  
На правах рукописи

ВЕДЕЦКНИА ЮЛИЯ ИГОРЕВНА

РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСНОГО СРЕДСТВА РАСТИТЕЛЬНОГО  
ПРОИСХОЖДЕНИЯ, РЕКОМЕНДУЕМОГО ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОВОДИТА

15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2009

Диссертационная работа выполнена в Московской Медицинской Академии им. И.М. Сеческова

Научный руководитель: доктор фармацевтических наук  
**Маркарян Артем Александрович**

Официальные оппоненты: доктор фармацевтических наук  
**Лякина Марина Николаевна**  
кандидат фармацевтических наук  
**Богачева Надежда Гавриловна**

Ведущая организация: Курский Государственный Медицинский  
Университет

Защита состоится «13» апреля 2009 г. в 14 час. 00 мин. на заседании Диссертационного совета Д 006.070.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) РАСХН по адресу: 117216, Москва, Грина, 7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВИЛАР по адресу: 117216, Москва, Грина, 7.

Автореферат разослан «11» марта 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
Д 006.070.01  
доктор фармацевтических наук



А.Н. Громова

2009А  
7563

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

**Актуальность темы.** Заболевания пародонта представляют собой одну из наиболее сложных проблем современной стоматологии. По данным ВОЗ их уровень колеблется от 55% до 98%. В возрастной группе 15-19 лет он составляет 55-89%, а в возрастной группе 35-44 года — 65-98%. Широкая распространенность и значительное «омоложение» данной патологии, неблагоприятное влияние очагов пародонтальной инфекции на организм, а также высокий уровень осложнений вплоть до полной утраты зубов, — все это определяет как медицинскую, так и социальную значимость данной проблемы.

Выявлена связь поражения пародонта с такими факторами, как возрастные изменения, генетическая предрасположенность, беременность, наличие соматических заболеваний. Установлено, что изменения в пародонте в 50-100% случаев сочетаются с патологией внутренних органов.

В этой связи весьма актуальным является поиск и изучение новых лекарственных средств для профилактики и коррекции заболеваний пародонта.

Особый интерес представляют лекарственные средства растительного происхождения, выгодно отличающиеся от синтетических аналогов широким спектром терапевтического действия, малой токсичностью и связанной с этим возможностью длительного применения. Весьма эффективными при профилактическом и терапевтическом использовании являются многокомпонентные препараты, содержащие биологически активные вещества, относящиеся к различным классам химических соединений, оказывающих комплексное воздействие на основные звенья патогенетического процесса.

На основании вышесказанного считаем целесообразным и своевременным разработку нового лекарственного средства растительного происхождения, рекомендуемого для использования при указанных заболеваниях, ввиду того, что ассортимент таких препаратов в Государственном Реестре весьма ограничен.

**Цель и задачи исследования.** Целью данного исследования явились разработка и стандартизация нового многокомпонентного лекарственного средства растительного происхождения, рекомендуемого для профилактики и коррекции заболеваний пародонта.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- разработать и обосновать рациональный состав многокомпонентной растительной композиции;
- провести исследование по изучению внешних и анатомо-диагностических признаков сбора;
- установить качественный состав сбора;
- определить содержание доминирующих групп биологически активных веществ (БАВ) с целью разработки методик стандартизации сбора;
- оценить влияние различных факторов на процесс экстракции и определить наиболее оптимальные параметры экстракции;
- разработать технологическую схему получения сухого экстракта на основе исследуемого сбора;
- изучить качественный состав сухого экстракта, разработать методы его стандартизации.
- разработать и оформить нормативную документацию на исходный сбор и выделенный из него сухой экстракт.

**Научная новизна работы.** Разработан и обоснован состав и соотношение компонентов растительной композиции.



Установлены критерии подлинности сбора, на основании химического состава и приоритетности групп БАВ каждого из входящих в сбор компонентов, разработаны методики его качественной и количественной стандартизации. С учетом данных изучения параметров экстракции (степень измельчения, тип экстрагента, соотношение сырьё-экстрагент, температурный режим, гидродинамические условия) определены оптимальные условия получения сухого экстракта, что подтверждено последующей количественной оценкой содержания БАВ в сухом экстракте.

Разработаны методики качественного и количественного анализа сухого экстракта.

Состав лекарственного растительного сбора защищен патентом на изобретение «Лекарственный растительный сбор «Фитостом» для лечения воспалительных заболеваний пародонта», №2308965 от 27.10.2007 года.

#### **Практическая значимость работы.**

На основании проведенных исследований разработаны и внедрены:

- Проект ФСП «Сбор Фитостом» (Акт внедрения методики количественного определения кнелоты глицирризиновой в сборе «Фитостом» методом ВЭЖХ, ОАО «Красногорсклексредства»);

- Проект ФСП «Фитостома экстракт сухой» (Акт внедрения методики количественного определения суммы фенольных соединений в экстракте сухом в ГУЗ «ЦСиККЛ ДЗ»);

- Патент № 2308965 от 27.10.2007 г. «Лекарственный растительный сбор «Фитостом» для лечения воспалительных заболеваний пародонта».

**Связь задач исследования с проблемным планом научного совета по фармакологии и фармациии.**

Работа выполнена в рамках комплексной темы кафедры «Разработка современных технологий подготовки специалистов с высшим медицинским и фармацевтическим образованием на основе достижений медико-биологических исследований». Рег. Номер 01.2.006 06 352.

#### **Апробация работы**

Материалы диссертации доложены и обсуждены на:

- III Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов» (Москва, 2005),

- XIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2007),

- Открытом российском конкурсе на лучшую научную работу студентов 2005 года по разделу «Медицинские науки» (Москва, 2005).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

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

- результаты по разработке, обоснованию рационального состава и соотношения компонентов сбора;

- результаты фармакогностического исследования сбора, установления критериев подлинности и количественного содержания биологически активных веществ;

- результаты обоснования и разработки технологической схемы получения сухого экстракта;

- результаты качественного и количественного анализа сухого экстракта.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 137 стр. компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы (1 глава), собственных исследований (5 глав), заключения, выводов, списка литературы, который включает в себя 139 источников, из них 33 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 31 таблицами, 24 рисунками. В приложении представлены материалы по фармакологическо-

му изучению сбора и сухого экстракта, материалы по внедрению, проекты ФСП на сбор и сухой экстракт.

*Во введении* обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, представлены научная новизна и практическая значимость работы.

*В первой главе* на основании данных литературы рассматриваются вопросы применения лекарственных средств растительного происхождения в стоматологии, охарактеризованы биологически активные вещества (БАВ) исследуемой растительной многокомпонентной композиции, приведена характеристика биологически активных веществ лекарственных средств растительного происхождения, применяемых для профилактики и лечения заболеваний полости рта в официальной медицине, оценено современное состояние и перспективы стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС), описаны современные подходы к контролю качества экстрактов из лекарственного растительного сырья.

*Во второй главе* приведены сведения об объектах исследования, используемые методы и приборы.

*Третья глава* посвящена обоснованию состава, выбору оптимального соотношения компонентов растительной композиции и стандартизации исследуемого сбора.

С целью определения критериев подлинности сбора проведено исследование анатомо-диагностических признаков всех его компонентов. Приведено исследование качественного состава сбора при помощи качественных реакций, а также различных видов хроматографии (ТСХ, ВЭЖХ). Разработаны методики количественного определения различных групп БАВ сбора, методика стандартизации сбора по сумме фенольных соединений спектрофотометрическим методом.

*В четвертой главе* изложены данные по разработке способа получения сухого экстракта. Проведен подбор оптимальных условий экстракции БАВ, описан способ и технологическая схема получения сухого экстракта.

*В пятой главе* освещены вопросы химического изучения сухого экстракта. Приведено его качественное исследование, результаты количественного изучения различных групп БАВ: дубильных веществ, органических кислот, глицирризиновой кислоты. Разработана методика количественного определения суммы фенольных соединений методом УФ-спектрофотометрии и количественного определения БАВ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

*Шестая глава* посвящена разработке проектов нормативной документации на сбор и сухой экстракт на основании проведенных исследований.

Проведено фармакологическое исследование сбора и полученного из него сухого экстракта. Изучена острая токсичность сбора и экстракта, осуществлено доклиническое исследование сплещической активности (антибактериальной, противовоспалительной, иммуномодулирующей). Данные приведены в приложении.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

**Объекты и методы исследования.** Объектом исследования служил сбор для профилактики и лечения заболеваний пародонта (измельченность 5 мм), состоящий из трех видов лекарственного растительного сырья, отвечающего требованиям нормативной документации:

- корневища и корни кровохлебки лекарственной - *Sanguisorba officinalis* L., сем. Розоцветных (Rosaceae) – ФС-42-1082-76;
- корневища имбиря лекарственного - *Zingiber officinale* Rosc., сем. Имбирные (Zingiberaceae) - ГОСТ 29046-91;
- корни солодки голой и уральской - *Glycyrrhiza glabra* L. и *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., сем. Бобовых (Fabaceae) - ГФ X, с. 573, ГОСТ 22839-88.

Присутствие основных групп БАВ в изучаемом сборе устанавливали с помощью общепринятых качественных реакций в 10% водном извлечении из сырья.

Хроматографический анализ на основные группы БАВ проводили методами тонкослойной (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

При изучении качественного состава сбора методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) использовали пластины Kieselgel 40 F<sub>254</sub> (фирма Merck, Германия).

Анализ флавоноидов, фенолкарбоновых, органических кислот проводили в системе растворителей: этилацетат-уксусная кислота-вода (25:5:5); эфирного масла – в системе растворителей гексан-этилацетат (85:15). Флавоноиды проявляли 5 % спиртовым раствором хлористого алюминия.

Глицирризиновую кислоту обнаруживали в системе: хлороформ-метанол-вода (62:31:7), проявляли 10 % раствором фосфомолибденовой кислоты.

Хроматографирование выполняли в соответствующей системе растворителей при температуре 19-23 °С в герметически закрытых стеклянных камерах. Все величины R<sub>f</sub> обнаруженных соединений являются средними из пяти измерений. Растворители для хроматографии и реактивы для получения производных использовали марки ХЧ или ЧДА.

При разработке методик качественного и количественного определения биологически активных веществ были использованы хроматографически чистые вещества и стандарты: рутин — стандартный образец по ФС 42-2508-87; кверцетин — стандартный образец по ФС 42-1290-79; гесперидин — стандартный образец по ВФС 42-778-78; ликуразид — стандартный образец по ФС 42-2573-88; лютеолин — стандартный образец по ФС 42-2970-93; лютеолин-7-глюкозид — стандартный образец по ФС 42-3150-95; гиперозид — стандартный образец по ВФС 42-1088-81, кемпферол — Fluka, кат. №60010, апигенин — Fluka, кат. №10748, глюкоза — стандартный образец по ФС 42-0004-00, гераниол — Sigma, кат. № 0625, глицирризиновая кислота — Fluka, кат. №50531, кофейная кислота — Sigma, кат. № 0625, галловая кислота — Fluka, кат. №48630, хлорогеновая кислота — Sigma, кат. №3378.

ВЭЖХ анализ фенольных соединений, глицирризиновой и органических кислот проводился на хроматографе фирмы GILSON, Франция, инжектор ручной, модель RHEODYNE 7125 USA, колонки PLATINUM EPS, ALTECH OA-1000 Organic Acids, с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы МультиХром для Windows версия 1,47а (ЗАО «Амперсид», Москва, Россия).

Реактивы подвижной фазы: метанол - ХЧ, ГОСТ 6995-77, фосфорная кислота — ОСЧ, ТУ 261201400203677, вода очищенная по ФС 42-2619-97.

Реактивы, используемые при разработке качественного и количественного анализов, готовились по методикам, указанным в ГФ X изд., XI изд., вып. 2.

Качество сбора контролировали по следующим числовым показателям: влажность (по методике ГФ XI, вып. 1, стр. 285), зола общая (по методике ГФ XI, вып. 2, стр. 24), зола не растворимая в 10 % растворе соляной кислоты (по методике ГФ XI, вып. 2, стр. 25), примеси, количество измельченных частиц (по методике ГФ XI, вып. 1, стр. 275-276).

Содержание экстрактивных веществ устанавливали по методике ГФ XI, вып. 2, стр. 295.

Определение содержания суммы фенольных соединений проводили с помощью УФ-спектрофотометрии по экспериментально разработанной методике.

Определение содержания органических кислот проводили по методике ГФ XI, вып. 2, стр. 295.

При снятии УФ-спектров и определении суммы фенольных соединений использовали спектрофотометр GILSON.

Сухой экстракт из сбора получали с использованием распылительной сушилки «Мовили минор» фирмы «Атомайзер-Ниро» и сублимационной сушилки.

Показатели качества сухого экстракта из сбора определяли в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2, стр. 160.

Фармакологические исследования сухого экстракта проводили на базе Института общей и экспериментальной биологии СО РАН.

### РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ СБОРА «ФИТОСТОМ»

Состав многокомпонентной композиции разрабатывался с учетом фармакологических свойств, химического состава, опыта применения лекарственного растительного сырья. С целью выбора оптимального соотношения компонентов были изучены несколько вариантов сбора (таблица 1).

Таблица 1

Варианты сбора «Фитостом»

№ п/п	Наименование компонентов сбора	Варианты сбора по количественному соотношению компонентов, %			
		1	2	3	4
1	Кровохлебки корневища и корни	30%	33%	40%	60%
2	Имбиря корневища	60%	33%	40%	30%
3	Солодки корни	10%	33%	20%	10%

Результаты фармакологических испытаний показали, что водные извлечения (отвары) и сухой экстракт, полученный экстракцией 4 варианта сбора, обладают наиболее выраженной антибактериальной и противовоспалительной активностью.

На основании теоретических данных было сделано предположение, что наибольший вклад в развитие и оказание терапевтического эффекта сбора вносят дубильные вещества, в значительном количестве содержащиеся в корневищах и корнях кровохлебки лекарственной, что обусловило выбор различных вариантов сбора, в которых процентное содержание данного вида сырья увеличивалось. Данное предположение было подтверждено фактически, поэтому в дальнейших исследованиях остановились на варианте сбора 4, как варианте с наиболее рациональным соотношением компонентов.

Таким образом, по результатам предварительных фармакологических данных и результатов анализа объектом дальнейшего исследования был выбран сбор следующего состава (на 1 кг):

Кровохлебки корневища и корни – 600,0 г.; Имбиря корневища – 300,0 г.; Солодки корни – 100,0 г.

Проведена оценка исходного растительного сырья по действующей нормативной документации. По числовым показателям образцы сырья соответствуют требованиям НД.

Разработана технологическая схема получения сбора, включающая в себя следующие стадии:

ТП 1. Измельчение и просеивание растительного сырья;

ТП 2. Получение готового продукта;

УМО 1. Фасовка и упаковка готового продукта.

Проведен товароведческий анализ сбора, определены числовые показатели:

Экстрактивных веществ не менее 30%; влажность не более 13%; золы общей не более 10%; золы, нерастворимой в кислоте хлористоводородной не более 4%; частиц, не проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм не более 7%; частиц, проходящих

щих сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм не более 6%; органической примеси не более 2%; минеральной примеси не более 2%.

#### **Фармакогностическое изучение сбора «Фитостом».**

Для определения критериев подлинности сбора проведен макро- и микроскопический анализ анатомо-диагностических признаков. Установлено, что сбор представляет собой смесь неоднородных частиц сырья различной формы желтовато-бурого цвета, светло-желтого цвета и желтовато-серого цвета, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм.

При просмотре сбора под лупой (10х) или стереомикроскопом видны:

- кусочки корней и корневищ различной формы желтовато-бурого и буровато-желтого цвета, с остатками гладкой или слегка морщинистой пробки (кровохлебки корневища и корни);

- светло-желтые кусочки корней волокнистой структуры, иногда с остатками серовато-коричневой, продольно-морщинистой пробки (солодки корни);

- кусочки корневищ различной формы, желтовато-серого цвета, с зернисто-волокнистыми краями (имбиря корневища).

Запах сбора ароматный, вкус водного извлечения жгучий, терпкий, сладковатый, вяжущий.

В ходе микроскопического анализа установлены диагностически значимые признаки:

- фрагменты темно-бурой пробки, состоящей из мелких клеток, тангентально вытянутые крупные клетки паренхимы с утолщенными оболочками, мелкие овальные или округлые, простые, реже сложные крахмальные зерна, крупные друзы (кровохлебки корневища и корни).

- фрагменты клеток, заполненных крупными крахмальными зернами, овальной формы, заостренными, с заметной поперечной слоистостью; клетки, заполненные эфирным маслом или смолой оранжево-коричневого цвета (имбиря корневища);

- фрагменты волокон с кристаллоносной обкладкой из призматических кристаллов оксалата кальция; обрывки сосудов с широкими короткими члениками («бочковидные»), имеющими пористый тип вторичного утолщения; стенок с окаймленными порами, обрывки покровной ткани (пробки), состоящей из прямостенных многоугольных клеток с утолщенными стенками (корни солодки).

Таким образом, проведенные исследования подтвердили подлинность сбора по входящим в его состав компонентам. Полученные в ходе работы результаты включены в соответствующие разделы проекта нормативного документа.

#### ***Изучение химического состава сбора «Фитостом». Разработка методик качественного и количественного анализа биологически активных веществ.***

При помощи качественных реакций с водными извлечениями, а также методами ТСХ и ВЭЖХ было установлено наличие в исследуемом сборе веществ полифенольной природы (дубильные вещества, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты), эфирного масла, глицирризиновой кислоты, органических кислот, полисахаридов. На основании полученных данных определены критерии подлинности сбора. Качественные реакции включены в проект нормативного документа.

#### ***Идентификация фенольных соединений методом ВЭЖХ.***

Для изучения наличия и качественного состава фенольных соединений было проанализировано 70% спиртовое извлечение из сбора. По результатам сравнения времен удерживания пиков, полученных на хроматограмме исследуемого раствора, и вре-



мен удерживания пиков растворов стандартных образцов были идентифицированы следующие вещества: флавоноиды (лютеолин-7-гликозид, ликуразид, робинин, байкалин, кверцетин, дигидрокверцетин, апигенин), оксикоричные кислоты (галловая кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота), глицирризиновая кислота, катехин.

Результаты определения представлены на рис. 1.

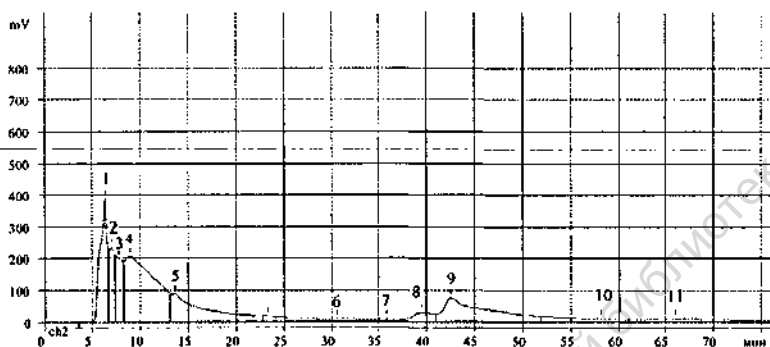


Рис. 1

1 - галловая кислота; 2 - катехин; 3 - хлорогеновая кислота; 4 - кофейная кислота; 5 - лютеолин-7-гликозид; 6 - ликуразид; 7 - робинин; 8 - байкалин; 9 - кверцетин; 10 - дигидрокверцетин; 11 - апигенин

#### *Идентификация органических кислот методом ВЭЖХ.*

При помощи ВЭЖХ идентифицированы входящие в состав сбора органические кислоты.

В результате анализа определено наличие в сборе «Фитостом» следующих органических кислот: щавелевая кислота, винная кислота, маликовая кислота, янтарная кислота, бензойная кислота, салициловая кислота.

Полученные данные приведены на рис. 2.

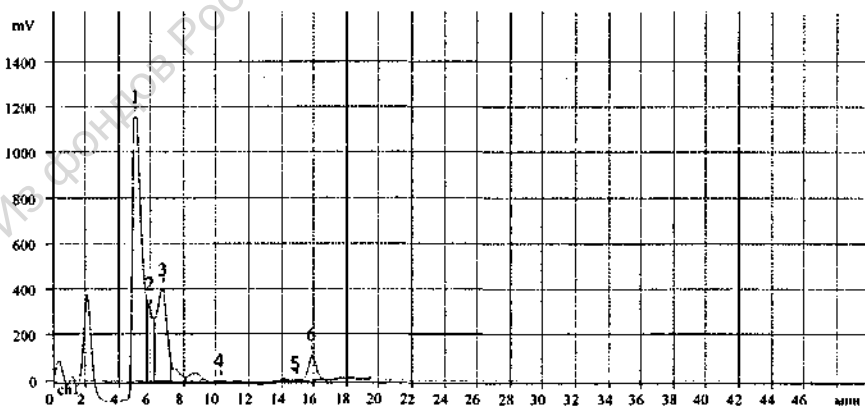


Рис. 2

1 - щавелевая кислота; 2 - винная кислота; 3 - маликовая кислота; 4 - янтарная кислота; 5 - бензойная кислота; 6 - салициловая кислота.

### Изучение свободных сахаров методом ВЭЖХ.

Проведено изучение водного извлечения из сбора с использованием растворов стандартных образцов различных свободных сахаров. По времени удерживания пиков на хроматограмме исследуемого раствора в сборе идентифицированы: мальтоза, сахароза, фруктоза, арабиноза.

Результаты проведенных исследований представлены на рис. 3.

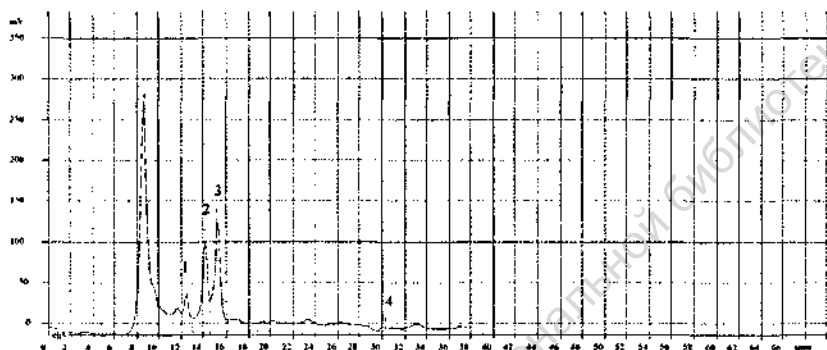


Рис. 3.

1 - мальтоза; 2 - сахароза; 3 - фруктоза; 4-арабиноза.

### Изучение эфирного масла сбора методом ТСХ.

Для качественного изучения компонентов эфирного масла проведено исследование извлечения из сбора диэтиловым эфиром при помощи ТСХ.

В качестве растворов сравнения использовались растворы стандартных образцов гераниола, L-пинена, β-пинена борнилацетата.

Результаты исследования приведены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты идентификации эфирного масла методом ТСХ

Rf	Rf PCO				Идентифицировано
	гераниол	L-пинен	β-пинен	борнилацетат	
0,05					
0,11					
0,16					
0,20					
0,25	0,25				Гераниол
0,33			0,33		β-пинен
0,45		0,45			L-пинен
0,67					
0,73				0,73	Борнилацетат
0,98					

### Количественное определение БАВ в сборе «Фитостом».

Количественное определение основных групп БАВ проводилось с использованием физико-химических методов анализа: дубильные вещества и сумму органических кислот определяли титриметрически, глиширризиновую кислоту - методом УФ-спектрофотометрии, полисахариды, флавоноиды - спектрофотометрически.

Результаты проведенных анализов и метрологические характеристики определения представлены в таблице 3.

Таблица 3

Содержание основных БАВ в сборе «Фитостом»

БАВ	f	P%	t(p,f)	$\bar{X}$ , %	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{E}\%$
Дубильные вещества	4	95	2,78	14,35	0,591	0,264	0,735	±5,12
Органические кислоты	4	95	2,78	5,27	0,244	0,109	0,3033	±5,78
Глиширризиновая кислота	4	95	2,78	0,59	0,05	0,022	0,062	±3,90
Полисахариды	4	95	2,78	39,30	0,18	0,08	0,22	±4,45
Флавоноиды	4	95	2,78	0,24	0,0122	0,0055	0,0152	±6,34

Как следует из выше представленной таблицы, содержание дубильных веществ составляет – 14,35%; суммы органических кислот - 5,27%; глиширризиновой кислоты – 0,59%, полисахаридов - 39,30 %; флавоноидов – 0,24%.

#### Разработка методики количественного определения БАВ в сборе «Фитостом».

Основываясь на данных о выраженной противовоспалительной и антибактериальной активности фенольных соединений, для стандартизации сбора предложена методика определения суммы фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту.

В основу методики был положен метод прямого спектрофотометрирования водно-спиртового извлечения из сбора. Согласно полученным данным, максимум поглощения извлечения исследуемого сбора находится в УФ-области спектра при длине волны 271,5±2 нм и совпадает с максимумом поглощения спиртового раствора кислоты галловой 267±2 нм. На основании полученных данных для дальнейших исследований была использована длина волны 269 нм. Подобраны оптимальные условия извлечения. Для определения воспроизводимости методики проведено определение в пяти повторностях.

Метрологические характеристики методики приведены в таблице 4.

Таблица 4

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту в сборе «Фитостом» методом спектрофотометрии.

n	f	P%	t(P,f)	$\bar{X}\%$	S <sup>2</sup>	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{E}\%$
5	4	95	2,78	5,30	0,025	0,158	0,071	0,20	±3,70

Как видно из таблицы 4, относительная ошибка методики количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту составляет  $\pm 3,70\%$ . Результаты опытов с добавками галловой кислоты свидетельствуют об отсутствии систематической ошибки методики.

На основании анализа 5 серий сбора установлено, что сумма фенольных соединений, в пересчете на галловую кислоту, в сборе должна составлять не менее 4,5%.

Установленный показатель включен в проект ФСП на сбор.

Проведено исследование стабильности сбора для установления срока годности.

При хранении в обычных условиях при температуре  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , показатели качества проверялись через каждые 6 месяцев на протяжении 2 лет и 6 месяцев. На основании полученных данных установлен срок годности сбора – 2 года.

*Разработка получения и стандартизация сухого экстракта.*

Для более рационального использования сбора «Фитостом» нами разработан способ получения из него сухого экстракта.

При этом подобраны оптимальные условия экстракции, обеспечивающие максимальный выход БАВ из исходного сбора.

Установлено, что наиболее оптимальными экстрагентами являются горячая вода ( $80^\circ\text{C}$ ) и 30% этиловый спирт.

Определено оптимальное соотношение фаз – 1:10 и установлен коэффициент поглощения сбора  $K=2,28 \pm 0,2$ .

Схема получения сухого экстракта из сбора «Фитостом» приведена на рис. 4.

Полученный продукт представляет собой аморфный порошок от светло-коричневого до коричневого цвета, со специфическим запахом; гигроскопичен, комкуется.

Растворим в воде, водно-спиртовых смесях (20, 40, 50, 60 %). В 20 % спирте  $\lambda_{\text{max}}$  265 нм. Сульфатная зола из 1,00 г сухого экстракта должна выдерживать испытание на тяжелые металлы не более 0,01 %.

По полученной схеме наработано 5 серий сухого экстракта. Проведено исследование стабильности в обычных условиях. Определен срок годности сухого экстракта – 2 года.

Разработаны показатели качества (описание, подлинность, потеря в массе при высушивании, микробиологическая чистота, тяжелые металлы, количественное определение). Показатели включены в проект нормативного документа.

Полученный экстракт был исследован фитохимически с применением качественных реакций, спектрофотометрии и различных видов хроматографии (ТСХ, ВЭЖХ).

Установлено наличие в экстракте следующих групп биологически активных веществ: дубильные вещества, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, глицирризиновая кислота, органические кислоты, полисахариды.

На основании полученных данных можно сделать вывод о переходе основных биологически активных веществ в сухой экстракт из сбора, что подтверждает правильность и рациональность разработанной технологической схемы его получения.

Проведено количественное определение различных групп БАВ в сухом экстракте. Полученные результаты приведены в таблице 5.

Таблица 5

Содержание основных БАВ в сухом экстракте

БАВ	f	P%	t(p,f)	$\bar{X}$ , %	S	$S_{\bar{X}}$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{E}\%$
Дубильные вещества	4	95	2,78	29,85	1,057	0,473	1,314	$\pm 4,40$

Органические кислоты	4	95	2,78	9,37	0,65	0,290	0,8130	±8,68
Глицирризиновая кислота	4	95	2,78	1,09	0,042	0,019	0,052	±4,79
Полисахариды	4	95	2,78	73,10	2,654	1,187	3,299	±4,51
Флавоноиды	4	95	2,78	0,44	0,023	0,011	0,064	±1,75

Как следует из выше представленной таблицы, содержание дубильных веществ в экстракте составляет – 29,85%; суммы органических кислот - 9,37%; глицирризиновой кислоты – 1,09%, полисахаридов - 73,10%; флавоноидов – 0,44%.

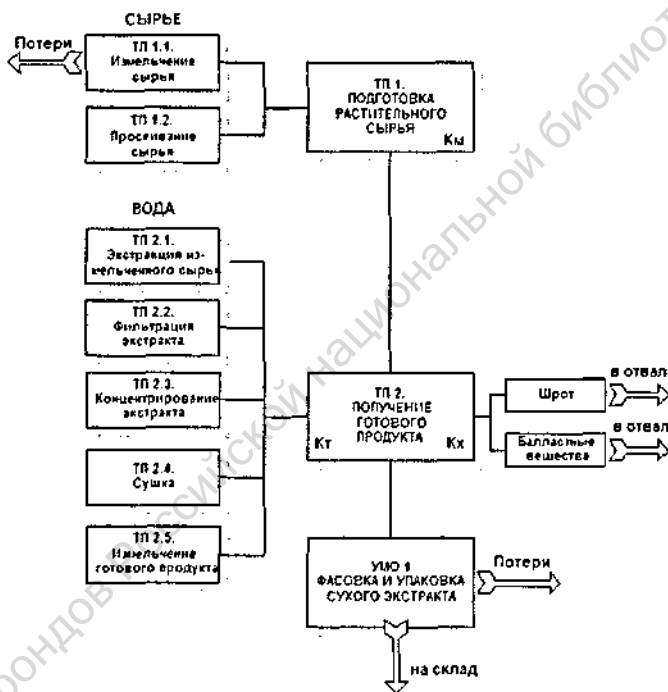


Рис.4 Технологическая схема получения сухого экстракта.

#### Разработка методики количественного определения БАВ в сухом экстракте.

На основании проведенных исследований показано, что состав сбора «Фитостом» и сухого экстракта из него идентичны по основным группам БАВ.

При разработке методик количественной оценки суммы БАВ нами были использованы методики, разработанные в ходе анализа сбора «Фитостом». Оценка содержания суммы фенольных соединений осуществлена с помощью методики количественного анализа в пересчете на галловую кислоту методом спектрофотометрии.

Результаты определения приведены в таблице 6.

Таблица 6

Метрологические характеристики методики количественного определения фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту в экстракте.

n	f	P%	t(P,f)	$\bar{X}\%$	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta X$	$\bar{E}\%$
5	4	95	2,78	15,30	0,158	0,071	0,20	$\pm 3,70$

Результаты опытов с добавками галловой кислоты свидетельствуют об отсутствии систематической ошибки методики.

На основании анализа 5 серий экстракта установлено, что сумма фенольных соединений, в пересчете на галловую кислоту, в экстракте должна составлять не менее 15%.

Установленный показатель включен в проект ФСП на сухой экстракт.

## ВЫВОДЫ

1. Теоретически обоснован и экспериментально разработан сбор «Фитостом» для лечения заболеваний пародонта, содержащий в своем составе корневища и корни кровохлебки, корневища имбиря и корни солодки.
2. Проведено фармакогностическое изучение сбора, определены диагностические признаки всех входящих в сбор компонентов.
3. С использованием комплекса химических и физико-химических методов анализа изучен качественный состав сбора «Фитостом». По результатам количественного анализа определено содержание основных групп БАВ. Содержание полисахаридов составило 39,3%, дубильных веществ – 14,35%, органических кислот – 5,24%, глицирризиновой кислоты – 0,59%, флавоноидов – 0,24%.
4. Разработан способ получения сухого экстракта из сбора «Фитостом».
5. Изучен качественный и количественный состав основных групп БАВ в сухом экстракте. Разработана методика количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту.
6. Изучена специфическая активность сбора и сухого экстракта. Экспериментально установлено, что сбор и экстракт обладают антибактериальной, противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью. По данным токсикологического исследования сбор «Фитостом» и полученный из него сухой экстракт согласно действующей классификации определены как малотоксичные и относительно безвредные вещества.
7. На основании проведенных исследований разработаны проекты нормативной документации на сбор «Фитостом» и сухой экстракт.

## СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. А. А. Маркарян, Ю. И. Шабалдина, О. В. Пестерова, Е. Д. Руденко, Д. А. Косенков. Новый хроматографический подход к прогнозированию и выявлению радиопротекторных свойств лекарственного растительного сырья// Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- 2007г.- №1-С.21-23.
2. Шабалдина Ю.И. , Маркарян А.А. Исследования по разработке новой растительной композиции, рекомендуемой для профилактики и лечения воспалитель-

ных заболеваний пародонта // Сб. тезисов работ участников Открытого российского конкурса на лучшую научную работу студентов 2005 года по разделу «Медицинские науки».-М.:ИД Русский врач,-2006.-С.17.

3. Шабалдина Ю.И., Маркарян А.А., Маркарян Н.С., Нестерова О.В., Марченко С.Д. Исследования по разработке методов контроля качества сухого экстракта для профилактики и лечения заболеваний пародонта//Сб. тезисов докладов XIV Всероссийского конгресса «Человек и лекарство».-М.: РЦ «Фарммединфо», -2007.-С.331.

4. Шабалдина Ю.И., Маркарян А.А., Нестерова О.В. Разработка и стандартизация сбора для профилактики и лечения заболеваний пародонта. //Сб. тезисов докладов XIV Всероссийского конгресса «Человек и лекарство».-М.: РЦ «Фарммединфо», -2007.-С.330.

5. Ю.И. Шабалдина, А.А. Маркарян, О.В. Нестерова. Фармакологическое и токсикологическое исследование нового сбора для профилактики и лечения заболеваний пародонта и полученного на его основе сухого экстракта //Вестник Бурятского Государственного Университета.-2007.-вып.8.-С.41-44.

6. Ю.И. Шабалдина. Разработка методик качественного и количественного анализа нового сбора и экстракта для лечения и профилактики заболеваний пародонта //Сб. научных трудов «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции».-2007.-вып.62.-С.414-416.

Из фондов Российской национальной библиотеки

Для заметок

Из фондов Российской национальной библиотеки



Для засток

Из фондов Российской национальной библиотеки

Для заметок

Из фондов Российской национальной библиотеки

Из фондов Российской национальной библиотеки

---

Заказ № 35/03/09 Подписано в печать 10.03.2009 Тираж 65 экз. Усл. п.л. 1

---



ООО "Цифровик", тел. (495) 797-75-76; (495) 649-83-30  
[www.cfr.ru](http://www.cfr.ru) ; e-mail: [info@cfr.ru](mailto:info@cfr.ru)

2009A  
7563

09 - 07563

Из фондов Российской национальной библиотеки