

*На правах рукописи*



**Рудь Наталья Каремовна**

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ  
ИЗ СЕМЯН ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ  
И НОРМИРОВАНИЕ ИХ КАЧЕСТВА**

**14.04.01 – технология получения лекарств**

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Краснодар – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

**Сампиев Абдумуталип** доктор фармацевтических наук, профессор  
**Магаметович**

Официальные оппоненты:

**Молохова Елена Игоревна** доктор фармацевтических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии

**Шикова Юлия Витальевна** доктор фармацевтических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой фармацевтической технологии с курсом биотехнологии

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «1» октября 2019 года в 16.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.088.01, созданного на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России (197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А).

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

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 208.088.01,  
кандидат фармацевтических наук, доцент



Орлов А.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Семена чернушки посевной (СЧП) хорошо известны в народной медицине и применяются при самых различных заболеваниях (Pan Botnick et al., 2012). Такой широкий спектр применения чернушки обусловлен уникальным составом содержащихся в ней биологически активных веществ (БАВ), к наиболее значимым из которых относятся эссенциальные жирные кислоты и тимохинон (Т.В. Орловская, 2011; Yasser A. Mahmmoud et al., 2011; С.Ю. Маширова и др., 2012; Jrah Harzallah Hanene et al., 2012). Экспериментально доказано наличие у жирных кислот и тимохинона выраженного антиоксидантного и гепатопротекторного действия (Abdal basit Adam Mariod et al., 2009; Herman Lutterodt et al., 2010; M. Viuda-Martos et al., 2011; Pan Botnick et al., 2012). Существенную ценность семян чернушки определяют также ее полярные БАВ: аминокислоты, фенольные соединения, органические кислоты, обладающие, преимущественно, гепатопротекторным и желчегонным свойствами (Soumaya Bourgou et al., 2008; С.Ю. Маширова и др., 2012; Pan Botnick et al., 2012). Единственным продуктом переработки СЧП является жирное масло («Масло черного тмина», «Масло нигеллы»), которое применяется как биологически активная добавка (БАД) к пище. Используемая для его производства технология холодного отжима позволяет сосредоточить в готовом продукте лишь гидрофобные группы БАВ, в частности, жирные кислоты. Что же касается полярных БАВ, то они остаются в шроте невостребованными (А.Н. Шиков и др., 2004; Muxammad Tauseef Sultan et al., 2009). Более того, один из главных активных компонентов чернушки – тимохинон, обнаруживается в масле лишь в минорном количестве (B. Nickavar et al., 2003; Muxammad Tauseef Sultan et al., 2009; Pan Botnick et al., 2012). По этим причинам жирное масло СЧП не может быть рассмотрено в качестве потенциального лекарственного средства из этого растительного сырья.

Принимая во внимание ценность как неполярных, так и полярных веществ СЧП, целесообразно получение из них фармацевтической субстанции, сочетающей в себе всю гамму необходимых БАВ. Важным также является придание такой субстанции, с учетом ее химического состава и возможной области медицинского применения, подходящей лекарственной формы.

Таким образом, разработка технологии получения лекарственных средств – фармацевтической субстанции из СЧП, содержащей разнополярные БАВ, и ее лекарственной формы, представляется актуальным для фармации исследованием.

**Степень разработанности темы.** В настоящее время имеются результаты исследований и достаточно подробно представлены сведения о фармакологических свойствах и фитохимическом составе (M. Zagnat, 2004; Padmaa, M Paarakh, 2010; Т.В. Орловская, 2011; С.Ю. Маширова и др., 2012; Jrah Harzallah Hanene et al., 2012; Aftab Ahmad et al., 2013) чернушки посевной. Однако, проведенные исследования не были изначально нацелены на разработку лекарственных средств из этого растительного сырья. Причиной отсутствия лекарственного средства из

СЧП явилась также сложность сочетания в одном фармацевтическом продукте необходимых, но разнополярных БАВ. Не случайно жирное масло СЧП, ограниченное по химическому составу лишь гидрофобными БАВ, не раскрывает всего фармакотерапевтического потенциала этого растительного сырья и используется только как БАД к пище (B. Nickavar et al., 2003; А.Н. Шиков и др., 2004; Muxammad Tauseef Sultan et al., 2009).

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящего исследования являлась разработка технологии получения фармацевтической субстанции из семян чернушки посевной, ее лекарственной формы и нормирование их качества.

Для реализации поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- провести сравнительное изучение основных групп БАВ семян чернушки посевной, заготовленных в различных регионах, нормирование качества семян чернушки посевной для использования полученных результатов в разработке лекарственных средств из этого растительного сырья;
- обосновать целесообразность использования для получения фармацевтической субстанции из семян чернушки посевной способа сверхкритической углекислотной экстракции;
- разработать технологию получения сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной, ориентированную на ведущие БАВ;
- предложить нормы качества для разработанного сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной, установить сроки его хранения;
- разработать состав и технологию получения лекарственной формы -мягкие желатиновые капсулы сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной, установить сроки хранения предлагаемого лекарственного средства.

**Научная новизна.** Установлено, что оптимальной фармацевтической субстанцией из СЧП является сверхкритический углекислотный экстракт, который выгодно отличается от жирного масла этого растительного сырья наличием не только гидрофобных БАВ, но и необходимых полярных веществ, а главное – на порядок более высоким содержанием основного действующего вещества – тимохинона.

Определены рациональные технологические режимы сверхкритической углекислотной экстракции для извлечения и оптимального количественного содержания в фармацевтической субстанции действующих и других ведущих БАВ из семян чернушки посевной. Показана возможность варьированием технологических режимов сверхкритической углекислотной экстракции управлять химическим составом получаемой фармацевтической субстанции из СЧП и, соответственно, прогнозировать ее фармакотерапевтические свойства. Предложены и нормированы показатели качества полученного сверхкритического углекислотного экстракта из СЧП, определены сроки его хранения.

С учетом фармакологических и физико-химических свойств входящих БАВ, а также технологических особенностей фармацевтической субстанции из СЧП разработан состав и способ получения мягких капсул сверхкритического углекислот-

ного экстракта. Проведено нормирование качества разработанной лекарственной формы, установлены сроки ее хранения.

Впервые для количественного определения тимохинона использован метод капиллярного электрофореза, основным преимуществом которого, в отличие от применяемого метода ВЭЖХ, является экспрессность, практическое отсутствие применения дорогостоящих и высокотоксичных растворителей. Предложена и валидирована электрофоретическая методика количественного определения тимохинона в сырье и в лекарственных средствах из чернушки посевной.

Способ определения тимохинона методом капиллярного электрофореза защищен патентом на изобретение (№2571499 от 21.10.2015г).

**Теоретическая и практическая значимость.** На примере технологии фармацевтической субстанции из СЧП показана возможность использования сверхкритической углекислотной экстракции для получения фитопрепаратов, сочетающих в себе разнополярные БАВ. Расширены знания в области технологии получения флюидных фитоэкстрактов, процесса и особенностей диффузии разных по полярности БАВ при сверхкритической углекислотной экстракции. Полученные результаты исследования по сверхкритической углекислотной экстракции семян чернушки могут способствовать внедрению этого способа для производства растительных лекарственных средств на специализированных фармацевтических предприятиях.

Проведенные фитохимические исследования СЧП, заготовленных на Юге России, в сравнительной оценке с импортируемым сырьем выявили их сопоставимость по составу ценных БАВ и возможность использования отечественного сырья для получения лекарственных средств.

По результатам исследований разработан лабораторный регламент на производство «Чернушки посевной экстракта сверхкритического углекислотного» (15.01.2015г), проекты фармакопейных статей предприятия «Чернушки посевной экстракт углекислотный сверхкритический» и «Чернушки посевной экстракта углекислотного сверхкритического капсулы 250 мг» (акты внедрения ООО НИЦ ЭР «ГОРО» от 20.12.2018г и 24.01.2019г). Технология получения сверхкритического углекислотного экстракта семян чернушки апробирована в условиях научно-исследовательского центра экологических ресурсов «ГОРО» (акт апробации 19.02.2019г). Технология получения и методы оценки качества мягкой капсулированной формы со сверхкритическим углекислотным экстрактом из семян чернушки посевной апробированы в условиях ООО «ИНТЕХПРОЕКТ» (акт апробации 28.03.2019г). Материалы диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармации ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России (акт внедрения от 11.05.2015г), кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПХФУ (акт внедрения от 31.05.2019г).

**Методология и методы исследования.** В основе работы использована методология разработки оригинальных суммарных фитопрепаратов на основе выявле-

ния действующих веществ и ориентация на них технологии получения и нормирования качества.

В диссертационном исследовании применяли методы фармацевтического и биофармацевтического анализа, а также технологические и математические.

Дизайн исследования отражает структуру и последовательность выполнения всех этапов диссертационной работы.

**Связь исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в рамках темы НИР ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России «Создание оригинальных и модернизация применяемых в медицине суммарных фитопрепаратов на основе методологии выявления действующих веществ» (№ гос. регистрации 01201250744).

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- результаты сравнительного изучения фитохимического состава основных групп БАВ семян чернушки посевной, заготовленных в различных регионах, и определение показателей качества;
- обоснование использования для получения фармацевтической субстанции из семян чернушки посевной способа сверхкритической углекислотной экстракции;
- результаты исследования по разработке технологии получения сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной и нормы его качества;
- результаты по разработке состава и технологии получения лекарственной формы сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной и нормы качества.

**Степень достоверности и апробация работы.** Достоверность полученных результатов диссертационной работы подтверждена применением современных физических, физико-химических, химических, а также технологических, биофармацевтических и математических методов. Результаты полученных исследований были подвергнуты статистической обработке.

Материалы диссертационной работы доложены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 45-летию фармацевтического факультета КГМУ (Курск, 2011г); 1-ой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва, 2013г); II международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом» (Новосибирск, 2015г); X Международной научно-практической конференции: «**Теоретические и практические аспекты развития научной мысли: Медицинские науки, Фармацевтические науки, Ветеринарные науки, Биологические науки, Химические науки**» (Москва, 2015г).

По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК.

**Личный вклад автора.** Результаты исследований, представленные в диссертационной работе, получены автором лично. При непосредственном участии

автора проведены фитохимические исследования, разработана технология лекарственных средств из СЧП (фармацевтической субстанции и ее капсулированной лекарственной формы) и проведено нормирование их качества. Автор является основным разработчиком нормативной документации на семена чернушки, сверхкритический углекислотный экстракт и его содержащие мягкие капсулы, а также главным исполнителем при написании научных статей.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 180 страницах текста компьютерного набора и состоит из обзора литературы, 4-х глав собственных исследований, общих выводов, заключения, списка литературы, включающего 209 источников, в том числе 87 иностранных; содержит 40 таблиц, 25 рисунков.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава 1. Современное состояние исследований в области химии, фармакологии и применения чернушки посевной (обзор литературы)**

В главе представлены научные сведения о химическом составе, фармакологических свойствах и успешном применении в народной медицине СЧП. Уточнены основные вещества СЧП (жирные кислоты, тимохинон, гидрофильные БАВ), обуславливающие ее антиоксидантные, желчегонные и гепатопротекторные свойства. Показана перспективность создания из СЧП лекарственных средств с содержанием разнополярных БАВ в виде мягких желатиновых капсул для лечения патологий гепатобилиарной системы. Отмечено, в том числе на примере масла черного тмина, что получение фармацевтической субстанции из СЧП с содержанием разнополярных БАВ традиционными экстракционными технологиями затруднительно.

### **Глава 2. Объекты, материалы и методики исследований**

В экспериментальных исследованиях использовали СЧП, собранные и заготовленные в разных районах Краснодарского края и Республики Адыгея, а также импортируемые в Россию коммерческие образцы. Для отдельных сравнительных испытаний применяли масло черного тмина. Постановка эксперимента осуществлялась посредством физических, химических, физико-химических, а также технологических, биофармацевтических и математических методов.

Материалы, методики и дизайн исследования, представленные в главе 2, позволили решить задачи диссертационной работы, обеспечили достаточную степень точности и достоверности полученных результатов.

### **Глава 3. Сравнительное фитохимическое исследование и нормирование качества семян чернушки посевной, заготовленных в различных регионах**

Для научно-обоснованной разработки технологии получения из СЧП фармацевтической субстанции и лекарственной формы на ее основе, необходимо было провести нормирование качества растительного сырья. Для изучения состава БАВ сырья СЧП, заготовленного в различных регионах, был преимущественно применен метод капиллярного электрофореза (КЭФ), позволяющий проводить изучение

как БАВ гидрофильной природы, так и некоторых гидрофобных соединений (таблица 1). С использованием данного метода впервые было проведено определение тимохинона. Разработанная электрофоретическая методика количественного определения тимохинона в СЧП валидирована по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность.

**Таблица 1 – Содержание биологически активных веществ в семенах чернушки посевной заготовленных в различных регионах**

Группы БАВ	Количественное содержание в абсолютно-сухом сырье				
	образец 1	образец 2	образец 3	образец 4	образец 5
Хиноны (тимохинон),%	1,13±0,04	1,25±0,03	1,19±0,04	1,28±0,05	1,16±0,04
Аминокислоты, г/кг: свободные гидролизуемые	145,09±4,01 20,93±0,57	142,82±4,17 19,96±0,57	140,09±4,14 20,2±0,6	100,17±2,88 18,28±0,56	104,57±2,99 17,79±0,49
Флавоноиды (рутин) и фенолкарбоновые кислоты (хлорогеновая, кофейная, галловая, прокатеховая), мг/кг	513±14,90	488±13,98	523±15,1	585±17,53	605±17,73
Сумма окисляемых фенольных соединений, %	2,18±0,04	1,89±0,03	1,95±0,05	2,07±0,03	1,73±0,02
Органические кислоты, %	1,79±0,03	1,65±0,04	1,72±0,05	1,44±0,02	1,51±0,04
Минеральные вещества, мг/кг	5960±172	5931±165	5918±170	6948±195	7336±204

Согласно данным, отраженным в таблице 1, видно, что состав ведущих БАВ в СЧП, произрастающей на территории России (образцы 1-3) и импортируемой из Индии (образец 4) и Сирии (образец 5) сопоставим.

Методом газожидкостной хроматографии в СЧП был исследован жирнокислотный состав, включающий миристиновую, пальмитиновую, стеариновую, арахидиновую, пальмитоолеиновую, олеиновую, линолевою и линоленовую кислоты. В СЧП установлена суммарная концентрация каротиноидов (1,83-2,02 мг%) и хлорофиллов (5,62-5,93 мг%).

По результатам проведенного исследования были установлены показатели и нормы качества для СЧП, среди которых основными являются «Количественное определение тимохинона» (не менее 1,0%), а также предложен для характеристики суммы липофильных БАВ показатель «Экстрактивные вещества, извлекаемые хлороформом» (не менее 30,0%).



#### **Глава 4. Разработка технологии получения фармацевтической субстанции из семян чернушки посевной сверхкритической углекислотной экстракцией**

Сверхкритическая углекислотная экстракция (СУЭ) является одной из прогрессивных технологий, активно развивающихся и внедряющихся в отечественную фармацевтическую промышленность с целью производства качественных, эффективных и безопасных фитопрепаратов. Наряду со многими достоинствами СУЭ есть еще одно, очень важное преимущество использования углекислоты как экстрагента: она может извлечь из растительного сырья разные по полярности БАВ в зависимости от заданных параметров температуры и давления экстракции. С учетом ценности гидрофобных и гидрофильных БАВ семян чернушки посевной, способ СУЭ был рассмотрен для получения фармацевтической субстанции из данного сырья.

С целью разработки технологии получения сверхкритического экстракта из СЧП в качестве основных варьируемых параметров СУЭ был обоснован выбор температуры и давления. Выход сверхкритических углекислотных экстрактов (СУЭЧП) в зависимости от используемых значений температуры и давления представлен в таблице 2.

**Таблица 2 – Выход (%) сверхкритических углекислотных экстрактов чернушки посевной в зависимости от параметров флюидной экстракции**

№ п/п СУЭЧП	Параметры экстракции		Выход СУЭЧП, %
	Температура, °С	Давление, атм.	
1	40	300	21,4
2	55	350	22,2
3	70	400	22,7

Как видно из данных, представленных в таблице 1, выходы СУЭЧП №1-3 при исследуемых параметрах экстракции близки по значениям. Далее представлялось важным провести сравнительное исследование химического состава полученных экстрактов.

Испытания по установлению содержания жирнокислотного представительства и тимохинона в полученных СУЭЧП приведены в таблице 3.

**Таблица 3 – Результаты сравнительного количественного анализа состава основных БАВ в сверхкритических углекислотных экстрактах из СЧП**

Наименование БАВ	СУЭЧП №1	СУЭЧП №2	СУЭЧП №3
Жирные кислоты, %			
Миристиновая	0,16±0,01	0,160±0,009	0,150±0,003
Пальмитиновая	11,76±0,38	11,01±0,28	11,62±0,23
Пальмитолеиновая	0,18±0,02	0,130±0,003	0,17±0,01

Наименование БАВ	СУЭЧП №1	СУЭЧП №2	СУЭЧП №3
Стеариновая	2,69±0,11	2,44±0,07	2,70±0,08
Олеиновая	26,84±1,13	23,42±0,94	26,55±0,47
Линолевая	54,05±1,31	48,31±1,05	53,46±1,32
Линоленовая	0,20±0,01	0,20±0,01	0,23±0,02
Арахидовая	0,150±0,008	1,42±0,06	0,31±0,03
Эйкозеновая	0,31±0,02	0,280±0,008	0,33±0,01
Эйкозодиеновая	2,58±0,14	2,45±0,08	2,70±0,06
Неидентифицированные кислоты	1,08±0,06	10,18±0,43	1,78±0,09
Хиноны, %			
Тимохинон	2,13±0,06	3,68±0,08	1,37±0,04

Согласно данным, отраженным в таблице 3, все образцы СУЭЧП имеют примерно сопоставимый качественный и количественный состав жирных кислот. Однако, экстракт №2 по количественному содержанию главного действующего компонента – тимохинона существенно превосходил экстракты №1 и №3.

Поскольку СЧП содержат различные группы БАВ гидрофильной природы, потенциально вносящие вклад в фармакотерапевтическую ценность разрабатываемого лекарственного средства для лечения патологий гепатобилиарной системы, представляло интерес рассмотреть переход этих групп БАВ из сырья в разрабатываемую фармацевтическую субстанцию чернушки посевной – сверхкритический углекислотный экстракт (таблица 4).

**Таблица 4 – Результаты сравнительного количественного анализа состава основных гидрофильных групп БАВ в сверхкритических углекислотных экстрактах из семян чернушки посевной**

СУЭЧП №1	СУЭЧП №2	СУЭЧП №3
Аминокислоты, мг/кг		
50,57±1,08	21,87±0,63	175,34±5,31
Сумма окисляемых фенольных соединений, %		
0,110±0,002	0,162±0,004	0,021±0,003
Органические кислоты, %		
2,425±0,106	2,901±0,120	3,089±0,113
Макроэлементы, мг/кг		
2919±88	2966±78	1545±47
Микроэлементы, мг/кг		
10,24±0,29	8,23±0,25	27,3±0,82

Результаты, отраженные в таблице 4 показывают, что все полученные СУЭЧП включают отличающиеся по количественному составу разнообразные группы БАВ гидрофильной природы. Так, например, наблюдалось существенное увеличение концентрации аминокислот в СУЭЧП №3 при использовании повышенной температуры и давления при получении СУЭЧП 70°C и 400 атм. Напротив, в случае фенольных соединений наиболее оптимальным оказался режим при 55°C и 350 атм. Таким образом, варьированием значений температуры и давления, можно целенаправленно получать СУЭЧП с прогнозируемым составом БАВ и, соответственно, фармакологическими свойствами.

Дальнейшее сравнительное изучение трех образцов СУЭЧП было связано с установлением химических констант, характеризующих качество и стабильность при хранении углекислотных экстрактов (таблица 5).

**Таблица 5 – Результаты сравнительного изучения химических показателей в сверхкритических углекислотных экстрактах из семян чернушки посевной**

Наименование показателя	СУЭЧП №1	СУЭЧП №2	СУЭЧП №3
Кислотное число (мг КОН/г)	18,32±0,39	22,84±0,62	30,02±0,81
Йодное число (г йода/100 г вещества)	69,80±1,12	73,17±1,19	61,34±1,09
Эфирное число (мг КОН/г)	185,99±2,06	143,09±2,13	123,47±2,21
Число омыления (мг КОН/г)	204,31±2,91	166,93±2,15	153,49±2,04
Перекисное число, ммоль активного кислорода/кг	25,55±0,44	25,11±0,39	28,08±0,51

Как видно из данных таблицы 5, наиболее подходящий уровень химических показателей, характеризующих качество продукта, присущ для СУЭЧП №2.

Следующим тестом выбора оптимального режима углекислотной экстракции явилось изучение антиоксидантной активности *in vitro* полученных СУЭЧП, обусловленной, главным образом, присутствием в них тимохинона и ненасыщенных кислот. Результаты полученных исследований позволили выявить проявляемую СУЭЧП №2 (10,33±0,34) по отношению к СУЭЧП №1 (8,51±0,27) и №3 (8,91±0,18) существенно более высокую антиоксидантную активность.

Таким образом, проведенный сравнительный анализ состава БАВ, химических показателей качества, антиоксидантной активности полученных СУЭЧП, позволил сделать заключение об оптимальности технологии получения фармацевтической субстанции из СЧП сверхкритической углекислотной экстракцией при температуре 55°C и давлении 350 атм (СУЭЧП №2).

На следующем этапе представляло интерес провести сравнительную оценку СУЭЧП №2 и коммерческого продукта из СЧП – масла черного тмина по содержанию жирных кислот, тимохинона, а также ценных гидрофильных соединений. В результате проведенных исследований установлено, что жирнокислотный со-

став СУЭЧП №2 сопоставим с таковым для масла чернушки холодного прессования. Однако, содержание тимохинона в СУЭЧП №2 варьировало от 3,68% до 4,12%, что более чем в 20 раз превышало количество этого вещества в масле черного тмина. Исследование масла черного тмина в отношении гидрофильных групп БАВ, в частности, аминокислот, фенольных соединений и органических кислот показало их практически полное отсутствие. Важно также отметить, что по антиоксидантной активности СУЭЧП в 7 раз превосходил жирное масло, что подтверждает обоснованность и рациональность выбора технологии сверхкритических флюидов для получения потенциального лекарственного средства (фармацевтической субстанции) из СЧП, заготовленного в России, с антиоксидантным, гепатопротекторным и желчегонным действием.

На основании результатов проведенных комплексных исследований была предложена технологическая схема производства СУЭЧП (рисунок 2).

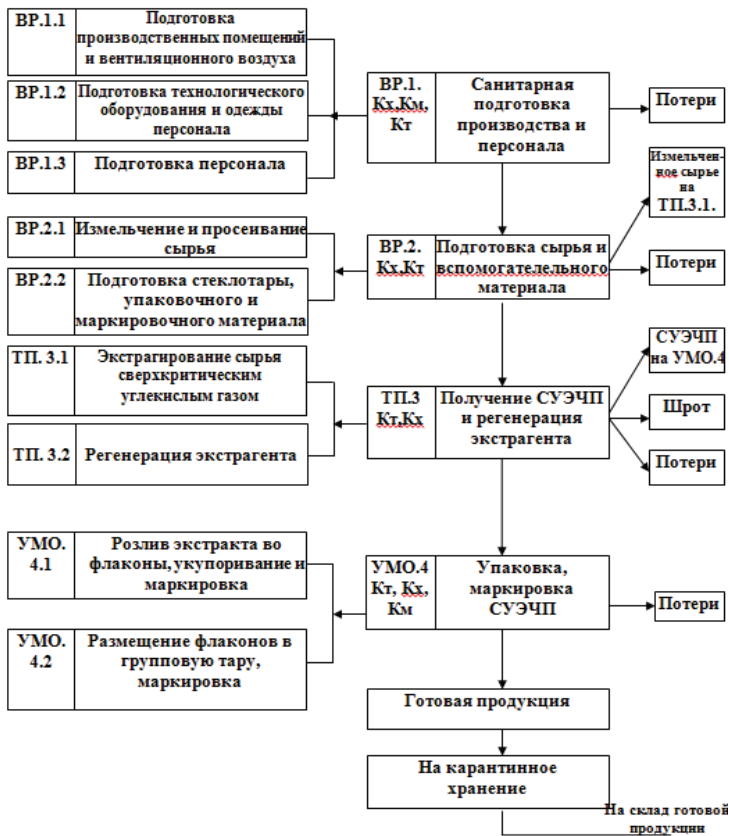


Рисунок 2 – Технологическая схема производства сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной

Как следует из приведенной схемы производства СУЭЧП, технологический процесс достаточно прост и состоит из трех основных стадий, включающих подготовку сырья, получение сверхкритического углекислотного экстракта и упаковку готовой продукции. Разработанная технология получения СУЭЧП заключалась в следующем. Предварительно высушенные СЧП измельчали на двухвалковом измельчителе до размера частиц 160 мкм, помещали в гильзу, которую опускали в экстракционную камеру установки. Запуск установки осуществлялся подачей углекислого газа из газового баллона. После достижения заданных технологических режимов (температура 55°C и давление 350 атм) осуществлялся процесс экстракции сырья сверхкритическим углекислым газом в течение 60 минут. По окончании процесса экстракции насос переключался на перекачку газа в рабочий баллон. При достижении в контуре исходного давления в 30-40 атмосфер углекислотный насос отключался, а остаточное количество газа выбрасывалось в атмосферу через отводящий газопровод. При достижении в системе давления, равному атмосферному, открывался сборник, и производилась разгрузка экстракта в тару.

С целью нормирования качества было проанализировано пять серий СУЭЧП, полученных по разработанной технологии. На основании результатов изучения физико-химических и технологических свойств СУЭЧП, были предложены показатели и нормы их качества (таблица 6).

**Таблица 6 – Основные показатели качества сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной**

Показатели	Нормы	Результаты
Описание	Прозрачная маслянистая жидкость желто-коричневого цвета с характерным запахом.	Соответствует
Подлинность Тимохинон	Время миграции основного пика на электрофореграмме испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, должно соответствовать времени миграции пика СО тимохинона на электрофореграмме калибровочного раствора. На хроматограмме испытуемого раствора пятно по положению и флюоресцирующей окраске в УФ-свете должно соответствовать пятну на хроматограмме раствора СО тимохинона.	Соответствует
Жирные кислоты	Последовательность выхода пиков метиловых эфиров жирных кислот сверхкритического углекислотного экстракта чернушки на хроматограмме: 1 – миристиновой кислоты; 2 – пальмитиновой кислоты; 3 – стеариновой кислоты; 4 – олеиновой кислоты; 5 – линолевой кислоты; 6 – линоленовой кислоты	Соответствует

Показатели	Нормы	Результаты
Показатель преломления	1,466-1,476	1,472-1,475
Кислотное число	Не более 24,0 мг КОН/г	22,84±0,62
Число омыления	163-172 мг КОН/г	166,93±2,15
Йодное число	70-80 г йода/100 г вещества	73,17±1,19
Перекисное число	Не более 26,0 ммоль активного кислорода/кг	25,11±0,39
Количественное содержание тимохинона	Не менее 3,5%	3,68± 0,08

Далее было установлено, что основные нормируемые показатели качества СУЭЧП остаются неизменными в течение 30 месяцев хранения в прохладном и защищенном от света месте.

### **Глава 5. Разработка состава и технологии получения капсулированной лекарственной формы сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной и нормирование ее качества**

С учетом потенциального применения фармацевтической субстанции из СЧП в лечении патологий гепатобилиарной системы, в качестве рациональной и удобной для применения СУЭЧП пероральной лекарственной формы были предложены мягкие желатиновые капсулы. Для производства мягкой капсулированной лекарственной формы СУЭЧП в промышленных условиях было обосновано применение капельного метода.

С целью разработки технологии получения мягких капсул СУЭЧП представлялось необходимым предварительно определить вязкость и плотность этого экстракта с учетом варьируемых в производстве капсулированных лекарственных форм температурных режимов в диапазоне от 45 до 70°C. При этом, выбор оптимальных условий капсулирования СУЭЧП был ориентирован на необходимости приближения к значениям вязкости и плотности растительного масла в указанном температурном интервале. В ходе проведенных исследований установлено, что оптимальное значение вязкости СУЭЧП, наиболее приближенное к вязкости масла, наблюдается при температуре 45°C – 47,4 сП. При этом температурном режиме прогнозируются необходимые качество готовых капсул и эффективная работа капсуляторной машины. Кроме того, при таком щадящем значении температуры, значительно снижается риск деструкции основных действующих веществ СУЭЧП – жирных кислот и тимохинона. Установленные значения вязкости и других показателей качества свидетельствуют о возможности непосредственного капсулирования СУЭЧП без его разбавления.

Учитывая опыт применения СЧП в медицинской практике и содержания в нем тимохинона, была определена дозировка СУЭЧП в разрабатываемых мягких капсулах – 250 мг.

Дальнейшим этапом исследования явилась разработка состава желатиновой массы для получения оболочки мягких капсул. В связи с этим, представлялось необхо-

димым подобрать различные составы желатиновой массы для последующего определения их динамической вязкости и выбора в их ряду оптимальной комбинации. В результате проведенных исследований было выявлено, что необходимую текучесть при 45°C обеспечивает совместное сочетание и количественные соотношения компонентов: желатина 25 г, глицерина 10 г, нипагина 0,18 г и воды очищенной до 100 г.

Учитывая состав СУЭЧП и его физико-химические свойства, была предложена технологическая схема промышленного производства мягких капсул, включающая: санитарную подготовку производства и персонала; подготовку исходных компонентов; приготовление желатиновой массы и оценку ее качества; формирование капсул; промывание и обработку капсул; упаковку и маркировку капсул СУЭЧП (рисунок 3).

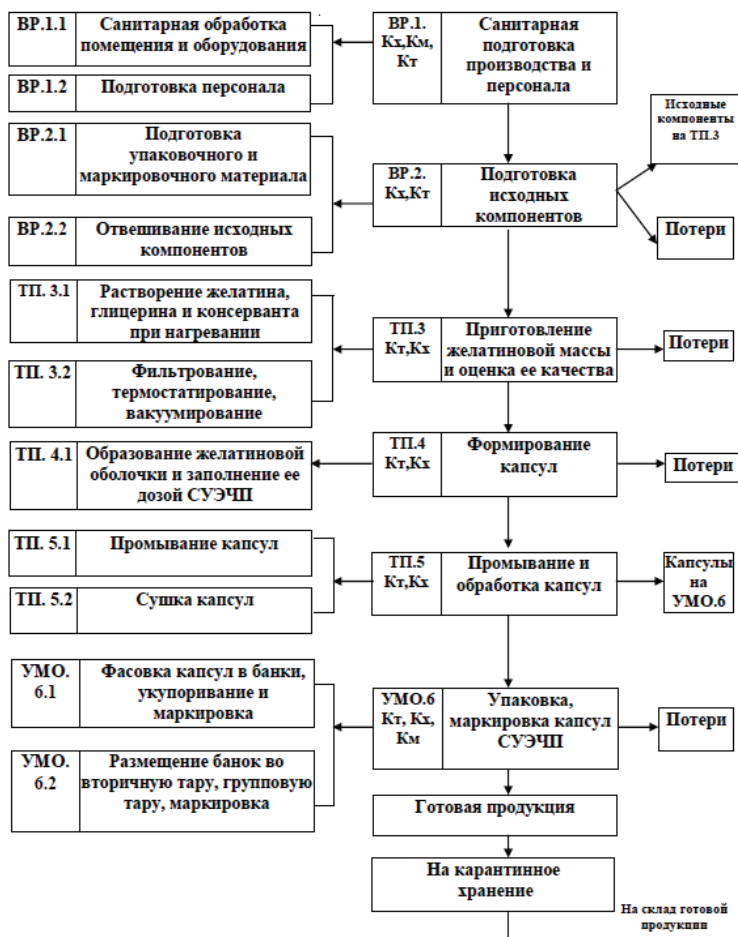


Рисунок 3 – Технологическая схема производства мягких капсул сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной

Для предложенных мягких капсул СУЭЧП было проведено нормирование их качества (таблица 7).

**Таблица 7. Основные показатели качества мягких капсул сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной**

Показатели	Нормы	Результаты
Описание	Капсулы мягкие желатиновые круглой формы без шва, без механических включений и повреждений, заполненные прозрачной маслянистой жидкостью желто-коричневого цвета с характерным запахом	Соответствует
Подлинность		
Тимохинон	Время миграции основного пика на электрофореграмме испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, должно соответствовать времени миграции пика СО тимохинона на электрофореграмме калибровочного раствора.	Соответствует
Жирные кислоты	Последовательность выхода пиков метиловых эфиров жирных кислот сверхкритического углекислотного экстракта чернушки на хроматограмме: 1 – миристиновой кислоты 2 – пальмитиновой кислоты 3 – стеариновой кислоты 4 – олеиновой кислоты 5 – линолевой кислоты 6 – линоленовой кислоты	Соответствует
Однородность массы капсул	от 0,293 до 0,358 г – средняя масса капсулы от 0,225 до 0,275 г – средняя масса содержимого капсулы	0,327 г 0,252 г
Растворение	В соотв. с ГФ РФ XIV изд.	77-91%
Распадаемость	В соотв. с ГФ РФ XIV изд.	8-11 минут
Кислотное число	Не более 24,0 мг КОН/г	22,85-23,56 мг КОН/г
Количественное содержание тимохинона в капсуле	Не менее 0,008 г	0,0089-0,0110
Микробиологическая чистота	Категория 3А	Соответствует



Показатели	Нормы	Результаты
Упаковка	В соответствии с проектом ФСП	Соответствует
Маркировка	Соответствует проекту ФСП	Соответствует
Транспортирование	Соответствует проекту ФСП	Соответствует
Условия хранения	В защищенном от света, прохладном месте	Соответствует

\*СО – стандартный образец.

Результаты изучения стабильности капсул с СУЭЧП показали, что основные показатели их качества оставались неизменными в течение срока наблюдения – 1,5 лет.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Осуществлен сравнительный фитохимический анализ семян чернушки посевной различных мест произрастания в отношении жирных кислот, тимохинона, каротиноидов, хлорофиллов, аминокислот, фенольных соединений, органических кислот, минеральных веществ. Установлен сопоставимый состав ведущих БАВ в семенах чернушки посевной, заготовленных на территории России и импортируемых из стран Азии. Проведено нормирование качества семян чернушки посевной, в том числе по количественному содержанию основного действующего вещества – тимохинона (не менее 1,0%). Для количественного определения тимохинона впервые применен метод капиллярного электрофореза и проведена валидация методики количественного определения методом капиллярного электрофореза.

2. Обоснована целесообразность использования сверхкритической углекислотной экстракции для получения фармацевтической субстанции, учитывая необходимость сочетанного содержания в ней разнополярных БАВ. Показано, что варьированием технологическими параметрами сверхкритической углекислотной экстракции можно получать продукты с разным составом БАВ.

3. Разработана оптимальная технология получения фармацевтической субстанции из СЧП в виде сверхкритического углекислотного экстракта и определены ее основные параметры: давление процесса – 350 атм. и температура – 55°C. Установлено, что полученный сверхкритический углекислотный экстракт чернушки по антиоксидантной активности в 7 раз превосходит коммерческий продукт «Масло черного тмина», по количественному содержанию тимохинона – в 20 раз.

4. Проведено нормирование качества фармацевтической субстанции чернушки, в результате чего предложены показатели и нормы ее качества, среди которых основными количественными являются: «Содержание тимохинона» не менее 3,5%; «Кислотное число» – не более 24,0 мг КОН/г; «Перекисное число» – не бо-

лее 26,0 ммоль активного кислорода/кг. Изучены условия хранения и установлен срок ее годности – 2 года.

5. На основании результатов фармацевтического исследований обоснован вид лекарственной формы для фармацевтической субстанции из семян чернушки посевной – мягкие желатиновые капсулы с дозировкой 250 мг сверхкритического углекислотного экстракта в одной капсуле. Разработана технология получения мягких капсул капельным методом и технологическая схема их производства. Предложены показатели качества мягких капсул со сверхкритическим углекислотным экстрактом из семян чернушки посевной, среди которых предусмотрено количественное определение тимохинона (не менее 0,008 г). Установлено, что в процессе хранения мягких капсул сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной в прохладном и защищенном от света месте в течение 1,5 лет основные показатели их качества оставались неизменными.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в проведении доклинических и клинических испытаний полученных потенциальных лекарственных средств из семян чернушки посевной для лечения патологий гепатобилиарной системы, а также во внедрении в производство фармацевтическими предприятиями технологии получения из отечественного растительного сырья фармацевтической субстанции и ее лекарственной формы.

**Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Рудь, Н.К. Целесообразность разработки лечебно-косметического средства с маслом нигеллы / Н.К. Рудь // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2012. – Вып. 67. – С.192-193.
2. Рудь, Н.К. Исследование товароведческих показателей семян чернушки посевной / Н.К. Рудь // «Молодая фармация – потенциал будущего»: III Всерос. науч. конф. студентов и аспирантов с междунар. участием, Санкт-Петербург, 25–26 апреля 2013 г. – СПб., 2013. – С.199-200.
3. Рудь, Н.К. Изучение химического состава жирного масла семян чернушки посевной (*Nigella Sativa L.*) / Н.К. Рудь // Проблемы разработки новых лекарственных средств: тезисы первой Всерос. науч. – практич. конф. молодых ученых (Москва, 3-5 июня, 2013г). – Москва, 2013г. – С.101.
4. Рудь, Н.К. Исследования по выбору экстрагента для определения показателя «Экстрактивные вещества» чернушки посевной (*Nigella Sativa L.*) / Н.К. Рудь // Вестник Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии (ЮКГФА). – 2013. – № 4 (65). – С.129-131.
5. Рудь, Н.К. Основные результаты фитохимического и фармакологического исследования чернушки посевной (обзор) / Н.К. Рудь, А.М. Сампиев, Н.А. Давитавян // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Медицина. Фармация – 2013. – №25(168). – С.207-212.
6. Рудь, Н.К. Сравнительное изучение аминокислотного состава сверхкритических углекислотных экстрактов из семян чернушки посевной / Н.К. Рудь, А.М. Сампиев // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/113-11668> (дата обращения: 18.02.2014).
7. Сампиев, А.М. Фитохимическое изучение семян чернушки посевной / А.М. Сампиев, Н.К. Рудь, Н.А. Давитавян // Фундаментальные исследования.-2014. – №5 (часть 1). – С.114-117.
8. Рудь, Н.К. Минеральный состав сверхкритических углекислотных экстрактов из семян чернушки посевной / Н.К. Рудь, А.М. Сампиев // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – № 2 (144). – С.105-107.
9. Рудь, Н.К. Стандартизация сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной / Н.К. Рудь, Н.А. Давитавян, А.М. Сампиев // Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом: сб. науч. тр. по итогам междунар. науч. – практич. конф. – Новосибирск, 2015. – Вып. II. – С.194-197.
10. Рудь, Н.К. Разработка технологии получения сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной / Н.К. Рудь, А.М. Сампиев // Научное обозрение. – 2015.- № 5. – С.66-73.
11. Разработка методики количественного определения тимохинона в семенах чернушки посевной / Н.А. Давитавян, Н.К. Рудь, Ю.Ф. Якуба [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – № 2 (151). – С.56-62.

12. Рудь, Н.К. Разработка состава и технологии получения мягких желатиновых капсул сверхкритического углекислотного экстракта семян чернушки посевной / Н.К. Рудь, А.М. Сампиев, Н.А. Давитаян // Интер-медикал. – 2015. – № 4 (10). – С.152-156.