

9  $\frac{09 - 5}{663}$

12.12.09

*На правах рукописи*



**СЕРГЕЕВ НИКОЛАЙ СЕРГЕЕВИЧ**

**РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ  
ИЗ ТРАВЫ ФИАЛКИ ПОЛЕВОЙ  
НА ОСНОВЕ МАЛООТХОДНОЙ ТЕХНОЛОГИИ**

**15.00.01 – технология лекарств и организация  
фармацевтического дела**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ НАУК**

**ПЯТИГОРСК 2009**

Диссертационная работа выполнена в Государственном образовательном  
учреждении высшего профессионального образования  
«Кубанский государственный медицинский университет  
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

**Научный руководитель: доктор фармацевтических наук, профессор**

**Сампиев Абдулмуталип Магаметович**

**Официальные оппоненты: доктор фармацевтических наук, профессор**

**Молчанов Геннадий Иванович**

**доктор фармацевтических наук**

**Хаджиева Захра Джамалеевна**

**Ведущая организация: ГОУ ВПО «Самарский государственный медицинский  
университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному  
развитию»**

Защита состоится «13» мая 2009 года в 9<sup>00</sup> часов на заседании  
Диссертационного совета Д 208.069.01 при ГОУ ВПО Пятигорской ГФА  
Росздрава (357532, Ставропольский край, Пятигорск, пр. Калинина, 11).

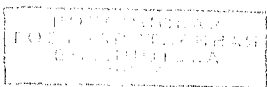
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО Пятигорской ГФА  
Росздрава.

Автореферат разослан «31» иср/09 2009 г

**Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор фармацевтических наук, профессор**



**.В. Компанцева**



## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Из нескольких тысяч растений с установленными видами фармакологической активности лишь немногим более 200 разрешены в России к медицинскому применению. В их числе десятки видов лекарственного растительного сырья до сих пор используются только в форме водных извлечений – краткосрочных по хранению и практически не оцениваемых по качеству настоев и отваров. Данный подход в отношении растительного сырья, к тому же отягощенный устаревшими технологиями переработки, не соответствует современному требованию к его рациональному использованию, в частности, через получение в условиях мало- или безотходного производства нескольких фитосредств. К числу таких лекарственных растений относятся два близких вида фиалки – трехцветная и полевая, надземная часть которых применяется пока только в форме настоя отхаркивающего действия. Область применения и качество обоих видов лекарственного растительного сырья регламентируется единой для них фармакопейной статьей (ФС), в которой основным нормируемым показателем качества сырья является содержание двух гидрофильных групп биологически активных веществ (БАВ) – полисахаридов и флавоноидов. При этом фармакогностическому и технологическому изучению фиалки полевой, по сравнению с трехцветной, уделено значительно меньше внимания со стороны исследователей. Между тем, трава фиалки полевой имеет существенную сырьевую базу, особенно на территории Северо-Кавказского региона и могла бы стать объектом малоотходной переработки с получением нескольких лекарственных средств, в частности, на базе содержащихся в ней полисахаридов и флавоноидов.

Одновременно с рассмотрением вопроса о более полной переработке в промышленных условиях травы фиалки полевой, представляется целесообразным, с учетом фармакологических свойств этого сырья, создавать, в первую очередь, отхаркивающие средства для педиатрической практики. Ассортимент этой категории лекарственных препаратов отечественного производства крайне ограничен. Трава фиалки полевой с проверенной временем

достаточно высокой степенью безопасности применения для детского организма, является вполне подходящим объектом исследования и в этом аспекте. При этом для детей наиболее предпочтительной формой перорального применения лекарственных средств считается сироп, в котором удается сбалансировать необходимые фармакокинетические и органолептические свойства.

Таким образом, представляется актуальным исследование по технологическому изучению травы фиалки полевой, получению из нее в условиях малоотходного производства эффективных, удобных для применения и стандартизованных по качеству лекарственных средств.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящего исследования являлась разработка технологии лекарственных средств, содержащих гидрофильные комплексы БАВ из травы фиалки полевой, с использованием принципа малоотходной переработки растительного сырья.

Для достижения поставленной цели предстояло решить следующие задачи:

- провести фармакогностическое изучение травы фиалки полевой, собранной на территории Северо-Кавказского и других регионов, и составить проект фармакопейной статьи предприятия (ФСП) для использования сырья в производстве из него готовых лекарственных средств по малоотходной технологии;
- обосновать целесообразность и выявить возможность получения фитоэкстракционных препаратов в условиях малоотходной переработки травы фиалки полевой;
- разработать малоотходную технологию производства жидкого спиртового экстракта из травы фиалки полевой и сухого экстракта из её шрота, содержащих в качестве основных групп гидрофильные БАВ – флавоноиды и водорастворимые полисахариды, соответственно;
- предложить показатели и нормы качества лекарственных средств, содержащих гидрофильные группы БАВ травы фиалки полевой, изучить условия и сроки их хранения;

- обосновать состав и разработать технологию пероральной жидкой лекарственной формы, с сухим экстрактом из шрота травы фиалки полевой, изучить условия и сроки ее хранения.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

– результаты фармакогностического изучения травы фиалки полевой, собранной на территориях Северо - Кавказского региона и Центрального Черноземья;

– обоснование целесообразности и возможности малоотходной переработки травы фиалки полевой;

– итоги исследований по разработке технологии жидкого экстракта травы фиалки полевой с применением метода вакуум-фильтрационного экстрагирования сырья;

– предложенная схема малоотходной переработки, предусматривающая последовательное получение жидкого спиртового экстракта травы фиалки полевой и сухого экстракта с водозэкстрагируемым комплексом БАВ из шрота;

– результаты разработки состава, технологии и норм качества сиропа отхаркивающего действия, содержащего сухой экстракт из шрота травы фиалки полевой.

**Научная новизна.** Впервые показана возможность, обоснована целесообразность и предложена малоотходная технология переработки травы фиалки полевой, предусматривающая последовательное получение из сырья двух фитопрепаратов - жидкого спиртового и сухого экстрактов.

Разработана технология жидкого спиртового экстракта травы фиалки полевой с использованием метода вакуум-фильтрационной экстракции, отличающегося высокой эффективностью и рядом преимуществ по сравнению с большинством применяемых в настоящее время способов извлечения БАВ из сырья.

Выявлена особенность экстрагирования флавоноидов из травы фиалки полевой вакуум-фильтрационным экстрагированием, заключающаяся в их максимальном переходе из сырья в два первых получаемых слива. Ориентируясь на флавоноиды как на основные спиртоэкстрагируемые БАВ травы фиалки

полевой, предложено получать жидкий экстракт с коэффициентом съема готовой продукции 1:2. Показана перспективность использования жидкого экстракта в лечении заболеваний, осложненных воспалительным процессом.

Впервые проведены исследования по разработке сухого экстракта, содержащего извлекаемый водой комплекс БАВ из шрота травы фиалки полевой. С учетом содержащихся в траве фиалки и обеспечивающих отхаркивающее действие полисахаридов, разработана оптимальная технология сухого экстракта, основанная на трехступенчатой ремацерации шрота горячей водой с последующим концентрированием и высушиванием в щадящих температурных условиях полученного извлечения. Для жидкого спиртового и сухого экстрактов осуществлено нормирование качества, определены условия и сроки их хранения. Разработан состав и предложена технология детского сиропа отхаркивающего действия, содержащего сухой экстракт из шрота травы фиалки полевой, проведена его стандартизация, установлены условия и сроки хранения.

#### **Практическая значимость результатов исследования.**

Разработанная технология жидкого экстракта (1:2) травы фиалки полевой, базирующаяся на вакуум-фильтрационном способе экстрагирования, позволяет истощить сырье на 85% по сумме всех извлекаемых 70% спиртом БАВ и на 90% - по флавоноидам. Установленное противовоспалительное действие жидкого спиртового экстракта травы фиалки полевой предполагает возможность его использования в качестве вспомогательного средства в комплексной фармакотерапии заболеваний, сопровождающихся воспалительным процессом. Предложенный жидкий экстракт позволяет расширить номенклатуру выпускаемых фармацевтическими фабриками суммарных фитопрепаратов.

Использованный в исследованиях принцип малоступенчатого производства делает возможным получение в одном технологическом цикле кроме жидкого спиртового экстракта травы фиалки полевой еще одного продукта - сухого экстракта, содержащего извлекаемый водой комплекс БАВ из остающегося шрота. Получение двух потенциальных лекарственных средств из одной

производственной загрузки сырья будет способствовать повышению уровня рентабельности переработки травы фиалки полевой.

Проведенные исследования по созданию малоотходной технологии переработки травы фиалки полевой, результаты ее фармакогностического изучения позволили разработать проект фармакопейной статьи предприятия для использования этого сырья в производстве по малоотходной технологии последовательно двух лекарственных средств – жидкого и сухого экстрактов.

Разработанный состав, технология, проведенная стандартизация сиропа, выявленное отхаркивающее действие, а так же низкая токсичность входящего в его состав сухого экстракта из шрота травы фиалки полевой, создает предпосылку для внедрения в педиатрическую практику этой пероральной лекарственной формы. Разработанный сироп будет способствовать расширению ограниченного в настоящее время ассортимента эффективных и малоопасных фитосредств отхаркивающего действия для детей.

**Степень внедрения.** По результатам исследований разработан проект ФСЦП «Фиалки полевой трава» (акт внедрения ООО «Кубаньлектравы» от 19.09.06 г.), предназначенной для использования сырья в последовательном получении жидкого и сухого экстрактов по малоотходной технологии. Методики оценки качества и предложенные технологии фитопрепаратов травы фиалки полевой апробированы в отделах контроля качества и производственных цехах ООО «Кубаньлектравы» (акт апробации от 24.11.06 г.), ЗАО «Роскарфарм» (акты апробации от 14.04.07 г. и 18.04.07 г.). Разработан и утвержден лабораторный регламент на производство сухого экстракта из шрота травы фиалки полевой на основе предложенной технологии (ГОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет Росздрава», 10.09.08 г.).

Фрагменты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс фармацевтического факультета ГОУ ВПО КГМУ Росздрава (акт внедрения от 04.09.08 г.).

**Апробация работы и публикации.** Основные положения диссертационной работы доложены на III и IV региональных научно-практических конференциях

молодых ученых и студентов юга России «Медицинская наука и здравоохранение» (Анапа, 2004 и 2006 гг.); Всеукраинской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения фармацевтической науки и практики» (Запорожье, 2006 г.); конгрессе «Человек и лекарство. Краснодар 2008» (Краснодар, 2008 г.).

По результатам исследований опубликовано 10 работ, из них 1 - в рекомендуемом ВАК издании.

**Связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГОУ ВПО КГМУ Росздрава (№ гос. регистрации 0120.0500289).

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения; обзора литературы; главы, посвященной объектам и методикам исследований; 3-х глав собственных исследований; выводов; списка литературы, включающего 168 наименований, в т.ч. 22 источника иностранных авторов. Работа изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит 34 таблицы, 12 рисунков.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Объектом исследования служила заготовленная в фазу массового цветения в 2004-2006 гг. на территории Курской области, Краснодарского края и Ставрополья трава фиалки полевой.

### **Разработка технологии и нормирование качества жидкого экстракта травы фиалки полевой**

Результаты исследования последних лет в отношении травы фиалки позволили разработать новую фармакопейную статью на это сырье (ФС 42-0142-05). Для использования травы фиалки полевой как источника готовых лекарственных средств, производимых серийно по малоотходной технологии, требовалось разработать соответствующую фармакопейную статью предприятия (ФСП). Учитывая богатую сырьевую базу фиалки полевой на территории Северного Кавказа, а также наличие в Краснодарском крае и на Ставрополье



большого числа заготавливающих и перерабатывающих растительное сырье предприятий, представлялось целесообразным использовать в исследованиях сырье данных регионов произрастания. Наряду с этим, вызывали интерес сравнительные фармакогностические исследования сырья, заготовленного в Курской области, поскольку при разработке ФС 42-0142-05 в основном использовалась собранная в этом регионе Центрального Черноземья трава фиалки полевой.

В анализируемых образцах травы фиалки были определены основные числовые показатели, предусмотренные ФС для этого растительного сырья (Таблица 1).

**Таблица 1 - Результаты определения основных числовых показателей для травы фиалки полевой, собранной на территории Курской области, Краснодарского и Ставропольского краев**

Показатель	Норма по ФС	Регион заготовки сырья		
		Курская область	Краснодарский край	Ставропольский край
Сумма флавоноидов, не менее (%)	1	от 1,32 ± 0,04 до 2,21 ± 0,09	от 3,17 ± 0,09 до 4,10 ± 0,12	от 2,28 ± 0,07 до 3,39 ± 0,10
Сумма полисахаридов, не менее (%)	8	от 9,12 ± 0,14 до 10,80 ± 0,16	от 9,41 ± 0,14 до 14,31 ± 0,15	от 8,74 ± 0,44 до 9,72 ± 0,49
Экстрактивные вещества, извлекаемые водой, не менее (%)	30	от 53,20 ± 2,63 до 57,80 ± 2,78	от 60,20 ± 2,89 до 63,40 ± 3,20	от 51,70 ± 2,53 до 54,90 ± 2,70
Влажность, не более (%)	14	от 8,42 ± 0,02 до 8,51 ± 0,02	от 7,34 ± 0,02 до 8,56 ± 0,03	от 9,58 ± 0,03 до 9,61 ± 0,02
Зола общая, не более (%)	13	от 7,40 ± 0,01 до 8,31 ± 0,02	от 7,52 ± 0,03 до 8,79 ± 0,02	от 7,11 ± 0,01 до 8,21 ± 0,02
Зола, нерастворимая в 10% кислоте хлористоводородной, не более (%)	3	от 1,33 ± 0,01 до 1,53 ± 0,01	от 1,46 ± 0,01 до 1,64 ± 0,01	от 1,39 ± 0,02 до 1,72 ± 0,02
Органической примеси не более	3	от 1,04 ± 0,02 до 1,21 ± 0,03	от 1,10 ± 0,02 до 1,17 ± 0,02	от 1,12 ± 0,02 до 1,13 ± 0,02
Минеральные примеси, не более (%)	1	от 0,10 до 0,20	от 0,10 до 0,20	от 0,10 до 0,30

Приведенные в таблице 1 данные показали, что по числовым показателям все исследованные образцы травы фиалки полевой соответствуют требованиям действующей ФС. Полученные значения числовых показателей и проведенные анатомо – морфологические исследования позволили составить проект ФСП для возможного получения из травы фиалки полевой готовых лекарственных средств по малоотходной технологии переработки. Кроме того,

фармакогностический анализ был необходим для характеристики исходного сырья как объекта последующих технологических разработок.

Дальнейший этап исследования состоял в определении целесообразности получения экстракционных препаратов из травы фиалки полевой в условиях малоотходной схемы переработки сырья, в т.ч. по их технологическому выходу. С этой целью устанавливали значения показателя «экстрактивные вещества» как ориентира на максимально возможное количество потенциально получаемого фитоэкстракционного продукта. Поскольку к основным группам действующих веществ травы фиалки полевой отнесены флавоноиды и полисахариды, представлялось оправданным рассмотреть возможность получения двух экстракционных препаратов: одного – с содержанием флавоноидов, другого – полисахаридов. В этой связи, в качестве экстрагентов в тесте «экстрактивные вещества» использовались 70% спирт этиловый и вода очищенная. В последнем случае в эксперименте применялось как исходное сырье, так и остающееся после обработки 70% спиртом. Результаты исследования приведены в таблице 2.

**Таблица 2 - Содержание экстрактивных и действующих веществ в траве фиалки полевой**

Серия*	Содержание в сырье в %				
	экстрактивных веществ, извлекаемых			флавоноидов	полисахаридов
	водой очищенной	спиртом этиловым 70%	водой очищенной после экстракции 70% спиртом		
1	51,70±2,52	22,74±1,09	21,31±1,04	2,28±0,08	8,74±0,44
2	63,40±3,19	37,29±1,75	34,21±1,64	4,10±0,12	14,31±0,65

\*- приведены средние результаты 6 определений для исследуемых образцов сырья с минимальным (1) и максимальным (2) содержанием «экстрактивных веществ» в сырье

Полученные результаты показывают, что существенно значимым оказалось содержание в траве фиалки полевой суммы извлекаемых 70% спиртом веществ, которое колебалось от 22,74 до 37,29%. Также было определено, что значительная часть гидрофильных соединений (21,31-34,21%) не переходит в спиртовое извлечение, оставаясь в шроте. Эти данные свидетельствовали о том, что из травы фиалки полевой можно с достаточно высоким выходом получать последовательно как спиртовой, так и водный экстракт. В этой связи,

представлялось оправданным и возможным последовательное получение в рамках малоотходной переработки травы фиалки полевой двух лекарственных средств с содержанием, соответственно, флавоноидов и полисахаридов.

В качестве конечного продукта с содержанием спиртоэкстрагируемой суммы веществ, в т.ч. флавоноидов, был выбран жидкий экстракт, исходя из его предпочтительности в ряду суммарных фитопрепаратов и с учетом технологических возможностей отечественных производителей данной категории лекарственных средств.

Для обеспечения высокой эффективности экстрагирования травы фиалки полевой использовался метод вакуум – фильтрационного экстрагирования (ВФЭ) сырья, преимущества которого по сравнению с широкоприменяемым реперколяционным способом были показаны рядом научных работ. Одной из особенностей ВФЭ является применение тонкоизмельченного сырья, прошедшего специальную подготовку. Она заключается в двух-трехкратном вальцевании растительного сырья, сочетающего принцип одновременного раздавливания и истирания. В ходе такой подготовки значительно увеличивается удельная поверхность растительного материала, наблюдается разрушение многих клеточных стенок, что в совокупности обеспечивает ускорение процесса экстракции и полноту извлечения из сырья БАВ.

Для вальцованной измельченной травы фиалки полевой были достигнуты необходимые для ВФЭ технологические свойства: значительная удельная поверхность материала (1147,61 см<sup>2</sup>/г), высокая сыпучесть сырья (2,9 г/сек), низкий показатель порозности (0,201).

На следующем этапе исследования уточнялась оптимальная концентрация этанола в водно-спиртовой смеси для максимального извлечения флавоноидов из травы фиалки полевой. В таблице 3 приведены данные о содержании суммы флавоноидов в извлечениях, полученных отличающимися по концентрации спиртоводными смесями.

**Таблица 3 - Влияние концентрации этанола в водно-спиртовой смеси на содержание флавоноидов в получаемом извлечении 1:1 из травы фиалки полевой**

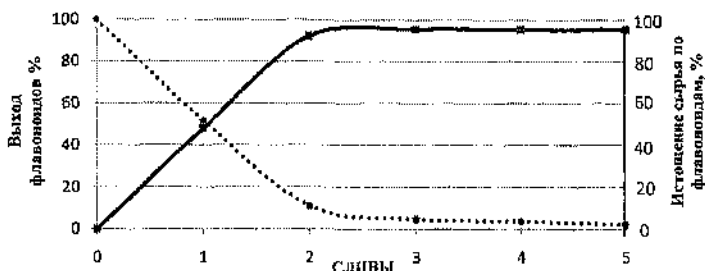
Концентрация спирта этилового в экстрагенте, %	Содержание суммы флавоноидов (в пересчете на рутин), %
30	0,73±0,02
50	0,87±0,03
70	1,25±0,04
95	1,21±0,04

Примечание: приведены средние результаты 6 определений

Оказалось, что наилучшей экстракционной способностью по отношению к флавоноидам обладает 70% спирт этиловый.

Для изучения процесса экстракции флавоноидов и определения технологически приемлемого максимального их перехода из травы фиалки полевой в получаемый экстракт, изучали динамику извлечения этой группы БАВ. С этой целью 100 г сырья загружали в экстрактор с ложным дном и через слой тонкоизмельченного растительного материала пропускали («фильтровали») 70% спирт, собирая в отдельности 5 сливов по 100 мл (1:1). Динамика экстракционного процесса по флавоноидам представлена на рисунке 1.

Анализ данных исследования динамики экстрагирования флавоноидов травы фиалки методом ВФЭ свидетельствовал о том, что достаточно эффективное истощение (на уровне 90%) сырья по этим БАВ достигалось двумя объемами экстрагента (без учета коэффициента спиртопоглощения сырья). Технология жидкого экстракта оказалась нерациональной при использовании одного слива ввиду существенного остаточного количества флавоноидов в сырье. Получение же более чем двух сливов приводило к неоправданному снижению концентрации веществ («разбавлению» экстракта) и излишнему расходованию спирта. Таким образом, был сделан вывод о том, что оптимальным является получение жидкого спиртового экстракта травы фиалки с коэффициентом съема готовой продукции 1:2.



**Рисунок 1 - Динамика процесса извлечения суммы флавоноидов из травы фиалки вакуум - фильтрационным методом**

Стандартизацию жидкого экстракта травы фиалки полевой проводили на пяти его сериях, полученных из сырья с низким содержанием флавоноидов - 1,32%, влажностью - 8,42%. Содержание этилового спирта в жидком экстракте варьировало от 62,70 до 65,30 %, а флавоноидов – от 0,52 до 0,57 %.

На основании полученных результатов были предложены показатели и нормы качества жидкого экстракта фиалки, приведенные в таблице 4.

**Таблица 4 - Показатели и нормы качества жидкого экстракта травы фиалки полевой**

Показатели	Нормы
Описание	Прозрачная жидкость темно-зеленого цвета со своеобразным запахом. При хранении возможно выпадение осадка.
Подлинность	Образование зеленовато-желтого окрашивания при добавлении раствора алюминия хлорида (флавоноиды). В УФ-свете на хроматограмме (ТСХ) должны быть видны пять основных зон: одна на уровне зоны ГСО рутина, остальные - с Rs около 0,28, Rs около 0,72, Rs около 1,26, Rs около 1,38, имеющие темную флуоресценцию.
Тяжелые металлы	Не более 0,01 %
Содержание флавоноидов	Не менее 0,5 %
Содержание этилового спирта, %	Не менее 62 %
Микробиологическая чистота	Категория 3 В; общее число аэробных бактерий не более $1 \times 10^4$ в 1 мл, общее число грибов и энтеробактерий – не более $10^2$ в 1 мл, отсутствие Esherichia coli и Staphylococcus aureus в 1 мл, отсутствие Salmonella в 10 мл

Срок годности полученного жидкого экстракта устанавливали на образцах пяти серий, заложенных на естественное хранение в сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25°C во флаконах из светозащитного

стекла вместимостью 25 мл. В образцах каждые полгода определяли внешний вид, подлинность, содержание спирта и флавоноидов. Результаты исследования дали основание рекомендовать срок хранения для жидкого экстракта травы фиалки полевой 2 года.

Проведенные предварительные исследования на моделях экссудативного отека, пролиферации и проницаемости капилляров показали наличие у жидкого экстракта умеренно выраженного противовоспалительного действия.

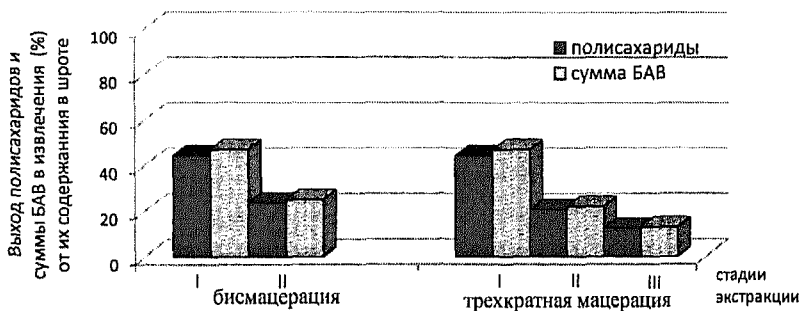
#### **Разработка технологии и нормирование качества сухого экстракта из шрота травы фиалки полевой**

Следующим этапом исследования была разработка технологии сухого экстракта на базе водозэкстрагируемого комплекса БАВ, остающегося в шроте травы фиалки полевой после получения жидкого экстракта и рекуперации спирта. При этом учитывалось богатое содержание в шроте полисахаридов, являющихся, наряду с флавоноидами, второй основной группой БАВ травы фиалки полевой. Таким образом, исходили из того, что технология и нормирование качества разрабатываемого сухого экстракта должны быть ориентированы на полисахариды травы фиалки.

На основании этого представлялось необходимым осуществить выбор способа и режима экстракции, обеспечивающих максимальное извлечение полисахаридов и других ценных водозэкстрагируемых БАВ в технологии сухого экстракта из шрота травы фиалки полевой. При этом принимали во внимание то, что полисахариды из растительного сырья лучше всего экстрагируются горячей водой (90<sup>0</sup>С). Учитывая свойства горячей воды как экстрагента и полисахаридов как высокомолекулярных соединений, наиболее подходящим способом получения водозэкстрагируемого комплекса БАВ являлась ремацерация. При определении числа стадий экстракции учитывали то, что реализация процесса более чем тремя ступенями не приводит к существенному увеличению выхода полисахаридов из шрота и, кроме того, требует значительных энергетических затрат при удалении использованного экстрагента из извлечения. По этим причинам ограничивали и общий объем получаемого извлечения – 1:10. В этой

связи, осуществляли сравнительную оценку бисмацерации и трехступенчатой экстракции как способов получения извлечений из шрота травы фиалки полевой, максимально содержащих полисахариды. В обоих случаях на первой ступени экстракции использовали пятикратный по отношению к массе шрота травы фиалки объем нагретой до 90<sup>0</sup>С воды очищенной. На второй стадии экстракции для бисмацерации применялось то же соотношение, а для второй и третьей стадии другого сравниваемого способа – соотношение 1:3 и 1:2 соответственно. Время контакта фаз на любой ступени экстракции составляло 60 минут.

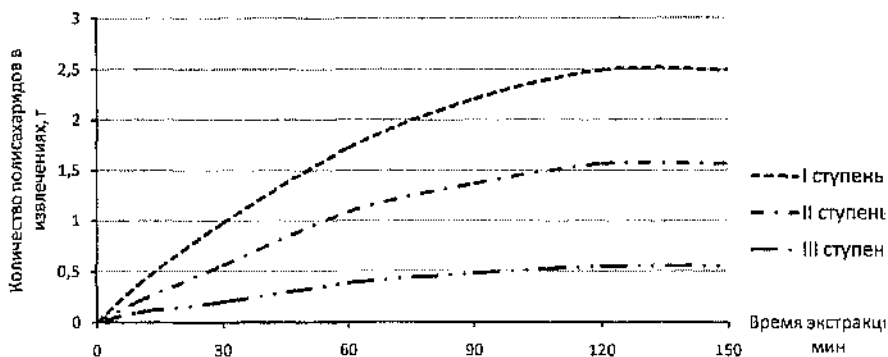
Оценку эффективности рассматриваемых вариантов ремацерации осуществляли по переходу полисахаридов и всей суммы водозэкстрагируемых веществ (в %) из шрота в получаемые извлечения. Результаты исследования приведены на рисунке 2.



**Рисунок 2 - Эффективность извлечения водозэкстрагируемых полисахаридов и суммы БАВ из шрота травы фиалки полевой при использовании двух- и трехкратной ремацерации**

Как видно из представленных диаграмм, при равном общем объеме получаемого водного извлечения (1:10), по эффективности экстрагирования полисахаридов и суммы БАВ предпочтительной выглядит трехкратная ремацерация.

Для установления времени экстракции на каждой ступени трехкратной ремацерации определяли концентрацию «насыщения» (равновесное состояние) по количеству полисахаридов в извлечениях. Результаты исследования представлены на рисунке 3.



**Рисунок 3 – Динамика извлечения полисахаридов из шрота травы фиалки по каждой ступени ремацерации в зависимости от времени экстракции**

Полученные результаты свидетельствовали о том, что равновесное состояние наступало в течение 2-х часов на любой из трех стадий ремацерации.

Таким образом, оптимальным способом получения комплекса БАВ в технологии сухого экстракта оказалась трехступенчатая ремацерация шрота травы фиалки горячей водой с соотношением сырье : экстрагент по ступеням экстракции 1:5; 1:3; 1:2 и продолжительностью 2 часа на каждой стадии. Достигаемая при этом эффективность экстракционного процесса составляла около 90% (по переходу полисахаридов из сырья в извлечение).

В результате проведенного исследования была разработана технология сухого экстракта, содержащего полисахариды и другие водозкстрагируемые БАВ травы фиалки полевой, суть которой заключалась в следующем. В экстрактор, представляющий собой емкостный аппарат с мешалкой и паровой рубашкой, загружают шрот, затем дозируют с помощью мерника воду и проводят трехступенчатую ремацерацию при температуре 90°C и времени контакта фаз 2 часа на каждой стадии. Полученные водные извлечения объединяют, подвергают очистке, концентрируют и высушивают. Высушенный водный экстракт измельчают, просеивают, фасуют, упаковывают и маркируют.

Совокупность результатов проведенных исследований по рациональному получению сухого экстракта послужили основанием для разработки схемы



малоотходной переработки травы фиалки полевой (рисунок 4).

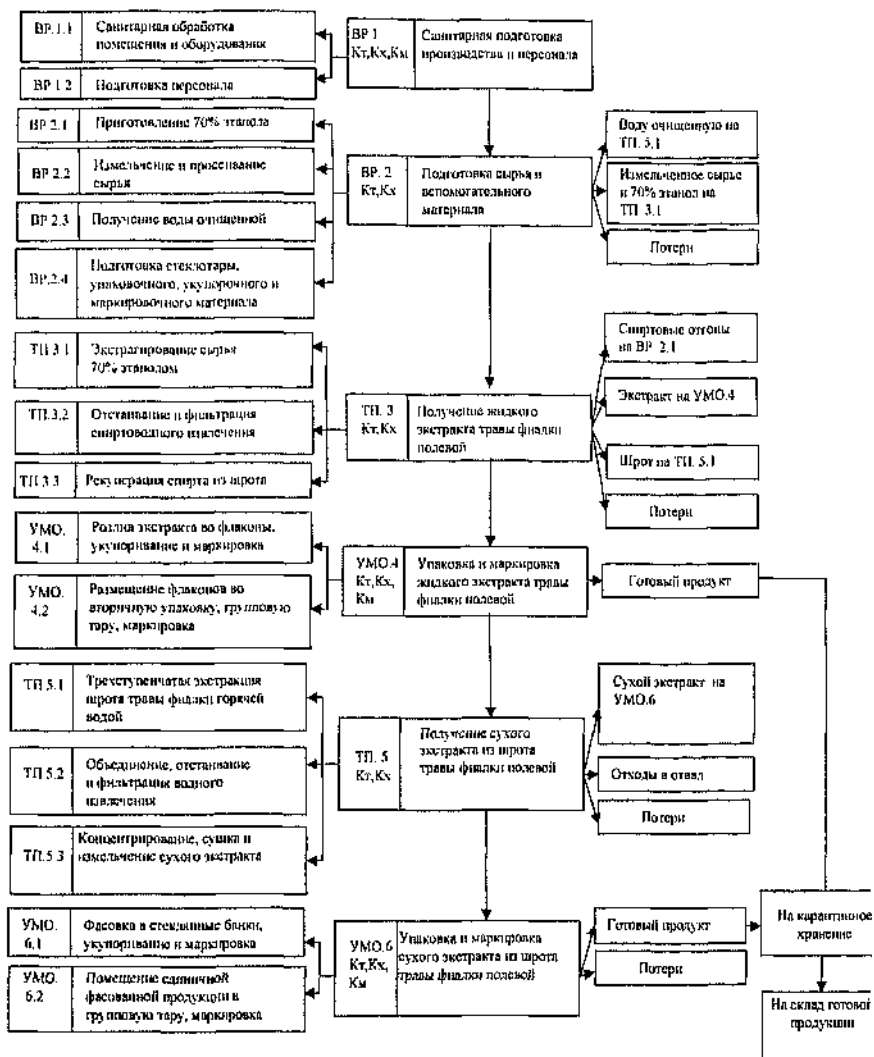


Рисунок 4 – Схема малоотходной переработки травы фиалки полевой

С целью нормирования качества сухого экстракта из широта травы фиалки полевой в рамках предложенной малоотходной схемы ее переработки было наработано и проанализировано шесть серий этого продукта по

предусмотренным ОСТ 91500.05.001-00 показателям. Анализ полученных в итоге этого исследования данных позволил предложить показатели качества для сухого экстракта из шрота травы фиалки полевой (таблица 5).

**Таблица 5 - Показатели и нормы качества сухого экстракта из шрота травы фиалки полевой**

Наименование показателя	Характеристика и норма
Описание	Аморфный, гигроскопичный порошок светло-коричневого цвета со специфическим запахом, сладковатым вкусом.
Подлинность	Образование осадка при добавлении 96% этилового спирта к водном раствору сухого экстракта травы фиалки полевой (полисахариды).
Потеря в массе при высушивании	Не более 5,0%
Содержание полисахаридов	Не менее 45 %
Микробиологическая чистота	Категория ЗБ

#### **Разработка состава и технологии лекарственной формы, содержащей сухой экстракт из шрота травы фиалки полевой**

На заключительном этапе исследований разрабатывали детскую лекарственную форму с сухим экстрактом из шрота травы фиалки отхаркивающего действия. Была всесторонне обоснована предпочтительность создания детского сиропа. Решение поставленной задачи начинали с разработки состава сиропа и, в первую очередь, определения необходимого содержания в нем сухого экстракта из шрота травы фиалки. Расчет дозировки сухого экстракта проводили исходя из рекомендуемого для детей количества и концентрации настоя (по полисахаридам) травы фиалки полевой. При этом учитывали, что объем сиропа на один прием должен составлять одну чайную ложку (5 мл). Было установлено, что при этой дозировке необходимо включить в состав сиропа около 3% сухого экстракта.

Однако создать такую концентрацию сухого экстракта в данной лекарственной форме оказалось технологически сложным из-за возникающей при его растворении высокой вязкости. В этой связи, концентрацию основного компонента в сиропе определили в 1,5%, а дозировку лекарственной формы рекомендовали по десертной ложке (10мл) на один прием 2-3 раза в сутки. В качестве компонентов для основы сиропа рассматривались растворы сахарозы, фруктозы, сорбита и их комбинации.

Поскольку сам экстракт фиалки придавал при растворении сиропу приятную окраску и слабый травяной запах, не было необходимости в выборе и добавлении корригента цвета и запаха в разрабатываемый сироп.

Важным моментом для детских лекарственных форм является их микробиологическая чистота. Результаты определения микробиологической чистоты показали, что свежеприготовленные сиропы с различным составом использованных вспомогательных веществ укладывались в нормы микробиологической чистоты категории 3б (не более 500 аэробных бактерий и 50 дрожжевых и плесневых грибов в 1 г.), однако в процессе их хранения наблюдался рост микробной флоры. Учитывая данный факт, в состав сиропов вводили консервант - сорбиновую кислоту, как наиболее приемлемую по безопасности для детских лекарственных форм.

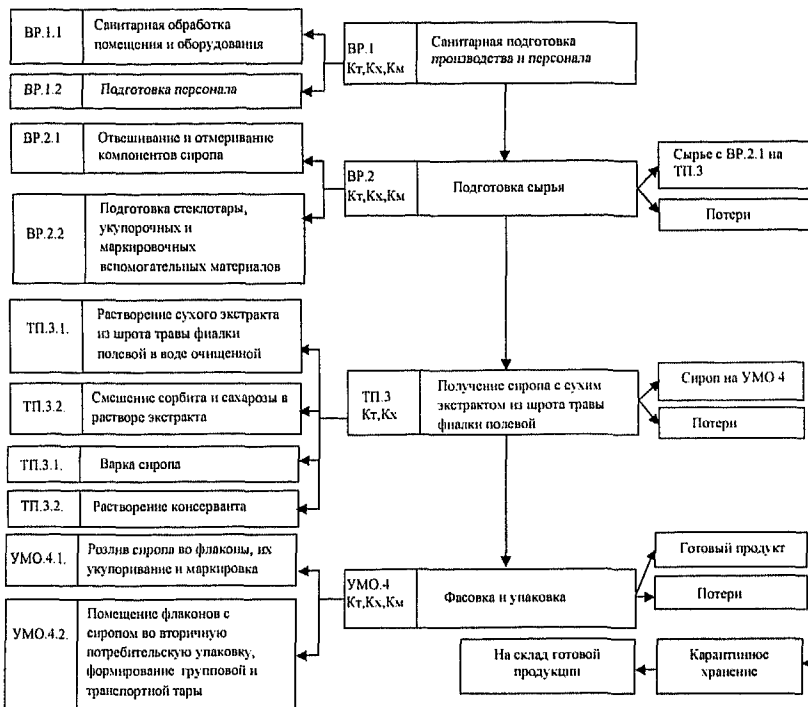
В результате сравнительной оценки модельных сиропов по таким критериям как внешний вид, выкристаллизация, вязкость, значения плотности и pH был выявлен оптимальный состав лекарственной формы (в г):

Сухого экстракта из шрота травы фиалки	1,5
Сорбита	40,0
Сахарозы	20,0
Сорбиновой кислоты	0,2
Воды очищенной	до 100,0

Итоги исследований по разработке состава и технологии сиропа с сухим экстрактом из шрота травы фиалки полевой позволили предложить схему его получения (рисунок 5).

По предложенной технологии было наработано 5 серий сиропа фиалки с целью нормирования качества по предусмотренным ОСТ 91500.05.001-00 для этой лекарственной формы показателям. В частности регламентировано минимальное содержание полисахаридов в сиропе – 0,65 % (Таблица 6).

Предварительное фармакологическое изучение сиропа с сухим экстрактом травы фиалки полевой выявило у него отхаркивающее действие, сравнимое с эффектом отвара корня алтея и мукалтином.



**Рисунок 5 - Технологическая схема производства сиропа с сухим экстрактом из шрота травы фиалки полевой**

**Таблица 6 – Показатели и нормы качества сиропа с сухим экстрактом из шрота травы фиалки полевой**

Наименование показателя	Норма качества
Внешний вид	вязкая прозрачная жидкость коричневатого цвета
Запах	слабый карамельно - травяной
Вкус	сладкий вкус
Плотность	1,250 – 1,310
Микробиологическая чистота	Категория 3 Б. общее количество бактерий не должно превышать содержания в 1 г более 500 аэробных бактерий и 50 дрожжевых и плесневых грибов при отсутствии бактерий семейств <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Номинальный объем	100± 3%
Количественное определение (полисахариды)	не менее 0,65 %
pH	5,5 – 5,6

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведено фармакогностическое исследование травы фиалки полевой различных регионов произрастания и разработан проект фармакопейной статьи предприятия для использования сырья в производстве готовых лекарственных средств.  
Выявлена возможность последовательного получения из травы фиалки полевой по малоотходной технологии переработки двух фитоэкстракционных препаратов на базе содержащихся в сырье спирто- и водоизвлекаемых веществ.
2. Обоснована целесообразность получения из травы фиалки полевой жидкого спиртового экстракта, содержащего сумму флавоноидов – одну из основных групп биологически активных веществ сырья. Разработана технология жидкого экстракта, предусматривающая использование оптимального для извлечения флавоноидов из сырья экстрагента – 70% спирта этилового и способа экстрагирования – вакуум-фильтрационного.
3. Выявлена особенность вакуум-фильтрационного экстрагирования флавоноидов из травы фиалки полевой, заключающаяся в их максимальном (до 90%) переходе из сырья в два первые получаемые сливы, что послужило основанием рекомендовать производство жидкого спиртового экстракта с коэффициентом съема готовой продукции 1:2.
4. Разработана технология сухого экстракта из шрота травы фиалки полевой, остающегося после получения жидкого спиртового экстракта. Показано, что полнота экстракции полисахаридов достигается путем трехкратной ремацерации горячей водой (90°C) в соотношении сырье : экстрагент 1:5, 1:3, 1:2 и временем контакта фаз на каждой стадии в 2 часа.
5. Предложена малоотходная схема переработки травы фиалки полевой, предусматривающая последовательное получение в одном производственном цикле жидкого спиртового и сухого водного экстрактов. Проведено нормирование качества двух получаемых экстрактов, в т.ч. по содержанию действующих веществ – флавоноидов (не менее 0,5%) и полисахаридов (не

менее 45%) соответственно, а так же установлен срок их хранения, который для обоих суммарных фитопрепаратов составил 2 года.

6. Разработан состав и предложена технология детского сиропа, содержащего 1,5% сухого экстракта из шрота травы фиалки полевой в сорбито-сахарозной основе, проведена его стандартизация, установлены условия и сроки хранения (18 месяцев). Показано, что сироп обладает отхаркивающим действием, сравнимым с мукалтином и отваром корня алтея.

### **СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Возможность разработки гидрофильных фитокомплексов из травы фиалки полевой на основе малоотходной технологии // Медицинская наука и здравоохранение: науч.-практ. конф. молодых ученых и студ. юга России (3, 2005, Краснодар): материалы... - Краснодар, 2005.- С.347 – 349.
2. Стандартизация сырья фиалки полевой (*Viola arvensis* L.) по содержанию флавоноидов // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: междунар. съезд «Фитофарм 2005» и конференция молодых ученых Европейского Фитохимического Общества «Растения и Здоровье»; (9; 2005г.; СПб): материалы ... – СПб.: НИИХ СПбГУ, 2005. - С.236-238. (соавт.: Бубенчиков Р.А.).
3. Разработка состава и технологии сиропа с водным экстрактом травы фиалки полевой // Медицинская наука и здравоохранение: науч.-практ. конф. молодых ученых и студ. юга России (4; 2006; Краснодар) материалы... - Краснодар, 2006.- С.232-233.
4. Возможность производства спиртового экстракта и гидрофильного фитокомплекса травы фиалки полевой по совмещенной технологической схеме // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. - Пятигорск, 2006. – Вып. 61. - С.133-134. (соавт.: Бубенчиков Р.А., Сампиев А.М.).
5. Некоторые концептуальные подходы к оптимизации производства и использования растительного сырья на фармацевтических фабриках // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: збірник наукових статей. - Запоріжжя: видавництво ЗДМУ, 2006. – Випуск XV, Том 2.- С.391-394 (соавт.: Сампиев А.М., Хочава М.Р., Никифорова Е.Б., Давитаян Н.А., Дзаурова М.М., Шевченко А.И.).
6. Стандартизация травы фиалки полевой (*Viola arvensis* L.) по содержанию полисахаридов // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: междунар. съезд «Фитофарм 2006» и конференция молодых ученых Европейского Фитохимического Общества «Растения и Здоровье»; (10; 2006г.; СПб): материалы ... – СПб.: НИИХ СПбГУ, 2006. - С.307-309. (соавт.: Смирнова М.А., Гусейнов А.Я., Шабанов А.Г., Бубенчиков Р.А.).

7. Разработка состава и технологии сиропа отхаркивающего действия на основе водного экстракта травы фиалки полевой // Кубанский науч. мед. вестн. - 2006. - №13 (93) - С.123-125. (соавт.: Бубенчиков Р.А., Сампиев А.М.).
8. Разработка состава и технологии сиропа отхаркивающего действия с гидрофильным фитокомплексом из травы фиалки полевой // Человек и лекарство: (13; 2006; Москва) тез. докл. Рос. нац. конгресса – М., 2006. - С.651-652. (соавт.: Бубенчиков Р.А.).
9. Изучение противовоспалительной активности жидкого спиртового и сухого водного экстрактов травы фиалки полевой, полученных по малоотходной технологии // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. - Пятигорск, 2007.- Вып. 62. - С.536-538. (соавт.: Бубенчиков Р.А., Сампиев А.М.).
10. Исследование микробиологической чистоты сиропа с водным экстрактом травы фиалки полевой // Человек и лекарство. Краснодар - 2008; тез. докл. конгр. 16-18 окт. 2008 г. – Краснодар, 2008. –С.78.

18

**СЕРГЕЕВ НИКОЛАЙ СЕРГЕЕВИЧ**

**РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ ТРАВЫ ФИАЛКИ  
ПОЛЕВОЙ НА ОСНОВЕ МАЛОУХОДНОЙ ТЕХНОЛОГИИ**

09 - 09 134

**АВТОРЕФЕРАТ  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ НАУК**

366

Подписано к печати «25» марта 2009 г. Формат бумаги 60x84 1/16  
Бумага книжно-журнальная. Печать ротационная. Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ №147  
Отпечатано в типографии «Жираф». г. Краснодар, ул. Алма-Атинская, 139



2008166109