj G., Pratim K. Mixing and formulation of low dose grugs: underluing problems and solutions // Thai J. Parm. Sci. – 2008. – N 32 – P. 43-58.
189. Wagner H, Norr H, Winterhoff H. Plant adaptogens // Phytomedicine. – 1994. – N 1. – P. 63– 78.
190. Winston D., Maimes S. Adaptogens: Herbs for Strength, Stamina, and Stress Relief. – Healing Arts Press, 2007.— 325 p.

Приложение 1

Акт внедрения

“УТВЕРЖДАЮ”

Проректор по учебной работе
ГБОУ ВПО Российский национальный
исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова
Министерства здравоохранения РФ


Г.В. Порядин

“29” декабря 2014 г.

А К Т

внедрения в учебный процесс ГБОУ ВПО Российский национальный
исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
результатов диссертационного исследования
Грецкого Сергея Валерьевича
на тему «Разработка и исследование комбинированного
лекарственного препарата для повышения работоспособности
на основе родиолы розовой»

Мы, нижеподписавшиеся, и.о. зав. кафедрой организации фармацевтической деятельности, канд. фарм. наук, А.В. Чаузова, доцент кафедры организации фармацевтической деятельности, к.б.н., Е.А. Мирошникова, удостоверяем факт внедрения результатов научной работы Грецкого Сергея Валерьевича в учебный процесс кафедры организации фармацевтической деятельности ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова МЗ РФ. Материалы исследования используются при чтении лекций и проведении семинаров со слушателями факультета повышения квалификации, интернами и студентами 3-4 курсов.

И.о. зав. кафедрой организации
фармацевтической деятельности



А.В. Чаузова

Доцент кафедры организации
фармацевтической деятельности



Е.А. Мирошникова



Приложение 2

Акт внедрения

«УТВЕРЖДАЮ»

проректор по учебной работе

ФГАОУ ВО Первый МГМУ

им. И.М. Сеченова Минздрава России

(Сеченовский Университет)

Т.М. Литвинова

2018 г.



АКТ

внедрения в учебный процесс

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

(Сеченовский Университет) результатов научного исследования Грецкого Сергея

Валерьевича на тему: «Разработка и исследование комбинированного лекарственного препарата для повышения работоспособности на основе родиолы розовой» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 –

Технология получения лекарств

Я, нижеподписавшаяся, доктор фармацевтических наук, профессор Бунятян Наталья Дмитриевна, заведующая кафедрой фармацевтической технологии и фармакологии Института фармации, удостоверяю факт внедрения результатов научной работы Грецкого Сергея Валерьевича на тему: «Разработка и исследование комбинированного лекарственного препарата для повышения работоспособности на основе родиолы розовой» в учебный процесс и научную деятельность кафедры фармацевтической технологии и фармакологии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

В лекции и семинары, проводимые на кафедре фармацевтической технологии и фармакологии Института фармации в рамках повышения квалификации и профессиональной переподготовки провизоров по специальности «Фармацевтическая технология», включены результаты научных исследований С.В. Грецкого по использованию модифицированных им методик получения извлечений из лекарственного растительного сырья, повышающих полноту извлечения биологически активных веществ из лекарственной формы твердые желатиновые капсулы. Материалы включены в раздел «Биофармация» дисциплины фармацевтическая технология.

Зав. кафедрой
фармацевтической технологии
и фармакологии Института фармации,
профессор



Н.Д. Бунятян

Приложение 3

Акт внедрения

УТВЕРЖДАЮ»

проректор по учебной работе
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)

Т.М. Литвинова

декабрь 2018 г.



АКТ

внедрения в учебный процесс

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

(Сеченовский Университет) результатов научного исследования Грецкого Сергея Валерьевича на тему: «Разработка и исследование комбинированного лекарственного препарата для повышения работоспособности на основе родиолы розовой» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств

Я, нижеподписавшийся, доктор фармацевтических наук, профессор Краснюк Иван Иванович, заведующий кафедрой фармацевтической технологии Института фармации, удостоверяю факт внедрения результатов научной работы Грецкого Сергея Валерьевича на тему: «Разработка и исследование комбинированного лекарственного препарата для повышения работоспособности на основе родиолы розовой» в учебный процесс и научную деятельность кафедры фармацевтической технологии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Результаты научных исследований по вопросам разработки технологии гранулирования смеси сухих экстрактов методом влагоактивизированной грануляции для улучшения технологических свойств полученных гранул используются в лекционном курсе фармацевтической технологии для студентов 3 и 4-го курса очной формы обучения кафедры фармацевтической технологии Института фармации.

Заведующий кафедрой
фармацевтической технологии
Института фармации,
профессор



ПОДПИСЬ ЗАВЕРШЕНО
Начальник отдела кадров
05.12.2018

И.И. Краснюк

Приложение 4
Лабораторный регламент

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. И.М. СЕЧЕНОВА

Для служебного пользования. Экз. N1

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научной
деятельности ГБОУ ВПО
Первый МГМУ им. И.М. Сеченова


С.Б. Шевченко
С.Б. Шевченко

ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ

на производство комплексного препарата на основе лекарственного
растительного сырья родиолы розовой в твердых желатиновых капсулах

_____ (обозначение регламента)

Срок действия регламента до "___" _____ 20__ г.

Москва, 2015г

Акт апробации технологии



ООО «ХАРМС»
191167 г. Санкт-Петербург, ул. Ал.Невского, д.9А
Тел. (812) 327 2732; тел/факс. (812) 327 0776
Электронный адрес: pfs@yandex.ru
ИНН/КПП 7815023002/784201001

« 25 » 05 2018г.

Исходящий номер: 3/

**АКТ
АПРОБАЦИИ ТЕХНОЛОГИИ**

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе Генерального директора ООО «ХАРМС» Ермакова Сергея Борисовича, директора по производству Кругликовой Ольги Михайловны, составила настоящий Акт о том, что 25 мая 2018 г. на предприятии ООО «ХАРМС» проведена апробация технологии получения комплексного препарата в виде гранулята сухих экстрактов корневищ и корней родиолы розовой, плодов шиповника и столбиков с рыльцами кукурузы в твёрдых желатиновых капсулах согласно лабораторного регламента (ЛР) на производство комплексного препарата на основе лекарственного растительного сырья родиолы розовой в твёрдых желатиновых капсулах, разработанного Грециким Сергеем Валерьевичем.

Установлено, что разработанная технология ЛР на производство комплексного препарата на основе лекарственного растительного сырья родиолы розовой в твёрдых желатиновых капсулах воспроизводима в условиях промышленного предприятия ООО «ХАРМС».

Получаемый (продукт – экстракт, капсулы и т.п.) соответствуют требованиям проекта НД.

Генеральный директор
ООО «ХАРМС»



Ермаков С.Б.

НД «Капсулы комплексного препарата Родиолы розовой, 375 мг»

СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

проект НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Капсулы комплексного препарата Родиолы розовой, 375 мг, 20 шт.

Сухой экстракт Родиолы розовой, 125 мг

Сухой экстракт Шиповника собачьего, 125 мг

Сухой экстракт кукурузы майской, 125 мг

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ

ФАСОВЩИК (ПЕРВИЧНАЯ УПАКОВКА)

ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ

УПАКОВЩИК (ВТОРИЧНАЯ / ТРЕТИЧНАЯ УПАКОВКА)

ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ

ВЫПУСКАЮЩИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ

ЗАЯВИТЕЛЬ

ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ

**ВЭЖХ/МС хроматограммы для определения витаминов в ЛРС и СЭ
столбиков с рыльцами кукурузы**

Определение витамина А в сырье и СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

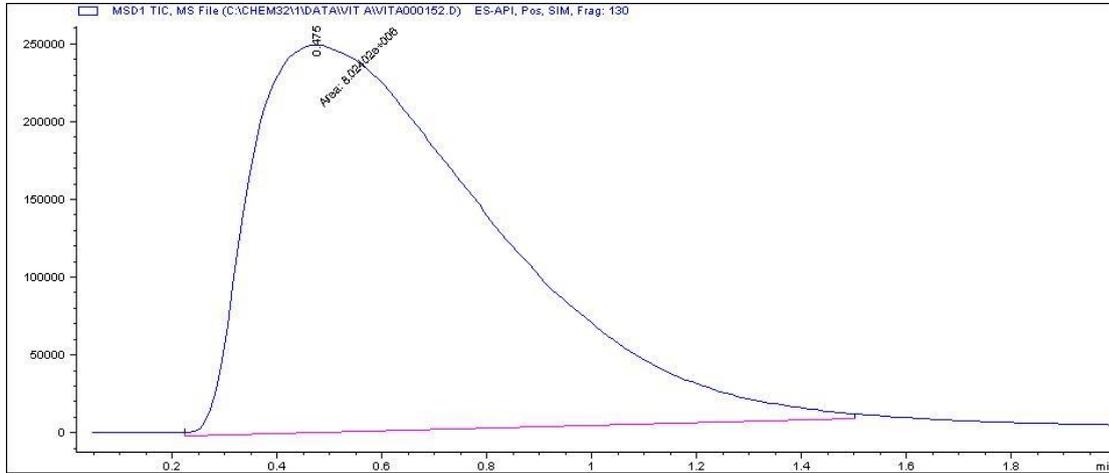


Рисунок 1 – ВЭЖХ/МС хроматограмма стандартного раствора витамина А (с=14,35 мкг/мл)

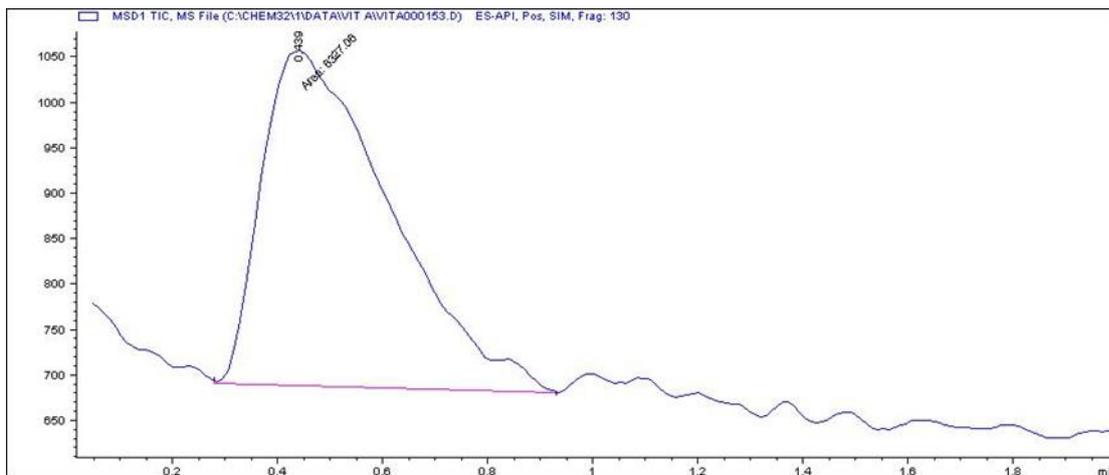


Рисунок 2 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора столбиков с рыльцами кукурузы

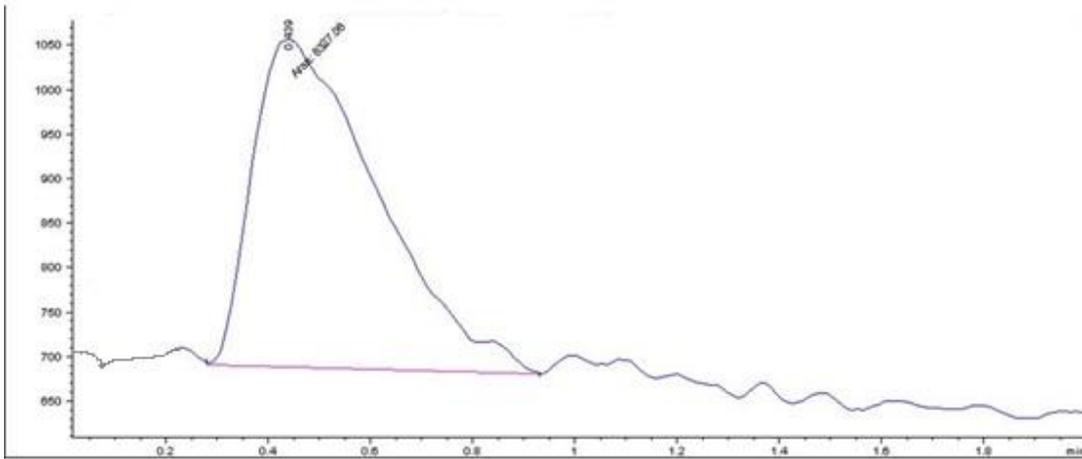


Рисунок 3 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

Определение витамина В₁ в сырье и СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

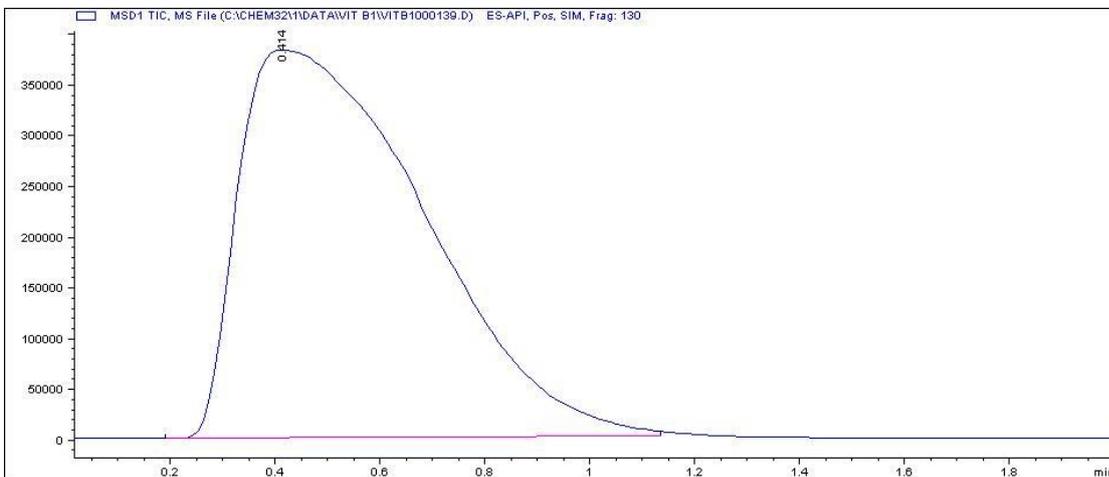


Рисунок 4 - ВЭЖХ/МС хроматограмма стандартного раствора витамина В₁ (с=11,71 мкг/мл)

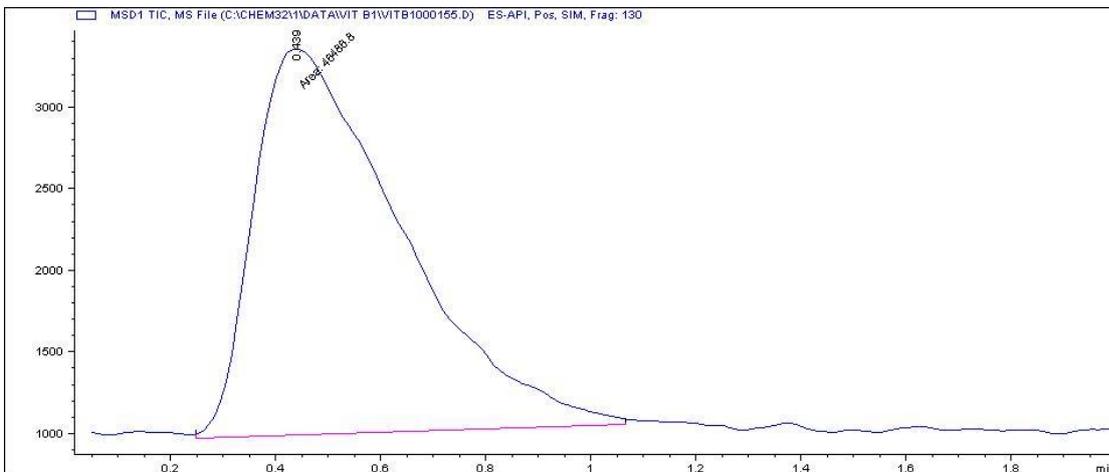


Рисунок 5 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора ЛРС столбиков с рыльцами кукурузы

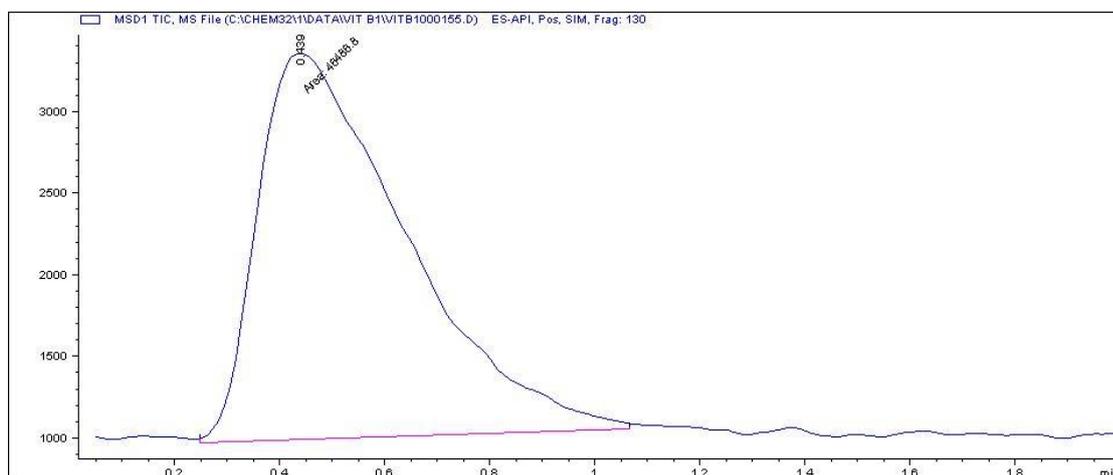


Рисунок 6 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

Определение витамина В₂ в сырье и СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

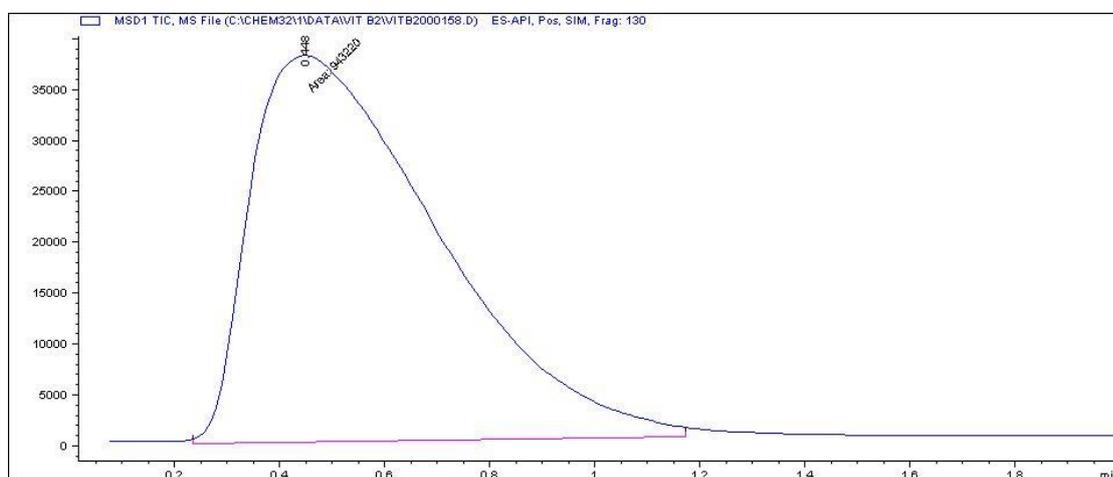


Рисунок 7 - ВЭЖХ/МС хроматограмма стандартного раствора витамина В₂ (с=10,51 мкг/мл)

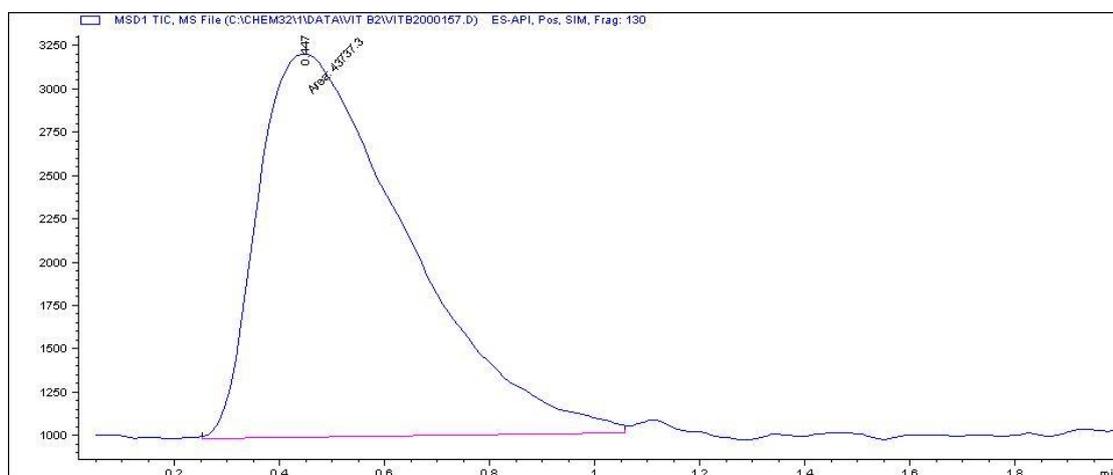


Рисунок 8 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора ЛРС столбиков с рыльцами кукурузы

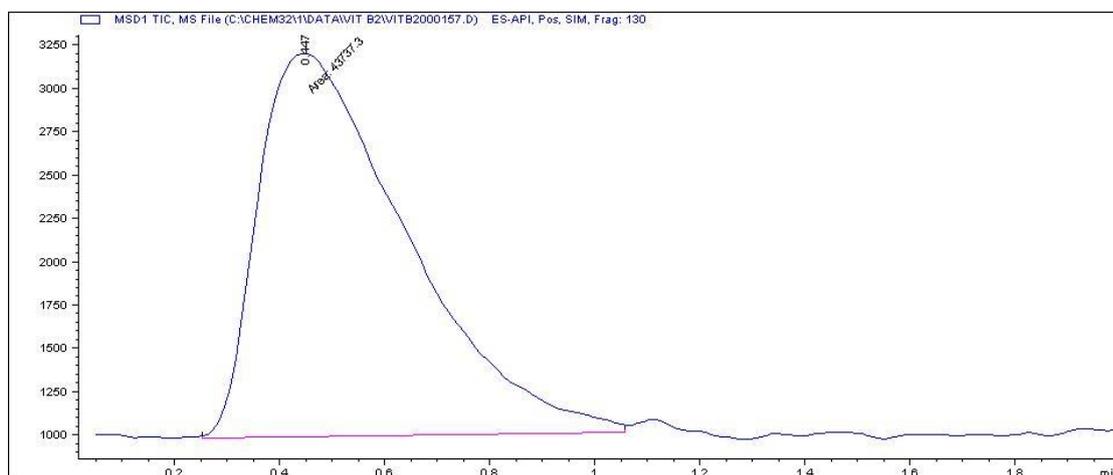


Рисунок 9 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

Определение витамина В₆ в сырье столбики с рыльцами кукурузы

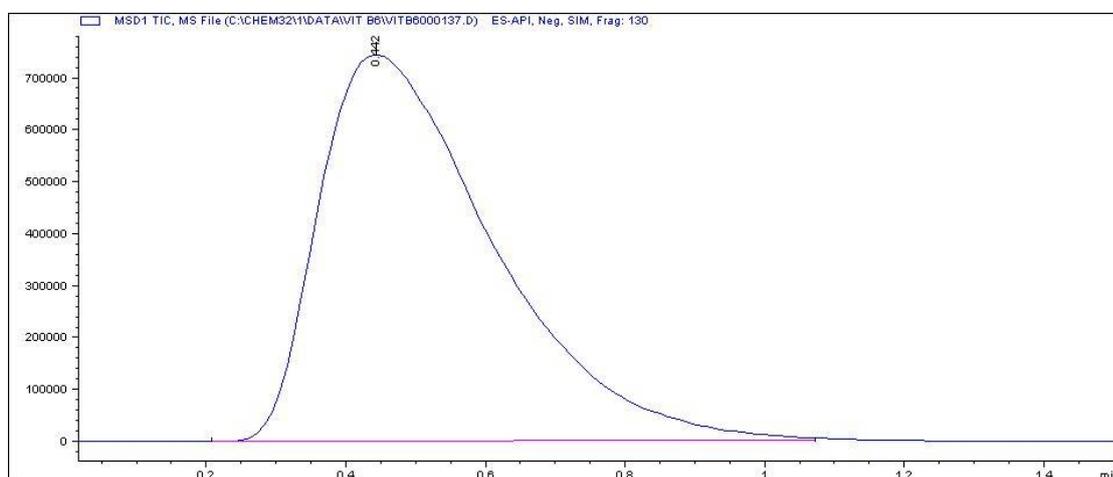


Рисунок 10 - ВЭЖХ/МС хроматограмма стандартного раствора витамина В₆ (с=17,17 мкг/мл)

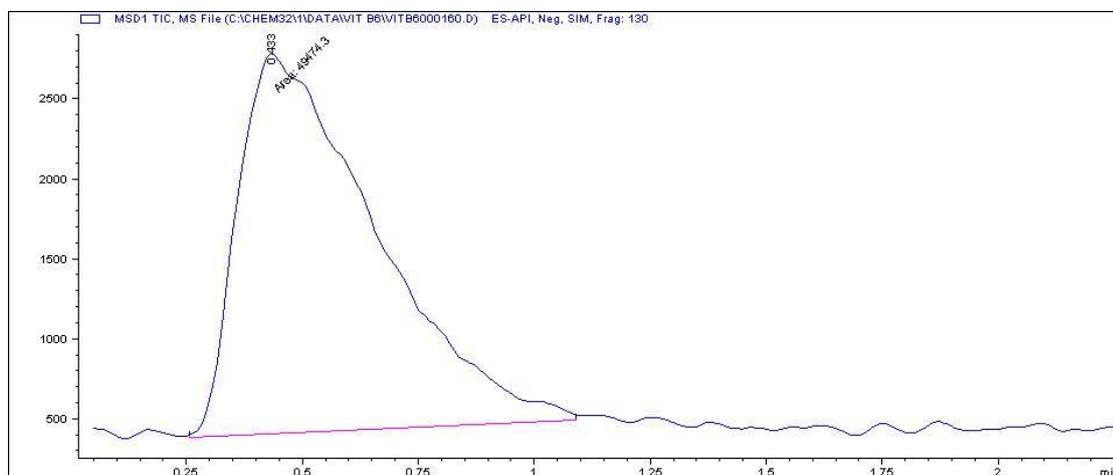


Рисунок 11 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора ЛРС столбиков с рыльцами

кукурузы

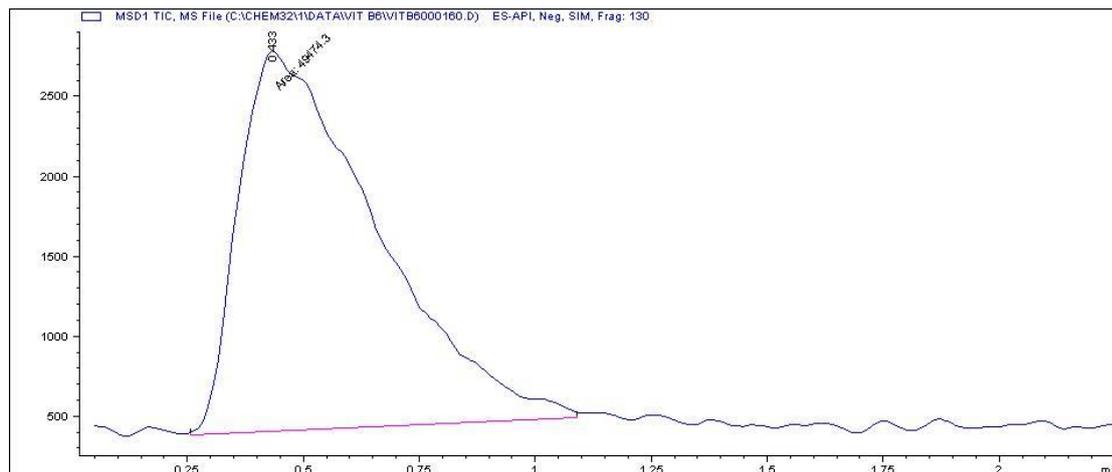


Рисунок 12 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

Определение витамина С в сырье столбики с рыльцами кукурузы

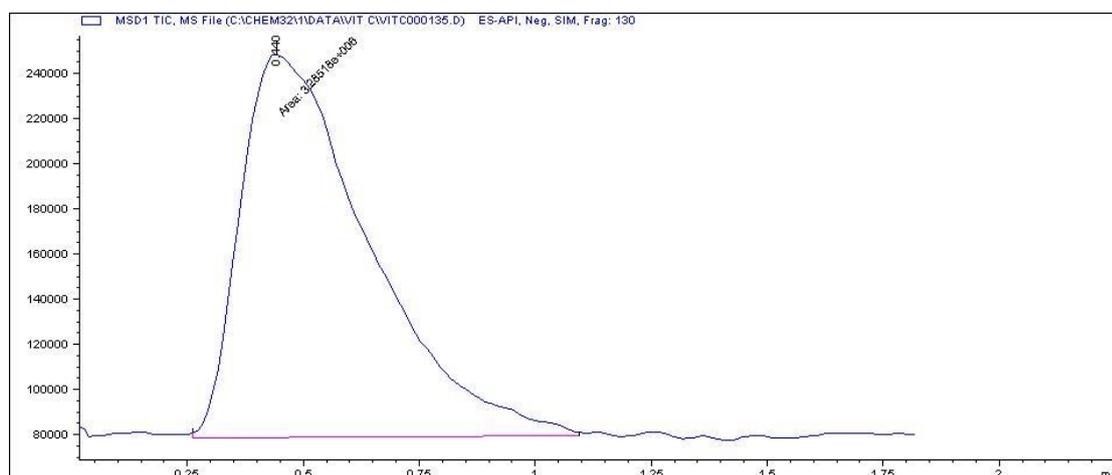


Рисунок 13 - ВЭЖХ/МС хроматограмма стандартного раствора витамина С (с=17,17 мкг/мл)

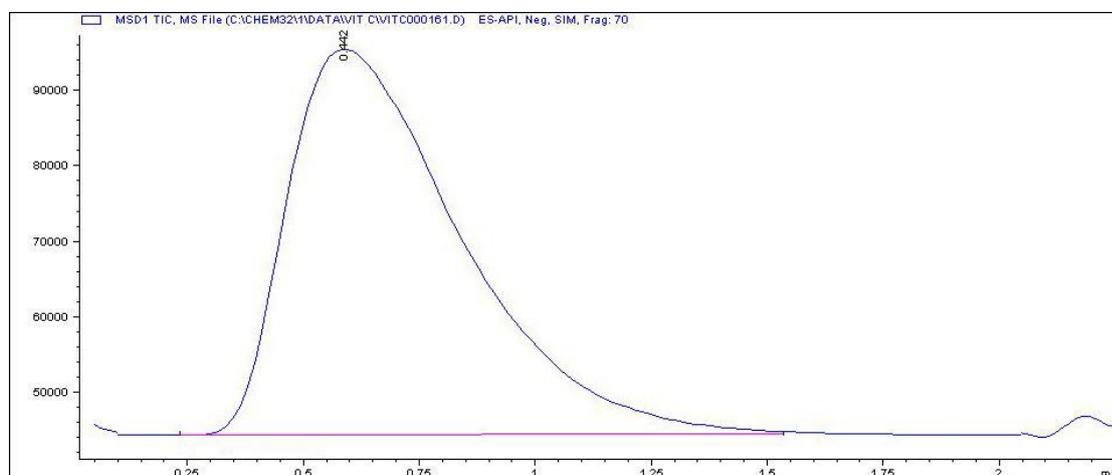


Рисунок 14 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора ЛРС столбиков с рыльцами

кукурузы

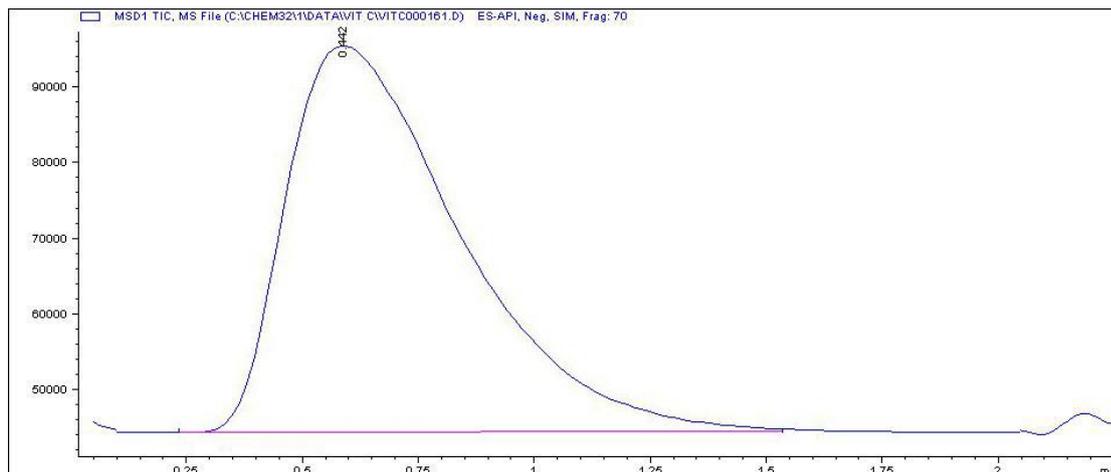


Рисунок 15 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

Определение витамина D₃ в сырье и СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

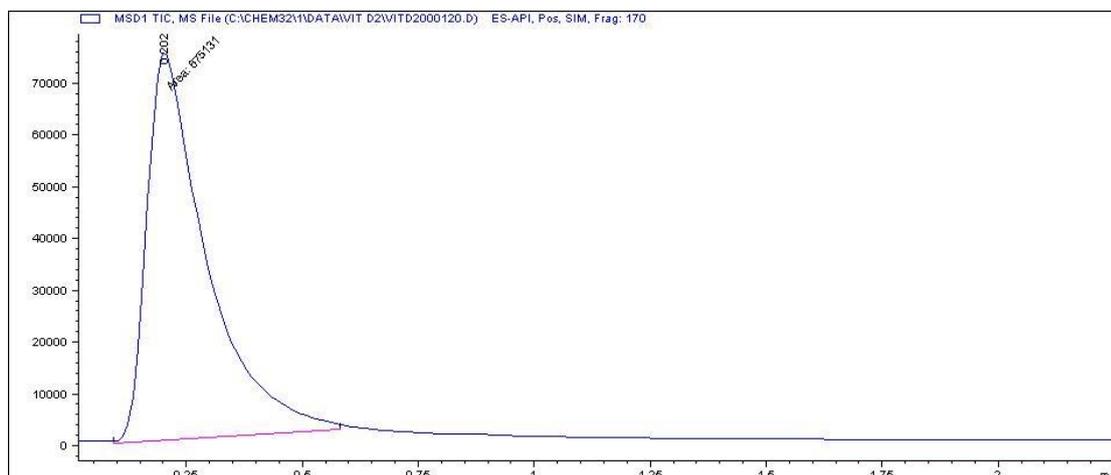


Рисунок 16 - ВЭЖХ/МС хроматограмма стандартного раствора витамина D₃ (с=14,12 мкг/мл)

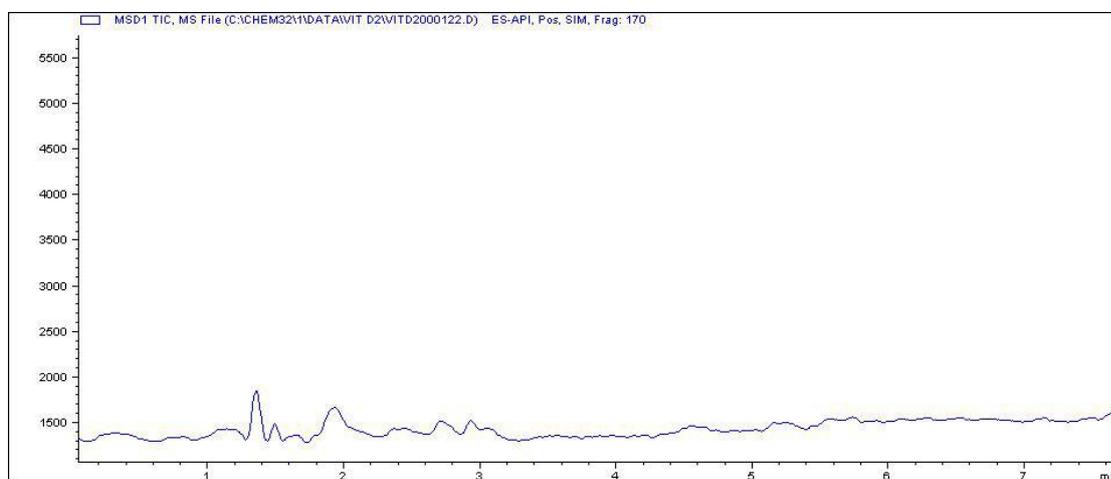


Рисунок 17 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора ЛРС столбиков с рыльцами

кукурузы

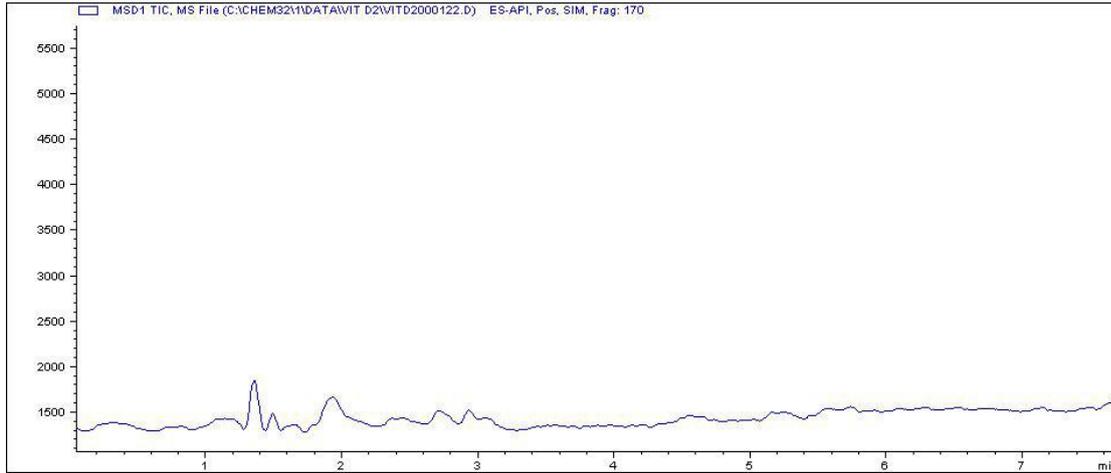


Рисунок 18 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

Определение витамина К в сырье и СЭ столбиков с рыльцами кукурузы

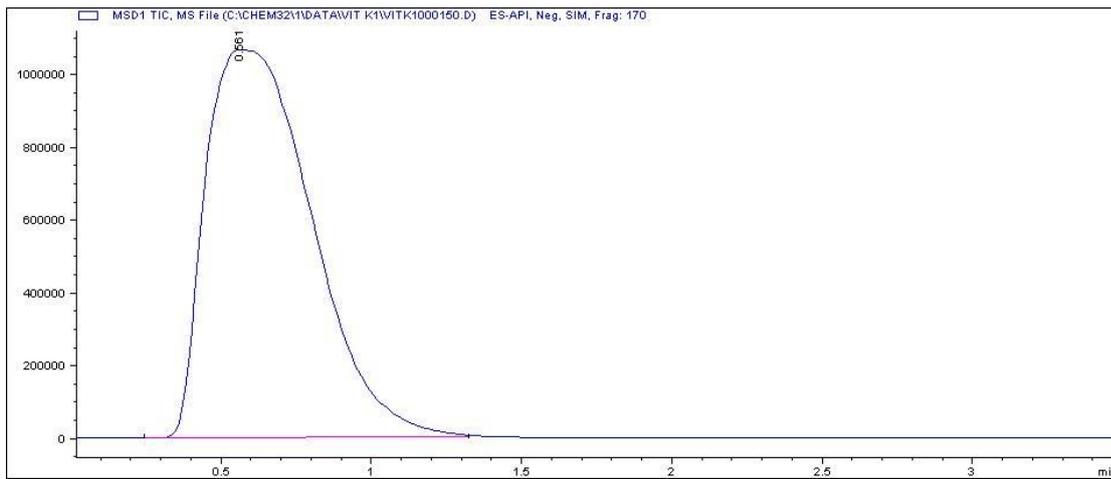


Рисунок 19 - ВЭЖХ/МС хроматограмма стандартного раствора витамина К (с=6,94 мкг/мл)

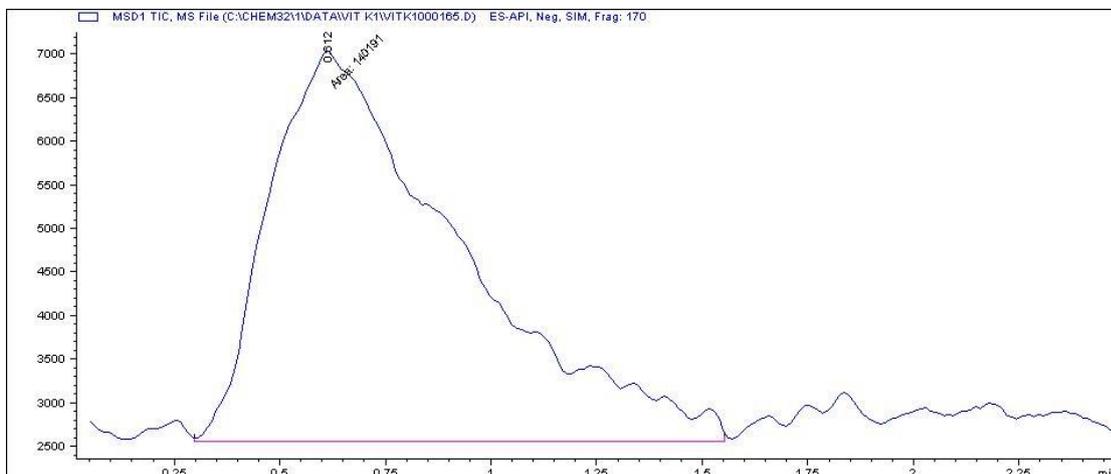


Рисунок 20 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора ЛРС столбиков с рыльцами кукурузы

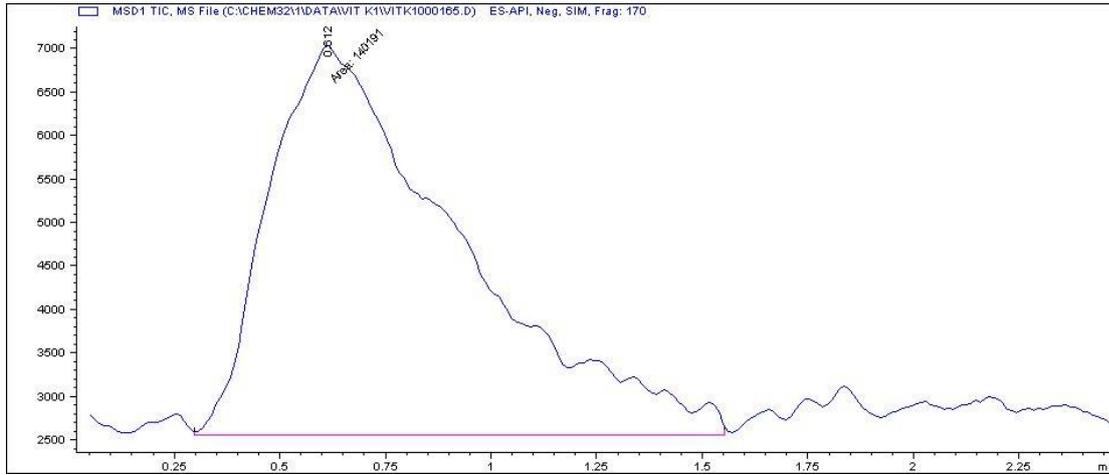


Рисунок 21 - ВЭЖХ/МС хроматограмма раствора СЭ столбиков с рыльцами кукурузы