

На правах рукописи



Агбади Коджо Раймонд

**РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА
МОРИНДЫ ЦИТРУСОЛИСТНОЙ**

14.04.01 – Технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Санкт-Петербург – 2017

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Каухова Ирина Евгеньевна

Доктор фармацевтических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Жилякова Елена Теодоровна

доктор фармацевтических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки России, заведующая кафедрой фармацевтической технологии медицинского института

Абрамович Римма Александровна

доктор фармацевтических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России, директор центра коллективного пользования (научно-образовательного центра)

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «05» декабря 2017 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.088.01 на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (197376, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (197227, г. Санкт-Петербург, пр. Испытателей, д. 14) и на сайте организации (<https://sites.google.com/a/pharminnotech.com/dissovet>).

Автореферат разослан « ____ » _____ 2017 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 208.088.01,
кандидат фармацевтических наук, доцент



Орлов А.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Использование растений в медицинских целях берет начало с древних времен. Из-за риска развития побочных эффектов и неконтролируемого потребления лекарственных препаратов химического синтеза растительные объекты, обладающие терапевтическим потенциалом, являются актуальными источниками фармакологически активных соединений и используются в качестве альтернативной медицины во всем мире. В настоящее время по инициативе Всемирной организации здравоохранения проводится оценка растительных объектов, используемых в традиционной медицине, чтобы расширить перечень растений для применения в здравоохранении. Целебные свойства вечнозеленого растения Моринда цитрусолистная – *Morinda citrifolia* L. – с давних пор были известны жителям Полинезии, Малайзии, Австралии, Китая, Индии и других тропических и субтропических регионов. Другое название этого дерева Noni. Практически все части растения на протяжении тысячелетий использовались в народной медицине. Наиболее полезные части растений *Morinda citrifolia* – корень, плоды, листья и *Morinda officinalis* – корень. Этими растениями лечили многие заболевания [Singh D. R., 2011].

Широкое применение получили плоды моринды цитрусолистной. Установлено, что соку плодов нони присущи такие лечебные свойства, как антибактериальное, противовоспалительное, болеутоляющее, гипотензивное и противораковое [S. Tolle, V. Lander, P. Winterhalter, 2011].

На современном фармацевтическом рынке из сырья моринды выпускается ряд БАД к пище, в основном это сок плодов Нони, а также гранулы порошка смеси листьев *Morinda citrifolia* и *Morinda officinalis* в капсулах, гранулы измельченной смеси плодов, корней и листьев *Morindacitrifolia* в капсулах.

Несмотря на обширный объем знаний о растении – Моринде цитрусолистной практически отсутствуют препараты на основе этого растительного сырья. Все выше сказанное предопределило актуальность темы исследования, формулировку цели и последовательность решения задач

Степень разработанности темы исследования. Фитохимический состав и фармакологическая активность биологически активных соединений Моринды цитрусолистной (нони) были широко изучены: Pratibha V. Nerurkar, Phoebe W. Hwang (2015); Reem Abou Assi, Yusrida Darwis, Ibrahim M. Abdulbaqi, Arshad A. Lim Vuanghao, M.H. (2015); Laghari Sridev iNagalingam, Changam Sheela Sasikumar (2013); Kohei Kamiya, Wakako Hamabe, Sachiko Harada (2008); Bao-NingSu, Alison D. Pawlus (2005).

В связи с содержанием широкого спектра биологически активных веществ (БАВ) в различных органах моринды перспективным является разработка фитопрепаратов на основе экстрактов, обогащенных различными группами БАВ. Технологии сухого экстракта моринды цитрусолистной корней, обогащенного флавоноидами и гранул сухого экстракта в твердых желатиновых капсулах предлагаются впервые.

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы явилась разработка технологии обогащенных сухих экстрактов из сырья моринды цитрусолистной, выращенной в Гане и на их основе разработать состав и технологию лекарственных средств.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие основные задачи:

1. Провести сравнительный фитохимический анализ корней, листьев и плодов моринды цитрусолистной.

2. Исследовать особенности и установить закономерности экстрагирования корней, листьев и плодов моринды цитрусолистной различными спирто-водными экстрагентами. Определить влияние параметров экстрагирования на выход БАВ и установить режим процесса экстракции ЛРС.

3. Разработать технологию сухого экстракта моринды цитрусолистной корней, обогащенного флавоноидами. Изучить физико-химические и технологические свойства сухого экстракта и разработать показатели качества. Провести оценку биологической активности сухого экстракта моринды цитрусолистной корней.

4. Разработать состав и технологию гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах. Установить показатели качества гранул и готовой лекарственной формы.

5. Предложить технологическую схему получения гранул сухого экстракта экстрактаморинды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах.

6. Разработать НД (спецификации качества) на полупродукт – сухой экстракт моринды цитрусолистной корней – и лекарственное средство – гранулы сухого экстракта в твердых желатиновых капсулах.

Научная новизна исследования.

1. Впервые проведено сравнительное фитохимическое изучение корней, листьев и плодов моринды цитрусолистной, заготовленных на территории государства Гана. На основании полученных результатов установлены показатели качества лекарственного растительного сырья.

2. Впервые проведена оценка качественного и количественного состава макро- и микроэлементов в корнях, листьях, плодах и сухом экстракте моринды цитрусолистной методом ИСП-МС. Установлено, что в плодах, листьях, корнях и сухом экстракте имеется значительное количество калия, магния, кальция, кремния, натрия и железа., являющихся жизненно важными элементами.

3. Впервые проведена сравнительная количественная оценка аминокислот плодов, корней и листьев моринды цитрусолистной. Определено содержание свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту, при этом установлено наибольшее их содержание в листьях моринды цитрусолистной.

4. Впервые разработана технология сухого экстракта моринды цитрусолистной корней, обогащенного флавоноидами. В экстракте идентифицированы индивидуальные флавоноиды – рутин, кверцетин и апегинин. Установлены показатели качества сухого экстракта корней.

5. Впервые теоретически и экспериментально обоснован состав и технология лекарственного средства в виде гранул с сухим экстрактом моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах, который обладает выраженной гипогликемической активностью.

Теоретическая и практическая значимость работы.

1. Исследованы особенности и установлены закономерности экстрагирования корней, листьев и плодов моринды цитрусолистной различными спирто-водными экстрагентами. С использованием УФ-спектрометрии установлено, что спиртоводный экстрагент в концентрации 40% извлекает большее количество экстрактивных веществ из листьев и плодов, а спиртоводный экстрагент в концентрации 70% – из корней. Разработаны режимы экстрагирования суммы флавоноидов из корней моринды цитрусолистной.

2. Анализ содержания тяжелых металлов таких как цезий, ртуть, мышьяк, свинец показал, что ртути в корнях не обнаружено, в то время как в плодах зафиксировано 0,29 мг/г, а в листьях 0,18 мг/г. Листья содержат большое содержание свинца, в 3 раза больше, чем в плодах и 9,5 раза больше, чем в корнях. Мышьяк содержат все части растения моринды цитрусолистной, наименьшее количество мышьяка в корнях. Общее содержание тяжелых металлов и мышьяка в корнях и в сухом экстракте удовлетворяет требованиям ГФ XIII.

3. Разработаны состав и технология гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах. Предложены основные показатели качества. Установлен срок годности лекарственного средства на основе сухого экстракта моринды цитрусолистной корней – 2 года.

4. На модели эпинефриновой (адреналиновой) гипергликемии показано, что сухой экстракт моринды цитрусолистной корней обладает выраженной гипогликемической активностью, плоды – умеренной гипогликемической активностью, листья гипогликемического действия не оказывают.

5. Предложена технологическая схема получения гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах. Разработаны НД (спецификации качества) на полупродукт – сухой экстракт моринды цитрусолистной корней и лекарственное средство – гранулы сухого экстракта в твердых желатиновых капсулах.

Методология и методы исследования. Обоснованность результатов диссертационной работы подтверждается тем, что в ней использованы современные методы исследования, современное аппаратное и приборное оснащение. В диссертационном исследовании, которое является многоплановым, методологический подход базируется на выполнении комплекса теоретических, фитохимических, технологических, биофармацевтических, физико-химических и фармакологиче-

ских методах исследований, обеспечивающих получение современных качественных, эффективных и безопасных лекарственных средств.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов определяется воспроизводимостью данных, использованием современных фитохимических, физико-химических, технологических и фармакологических методов исследования, большим объемом используемой информации.

Основные результаты работы диссертации доложены и обсуждены на VI и VII Всероссийских научных конференциях студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» Санкт-Петербург, 2016 г., 2017 г., II Российско-Финском Симпозиуме «Современные тенденции в разработке лекарственных препаратов», Санкт-Петербург, 2015 г., XIX Международном съезде "ФИТОФАРМ-2015", Бонн, Германия, 2015 г., XX Международном съезде "ФИТОФАРМ-2016", Санкт-Петербург, 2016 г., IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации», Санкт-Петербург, 2016 г.

Проведена апробация технологии сухого экстракта моринды цитрусолистной корней и гранул сухого экстракта в твердых желатиновых капсулах в условиях ЗАО «Институт Фармации». Полученные опытные партии сухого экстракта моринды цитрусолистной корней и гранул сухого экстракта в твердых желатиновых капсулах по показателям качества соответствовали требованиям Спецификаций качества (Акт о наработке от 12.09.2017 г.).

Материалы по разработке технологии гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах используются в учебном процессе ФГБОУ ВО СПХФА Минздрава России в лекционном курсе цикла «Основы производства твердых лекарственных форм с учетом GMP» для слушателей центра повышения квалификации специалистов, практических работников фармацевтической промышленности (акт внедрения от 13.09.2017).

Материалы по разработке технологии экстрагирования и получения сухого экстракта моринды цитрусолистной корней используются в учебном процессе ФГБОУ ВО СПХФА Минздрава России в лекционном курсе и практических занятиях дисциплины «Химия и технология фитопрепаратов» факультета промышленной технологии лекарств по направлению подготовки 18.03.01 «Химическая технология», квалификация – бакалавр (акт внедрения от 13.09.2017).

Положения, выносимые на защиту:

1. Фитохимическое изучение корней, листьев и плодов моринды цитрусолистной, заготовленных на территории государства Гана, нормы качества лекарственного растительного сырья. Качественный и количественный состав БАВ и макро- и микроэлементов в корнях, листьях, плодах и сухом экстракте моринды цитрусолистной, количественная оценка аминокислот плодов, корней и листьев моринды цитрусолистной, позволяющий определить терапевтическую значимость и рекомендовать использовать данный вид сырья для создания лекарственных средств.

2. Технология сухого экстракта моринды цитрусолистной корней с содержанием суммы флавоноидов не менее 12,00 % ,показатели качества.

3. Состав и технология гранул сухого экстракта в твердых желатиновых капсулах, основные показатели качества.

4. Технологическая схема получения гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах. Разработанные НД (спецификации качества) на полупродукт – сухой экстракт моринды цитрусолистной корней – и лекарственное средство – гранулы сухого экстракта в твердых желатиновых капсулах

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СПХФА по теме «Разработка технологий производства, методов анализа, стандартизации и фармакологической оценки лекарственных растений, новых или модифицированных фармацевтических субстанций и препаратов» (государственная регистрация № 01201252028).

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов. Автор диссертационной работы самостоятельно сформулировал цель и задачи, проанализировал литературу, провел лабораторные исследования и статистическую обработку полученных данных. Научные положения и выводы диссертации базируются на результатах исследований автора. Доля участия автора в накоплении информации более 80%, в обобщении и анализе материала – 85%.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств, а именно пункту 3 – разработка технологий получения субстанции и готовых лекарственных форм, пункту 4 – исследования по изучению особенностей технологии получения готовых лекарственных форм из различных видов субстанций, сырья и вспомогательных веществ.

Публикации материалов исследования. По теме диссертации опубликовано 8 работ, из них 3 в журналах, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки России».

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трёх глав экспериментальных исследований, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложений. Работа изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит 26 таблиц и 21 рисунок. Список литературы включает 115 источников, в том числе 54 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение

Во введении изложены актуальность, цель и задачи исследования, показана научная и практическая значимость работы.

Глава 1. Обзор литературы

Дана фитохимическая характеристика и приведены результаты фармакологических исследований сырья моринды цитрусолистной, как перспективной растительной субстанции для разработки лекарственных средств. Рассмотрены современные методы извлечения БАВ из лекарственного растительного сырья. Обсуждены особенности технологии лекарственных средств, содержащих сухие экстракты растительного происхождения. Дано обоснование выбора лекарственных форм для сухого экстракта из моринды цитрусолистной в виде гранул в твердых желатиновых капсулах.

Глава 2. Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали плоды, листья и корни моринды цитрусолистной (*Morinda citrifolia* L), которые были собраны в Республике Гана, г. Кета в 2015-2016г. Товароведческие показатели сырья определяли в соответствии с требованиями ГФ XIII издания. Для хроматографических исследований использованы пластины «Сорбфил» (Россия) размера 10x15 см., система растворителей: бутан-1-ол – ледяная уксусная кислота – вода (БУВ) в соотношении (4:1:2). Для идентификации флавоноидов использовали достоверные образцы (ГСО) рутина, кверцетина, апигенина. Количественное определение флавоноидов проводили методом УФ-спектрофотометрии с использованием СФ-2000 (Россия) и «Shimadzu» UV 1240 mini (Япония) Изучение макро- и микроэлементного состава плодов, корней и листьев моринды цитрусолистной и сухого экстракта были осуществлены методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргонной плазмой (ИСП-МС), исследования выполнены в научно-исследовательской лаборатории элементного анализа ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России. Экстрагенты и вспомогательные вещества, использованные в технологии экстрактов, гранул по показателям качества отвечали требованиям ГФ XIII, ФС или соответствующей НД. Для определения показателей качества гранул в твердых желатиновых капсулах применяли тестеры фирмы ERWEKA (Германия). В главе описаны методы, методики и приборы, использованные для анализа растительного сырья, извлечений, сухих экстрактов и гранул в твердых желатиновых капсулах. Фармакологические исследования были проведены на кафедре фармакологии с основами клинической фармакологии ФГОУ ВО СПХФА.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартных компьютерных программ Excel в соответствии с требованиями ГФ XIII издания и методик анализа.

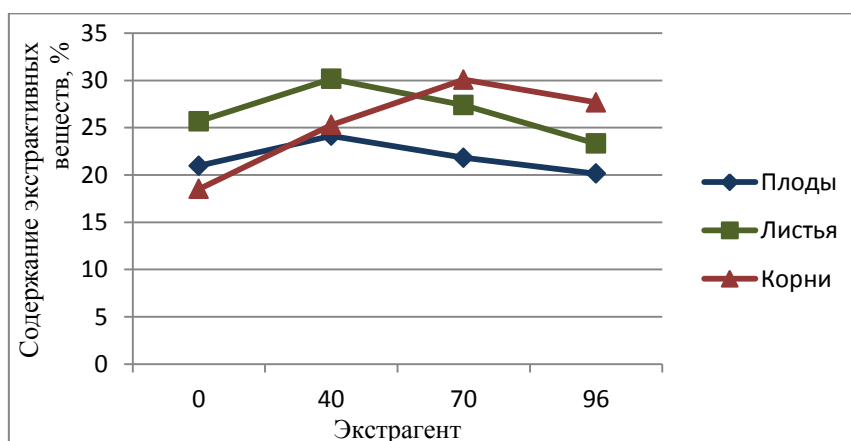
Глава 3. Сравнительный фитохимический анализ плодов, листьев и корней моринды цитрусолистной

В связи с тем, что все части моринды цитрусолистной длительно используются в народной медицине, первым этапом выполнения диссертационной работы было проведение сравнительного товароведческого и фитохимического анализа плодов, листьев и корней моринды цитрусолистной. Оценку качества исследуемого сырья проводили по стандартным методикам, описанным в ГФ XIII издания. Результаты товароведческого сравнительного анализа лекарственных субстанций моринды цитрусолистной представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты товароведческого анализа плодов, листьев и корней моринды цитрусолистной.

Наименование показателя	Экспериментальные данные			Нормативные требования ГФ XIII
	плоды	листья	корни	
Влажность, %	4,69 ± 0,17	6,50 ± 0,19	8,22 ± 0,20	Менее 11 %
Зола общая, %	7,37 ± 0,11	8,53 ± 0,17	7,82 ± 0,18	Менее 11 %
Части сырья, утратившие окраску	0,00	0,36 ± 0,05	0,00	Не более 3 %
Другие части растения	0,00	0,00	0,00	Не более 2 %
Органические примеси, %	0,00	0,24 ± 0,02	0,20 ± 0,02	Не более 1 %
Минеральные примеси, %	0,18 ± 0,03	0,23 ± 0,02	0,42 ± 0,03	Не более 1 %

Выбор экстрагента играет важную роль в процессе экстракции, так как он определяет какие группы биологически активных веществ и в каком количестве перейдут в вытяжку. Исследование влияния природы экстрагента на выход экстрактивных веществ из сырья приведены на рисунке 1.



0 – вода очищенная; 40 – спирт этиловый 40%; 70 – спирт этиловый 70%; 96 – спирт этиловый 96%.

Рисунок 1. Влияние природы экстрагента на выход экстрактивных веществ из плодов, листьев и корней моринды цитрусолистной

Исследования показали, что наибольшее количество экстрактивных веществ извлекается из листьев и плодов при экстрагировании спиртом этиловым 40 %, а из корней – при экстрагирова-

нии спиртом этиловом 70 %. Полученные результаты были подтверждены УФ-спектрофотометрией извлечений из растительных субстанций.

Определены технологические показатели сырья. На основании анализа экспериментальных данных установлено, что исследуемое сырье обладает низкой насыпной массой.

Химические элементы и аминокислоты играют большую роль для всех физиологических процессов, протекающих в организме человека. Одной из возможностей своевременной коррекции нарушений элементного и аминокислотного гомеостаза в организме человека является использование лекарственных растений и суммарных извлечений из них.

В результате сравнительного изучения элементного состава сырья установлено, что в плодах, листьях и корнях имеется значительное количество калия, магния, кальция, кремния, натрия и железа, которые являются необходимыми для нормального функционирования и развития организма. Анализ содержания тяжелых металлов, таких как цезий, ртуть, мышьяк, свинец показал, что ртути в корнях не обнаружено, в то время как в плодах зафиксировано 0,29 мг/г, а в листьях 0,18 мг/г. Листья содержат большое количество свинца, порядка в 3 раза больше, чем в плодах и 9,5 раза больше, чем в корнях. Мышьяк содержат все части растения моринды цитрусолистной, наименьшее количество мышьяка в корнях, 0,01 мг на грамм сырья. Содержание тяжелых металлов и мышьяка в корнях моринды не превышает норм по ГФ XIII издания.

В результате изучения состава аминокислот установлено, что водные извлечения из корней, плодов и листьев моринды цитрусолистной содержат большее количество свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту по сравнению со спирто-водными извлечениями из вышеперечисленных частей растения (рисунок 2).

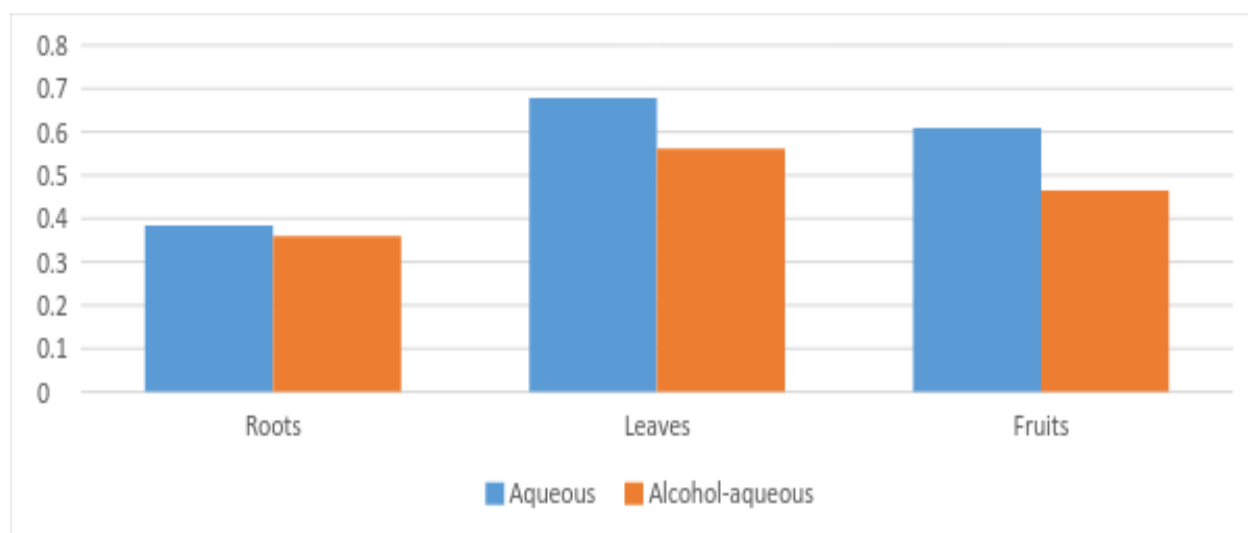


Рисунок 2. Суммарное содержание аминокислот в водных и спирто-водных извлечениях из различных частей моринды цитрусолистной (относительная ошибка результата отдельного определения не превышает 2%).

В результате проведенной фитохимической оценки содержания основных групп биологически активных веществ было установлено, что антрахиноны содержатся только в корнях, алкалоиды были обнаружены в корнях, листьях и плодах, дубильные соединения обнаружены в корнях и листьях, флавоноиды были обнаружены во всех органах растения, наибольшее количество флавоноидов содержится в корнях.

Исходя из результатов комплексной сравнительной оценки плодов, листьев и корней моринды цитрусолистной по накоплению БАВ, жизненно важных и токсичных элементов для дальнейших исследований в качестве лекарственного растительного сырья были выбраны корни.

Методом ТСХ в извлечениях из корней моринды цитрусолистной в сравнении с СО свидетелей идентифицированы рутин, кверцетин, апигенин.

Количественное определение содержания флавоноидов в извлечениях из корней проводили методом спектрофотометрии. Установлено, что содержание флавоноидов в пересчете на рутин составляет $2,046 \pm 0,133$ % (таблица 2).

Таблица 2. Результаты количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в извлечениях из корней моринды цитрусолистной

X(%)	$\bar{X}-X_i$	$(\bar{X}-X_i)^2$	Метрологические характеристики
2,039	-0,0073	0,00005	$\bar{X} = 2,046\%$ $\sum(\bar{X} - X)^2 = 0,00022$ $S_x = \sqrt{\frac{\sum(\bar{X} - X_i)^2}{n(n-1)}} = 0,0027$ $t_x = 2,57$ $\Delta x = S_x \cdot t_x = 0,007$ $\varepsilon = 0,1333\%$
2,041	-0,0053	0,00003	
2,051	0,0047	0,00002	
2,052	0,0057	0,00003	
2,041	-0,0053	0,00003	
2,054	0,0077	0,00006	
$\bar{X} = 2,046$		$\sum = 0,0854$	

Глава 4. Разработка технологии экстрагирования и получения сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

С целью определения оптимального режима экстракции корней моринды цитрусолистной нами исследовано влияние таких основных технологических факторов, как продолжительность настаивания, гидромодуль. В качестве экстрагента был взят 70% спирт, извлекающий, как нами было установлено наибольшее количество БАВ.

Результаты влияния гидромодуля (соотношение сырья и экстрагента 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50) и времени экстракции (20, 30, 60, 90, 120 минут) на выход экстрактивных веществ из сырья приведены в таблице 3.

Таблица 3. Влияние гидромодуля и времени экстракции на содержание экстрактивных веществ(%) в извлечениях из корней моринды цитрусолистной

Гидромодуль \ Время экстракции, минут	20	30	60	90	120
1:10	10,44±0,53	10,59±0,34	11,53±0,52	12,13±0,37	12,48±0,34
1:20	14,46± 0,32	15,53±0,50	16,51±0,46	17,07±0,16	17,46±0,32
1:30	16,63±0,55	17,20±0,15	19,25±0,41	20,67±0,63	21,05±0,63
1:40	17,2± 0,16	18,11±0,25	19,93±0,45	21,49±0,49	21,97±0,53
1:50	17,73± 0,45	18,69±0,48	20,16±0,41	21,86±0,52	22,64±0,29

Исследования показали, что количество извлеченных веществ прямо пропорционально времени экстрагирования. Однако после 90 минут экстракции переход их в экстрагент незначителен, не более 2,0%. Использование соотношения сырья к экстрагенту (1:30) обеспечивает высокий выход экстрактивных веществ.

Таким образом, установлены параметры получения извлечений из сырья: экстрагент 70%-ный этиловый спирт, соотношение сырье-экстрагент-1:30, продолжительность экстракции – 90 мин.

Сухой экстракт получали по следующей технологической схеме. Расчетное количество сырья, измельченного до размера частиц 1,0-1,5мм, загружали в экстрактор, заливали экстрагентом – спиртом 70% в соотношении сырьё: экстрагент 1:30 и экстрагировали в течение 90 минут. Полученная в разработанных условиях вытяжка из корней моринды цитрусолистной отстаивалась в течение 24-48 часов при температуре не выше 8°С для удаления балластных веществ, отфильтровывалась и направлялась на стадию сгущения на роторно-плёночном испарителе до густой консистенции. Сушку экстракта проводили в вакуум-сушильном шкафу при температуре (60- 65) °С при разряжении до остаточного влагосодержания в экстракте не более 5%. Сухой экстракт измельчали до основного размера частиц 0,5-1,0 мм.

Состав биоэлементов, входящих в фитопрепараты, играет важную роль в деятельности живого организма. Следовательно, определение элементного состава полученного сухого экстракта представляет интерес для оценки возможности его использования. В процессе исследований определены эссенциальные элементы (жизненно важные для человека) – К, Са, Р, Сr, Сu, Fe, Mg, Mn, Na, Se, Zn и потенциально токсичные Al, Ва, Cd, Pb, As (таблица 4).

Таблица 4. Результаты определения элементного состава сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

№ п/п	Образец Элементы	Сухой экс-тракт	Единица измерения	№ п/п	Образец Элементы	Сухой экс-тракт	Единица измерения
1	2	3	4	1	2	3	4
1	Бериллий	0,001	мкг/г	16	Цинк	648,511	мкг/г
2	Бор	10,077	мкг/г	17	Германий	0,194	мкг/г
3	Натрий	13370,150	мкг/г	18	Мышьяк	0,408	мкг/г
4	Магний	9375,205	мкг/г	19	Селен	0,105	мкг/г
5	Алюминий	179,425	мкг/г	20	Рубидий	45,178	мкг/г
6	Кремний	436,630	мкг/г	21	Стронций	11,597	мкг/г
7	Фосфор	7274,841	мкг/г	22	Молибден	2,565	мкг/г
8	Калий	60365,826	мкг/г	23	Серебро	<0,000	мкг/г
9	Кальций	2717,996	мкг/г	24	Кадмий	0,616	мкг/г
10	Ванадий	0,355	мкг/г	25	Олово	4,602	мкг/г
11	Хром	60,329	мкг/г	26	Йод	1,357	мкг/г
12	Марганец	100,334	мкг/г	29	Цезий	2,208	мкг/г
13	Железо	296,491	мкг/г	30	Барий	0,007	мкг/г
14	Кобальт	0,284	мкг/г	31	Талий	45,991	мкг/г
15	Никель	3,265	мкг/г	32	Свинец	3,511	мкг/г

Установлено, что сухой экстракт богат калием, кальцием, магнием, натрием, фосфором, кремнием и железом. Все перечисленные минералы полезны для человеческого организма, присутствие их в сухом экстракте является положительным фактором. Общее содержание тяжелых металлов в сухом экстракте составило 0,00417 мг/г, что удовлетворяет нормам содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственных растительных препаратах в соответствии с требованиями ГФ XIII издания.

В разработанных условиях наработаны 5 серий сухого экстракта моринды цитрусолистной корней и проведена их стандартизация в соответствии с требованиями ГФ XIII издания.

Методом ТСХ идентифицированы флавоноиды рутин, кверцетин и апигенин. Методом спектрофотометрии установлено содержание в сухом экстракте суммы флавоноидов, в пересчете на рутин $12,71 \pm 0,37$ (таблица 5).

Таблица 5. Результаты количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сухом экстракте моринды цитрусолистной корней

X(%)	$\bar{X}-X_i$	$(\bar{X}-X_i)^2$	Метрологические характеристики
12,67	-0,04	0,0016	$\bar{X} = 12,71\%$ $\sum(\bar{X} - X)^2 = 0,0112$ $S_x = \sqrt{\frac{\sum(\bar{X} - X_i)^2}{n(n-1)}} = 0,019$
12,70	-0,01	0,0001	
12,80	0,09	0,0081	
12,68	-0,03	0,0009	

X(%)	$\bar{X}-X_i$	$(\bar{X}-X_i)^2$	Метрологические характеристики
12,72	0,01	0,0001	$t_x = 2,57$ $\Delta x = S_x \cdot t_x = 0,049$ $\varepsilon = 0,37$
12,69	-0,02	0,0004	
X=12,71		$\Sigma=0,0112$	

На основании проведенного комплекса исследований были определены основные показатели качества, представленные в таблице 6.

Таблица 6. Спецификация показателей качества сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

Тесты	Методы	Нормы	Экспериментальные значения
Описание	Визуально	Порошок темно-коричневого цвета, со специфическим запахом	Порошок темно-коричневого цвета, со специфическим запахом
Подлинность флавоноидов	ТСХ ГФХШ	Не менее трех пятен с Rf 0,64, 0,79 и 0,90, соответствующие флавоноидам	Не менее трех пятен с Rf 0,64, 0,79 и 0,90, соответствующие флавоноидам
Тяжелые металлы, %	ГФХШ	Не более 0,01	0,00417
Количественное содержание флавоноидов, %	Спектрофотометрический ГФХШ	Не менее 12	12,71± 0,37
Потеря в массе при высушивании, %	ГФХШ	Не более 5,0	1,81± 0,47
Микробиологическая чистота	ГФХШ	Категория ЗБ	Соответствует
Масса (объем) содержимого упаковки	По 100 г в герметичную полимерную тару с широким горлышком на 150 мл		
Хранение	В защищенном от света месте при температуре от 15 °С до 25 °С		
Срок годности	2 года		

Была проведена оценка фармакологической активности полученного сухого экстракта моринды цитрусолистной корней. Из данных литературы следует, что сырье моринды цитрусолистной обладает широким спектром фармакологической активности, в частности его применяют в качестве противодиабетического средства. В связи с этим представляло интерес провести сравни-

тельную оценку гипогликемической активности полученного сухого экстракта с плодами и листьями моринды цитрусолистной. Выявление гипогликемической активности было проведено на модели эпинефриновой (адреналиновой) гипергликемии. Установлено, что сухой экстракт моринды цитрусолистной корней обладает выраженной гипогликемической активностью, плоды – умеренной гипогликемической активностью, листья гипогликемического действия не оказывают.

Глава 5. Разработка состава и технологии гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твёрдых желатиновых капсулах

На основании предварительных исследований, а также с целью повышения удобства дозирования и применения, увеличения биодоступности действующих веществ и устойчивости экстрактов к воздействию внешних факторов, в качестве лекарственной формы нами были выбраны гранулы в твердых желатиновых капсулах.

Для улучшения технологических и физико-химических показателей сухого экстракта моринды цитрусолистной в качестве вспомогательного вещества добавлена лактоза в соотношении 1:1. Гранулы получали 2 способами. По 1 способу проводили влажную грануляцию, с этой целью к сухому экстракту добавляли лактозу, в качестве увлажнителя использовали воду очищенную. Затем высушивали до остаточного содержания влаги не более 2 %. По 2 способу лактозу добавляли на стадии сушки сгущенной вытяжки и сушили также до остаточного содержания влаги не более 2%. Полученные гранулы калибровали через сита с размером 0,5, 1,0 и 3,0 мм. По технологическим характеристикам полученные по 2 способам гранулы практически не отличались. Основные технологические характеристики гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней приведены в таблице 7.

Таблица 7. Основные технологические характеристики гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней с лактозой (1:1)

Фракционный состав	Насыпная масса, г/см³	Сыпучесть, г/с	Остаточное влагосодержание, %
0-0,5 мм – 5,1%	0,826±0,020	1,4±0,3	0,73±0,2
0,5-1,0мм – 90,2%	0,548±0,030	3,8± 0,2	0,74±0,1
1,0-3,0мм – 4,7%	0,56±0,010	4.9±0,1	0,75±0,1

Были проведены исследования гигроскопичности полученных гранул сухого экстракта с использованием растворов: калия карбоната (влажность 43,9%), натрия хлорида (влажность 75,5%) и воды (влажность 100%). Результаты представлены на рисунке 3.

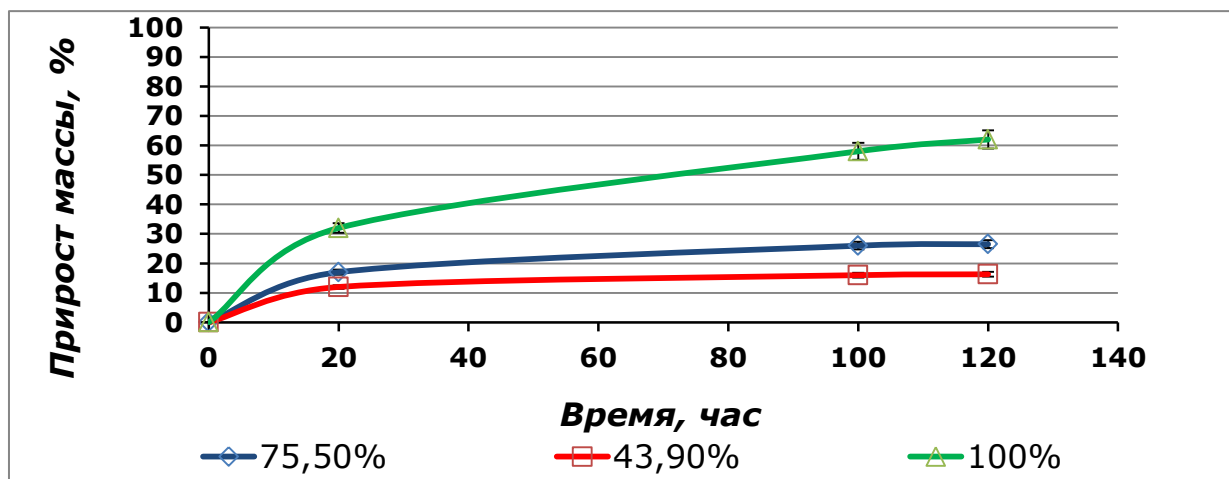


Рисунок 3. Зависимость изменения массы гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной с лактозой (1:1) от времени в условиях заданной влажности

Анализируя полученные данные, представленные в таблице 7 и на рисунке 3, можно сделать вывод, что полученные гранулы соответствуют физико-химическим и технологическим требованиям и могут использоваться в дальнейшем для заполнения твердых желатиновых капсул.

Таким образом, на основании полученных данных оптимальным составом гранул является следующий, представленный в таблице 8.

Таблица 8. Состав гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

Компонент	Содержание, %
Сухой экстракт моринды цитрусолистной корней	50,
Лактоза моногидрат	50

Технологическая схема получения гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах представлена в Приложении.

Была проведена стандартизация гранул с учетом требований общей статьи ОФС 1.4.1.0004.15 «Гранулы» ГФ XIII издания (таблица 9).

Таблица 9. Показатели качества гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

Тесты	Методы	Нормы	Экспериментальные значения
Описание	Визуально	Гранулы круглой, цилиндрической или неправильной формы однородные по цвету	гранулы круглой формы бежевого цвета
Размер гранул	ГФ XIII	От 0,2 до 3,0 мм	От 0,5 до 1,0 мм
Подлинность флавоноидов	ТСХ ГФ XIII	Не менее трех пятен с Rf 0,64, 0,79 и 0,90, соответствующие флавоноидам	Не менее трех пятен с Rf 0,64, 0,79 и 0,90, соответствующие флавоноидам

Тесты	Методы	Нормы	Экспериментальные значения
Количественное содержание флавоноидов, %	Спектрофотометрический ГФ XIII	Не менее 12	12,71± 0,37
Потеря в массе при высушивании, %	ГФ XIII	Не более 5,0	1,81± 0,47
Распадаемость, мин	ГФ XIII	в течение 15 мин	6-10мин
Растворение, %	ГФ XIII	Не менее 75% в течение 30 мин	97,3±1,4
Тяжелые металлы, %	ГФ XIII	Не более 0,01	0,00417
Упаковка	В банках оранжевого стекла с навинчивающимися крышками		
Хранение	В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С		
Срок годности	2 года		

Определение показателей качества готовой лекарственной формы – гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах проводили с учетом требований общей статьи ОФС 1.4.1.0005.15 «Капсулы» ГФ XIII издания .

Для изучения биодоступности капсул с гранулами сухого экстракта моринды цитрусолистной корней «in vitro» был использован тест «растворение», проведенный согласно требованиям ОФС 1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» ГФ XIII издания в приборе типа «вращающаяся корзинка», среда растворения – вода очищенная, скорость вращения корзинки – 100 об/мин. При этом определяли количество высвободившихся флавоноидов из гранул (рисунок 4).

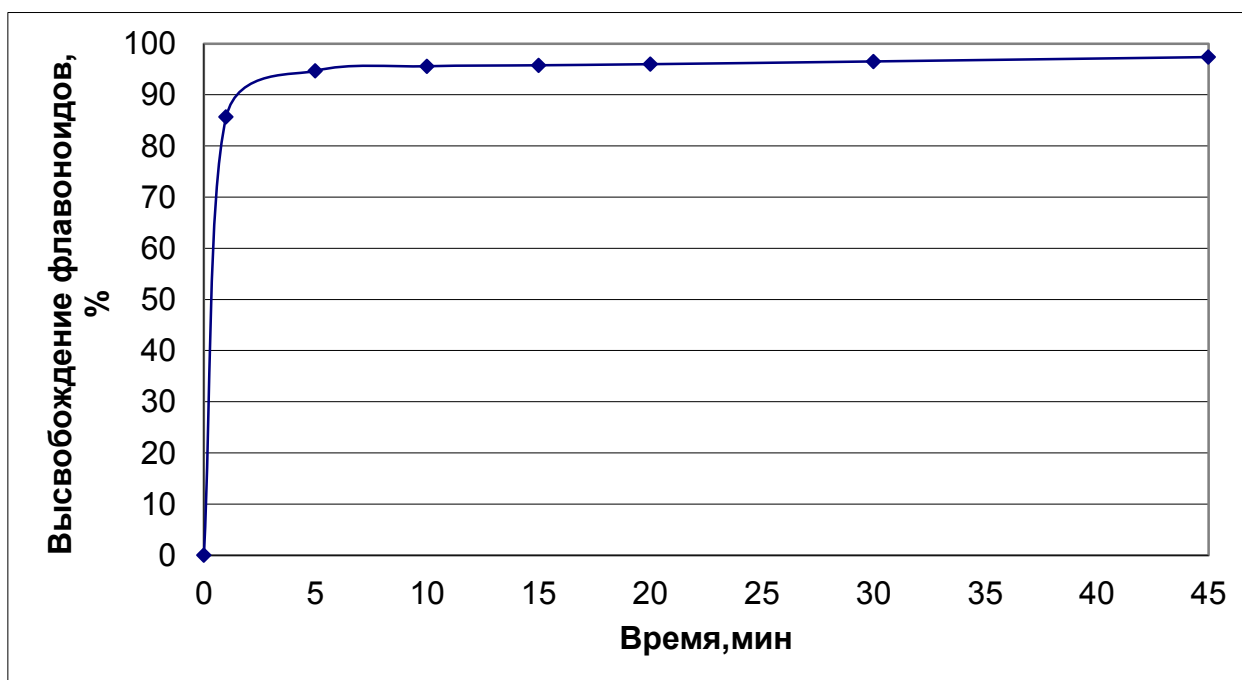


Рисунок 4. Зависимость выхода действующего вещества от времени

Выход действующих веществ из капсул составляет 95-97% за 5-10 мин, что соответствует требованиям ГФ XIII издания.

Была изучена влагопоглощающая способность капсул с гранулами сухого экстракта моринды цитрусолистной корней при относительной влажности воздуха 75 %. Результаты исследований приведены на рисунке 5.

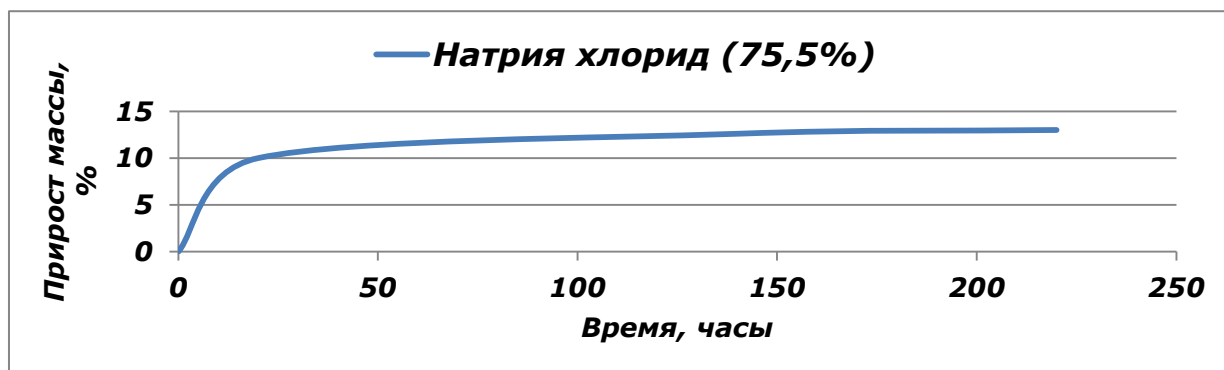


Рисунок 5. Зависимость влагопоглощения капсул от времени

На основании анализа данных, представленных на рисунке 5, установлено, что капсулы с гранулами сухого экстракта моринды цитрусолистной корней практически не поглощают влаги.

Изучение стабильности капсул в процессе хранения проводили на пяти сериях лекарственного препарата, полученных из разных партий субстанции. Оценку качества капсул проводили по показателям качества, таким как описание, подлинность, средняя масса капсул, распадаемость, растворение и количественное определение. Срок годности капсул с гранулами сухого экстракта моринды цитрусолистной корней был предварительно определен «методом ускоренного старения», который составил 2 года. Для подтверждения установленного срока продолжено изучение стабильности капсул с гранулами сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в условиях долгосрочных испытаний в течение заявленного срока годности. Установлено, что капсулы с гранулами сухого экстракта моринды цитрусолистной корней остаются стабильными 2 года – срок наблюдений.

Таким образом, в результате проведенного комплекса исследований предложены показатели качества гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней в твердых желатиновых капсулах (таблица 10).

Таблица 10. Спецификация показателей качества капсул с гранулами сухого экстракта моринды цитрусолистной корней

Тесты	Методы	Нормы	Экспериментальные значения
Описание	Визуально	светло-желтые капсулы, размером 00	соответствует
Подлинность флавоноидов	ТСХ ГФ XIII	Не менее трех пятен с Rf 0,64, 0,79 и 0,90, соответствующие флавоноидам	Не менее трех пятен с Rf 0,64, 0,79, 0,90, соответствующие флавоноидам
Однородность массы дозирования, %	ГФ XIII	Допустимое отклонение 7,5%	соответствует
Содержание флавоноидов в капсуле считая на среднюю массу одной капсулы, мг	Спектрофотометрический ГФ XIII	Не менее 37 мг	соответствует
Потеря в массе при высушивании, %	ГФ XIII	Не более 5,0	1,81± 0,47
Распадаемость, мин	ГФ XIII	в течение 15 мин	6-10 мин
Растворение, %	ГФ XIII	Не менее 75% в течение 30 мин	97,4±1,4
Тяжелые металлы, %	ГФ XIII	Не более 0,01	0,00417
Упаковка	В банках оранжевого стекла с навинчивающимися крышками		
Хранение	В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 15 °С		
Срок годности	2 года		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

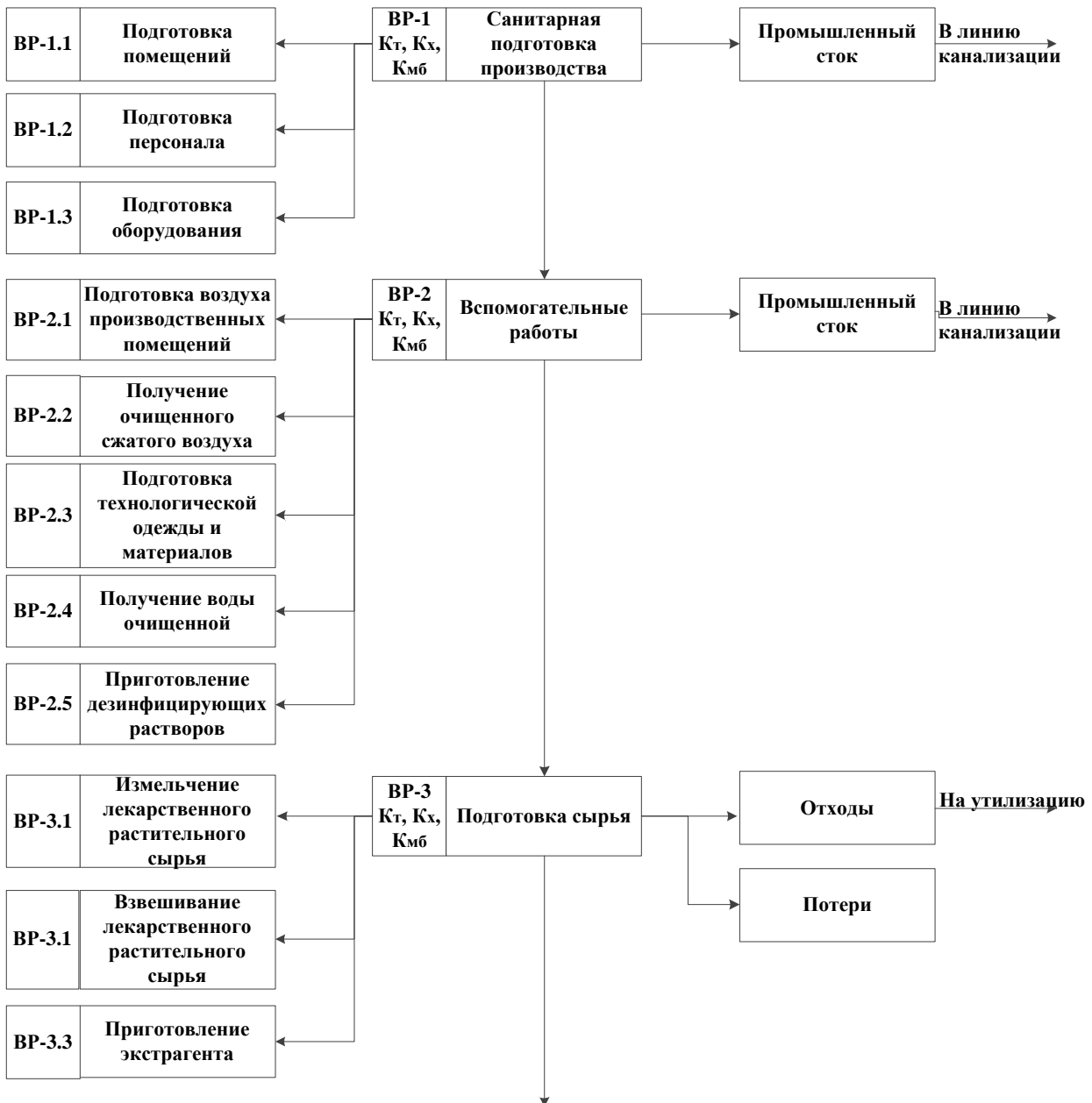
Итоги диссертационной работы сводятся к следующим основным положениям:

1. Впервые проведено сравнительное фитохимическое изучение корней, листьев и плодов моринды цитрусолистной, заготовленных на территории государства Гана. На основании полученных результатов установлены показатели качества лекарственного растительного сырья. Установлено, что в плодах, листьях, корнях и сухом экстракте имеется значительное количество калия, магния, кальция, кремния, натрия и железа, являющихся жизненно важными элементами. Анализ содержания тяжелых металлов, показал, что ртути в корнях не содержится. Мышьяк содержат все части растения моринды цитрусолистной, наименьшее количество мышьяка в корнях.
2. Исследованы особенности и установлены закономерности экстрагирования корней, листьев и плодов моринды цитрусолистной различными спирто-водными экстрагентами. С использованием УФ-спектрометрии установлено, что спиртоводный экстрагент в концентрации 40% извлекает большее количество экстрактивных веществ из листьев и плодов, а спиртоводный экстрагент в концентрации 70% – из корней. Разработаны режимы экстрагирования суммы флавоноидов из корней моринды цитрусолистной
3. Впервые разработана технология сухого экстракта моринды цитрусолистной корнями с содержанием суммы флавоноидов не менее 12%. В экстракте идентифицированы индивидуальные флавоноиды – рутин, кверцетин и атегинин. Предложены основные показатели качества сухого экстракта.
4. Разработаны состав и технология гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корнями в твердых желатиновых капсулах. Предложены основные показатели качества. Установлен срок годности лекарственного средства на основе сухого экстракта моринды цитрусолистной корнями - 2 года.
5. Предложена технологическая схема получения гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корнями в твердых желатиновых капсулах.
6. Разработаны НД (Спецификации качества) на полупродукт- сухой экстракт моринды цитрусолистной корнями – и лекарственное средство-гранулы сухого экстракта в твердых желатиновых капсулах.

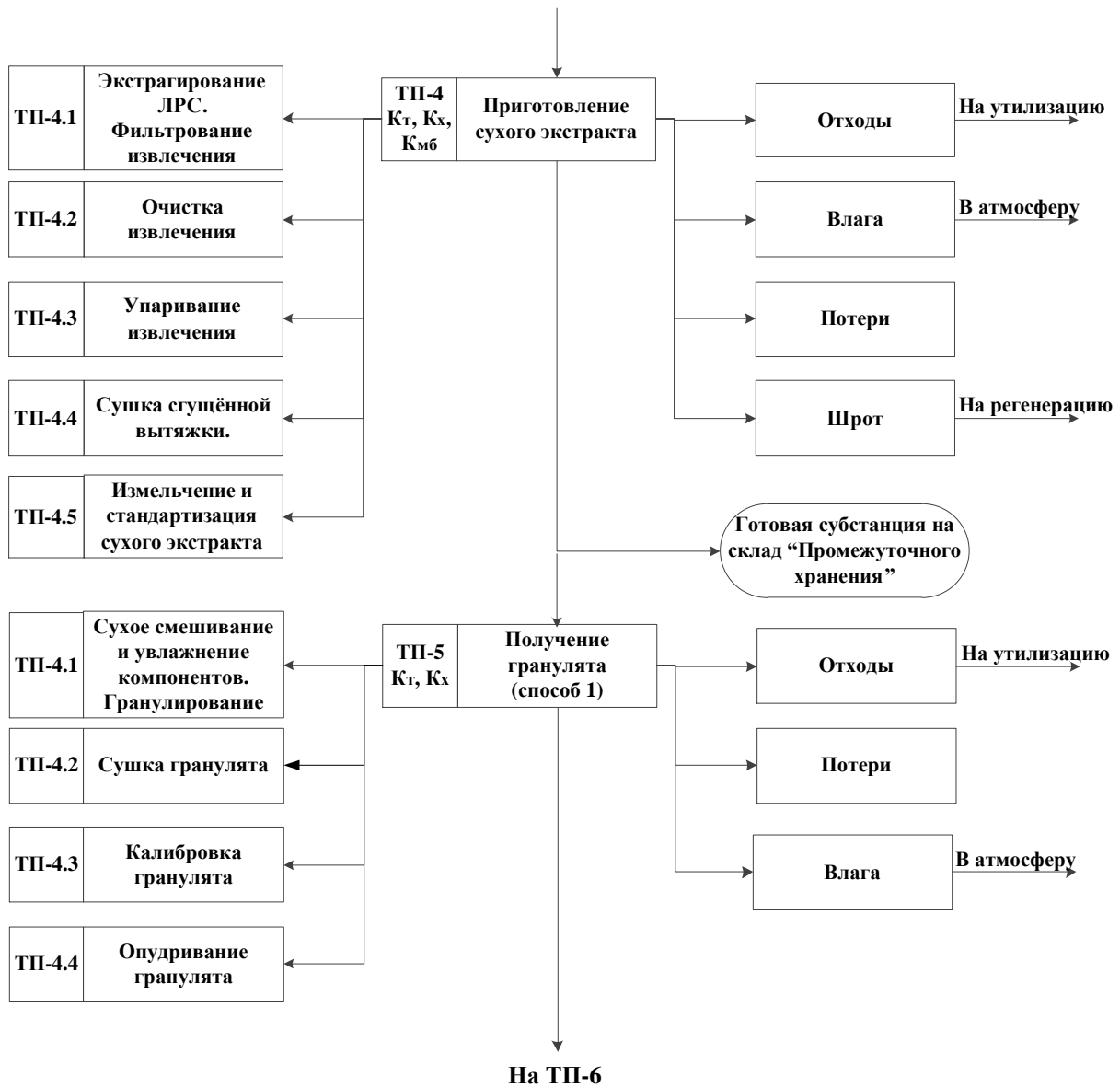
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Morinda Citrifolia* is a promising medicinal plant raw material for the production of herbal remedies / I.E. Kaukhova, **R.K. Agbadi**, S.A. Minina, A.U. Kutlushina // *Фармация*. – 2017. – №4. – С. 25-27.
2. **Агбади, Р.К.** Разработка технологии сухого экстракта моринды цитрусолистной корней / **Р.К. Агбади**, И.Е. Каухова, В.А. Вайнштейн, С.А. Минина, М.В. Яковлева, М.А. Власенко, А.У. Кутлушина // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. – 2017. – № 3(20). – С. 57-59.
3. **Agbadi, R. K.** Quantitative and Qualitative Analyses of Amino acids in *Morinda citrifolia* (Rubiaceae) / **R. K.Agбadi**, I. E. Kaukhova, I. I. Terninko, T. I Sirichenko. // *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. – 2017. – № 9 (7). – P. 980-984.
4. Explosive Boiling Technology as the intensification process of extraction of medicinal plants / V.V. Sorokin, I.E. Kaukhova, **R.K. Agbadi** // «Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии». – 2015 г. – Т. 13. – С. 89.
5. **Agbadi, R. K.** A comparative investigation of the elemental compositions of the fruits, leaves and roots of *Morinda citrifolia* / **R. K.Agбadi**, I. E. Kaukhova // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2016. – Т. 14. – С. 7.
6. **Агбади, К.Р.** Моринда цитрусолистная – лекарственное сырье в производстве фитопрепаратов/ **К.Р. Агбади**, А.У. Кутлушина //Сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 25-26 апреля 2016 г. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2016. – С. 377-379.
7. **Агбади, Р.К.** Сравнение токсичности минеральных составов плодов, листьев и корней в сырье Моринда цитрусолистная (*Morinda citrifolia* L) / **Р.К. Агбади**, И.Е. Каухова //Сборник материалов IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации», Санкт-Петербург, 9-10 ноября 2016 г. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2016. – С. 506-509.
8. **Агбади, Р.К.** Разработка технологии экстракта на основе моринды цитрусолистной / **Р. К. Агбади**, И.Е. Каухова // Сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, апрель 2017 г. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2017. – С. 377-379.

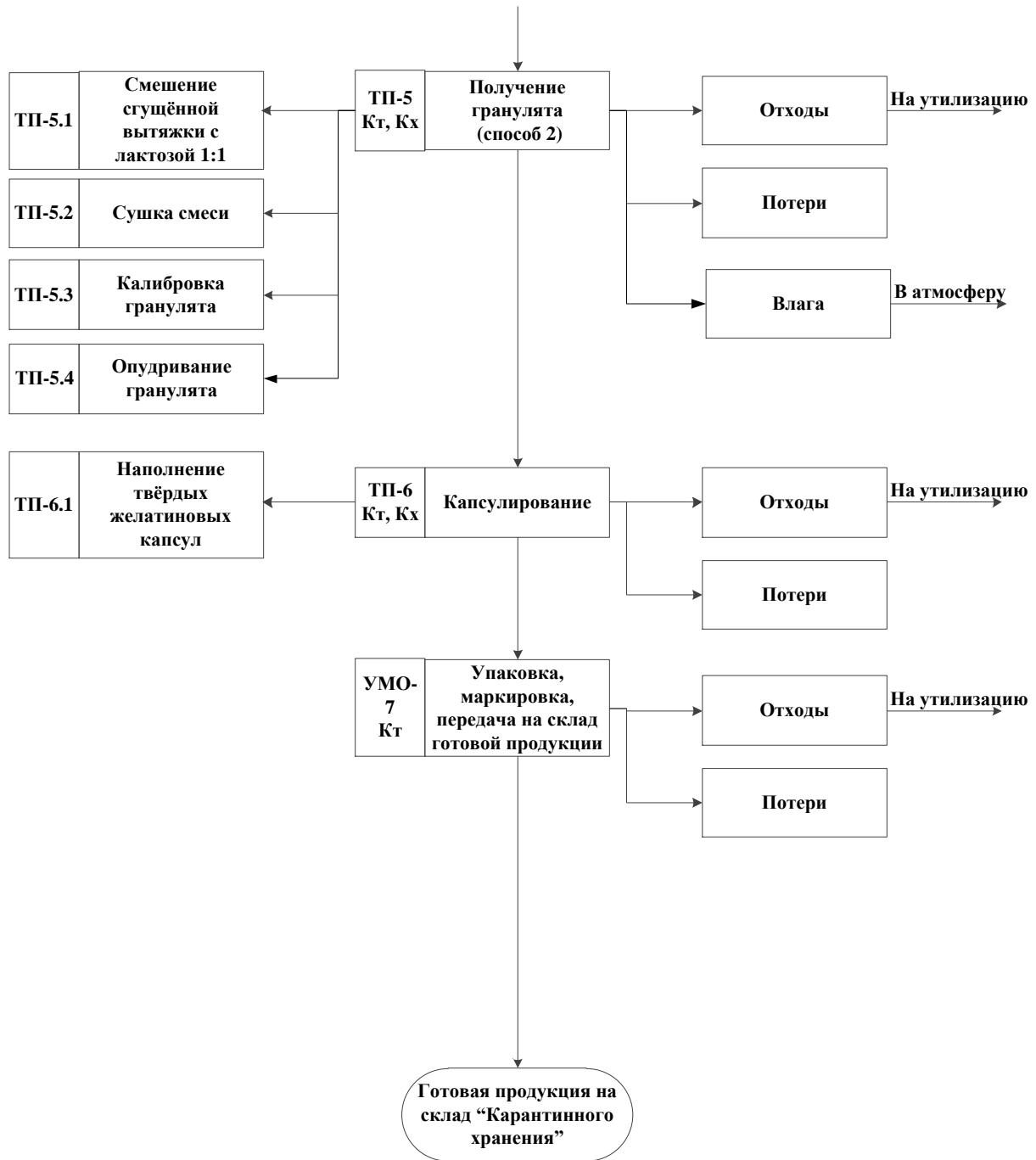
Технологическая схема производства гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней
в твёрдых желатиновых капсулах



Технологическая схема производства гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней
в твёрдых желатиновых капсулах (продолжение)



Технологическая схема производства гранул сухого экстракта моринды цитрусолистной корней
в твёрдых желатиновых капсулах (продолжение)



Кт – контроль технологический;
Кх – контроль химический;
Кмб – контроль микробиологический.