

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



**ПЕРЕС ГУСМАН БАИРОН АЛЬБЕРТО**

**РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННОГО  
ПРЕПАРАТА ГЕПАТОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

Доктор фармацевтических наук, профессор

**Каухова Ирина Евгеньевна**

Санкт-Петербург

2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|  |    |
|--|----|
| ВВЕДЕНИЕ .....   | 6  |
| Актуальность исследования .....  | 6  |
| ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....  | 14 |
| 1.1. Гепатопротекторы .....  | 14 |
| 1.1.1. Область применения .....  | 14 |
| 1.2. Классификация гепатопротекторных средств.....                               | 15 |
| 1.2.1.1. Гепатопротекторы на основе субстанций животного происхождения .....     | 15 |
| 1.2.1.2. Гепатопротекторы на основе эссенциальных фосфолипидов .....             | 16 |
| 1.2.1.3. Гепатопротекторы на основе желчных кислот .....                         | 17 |
| 1.2.1.4. Гепатопротекторы на основе субстанций растительного происхождения ..... | 18 |
| 1.3 Комбинированные гепатопротекторные препараты .....                           | 20 |
| 1.3.1 Гепатопротекторные препараты на основе расторопши пятнистой.....           | 20 |
| 1.3.1.1. Препараты, содержащие экстракт расторопши пятнистой.....                | 20 |
| 1.3.1.2. Расторопша пятнистая .....  | 23 |
| 1.3.1.3. Фитохимическая характеристика расторопши пятнистой.....                 | 23 |
| 1.3.1.4. Гепатопротекторное действие расторопши пятнистой.....                   | 26 |
| 1.4. Технология, характеристика и свойства сухих экстрактов .....                | 27 |
| 1.4.1. Общая технология сухих экстрактов .....                                   | 27 |
| 1.4.2. Особенность технологии сухих экстрактов .....                             | 28 |
| 1.4.3. Показатели качества сухих экстрактов .....                                | 29 |
| 1.5. Твердая дисперсионная система.....  | 31 |
| 1.5.1. Полимеры-носители в твердых дисперсионных системах .....                  | 32 |
| 1.5.2. Методы, используемые для разработки ТДС.....                              | 34 |
| 1.5.3. Методы анализа и стандартизации ТДС.....                                  | 35 |
| 1.6. Гранулирование в технологии готовых лекарственных форм .....                | 35 |
| 1.6.1. Гранулирование – классификация методов.....                               | 36 |
| 1.6.2. Контроль качества гранул .....  | 37 |

|   |    |
|---|----|
| 1.7. Характеристики капсул .....  | 38 |
| 1.7.1. Капсулы – лекарственная форма .....  | 38 |
| 1.7.2. Классификация капсул .....   | 39 |
| 1.7.3. Показатели качества капсул.....  | 41 |
| ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1 .....   | 42 |
| ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....   | 44 |
| 2.1. Объекты исследования .....   | 44 |
| 2.2 Реактивы, оборудование и средства измерения.....  | 44 |
| 2.2.1 Реактивы.....   | 44 |
| 2.2.2 Оборудование и средства измерения .....   | 45 |
| 2.3. Методы анализа лекарственного растительного сырья – расторопши<br>пятнистой плодов .....                                       | 46 |
| 2.4. Количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на<br>силибин в спирто-водном извлечении после экстрагирования..... | 49 |
| 2.5. Методы анализа и стандартизации фармацевтической субстанции – сухого<br>экстракта расторопши пятнистой плодов .....            | 50 |
| 2.6. Методы анализа и стандартизации ТДС сухого экстракта расторопши<br>пятнистой плодов .....                                      | 56 |
| 2.6.1. Методы анализа ТДС СЭР .....   | 56 |
| 2.6.2. Стандартизация ТДС СЭР.....  | 59 |
| 2.7. Методики анализа и стандартизация комбинированного препарата –гранул<br>ТДС СЭР и УДХК .....                                   | 60 |
| 2.7.1. Стандартизация АФС – УДХК .....  | 60 |
| 2.7.2. Стандартизация гранулятов .....  | 62 |
| 2.8. Методики анализа и стандартизация комбинированного препарата –гранул<br>ТДС СЭР и УДХК в твердых желатиновых капсулах.....     | 64 |
| 2.9. Определение показателя «Стабильность и сроки годности » .....  | 68 |
| 2.10. Статистическая обработка результатов .....  | 69 |
| ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СУХОГО ЭКСТРАКТА .....   | 70 |
| 3.1. Разработка технологии экстрагирования расторопши пятнистой плодов ...  | 70 |

|  |     |
|--|-----|
| 3.1.1. Результаты входного контроля сырья расторопши пятнистой плодов .                      | 70  |
| 3.1.2. Выбор экстрагента .....   | 72  |
| 3.1.3. Выбор метода экстракции .....   | 72  |
| 3.1.4. Соотношение ЛРС:экстрагент .....  | 75  |
| 3.1.5. Время экстракции.....   | 76  |
| 3.1.6. Способы очистки спирто-водного извлечения .....                                       | 77  |
| 3.2. Изложение технологического процесса производства сухого экстракта.....                  | 81  |
| 3.3. Стандартизация сухого экстракта .....   | 84  |
| ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3 .....  | 87  |
| ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ТДС СУХОГО ЭКСТРАКТА РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ ПЛОДОВ .....                   | 89  |
| 4.1. Микронизация СЭР физическим методом .....   | 89  |
| 4.1.1. Разработка физической микронизации СЭР .....  | 89  |
| 4.2. Разработка технологии ТДС СЭР методом удаления растворителя.....                        | 90  |
| 4.2.1. Выбор метода разработки ТДС.....  | 90  |
| 4.2.2. Выбор полимеров-носителей для разработки ТДС .....                                    | 91  |
| 4.2.3. Выбор растворителя в разработке ТДС СЭР.....  | 91  |
| 4.3. Разработка ТДС сухого экстракта расторопши .....  | 94  |
| 4.4. Анализ распределения размера частиц ТДС сухого экстракта расторопши                     | 97  |
| 4.5. Профиль растворения ТДС СЭР.....  | 98  |
| 4.6. ИК-спектрометрия с преобразованием по Фурье .....                                       | 99  |
| 4.7. Стандартизация ТДС сухого экстракта .....   | 101 |
| ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4. ....  | 103 |
| ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ..... | 104 |
| 5.1. Стандартизация УДХК .....   | 104 |
| 5.2. Разработка состава и технологии гранул.....   | 106 |
| 5.2.1. Разработка состава гранул.....  | 106 |
| 5.2.2. Технология гранулирования .....   | 107 |
| 5.3. Стандартизация гранул.....  | 107 |

|   |     |
|---|-----|
| 5.4. Проверка распадаемости кишечнорастворимых капсул.....    | 110 |
| 5.5. Разработка и стандартизация капсул с ТДС СЭР и УДХК..... | 111 |
| 5.6. Изложение технологического процесса.....                 | 118 |
| ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5 .....                                       | 119 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....  | 120 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....  | 122 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....  | 123 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ .....  | 139 |

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Сегодня поражение печени широко распространено среди населения, постоянное повреждение печени приводит к развитию цирроза или неоплазии печени. Ежегодно в мире более двух миллионов смертей вызваны заболеваниями печени [1]. Участвовавшие случаи заболеваний печени связаны с сохраняющимся ростом токсических, лекарственных, вирусных и аутоиммунных воздействий на этот орган, высокой распространенностью нарушений обмена веществ на фоне сахарного диабета и ожирения.

Одной из широких групп лекарств, применяемых в рамках комплексной терапии на разных стадиях поражения печени, являются гепатопротекторы. В клинической практике широко применяются гепатопротекторные средства в виде отдельных препаратов или в комбинациях. [2,3]

Урсодезоксихолевая кислота (УДХК) является одним из наиболее часто используемых препаратов при заболеваниях печени. УДХК традиционно рекомендуется отечественными специалистами к применению при ряде заболеваний печени, таких как неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) [4,5,6]. Возможным направлением повышения эффективности УДХК может быть ее комбинирование с другими гепатотропными средствами, например, растительного происхождения.

Гепатопротекторной активностью обладают суммарные извлечения из расторопши пятнистой плодов, а также их основной компонент силимарин. Силибин является одним из флаволигнановых изомеров, входящих в состав силимарина, и традиционно рассматривается как перспективный кандидат для включения в схемы комбинированной гепатотропной терапии.

Силибин составляет более 50-60% от общего количества комплекса силимарина [7,8,9]. Несмотря на то, что силибин проявляет эффективные фармакологическими свойствами, его биодоступность ограничена его плохой растворимостью. Для повышения растворимости в фармацевтической технологии

применяется ряд технологических методов, включая микронизацию, твердую дисперсионную систему, разработку нано лекарственных форм и другие, которые направлены на уменьшение размера частиц для увеличения контактной поверхности и непосредственно повышения растворимости и, следовательно, абсорбции и биодоступности [10].

Твердая дисперсионная система (ТДС) – один из современных методов, которая рассматривается как эффективная и универсальная в повышении растворимости плохо растворимых активных фармацевтических субстанций (АФС). Твердая дисперсия включает растворение малорастворимых веществ в матрице, содержащей полимер-носитель. К разработке твердых дисперсионных систем в основном используются полимеры поливинилпирролидон (ПВП), гидроксипропил метилцеллюлоза (ГПМЦ), поливинилпирролидон винилацетат (ПВПВА 64) и высокомолекулярный полиэтиленгликоль (ПЭГ) [11]. Для разработки ТДС на основе термочувствительных субстанций перспективен метод удаления растворителя, поскольку не требует применения высокого температурного режима при его получении [12].

Таким образом, в соответствии с вышесказанным, разработка состава и технологии комбинированного препарата гепатотропной терапии в форме кишечнорастворимых твердых капсул, содержащих урсодезоксихолевую кислоту и твердую дисперсию сухого экстракта расторопши пятнистой с полимером-носителем, является актуальной темой исследований.

### **Степень разработанности темы исследования**

Поиск и разработка лекарственных препаратов для терапии заболеваний печени идёт достаточно давно, в основном комбинированного действия.

Наиболее часто в комбинациях изучаются и применяются следующие хорошо известные гепатотропные средства: эссенциальные фосфолипиды (ЭФЛ), глицирризиновая кислота (ГК), урсодезоксихолевая кислота (УДХК), препараты расторопши пятнистой (Оковитый, С.В. и др. 2020, 2022; Selyutina, O.Y. et al. 2019; Vargas-Mendoza N. et al., 2020; Derakhshandeh-Rishehri, S.M. et al., 2020).

Анализ литературных источников показал, что в последние годы проводятся исследования по повышению растворимости растительных экстрактов созданием ТДС различными методами (Amalia, E. et al., 2024; Fan, W. et al., 2023; Xu, H. et al., 2023; Kaewkroek, K. et al., 2023; Chen, B. et al., 2023; Weerapol, Y. et al., 2017).

Однако до настоящего времени на российском фармацевтическом рынке не зарегистрирован препарат, содержащий в своём составе урсодезоксихолевую кислоту и твердую дисперсию сухого экстракта расторопши пятнистой плодов. Учитывая перспективность сочетания активных фармацевтических субстанций, обладающих выраженной гепатотропной активностью, была выявлена необходимость разработки комбинированного препарата на основе этих ингредиентов.

#### **Цель и задачи исследования**

Целью данного диссертационного исследования является разработка технологии комбинированного препарата, содержащего сухой экстракт расторопши пятнистой плодов и урсодезоксихолевую кислоту

**Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:**

1. Обосновать выбор активных фармацевтических субстанций для разработки комбинированного препарата гепатотропной терапии.
2. Разработать технологию сухого экстракта расторопши (СЭР), определить показатели качества и предложить процессуальную и технологическую схемы производства.
3. Изучить возможность повышения биодоступности сухого экстракта расторопши.
4. Разработать технологию ТДС СЭР с учетом риск-ориентированного подхода. Провести стандартизацию ТДС СЭР по показателям качества. Разработать процессуальную схему получения.
5. Разработать оригинальный состав и технологию гранул, содержащих ТДС СЭР и урсодезоксихолевую кислоту, в твердых желатиновых капсулах

6. Создать проект спецификации качества на гранулы с сухим экстрактом расторопши и урсодезоксихолевой кислотой в твердых желатиновых капсулах и разработать технологическую схему производства.

### **Научная новизна**

- Впервые в технологии сухого экстракта расторопши применены методы микронизации с целью повышения биодоступности
- Впервые разработана технология ТДС сухого экстракта расторопши методом удаления растворителя с учетом анализа рисков. Разработана диаграмма Исикавы, учитывающая риски, возникающие при получении ТДС СЭР и определены критические параметры процесса.
- На основании сравнительной оценки выбран сополимер поливинилпирролидон винилацетат – ПВП ВА-64 в составе ТДС СЭР. Создание ТДС сухого экстракта расторопши значительно повысило биодоступность фитосубстанции за счет увеличения степени высвобождения силибина из ТДС экстракта в 3 раза по сравнению с контрольным образцом СЭР.
- Впервые проведена стандартизация ТДС СЭР по показателям качества.
- Впервые теоретически и экспериментально обоснован состав гепатопротекторного средств на основе ТДС сухого экстракта и урсодезоксихолевой кислоты (УДХК).

### **Теоретическая и практическая значимость**

- Выявлены закономерности и разработаны режимы экстрагирования расторопши пятнистой плодов, обеспечивающие максимальный выход БАВ.
- Показано, что в технологии сухого экстракта наиболее эффективен метод мацерации с обратным холодильником на кипящей водяной бане с последующей очисткой от балластных веществ белковой природы отстаиванием при пониженной температуре, далее отделение липофильных балластных веществ гексаном методом жидкостной экстракции.
- Проведена стандартизация полученного сухого экстракта расторопши по показателям качества: описание, потеря в массе при высушивании, подлинность,

количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, насыпная плотность, степень сыпучести, остаточные органические растворители и гигроскопичность. Составлены процессуальная и технологическая схемы производства СЭР.

- Проведена стандартизация ТДС СЭР по таким показателям качества, как, подлинность, содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, остаточная влажность, насыпная плотность, гигроскопичность. ТДС СЭР проанализирована с помощью ИК-Фурье спектроскопии. Показана совместимость между СЭР и полимером-носителем поливинилпирролидоном винилацетатом. Установлено, что получение ТДС СЭР позволило увеличить долю частиц размером от 0.3 до 5 мкм и уменьшить долю частиц размером от 10 до 50 мкм более чем на 20 % по сравнению с контрольным образцом СЭР. Разработана процессуальная схема получения ТДС СЭР.

- Разработана технология комбинированного гепатопротекторного средства в твердых желатиновых капсулах с гранулами ТДС СЭР и УДХК. Предложены показатели качества и составлен проект спецификации на готовый продукт.

- Составлена технологическая схема производства твердых желатиновых капсулах с гранулами ТДС СЭР и УДХК.

- Результаты исследования внедрены в ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в научно-исследовательскую деятельность кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов им. Ю.К. Сандера в рамках выполнения темы «Инновационные технологии в разработке фитопрепаратов» (Акт внедрения от 25.03.2025) и в учебный процесс дисциплин «Технология фитопрепаратов» и «Технология твердых лекарственных форм» для магистрантов 2 курса направления подготовки 18.04.01. Химическая технология и дисциплины «Фармацевтическая технология. Промышленное производство» обучающихся по специальности 33.05.01. Фармация на кафедре фармацевтической технологии института фармации, химии и биологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки России (акт о внедрении от 06.03.2025).

## **Методология и методы исследования**

В исследованиях, проведенных в данной диссертационной работе, были применены физико-химические, технологические, биофармацевтические и аналитические методы, описанные в Государственной Фармакопее Российской Федерации XV изд., и фармакопее США по USP – 44, NF – 39.

Статистическую обработку результатов данной диссертационной работы проводили в соответствии с ГФ XV, ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний».

## **Степень достоверности и апробации работы**

Достоверность полученных результатов диссертационного исследования определяется воспроизводимостью данных, использованием современных методов анализа, методов статистической обработки данных, применением аттестованного технологического и аналитического оборудования, поверенных средств измерений.

Основные результаты диссертационного исследования представлены на

- The 5th and 6th belt International conference on traditional medicine and symposium on traditional Chinese medicine – Wuhan, China 2022 and 2023
- Всероссийской научная-методической конференции с международным участием «Сандеровские Чтения» – Санкт-Петербург, 2023 и 2024
- XXIV и XXV Международном Съезде «ФИТОФАРМ» – Санкт-Петербург, 2023 и 2024
- Международной научно-практической конференции – Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений «ВИЛАР» Москва, 2023
- VI международной научно-практической конференции памяти профессора Р. Д. Дильбарханова (КазНМУ) – Республика Казахстан, 2024

## **Основные положения, выдвигаемые на защиту**

1. Результаты микронизации сухого экстракта расторопши пятнистой плодов с целью повышения биодоступности.

2. Риск-ориентированный подход к разработке ТДС сухого экстракта расторопши методом удаления растворителя.

3. Технология ТДС сухого экстракта расторопши методом удаления растворителя и показатели качества.

4. Разработка состава и технологии гепатопротекторного средства на основе ТДС СЭР и урсодезоксихолевой кислоты.

5. Показатели качества комбинированного гепатопротекторного средства в твердых желатиновых капсулах с гранулами ТДС СЭР и УДХК и технологическая схема производства.

### **Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов**

Все этапы исследовательской работы по планированию и проведению экспериментов, сбору и обработке данных, анализу полученных результатов, оформлению диссертационной работы проведены автором лично. Автором внесен решающий вклад в формулирование и интерпретацию основных научных результатов. Степень личного участия автора в выполнении совместных работ составила не менее 90%.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств (фармацевтические науки), а именно: пункту 2 «Проектирование и разработка технологий получения фармацевтических субстанций и лекарственных форм, утилизация производственных отходов с учетом экологической направленности.

Стандартизация и валидация процессов и методик, продуктов и материалов. Оптимизация организационных и технологических процессов при разработке и получении лекарственных средств» и пункту 3 «Исследование биофармацевтических аспектов в технологии получения лекарственных средств, их дизайн и изучение фармацевтических факторов, влияющих на биодоступность. Разработка и валидация бионалитических методик. Исследование стабильности лекарственных средств».

### **Публикации материалов исследования**

По теме диссертационной работы опубликовано 10 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России и индексируемых в международной базе данных Scopus.

### **Объем и структура диссертации**

Работа состоит из введения, актуальности исследования, 5 взаимосвязанных глав, заключения, списка сокращений, списка литературы и приложений

Работа изложена на 144 страницах машинописного текста и приложений. Содержит 30 рисунков, 24 таблицы, 4 приложения. Библиографический список включает 130 источников, из них 89 иностранные.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Гепатопротекторы

Гепатопротекторные средства защищают и способствуют здоровью печени через поддержку стабилизации, детоксикации и регенерации мембран гепатоцитов; их эффекты используются для профилактики повреждения печени и лечения на разных стадиях заболевания печени и для поддержания оптимальной функции печени [2,3].

#### 1.1.1. Область применения

Сегодня поражение печени широко распространено среди населения. Ежегодно во всем мире умирает более двух миллионов человек, что составляет 1 из каждых 25 смертей из-за заболеваний печени (ЗП) [13]. Повышение случаев ЗП связано с продолжающимся увеличением применения токсинов, периодическим потреблением гепатотоксических препаратов, высокой распространенностью нарушений обмена веществ на фоне сахарного диабета и ожирения, распространенностью сопутствующих систематических заболеваний, при которых обнаруживается нарушение структуры и функции печени, поскольку образуются узелки; нарушается функция детоксикации и ограничиваются метаболизм печени и выделение желчи. [13]

Гепатопротекторы принимаются при лечении и профилактики наиболее распространенных патологий печени, которые могут возникать как самостоятельно, так и сопровождаться системными патологиями, такими как неалкогольные и алкогольные заболевания печени, гепатостеатоз, жировая болезнь печени и вирусные гепатиты (А, В, С, D и E), которые приводят к развитию цирроза, если их не выявить на ранней стадии и не провести полное и надлежащее лечение.[14]

В клинической практике не только рекомендуется изменять питание, вести здоровый образ жизни, помимо этого рекомендуется совместно применять гепатопротекторы в зависимости от происхождения заболевания, клинической стадии и степени поражения печени. В большинстве клинических случаев

назначаются препараты, содержащие в своем составе урсодезоксихолевую кислоту, глицирризиновую кислоту, эссенциальные фосфолипиды, токоферол альфа и силимарин, которые по своим фармакологическим свойствам доказывают целебные эффекты восстановления, защиты и профилактики гепатоцитов против поражения печени. [13,15]

## 1.2. Классификация гепатопротекторных средств

На сегодняшний день официальной классификации гепатопротекторных препаратов не существует, однако представлять их в соответствии с происхождением активного фармакологического вещества, входящего в их

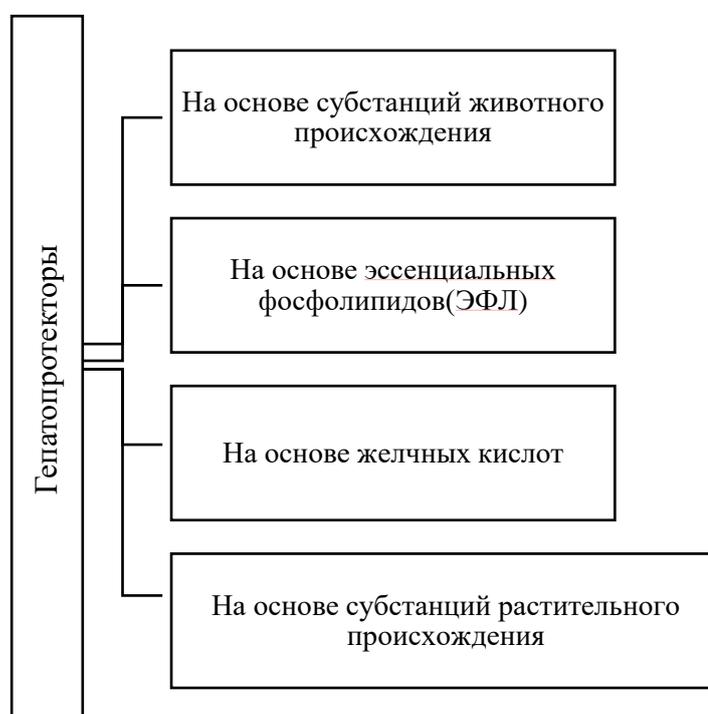


Рисунок 1.1. Классификация гепатопротекторов

состав, является полезной альтернативой в клинической практике. (Рисунок 1.1) [16].

### 1.2.1.1. Гепатопротекторы на основе субстанций животного происхождения

Гепатопротекторные препараты на основе субстанций животного происхождения содержат в составах гидролизаты печени, которые представляют собой смесь белков, минералов, антиоксидантов, аминокислот, витаминов и

необходимых питательных веществ. Все эти компоненты вместе взятые направлены на восстановление функции печени, улучшение детоксикации печени, регенерацию клеток, регулирование метаболизма печени, уменьшение воспаления печени и подавление окислительного клеточного механизма. Исследования, посвященные актуальности гидролизатов печени в терапии заболеваний печени определили функциональную совместимость нескольких животных для разработки гидролизатов печени, изученные животные включают свинью, крупный рогатый скот, овец, коз, курицу, утку, кролика, рыбу, индейку и крыс [16,17], но недавно были исследованы и другие животные, такие как, жуки-волдыри и некоторые виды китайских жаб и др.[16,18].

#### **1.2.1.2. Гепатопротекторы на основе эссенциальных фосфолипидов**

Эссенциальные фосфолипиды (ЭФЛ) – представляют собой молекулы с известными регенерирующими свойствами [19]. Самые известные ЭФЛ – фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин, которые присутствуют в немалом количестве в мембранах гепатоцитов, в незначительных концентрациях в этих мембранах также содержатся фосфатидилхолин, 2-5-полиэтилфосфатидилхолин, фосфатидилинозитол, 1,2-дидолеоилфосфатидилхолин, фосфатидная кислота и фосфатидилглицерин [20,21]. По биологической значимости ЭФЛ в основном связаны с мембранной активностью, с поддержанием целостности клеток, с регенерацией и защитой гепатоцитов; именно поэтому, в ходе исследований была установлена роль ЭФЛ в противовоспалительных и антиоксидантных процессах. Были признаны основные ключевые механизмы действия ЭФЛ, такие как, [22,23,24]:

- Контроль внутриклеточных и межклеточных метаболических процессов
- Стимуляция и активация мембран-связанных белков
- Повышение текучести клеточных мембран
- Восстановление оптимальной внутрипеченочной среды для нормального метаболизма липидов

- Снижение окислительного стресса в клетках за счет контроля выработки активных форм кислорода (АФК)
- Улучшение обмена глюкозы и липидов

### 1.2.1.3. Гепатопротекторы на основе желчных кислот

Желчные кислоты представляют собой молекулы, которые образуются в результате метаболизма холестерина, а затем повторно синтезируются и всасываются эпителием кишечника. Желчные кислоты могут разделяться на основные, такие как холевая и хенодезоксихолевая кислоты, которые в основном синтезируются гепатоцитами, и на вторичные желчные кислоты, такие как литохолевая кислота и дезоксихолевая кислота, гликурсодезоксихолевая кислота, таурохенодезоксихолевая кислота, тауроурсодезоксихолевая кислота, урсодезоксихолевая кислота и 24-ноурсодезоксихолевая кислота [5,25,26]

Фармацевтические свойства желчных кислот (холевой и хенодезоксихолевой кислот), связаны со способностью действовать как агонисты нескольких фарнезоидных X-рецепторов (FXR) в гепатоцитах, а вторичные желчные кислоты действуют как антагонисты FXR. [6,27,28]. Именно поэтому была установлена связь между некоторыми функциями печени и синтезом желчных кислот, такими как [6,26-28],

- Регулирование процесса эмульгирования жира
- Переваривание и всасывание липидов и жирорастворимых витаминов
- Регуляция метаболизма желчных кислот, гомеостаза печени и иммунного ответа посредством взаимодействия с рецепторами желчных кислот, ядерным FXR и мембранным G-белком, связанным с рецептором желчных кислот-1.
  - Облегчение всасывания липидов в кишечнике
  - Контроль энергетического баланса печени путем регулирования гомеостаза липидов и глюкозы и расхода энергии.

Одним из наиболее часто используемых субстанций при заболеваниях печени является урсодезоксихолевая кислота (УДХК). Исследования *in vitro*

показали, что УДХК влияет на экспрессию генов, непосредственно участвующих в цикле гепатоцитов и апоптозе, окислительном повреждении клеток и подавлении перекисного окисления липидов в печени при экспериментальном холестатическом заболевании печени. Было продемонстрировано, что УДХК обладает широкой терапевтической активностью УДХК при поражении печени, вызванном известной гепатотоксичной мышьяковистой кислотой. Было обнаружено, что УДХК активирует путь фактора 2, связанного с ядерным фактором, связанным с эритроидом-2 (Nrf2), который играет важную роль в клеточной защите от апоптоза, окислительного стресса или способствует выживанию клеток путем активации антиоксидантных каскадов. Наконец, было описано, что УДХК связывается с глюкокортикоидным рецептором, что может опосредовать его противовоспалительное и иммуномодулирующее действие. [5,6]

#### **1.2.1.4. Гепатопротекторы на основе субстанций растительного происхождения**

Гепатопротекторы на основе субстанций растительного происхождения включают в себя все фитосубстанции, которые проявили целебный эффект в организме, и в первую очередь в печени. Гепатопротекторы обладают сходным механизмом действия, который обеспечивает их фармакологические свойства – антиоксидантную активность, которая регулирует выработку активных форм кислорода.

Антиоксидантная активность была признана ответственной за профилактику, контроль и восстановление гепатоцитов от повреждений печени, вызванных заболеваниями печени или токсичностью в результате приема гепатотоксичных веществ.

В ходе некоторых исследований были изучены и подтверждены полезные свойства растений, содержащих фитосубстанции (ФС), которые находятся в составе экстрактов растительного происхождения. Эти ФС идентифицируются как флавоноиды, дубильные вещества, тритерпеноиды, фенольные кислоты и другие. Такие вещества рассматриваются в качестве кандидатов для разработки гепатопротекторных препаратов из-за их антиоксидантной активности.

В обзорах, проведенных Ugwu и Suru (2021), Hussain A. и другие, (2021), Saha P. и другие, (2019) и Sai A. и другие (2017), были рассмотрены самые изучаемые растения с антиоксидантной активностью, методы экстрагирования и фармакологические свойства [29-32] (Рисунок 1.2)

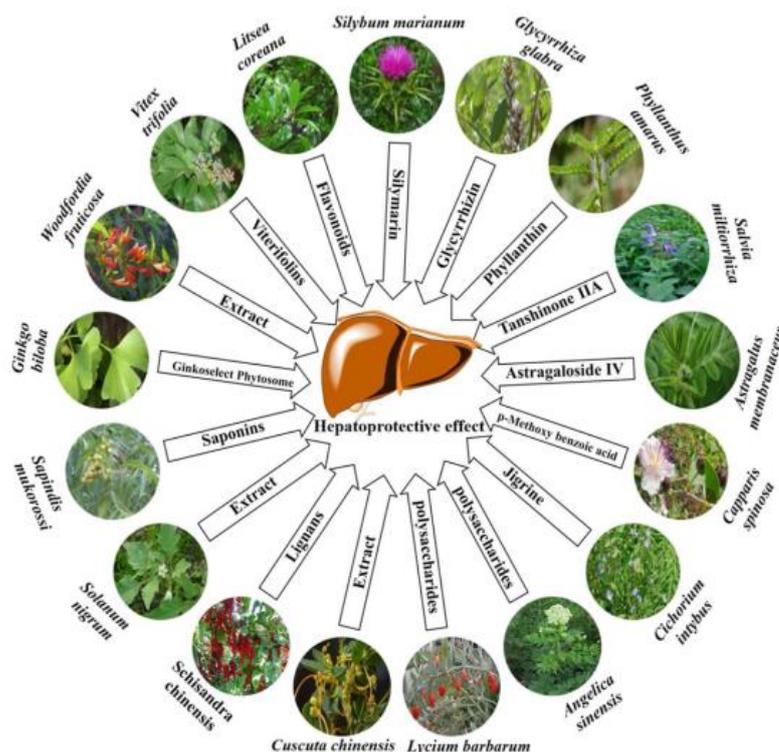


Рисунок 1.2. Растения с фитосубстанциями, обладающими гепатопротекторными свойствами. [33]

Некоторые экстракты растений, такие как экстракт мяты (*Mentha piperita* L.), обладает антиоксидантной активностью, благодаря содержащемуся в нем эфирному маслу (ЭМ), которое содержит в основном ментол, ментон, неоментол и изоментол, они обладают противовоспалительной, иммуномодулирующей, противоопухолевой, нейропротекторной и гепатопротекторной активностью [34-36].

Артишок (*Cynara scolymus*) – еще одно хорошо изученное растение, которое по результатам проведенных исследований на цинарин, основной компонент экстракта артишока, обладает желчегонными и гепатопротекторными свойствами, благодаря снижению окислительного стресса, стимуляции механизма обновления клеток и восстановлению стабильности клеточных мембран [37-39]

Таким же образом, экстракт лабазника (*Filipendula ulmaria L.*), является важным антиоксидантом, благодаря высокому содержанию салицилатов (в основном салициловой кислоты и метилсалицилата), фенольных кислот, флавоноидов (в основном кверцетина), флавоноидных гликозидов и кемпферолов (таких как гиперозид, изокверцитрин, рутозид, спиреозид, астрагалин). Все эти ФС продемонстрировали способность снижать процессы окислительного стресса в организме, особенно в тканях печени [40-42].

Экстракт бессмертника (*Helichrysum arenarium L.*) является важным природным антиоксидантом, в его составе содержится значительное количество флавоноидов, эфирных масел, жирных кислот, каротиноидов, фенольных кислот, витамина К, кумарина и скополетина, однако основная антиоксидантная активность обусловлена содержанием флавоноидов, которые присутствуют в виде гликозидов (F, G, H, I, J, K, L, M). Эти ФС превращают этот экстракт в гепатопротекторное и детоксицирующее средство для лечения заболеваний печени и желчегонных заболеваний [43-45].

### **1.3 Комбинированные гепатопротекторные препараты**

В клинической практике при заболеваниях печени лечение заключается в применении одного или комбинации двух или более синтетических или натуральных гепатопротекторных веществ.

Комбинированный препарат, определяется как препарат, содержащий два или больше активных биологических веществ, которые действуют комплексно в организме человека для профилактики и лечения заболеваний или для восстановления и поддержания состояния здоровья. Комбинированные препараты применяются для повышения эффективности лечения, уменьшения побочных эффектов, упрощения приема лекарств или помощи при одновременном лечении нескольких симптомов. [3,45]

#### **1.3.1 Гепатопротекторные препараты на основе расторопши пятнистой**

##### **1.3.1.1. Препараты, содержащие экстракт расторопши пятнистой**

Благодаря доказательной медицине препараты на основе расторопши пятнистой широко применяются в клинической практике для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей. В России по фармакологической группе – гепатопротекторное средство, на январь 2025 года зарегистрированы 8 препаратов, содержащих экстракт расторопши пятнистой плодов с содержанием суммы флаволигнанов в пересчете на силибин и абсолютно сухое вещество 65% [47], кроме того зарегистрированы 4 гепатопротекторных препаратов в комбинациях, содержащиеся сухой экстракт расторопши [48]. Лекарственные формы и дозы препаратов с сухим экстрактом расторопши плодов представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1. Препараты на основе сухого экстракта расторопши

| Препарат               | Лекарственная форма | Действующее вещество                 | Доза, мг |
|------------------------|---------------------|--------------------------------------|----------|
| АО «СОФАРМА»           | Драже               | Расторопши пятнистой плодов экстракт | 35       |
|                        | Таблетки            |                                      |          |
|                        | Капсулы             |                                      | 90       |
| ЗАО «ВИФИТЕХ»          | Таблетки            |                                      | 100      |
| Фармцентр ВИЛАР<br>ЗАО | Таблетки            |                                      | 100      |
| НПО ФармВИЛАР,<br>ООО  | Таблетки            |                                      | 100      |
| АО. «СОФАРМА»          | Капсулы             |                                      | 110      |
| МАДАУС ГмбХ            | Капсулы             |                                      | 140      |
|                        | Капсулы             |                                      | 70       |

|                          |          |  |        |
|--------------------------|----------|--|--------|
|                          | Драже    |  | 70     |
| НАУ Интернейшнл (США)    | Капсулы  |  | 580    |
| АО «Канонфарма продакшн» | Капсулы  | Расторопши пятнистой плодов экстракт       | 70     |
|                          |          | Фосфатидилхолин                            | 200    |
| ЗАО Партнер              | Капсулы  | Расторопши экстракт сухой                  | 100    |
|                          |          | Бифидобактерии бифидум                     | 50 млн |
|                          |          | Лактобактерии ферментум                    | 50 млн |
| ЗАО «Фармцентр ВИЛАР»    | Таблетки | Расторопши пятнистой плодов экстракт       | 30     |
|                          |          | Пижмы обыкновенной цветков экстракт сухой  | 25     |
|                          |          | Зверобоя экстракт сухой                    | 25     |
|                          |          | Березы экстракт сухой                      | 25     |
| Меркле ГмбХ, Германия    | Капсулы  | Расторопши пятнистой плодов экстракт       | 83,1   |
|                          |          | Дымянки лекарственной травы экстракт сухой | 275,1  |

### 1.3.1.2. Расторопша пятнистая



Более двух тысяч лет традиционная медицина древних азиатско-европейских цивилизаций использовала разнообразные растения, пригодные для лечебных целей, в том числе расторопшу пятнистую (*Silybum marianum* L. Garten) (Рисунок 1.3).

Существуют древнегреческие записи, относящиеся к периоду до нашей эры, в которых греческие врачи и ботаники

Рисунок 1.3. Расторопша пятнистая [49] использовали расторопшу в качестве общего противоядия от змеиных укусов. В последние столетия китайские, российские, немецкие, английские и индийские ботаники и ученые изучали и рекомендовали использовать расторопшу пятнистую в качестве гепатопротекторного растительного средства и в качестве профилактического средства при заболеваниях печени. Благодаря этому расторопша пятнистая имела и в настоящее время имеет широкий спектр применения. [33,50,51].

Расторопша пятнистая произрастает в Южной Европе, России, Центральной Азии, Индии и Эфиопии, в основном она произрастает в субтропическом биоме. Расторопша пятнистая- это двухлетнее травянистое колючее растение, достигающее 1,5 метров в высоту, с пестрыми (пятнистыми) крупными листьями и пурпурно-красными соцветиями в виде корзинок с шипами по краям диаметром около 4-5 см. Плоды расторопши представляют из себя бело-пятнистую семянку яйцевидной, слегка сдавленной с боков, формой с хохолком, отваливающимся в процессе заготовки, и морщинистой поверхностью длиной от 5 до 8 мм и шириной от 2 до 4 мм. Окраска плодов от светло-желтого до темно-коричневого цвета в зависимости от зрелости, пигментация пятнистая [33,50,52,53].

### 1.3.1.3. Фитохимическая характеристика расторопши пятнистой

Установлено, что основными используемыми частями растения расторопша пятнистая (*Silybum marianum* L.) являются семена и плоды, которые содержат

комплекс фитохимических веществ, известных как силимарин. Этот комплекс метаболитов отвечает за фармакологические эффекты, приписываемые растению. [50,54,55].

Фитохимический комплекс силимарин содержит разные группы биологически активных метаболитов (рис. 1.4), в основном это флавоноиды, флаволигнаны и полифенольные молекулы; группа флаволигнанов, которые присутствуют в комплексе силимарина, существуют в изомерных формах, таких как силибинин, изосилибинин, силидианин и силихристин, однако наиболее важным и биологическим активным из них является силибинин, также называемый силибином (молекулярная формула  $C_{25}H_{22}O_{10}$ ) (рис. 1.5), который сам по себе представляет собой смесь диастереомеров, силибина А и В, в одинаковом соотношении. Силибин составляет более 50-60% от общего количества комплекса силимарина, а другие изомеры флаволигнанов составляют около 35%, распределенные в 20% силихристина, 10% силидианина и 5% изосилибинина. [56-59].

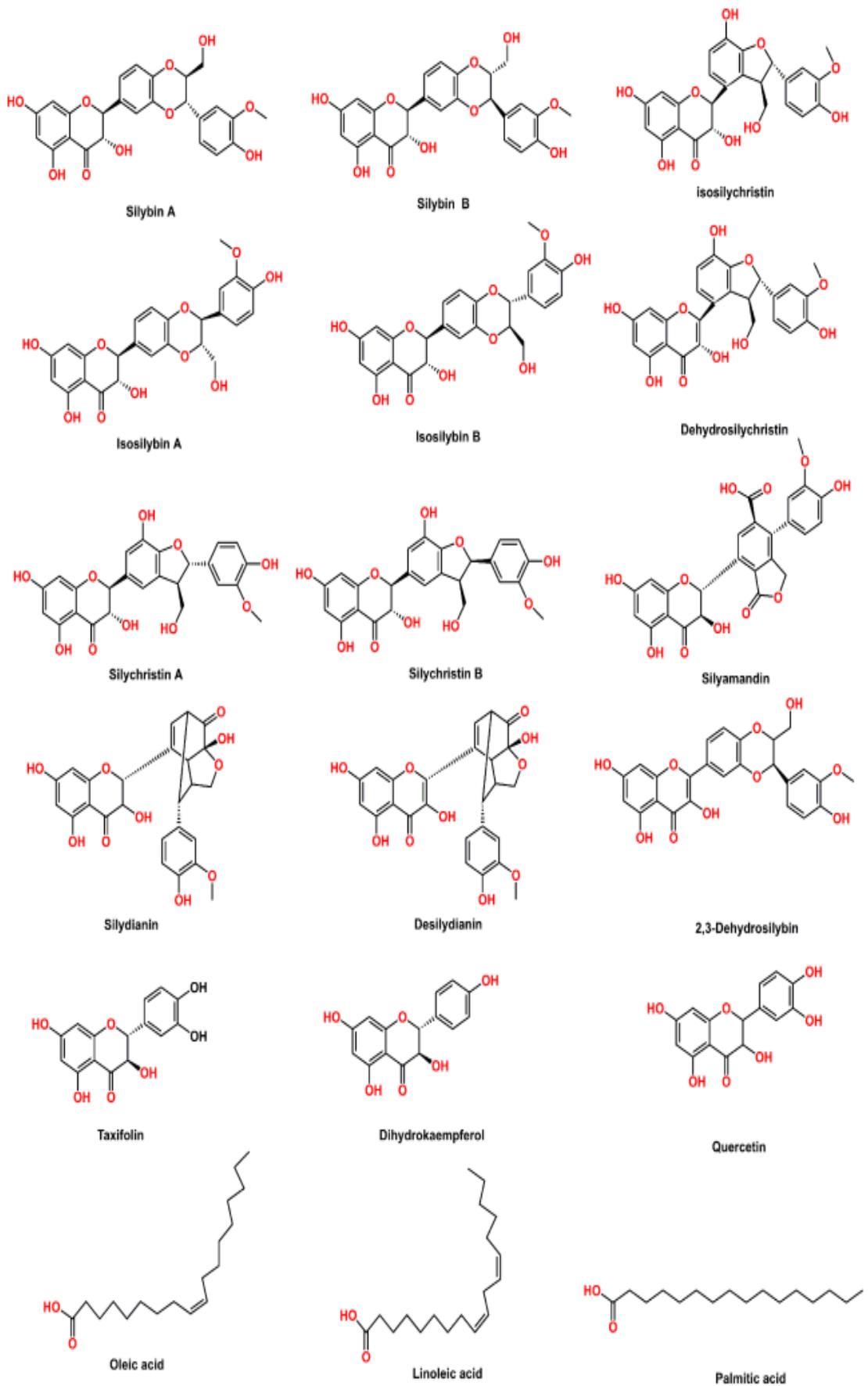


Рисунок 1.4. Метаболиты расторопши пятнистой [55]

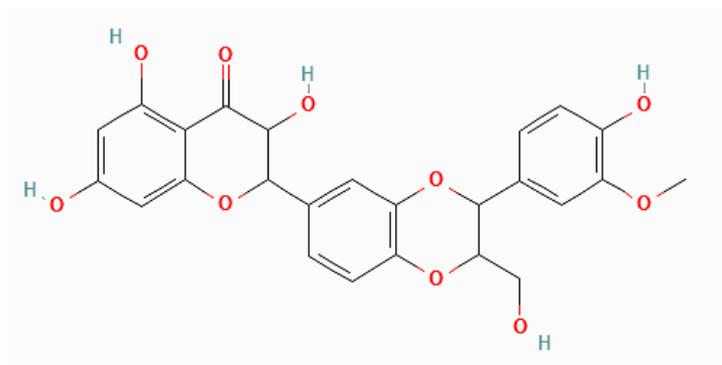


Рисунок 1.5. Химическая структура силибина [60]

Экстракт расторопши плодов не только содержит метаболиты в виде флавоноидов, но и содержит 20-30% эфирного масла, в котором присутствуют линолевая кислота (40-54%), олеиновая кислота (20-30%) и пальмитиновая кислота (7-8%) [59,61].

#### 1.3.1.4. Гепатопротекторное действие расторопши пятнистой

Одними из наиболее известных и хорошо изученных фармакологических свойств экстракта расторопши пятнистой являются сильное антиоксидантное, и противовоспалительное действие, эти свойства обусловлены разными количеством метаболитов, которые присутствуют в экстракте расторопши пятнистой. С фармакологической точки зрения эти полезные метаболиты задействуют множество механизмов, которые делают экстракт расторопши подходящим гепатопротекторным средством, способным защищать, оздоравливать и восстанавливать печень. Некоторые исследования показывают, что благодаря фитосубстанциям, содержащимся в экстракте расторопши пятнистой, механизмы, обеспечивающие гепатопротекторного эффекта напрямую связаны с антиоксидантной активностью комплекса силимарина, которая способна модифицировать измененный метаболизм клеток. [50,62-67]

Авторы указывают, что основные фармакологические эффекты могут быть обусловлены следующими способностями [8,31,32,51,55,68]:

- Предотвращения окислительного стресса путем контроля образования активных форм кислорода (АФК),

- Предотвращения фиброза и некроза гепатоцитов за счет снижения окислительного стресса
- Увеличения секреции антиоксидантных ферментов печени, таких как глутатионпероксидаза (GSH), глутатионредуктаза, супероксиддисмутаза (SOD) и каталаза (CAT).
- Снижения секреции окислительных ферментов печени, таких как аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ) и малоновый диальдегид (МДА).
- Ингибирования воспалительного процесса в гепатоцитах за счет снижения выработки фактора некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ), интерлейкинов 2, 4 и 6 (IL-2, IL-4 и IL-6)
- Увеличения регенерации печени за счет увеличения скорости пролиферации гепатоцитов
- Контроля проницаемости мембран путем ингибирования процесса перекисного окисления липидов,
- Уменьшения накопления жира в печени, стимулируя липолиз при жировых заболеваниях печени и неалкогольных жировых заболеваниях печени

#### **1.4. Технология, характеристика и свойства сухих экстрактов**

##### **1.4.1. Общая технология сухих экстрактов**

Согласно ГФ XV изд. (ОФС.1.4.1.0021) экстракты определяются как лекарственная форма, представляющая собой концентрированную вытяжку из лекарственного растительного сырья, реже из сырья животного происхождения [69]. По своей консистенции экстракты делятся на три типа: жидкие, густые и сухие, для каждого из них предусмотрены определенные технологические и качественные требования. Сухой экстракт (*Extracta sicca*) представляет собой порошкообразную массу, обладающую свойством сыпучести, с потерей массы при сушке не более 5%. Сухие экстракты широко используются в фармацевтической промышленности в качестве сырья для создания твердых и

полутвердых фармацевтических форм, таких как таблетки, гранулы, капсулы, кремы, мази, пасты и другие.

Технологический процесс получения сухих экстрактов основан на получении густых экстрактов, начиная с экстракции экстрагентом, очистки и заканчивая этапом сушки. Как и в случае с другими экстрактами, необходимо проводить стандартизацию и надлежащее хранение.

Для процесса получения сухих экстрактов подходящими методами экстракции являются мацерация, ремацерация, перколяция и циркуляционная экстракция. Очистка может осуществляться путем замены растворителя, спиртоочистки, кипячения и адсорбции. Для последнего этапа- сушки можно использовать вакуумные, распылительные, лиофильные сушилки.

#### **1.4.2. Особенность технологии сухих экстрактов**

Особенностью технологии сухих экстрактов является очистка от балластных веществ: из водных вытяжек обычно удаляют белковые вещества и полисахариды (слизи), из спиртовых – смолы, липиды, хлорофилл и т.д.

Все методы очистки от балластных веществ сводятся к трем основным и наиболее широко используемым:

1. Отстаивание в прохладном месте. При понижении температуры (не более 8 °С) такие вещества, как белки и ферменты выпадают в осадок, и в дальнейшем их легко отфильтровать.

2. Предварительное обезжиривание лекарственного растительного сырья. С этой целью используют циркуляционную экстракцию ( установка Сокслет).

3. Жидкостная экстракция – экстракция в системе жидкость-жидкость, при которой имеет место распределение экстрагируемого вещества между двумя взаимно растворимыми или ограниченно растворимыми жидкостями. При обработке спиртовых растворов органическими растворителями молекулы неполярных веществ будут переходить из исходного раствора в извлекатель.

### 1.4.3. Показатели качества сухих экстрактов

Согласно ГФ XV изд. процесс стандартизации сухих экстрактов определяется показателями качества.

Показатели качества должны быть применены как к сырью, так и к экстракту. Сырье должно соответствовать фармакопейной статье ФС.2.5.0035.15 – Расторопши пятнистой плоды *Silybi mariani fructus* по показателям качества, представленным в таблице 1.2. К сухим экстрактам ГФ устанавливает требования по показателям в соответствии с ОФС. 1.4.1.0021 – Экстракты, которые представлены в таблице 1.3. Однако другие показатели качества могут быть применимы, если полученный экстракт будет использоваться в качестве субстанции при разработке готовых лекарственных форм в соответствии с требованиями соответствующих ОФС [69,70].

Таблица 1.2. Показатели качества расторопши пятнистой плоды

| Показатели качества расторопши пятнистой плодов согласно с ФС.2.5.0035.15 –<br>Расторопши пятнистой плоды<br><i>Silybi mariani fructus</i> , взамен в ФС 42-3380-99 |  |                           |  |
|---|--|---------------------------|--|
| Испытание   |  | Нормативный документ      |  |
| 1   | Определение подлинности                          | По указаниям настоящей ФС |  |
| 2   | Определение влажности                            | ОФС.<br>1.5.3.0007        | Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения                 |
| 3   | Зола общая                                       | ОФС.<br>1.2.2.2.0013      | Зола общая   |
| 4   | Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте | ОФС.<br>1.5.3.0005        | Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте   |
| 5   | Тяжелые металлы                                  | ОФС.<br>1.5.3.0009        | Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах |
| 6   | Содержание                                       | ОФС.                      | Определение содержания радионуклидов   |

|    |   |   |   |
|----|---|---|---|
|    | радионуклидов                                 | 1.5.3.0001  | в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах  |
| 7  | Определение остаточного количества пестицидов | ОФС.<br>1.5.3.0011  | Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах |
| 8  | Определение микробиологической чистоты        | ОФС.<br>1.2.4.0002.15   | Микробиологическая чистота  |
| 9  | Количественное определение                    | Определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, по указанию ФС. |   |
|    |   | Определение содержания жирного масла, по указанию ФС.                   |   |
|    |   | Определение экстрактивных веществ, по указанию ФС.                      |   |
| 10 | Упаковка, маркировка и транспортирование      | ОФС.<br>1.1.0019  | Упаковка, маркировка и перевозка лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов             |
|    | Хранение                                      | ОФС.<br>1.1.0011  | Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов                                     |

Таблица 1.3. Показатели качества сухих экстрактов

| <b>Показатели качества сухих экстрактов согласно с ОФС.1.4.1.0021 – Экстракты, взамен ОФС.1.4.1.0021.15</b> |                 |                             |  |
|---|-----------------|-----------------------------|--|
| <b>Испытание</b>  |                 | <b>Нормативный документ</b> |  |
| 1   | Описание        | Визуально                   |  |
| 2   | Влажность       | ОФС.<br>1.2.1.0010          | Потеря в массе при высушивании   |
| 3   | Тяжелые металлы | ОФС.<br>1.5.3.0009          | Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах |

|   |  |                       |                                      |
|---|--|-----------------------|--------------------------------------|
| 4 | Остаточные органические растворители   | ОФС.<br>1.1.0008      | Остаточные органические растворители |
| 5 | Определение микробиологической чистоты | ОФС.<br>1.2.4.0002.15 | Микробиологическая чистота           |
| 6 | Упаковка                               | ОФС.<br>1.4.2.0007    | Масса (объём) содержимого упаковки»  |
| 7 | Маркировка                             | ОФС.1.1.0036          | Маркировка лекарственных средств     |

### 1.5. Твердая дисперсионная система

Биофармацевтическая классификационная система (БКС) подразделяет АФС на четыре класса (I, II, III и IV) в зависимости от их растворимости и проницаемости в кишечнике. Классификация БКС основана на ключевых параметрах, таких как растворимость, скорость растворения и проницаемость, которые контролируют всасывание [71,72]. Согласно с БКС, АФС класса I обладают наивысшей растворимостью; класса II – ограниченной растворимостью; класса III – ограниченной проницаемостью; и класса IV – плохой абсорбцией, что позволяет сделать вывод о том, что растворимость является основным параметром, который может быть показателем биодоступности [71,72].

Активная фармацевтическая субстанция экстракта расторопши силибинин обладает плохой биодоступностью, последнее обусловлено, в частности, кристаллическим состоянием и низкой растворимостью в воде флаволигнанов силимарина при комнатной температуре, а также их плохой постоянной абсорбцией [73,74], по этой причине относится к четвертому классу БКС и, следовательно, демонстрирует ограниченную биодоступность в лекарственных препаратах. В качестве решения этой проблемы в настоящее время внедряются различные технологии и методы для повышения растворимости плохо растворимых активных фармацевтических субстанций.

Применяемые технологии и методы направлены на уменьшение размера частиц для пропорционального увеличения поверхностного контакта, повышения

растворимости, улучшения проницаемости и получения лучшей биодоступности.[75-78]

Новые фармацевтические технологии фокусируют внимание на разработке «нанофармацевтических форм» с улучшенной системой доставки. В ходе исследований была оценена растворимость силимарина в наноэмульсиях, наномицеллах, эвтектиках, липосомах, этосомах, эмульсомах, комплексе с циклодекстрином, комплексе с альбумином, микросферах, твердых дисперсиях и других наноформах [73,74,79,80-85]. Несмотря на то, что эти наноформы обладают повышенной растворимостью, их разработка по-прежнему является дорогостоящей, трудоемкой и сложной для обеспечения стабильности получаемого лекарственного средства [80].

### **1.5.1. Полимеры-носители в твердых дисперсионных системах**

Твердая дисперсионная система (ТДС) – это технология, заключающаяся в диспергировании одного или нескольких компонентов в инертную жидкость или твердую полимерную матрицу – носитель, обладающую гидрофильными свойствами [86,87]. Полимерный носитель способствует прогрессированию эрозии малорастворимых АФС, в результате чего, АФС высвобождаются в виде очень мелких частиц для быстрого растворения; в зависимости от природы используемого полимера полученная твердая дисперсия превращается в новую кристаллическую или аморфную структурную форму. [10,11,88].

В зависимости от типа и природы полимера они подразделяются на три класса, первый класс включает полимеры с кристаллическим состоянием, также называемые полимерами с низкой молекулярной массой или гидрофобными полимерами; второй класс включает полимеры с аморфным состоянием или называемые также гидрофильными полимерами; а третий класс включает поверхностно-активные вещества или амфифильные полимеры [11,87,89].

Выбор полимера для разработки ТДС имеет решающее значение, поскольку физико-химические факторы влияют на получение АФС-твердой дисперсии, кроме того, при приготовлении твердых дисперсий систем (ТДС) необходимо учитывать другие факторы, такие как молекулярная масса полимера, природа

полимера (кристаллическое, полукристаллическое или аморфное состояние), соотношение АФС-полимер и гигроскопичность полимера, по той причине, что такие факторы определяют стабильность, растворимость и проницаемость АФС-ТДС [90,91].

В фармацевтической промышленности для получения твердых дисперсий широко используются гидрофильные полимеры и полимеры с поверхностно-активными веществами, благодаря их способности предотвращать образование микрокристаллизации АФС за счет снижения уровня перенасыщения и межфазного натяжения АФС-полимера, это приводит к повышению смачиваемости и растворимости АФС-ТДС [92-95].

В таблице 1.4. представлены наиболее водорастворимых полимеров, используемые при разработке твердодисперсных систем, в зависимости от их способности взаимодействовать с водой [11,89,90,96-98].

Таблица 1.4. Классификация полимеров по растворимости в воде

| <b>I класс<br/>Гидрофобные<br/>полимеры</b>        | <b>II класс<br/>Гидрофильные полимеры</b>  | <b>III класс<br/>Амфифильные полимеры</b> |
|--|--|---|
| Целлюлозы ацетат<br>(СА)                           | Полиэтиленгликоль 400-6000<br>(ПЭГ)  | Лаурилсульфат натрия<br>(SDS)             |
|  | Поливинилпирролидон (ПВП)  | Твин 80                                   |
|  | ПВП К30-90   | Размах 80                                 |
| Фталат ацетата<br>целлюлозы (САР)                  | Декстрины ( $\beta$ -циклодекстрин,<br>гидроксипропил- $\beta$ -<br>циклодекстрин) | Гелюцир 44/14                             |
| Этилцеллюлоза (ЕС)                                 | Метилцеллюлоза (МС)  | Полоксамер F-127                          |
|  | Гидроксипропилметилцеллюлоза<br>(НРМС)   | Плюроник F68                              |
| Сополимер этил<br>акрилата и метил<br>метаакрилата | Сукцинат ацетата<br>гидроксипропилметилцеллюлозы<br>(НРМСАС)                       | Полиоксиэтилен стеарат                    |
|  | Кристаллическая<br>микроцеллюлоза натрия   | Мурј 52                                   |
|  | Эудрагит L100 натрия   | Докузат натрия                            |

### 1.5.2. Методы, используемые для разработки ТДС

Для получения ТДС применяются различные методы, выбор определяется физико-химическими свойствами АФС и полимеров, наиболее распространенные, подходящие и практичные методы описываются ниже.

Метод удаления растворителя является одним из наиболее подходящих методов, используемых для получения твердой дисперсии, поскольку он не требует применения высокого температурного режима в процессе получения. В этом методе АФС и полимеры-носители растворяются в летучем органическом растворителе, а затем растворитель удаляется выпариванием, вакуум-сушкой, распылительной сушкой или сублимационной сушкой [92,96,99].

Метод плавления используется с не термочувствительными АФС, при этом физическая смесь АФС-Полимер нагревается до образования расплавленной смеси. При использовании метода агломерации расплава, АФС, связующее и другие вспомогательные вещества нагревают до температуры плавления связующего. В методе экструзии горячего расплава смесь АФС, полимера и пластификатора расплавляется выше температуры стеклования пластификатора, затем охлаждается и выдавливается через оборудование [89,90,96].

Метод сверхкритической жидкости – новый метод, который не требует высоких температур. В этом методе АФС и полимер растворяются в сверхкритическом растворителе (в основном используется диоксид углерода,  $\text{CO}_2$ ) и распыляются через сопло в расширительный сосуд с более низким давлением, после чего растворенное АФС и капля полимер быстро превращаются в твердые дисперсные частицы [89].

Метод «kneading» является недорогим методом, который может быть использован с негигроскопичных и термочувствительных АФС. В этом методе полимер диспергируется в воде и превращается в пасту, затем добавляется АФС и тщательно перемешивается, после чего готовая смесь высушивается и пропускается через сито [89].

### **1.5.3. Методы анализа и стандартизации ТДС**

Анализ ТДС основан на анализе полиморфизма веществ, поскольку новая твердая дисперсия является результатом смешивания АФС с одним или несколькими полимерными-носителями при определенных физических условиях, которые переводят АФС ТДС в новое состояние в зависимости от структурного состава полимера.

Физические и структурные изменения в состоянии твердой дисперсии могут определяться. Увеличение растворимости и скорости растворения твердой дисперсии являются косвенными показателями наличия физических изменений в твердой дисперсии, кроме того, физические изменения микроструктуры АФС ТД могут наблюдаться с помощью сканирующей электронной микроскопии.

С другой стороны, структурные изменения могут определиться с помощью аналитических методов, таких как дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК), которая способна определять количество фаз, присутствующих в многокомпонентных твердодисперсных смесях [12,89]; рентгеновская дифрактометрия, которая способна определять изменения в твердом состоянии, происходящие при образовании твердых дисперсий [100,101]; колебательная спектроскопия (инфракрасная, ИК и романовская, РАМАН) может быть использована для определения молекулярных взаимодействий АФС с полимером в виде изменений кристалличности и химической структуры [99,102].

### **1.6. Гранулирование в технологии готовых лекарственных форм**

Гранулирование – процесс превращения порошков в гранулы. В соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.1.0004 «Гранулы», гранулы представляют собой твёрдую лекарственную форму в виде агрегатов частиц порошка, имеющие круглую, цилиндрическую или неправильную форму с размером от 0,5 до 2 мм. Гранулы могут содержать одно или несколько действующих веществ с или без добавления вспомогательных веществ [103,104,105]. По пути введения и применения различают гранулы для приёма внутрь, для рассасывания, гранулы

шипучие, гранулы для приготовления лекарственных форм для приёма внутрь [103].

Метод гранулирования используется с целью улучшения физико-химических свойств и стабильности гранулята в готовой лекарственной форме, она позволяет [102-105]:

- Повышать свойства насыпной плотности гранулята
- Улучшить равномерность дозирования из-за модификации размера частиц по однородному фракционному составу массы гранулята
- Уменьшать характеристики распадаемости и растворения гранулята
- Предотвращать расслоение смеси
- Улучшить характеристики уплотненности и прессования гранулята
- Улучшить степень текучести гранулята
- Снижать опасность, связанную с образованием токсичной пыли при работе с порошками токсичных материалов
- Улучшить внешний вид готовой лекарственной формы

### **1.6.1. Гранулирование – классификация методов**

Фармацевтическая технология получения гранул определяется как гранулирование. Гранулирование имеет важную роль на качество и стабильность полученного препарата [104]. Существуют два классические методы гранулирования – влажное и сухое, каждая из которых обладает своими технологическими особенностями и преимуществами. На основе классических методов гранулирования разрабатываются новые методы, которые отличаются от влажного и сухого гранулирования с использованием современного оборудования и новых методик. Некоторые из новых методов гранулирования описываются ниже.

На основе сухого гранулирования возникла пневматическое сухое гранулирование (ПСГ), которое представляет собой процесс гранулирования, при котором роликовый пресс-подборщик деликатно сжимает частицы порошка, образуя однородную массу, состоящую из мелких частиц и гранул. Затем

используется пневматическая система для разделения зерен в нужном диапазоне размеров в камере фракционирования [104].

На основе влажного гранулирования возникли новые методы, такие как:

– Обратное влажное гранулирования (ОВГ) – метод, при котором мелкодисперсные порошки погружаются в связующее вещество (СВ), что устраняет необходимость образования зародышей гранул. Процесс ОВГ направлена на уменьшение насыщения жидкостью [101,109].

– Паровое гранулирование – метод, при котором в качестве СВ используется пар вместо воды для образования агломерации порошков. Паровое гранулирование включает в себя подачу струи пара (при температуре 150 °С) в слой частиц порошков, подлежащих гранулированию [104,106,109].

– Гранулирование активированной влагой представляет собой процесс влажного гранулирование, использующее СВ (в жидкостным состоянии) для образования агломерации частиц порошков, однако избыток влаги поглощается добавлением в состав одного или нескольких ВВ с влагопоглощающими свойствами [106,107,109].

– Расплавное гранулирование — метод, при котором фармацевтические порошки эффективно агломерируются с помощью гидрофобных плавящихся связующих веществ, которые расплавляется при процессе разработки. [91,94,96].

– Пенное гранулирование – метод, при котором жидкие связующие вещества добавляются в виде водной пены. Пена улучшает равномерное распределение СВ в смеси порошков. [93,94,96].

### **1.6.2. Контроль качества гранул**

Контроль качества гранул проводится в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.1.0004 – Гранулы. Показатели качества гранул представлены в таблице 1.5.

Таблица 1.5. Показатели качества гранул

|   |
|---|
| <b>Показатели качества гранул согласно с ОФС.1.4.1.0004 – Гранулы</b> |
|---|

| Испытание                      | Нормативный документ |   |
|--------------------------------|----------------------|---|
| Описание                       | Визуально            |   |
| Потеря в массе при высушивании | ОФС.1.2.1.0010       | Потеря в массе при высушивании                          |
| Размер гранул                  | ОФС.1.4.2.0032       | Ситовой анализ  |
| Распадаемость                  | ОФС.1.4.2.0013       | Распадаемость твёрдых лекарственных форм                |
| Растворение                    | ОФС.1.4.2.0014       | Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм |
| Упаковка                       | ОФС.1.4.2.0007       | Масса (объём) содержимого упаковки»                     |
| Маркировка                     | ОФС.1.1.0036         | Маркировка лекарственных средств                        |

## 1.7. Характеристики капсул

### 1.7.1. Капсулы – лекарственная форма

В соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.1.0005, капсулы представляют собой твердую дозированную лекарственную форму, содержащую одно или несколько действующих веществ с добавлением или без добавления вспомогательных веществ [110].

Популярность употребления капсул объясняется универсальностью и удобством применения с маскированием вкусов, точным дозированием и защитой активных ингредиентов до момента их высвобождения в организме, кроме того капсулы характеризуются возможностью комбинировать различные наполнители внутри самой капсулы для достижения необходимого фармакологического действия [110].

На рис. 1.6. представлены разные возможные комбинации наполнителей капсул, в том числе: 1 – порошок; 2 – гранулы; 3 – микродраже; 4 – микрокапсулы с жидким или газообразным ядром; 5 – комбинация микрокапсул; 6 – паста; 7 – таблетки; 8 – комбинация порошка и таблетки; 9 – комбинация порошка и микрокапсул; 10 – комбинация микрокапсул и таблетки; 11 – комбинация

микрокапсул и желатиновой капсулы; 12 – комбинация микрокапсул, порошка и желатиновой капсулы. [111]



Рисунок 1.6. Комбинация наполнителей для твердых капсул

### 1.7.2. Классификация капсул

По консистенции и форме оболочек капсулы могут классифицироваться на твердые и мягкие. С одной стороны, твёрдые капсулы имеют цилиндрическую форму с полусферическими концами, состоящие из двух частей – корпуса и крышечки, которые входят одна в другую, не образуя зазоров. Корпус и крышечка могут иметь специальные канавки и выступы для обеспечения «замка». Механизмы запираания капсул представлены на рис. 1.7. С другой стороны, по сравнению с твердыми капсулами, мягкие капсулы имеют вместимость до 1,5 мл, и различные формы с толстыми оболочками [110,112]. Формы мягких капсул представлены на рис. 1.8.

По пути введения и применения капсулы делят на капсулы для приёма внутрь, капсулы подъязычные, капсулы для рассасывания, капсулы жевательные, капсулы вагинальные, капсулы внутриматочные, капсулы ректальные, капсулы с порошком для ингаляций [110,112].

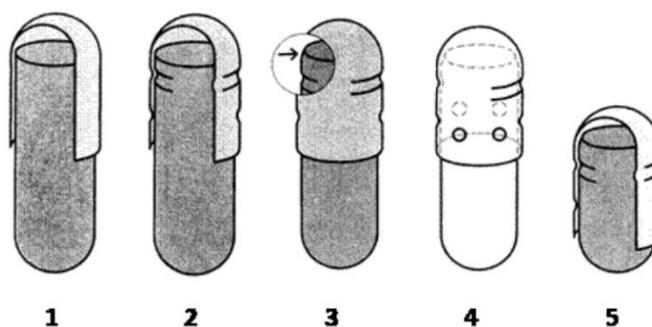


Рисунок 1.7. Механизмы запираания капсул.

1-Standard; 2-Snap-Fit™; 3-Coni-Snap™; 4-Coni-Snap™ (с дополнительным «замком»); 5-Coni\_Snap Supro™

По типу высвобождения действующего вещества различают капсулы с обычным и модифицированным высвобождением. [110,113,114].

- *Капсулы с модифицированным высвобождением* – капсулы для приёма внутрь, полученные по специальной технологии, или в состав оболочки и/или содержимого которых входят специальные вспомогательные вещества, для изменения скорости, и/или времени, и/или места высвобождения действующего вещества.

- *Капсулы кишечнорастворимые* – капсулы для приёма внутрь с отсроченным высвобождением, полученные путём заполнения гастрорезистентными гранулами или частицами или путём использования специальной технологии, которые обеспечивают устойчивость в желудочном соке (гастрорезистентность) и обычное высвобождение действующих веществ в кишечном соке.

- *Капсулы с пролонгированным высвобождением* – капсулы для приёма внутрь, содержащие специальные вспомогательные вещества или полученные по специальной технологии, для замедленного непрерывного высвобождения действующего вещества (действующих веществ).

- *Капсулы кишечнорастворимые с пролонгированным высвобождением* – капсулы кишечнорастворимые, содержащие специальные вспомогательные вещества или полученные по специальной технологии, для замедленного непрерывного высвобождения действующих веществ.

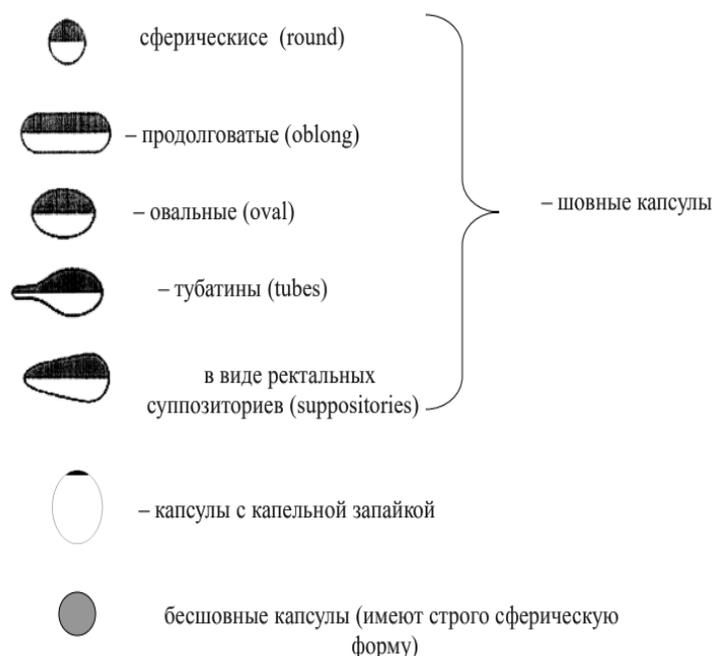


Рисунок 1.8. Формы мягких капсул

### 1.7.3. Показатели качества капсул

Контроль качества капсул проводится в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.1.0005 – Капсулы. Показатели качества капсул представлены в таблице 1.6.

Таблица 1.6. Показатели качества капсул

| Показатели качества капсул согласно с ОФС.1.4.1.0005 – Капсулы, взамен ОФС.1.4.1.0005.18 |                      |  |
|--|----------------------|--|
| Испытание  | Нормативный документ |  |
| Описание   | Визуально            |  |
| Однородность массы   | ОФС. 1.4.2.0008      | Однородность дозирования                           |
|  | ОФС. 1.4.2.0009      | Однородность массы дозированных лекарственных форм |

|                            |                       |   |
|----------------------------|-----------------------|---|
| Распадаемость              | ОФС.<br>1.4.2.0013    | Распадаемость твёрдых лекарственных форм                |
| Растворение                | ОФС.<br>1.4.2.0014    | Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм |
| Микробиологическая чистота | ОФС.<br>1.2.4.0002.18 | Микробиологическая чистота                              |
| Упаковка                   | ОФС.<br>1.4.2.0007    | Масса (объём) содержимого упаковки»                     |
| Маркировка                 | ОФС.<br>1.1.0036      | Маркировка лекарственных средств                        |

## ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1

1. В результате анализа литературных данных и обзора рынка гепатотропных препаратов установлено, что наблюдается значительный интерес в разработке комбинированных средств для гепатотропной терапии, в состав которых включают эссенциальные фосфолипиды, глицирризиновую кислоту, УДХК, витамин Е и другие активные субстанции.

2. Одним из перспективных направлений является разработка комбинированных препаратов с растительными экстрактами, особенно с экстрактом расторопши пятнистой. При этом выявлено, что на рынке комбинированных гепатотропных препаратов отсутствуют препараты, содержащие УДХК и экстракт расторопши, что говорит об актуальности темы данной диссертационной работы.

3. Сухой экстракт расторопши обладает гепатопротекторной активностью, однако использование данной фитосубстанции ограничено из-за его плохой растворимости. Создание твердой дисперсионной системы—альтернативный способ повышения биодоступности малорастворимых активных веществ, поэтому разработка ТДС сухого экстракта расторопши является актуальной задачей в

рамках изучения возможности повышения растворимости и улучшения профиля высвобождения фитосубстанции из готовой лекарственной формы.

4. Твердые желатиновые капсулы являются перспективной лекарственной формой, увеличивая биодоступность действующих веществ, а также повышая устойчивость активных субстанций к воздействию внешних и внутренних факторов.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Объекты исследования

В данной диссертационной работе объекты исследования – плоды расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) от производителей ООО Фирма «Биокор» (Пенза, Россия) и ООО «Сампо» (Тверская область, Россия). В качестве готовой АФС использовали урсодезоксихолевую кислоту (Чжуншань Беллинг Биотекнолоджи Ко. Лтд. Китай).

Для выполнения исследования использовали голубые цилиндрические кишечнорастворимые твердые желатиновые капсулы с размером «2» и длиной замки от  $17,5 \pm 0,7$  мм (ООО «ФармаПак», Китай) на основе желатина, гипромеллоза фталата, диоксида титана и брильянтового синего (E133).

### 2.2 Реактивы, оборудование и средства измерения

#### 2.2.1 Реактивы

- Вода очищенная ( $H_2O$ ) по ФС.2.2.0020.
- Спирт этиловый ( $C_2H_6O$ ) по ГОСТ 32036-2013.
- Калия гидроксид (KOH) CAS №:16788-57-1. ГОСТ 24363-80.
- Калия дигидрофосфат ( $KH_2PO_4$ ) CAS №:7778-77-0. ГОСТ 4198-75.
- Дикалия гидрофосфат ( $K_2HPO_4$ ) CAS №:16788-57-1. ГОСТ 2493-75.
- Натрий хлорид ( $NaCl$ ) CAS №:7647-14-5. ГОСТ 4933-77.
- Лаурилсульфат натрия ( $C_{12}H_{25}NaO_4S$ ) CAS №:151-21-3. ТУ-09-10-1405-79
- Поливинилпирролидон ПВП К-29/32, Plasdone™ К-29/32, CAS №:9003-39-8.
- Гидроксипропилметилцеллюлоза – ГПМЦ CAS №:9004-65-3.
- Поливинилпирролидон винилацетат - ПВП ВА-64, Plasdone Va64, CAS №:25086-89-9.
- Желатин, CAS №:9000-70-8. ГОСТ 11293-2017.
- Ацетонитрил химически чистый ( $C_2H_3N$ ). ГОСТ: 243315.
- Углерод четыреххлористый ( $CCl_4$ ). ГОСТ 20288-74.
- Муравьиная кислота ( $CH_2O_2$  –метановая кислота). ГОСТ 5848-73.

- Ацетон (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O). ГОСТ 2768-84.
- Трихлорметан (CHCl<sub>3</sub>). ГОСТ 3160-51.
- Гексан (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>). ГОСТ 2631-158-44493179-13.
- Микrokристаллическая целлюлоза (МКЦ). ТУ- 9317-008-07-50109-2014
- Стеарат магния. ТУ-6-09-16-1533-90

### **2.2.2 Оборудование и средства измерения**

- Фильтр обеззоленный «Белая лента» с диаметром пора – 110 мкм, Мелиор, Россия
- Мембранный фильтр – PES 0,45 мкм, TRP, Швейцария.
- Базовый pH-метр PB-11-P11, Sartorius, Германия
- Шкаф сушильный OF-12G, JeioTech, Китай
- Анализатор влажности Эвлас – 2М, Россия
- Печь муфельная СНОЛ 3/11, ПСБ-Галс, Россия
- Электро траво- и корнерезка ТУ 37-53 тип 622-1-М. (Россия)
- Лабораторные весы ВЛТ 150-П «Сартогосм», Россия с точностью 0,5 мг
- Аналитические весы SE224-C ООО «Сартогосм», Россия с точностью 0,1 мг
- Пластинки для ТСХ Sorbfil УФ-254 ПБК
- Электроспектрофотометр – UV 1240 mini «Shimadzu», Япония.
- Тестер распадаемости ERWEKA ZT 220, Германия
- Тестер растворения ERWEKA DT 326/1000 НН, Германия
- Тестер насыпной плотности ERWEKA SVM 221, Германия
- Электронный тестер для измерения сыпучести GT ERWEKA, Германия
- Ванна ультразвуковая 2,8л «Сапфир» НПП Сапфир, Россия, с частотой 35 Гц.
- Магнитная мешалка ИКА HS7, Германия
- Анализатор размера частиц лазерный анализатор размера частиц «Microsizer 201С», Россия
- Анализатор инфракрасного спектра ИК-Фурье спектрометре Spectrum 3 PerkinElmer, США

- Климатическая камера гигроскопичности НРР 110, Memmert, Германия
- Хроматограф газовый с пламенно-ионизационным детектором Clarus 680, PerkinElmer, США
- Мельница лабораторная JM 201 ПЛАУН-системы, Россия
- Y-смеситель YB 5, ERWEKA, Германия
- Инструмент – наполнитель капсул размер «2», ООО Yibing, Китай

### **2.3. Методы анализа лекарственного растительного сырья – расторопши пятнистой плодов**

#### **2.3.1. Определение влажности лекарственного растительного сырья**

Определение влажности расторопши пятнистой плодов проводили в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», испытание проводилось на приборе Анализатор влажности Эвлас – 2М, Россия. Навеска составляла 3,0 г. Перед началом анализа навеска равномерно распределялась на чаше для проб, выставлялась температура сушки 100-105 °С. Далее запускался процесс определения потери в массе при высушивании, по истечении которого на дисплее отображался результат анализа.

#### **2.3.2. Определение золы общей**

Определение золы общей расторопши пятнистой плодов проводили в соответствии с методом, приведенном в ГФ XV, по ОФС.1.2.2.2.0013 «Зола общая».

#### **2.3.3. Определение золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте**

Определение золы расторопши пятнистой плодов, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, проводили в соответствии с методом, приведенным в ГФ XV, по ОФС.1.5.3.0005 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте».

#### **2.3.4. Определение основных биологически активных веществ**

Испытание проводилось в соответствии с ФС.2.5.0035.15 расторопши пятнистой плоды – раздел «Определение основных биологически активных веществ» методом тонкослойной хроматографии. Около 0,01 г (точная навеска) стандартизованного экстракта расторопши пятнистой плодов (содержание силибина не менее 80%) помещали в колбу вместимостью 25 мл и взбалтывали с 10 мл спирта 96%. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр (раствор РСО силибина).

Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 1 мм, помещали в колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 10 мл спирта 96% и нагревали с обратным холодильником при умеренном кипении на водяной бане в течение 30 мин. Извлечение охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором точно при помощи капилляра наносили равное количество испытуемого раствора и рядом раствора РСО силимарина. Пластинку с нанесенными пробами сушили, помещали в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 2 ч смесью растворителей углерода тетрахлорид – ацетонитрил (6:4), и хроматографировали восходящим способом. Ко времени, когда фронт растворителей прошел около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимали из камеры, сушили до удаления следов растворителей и просматривали в УФ-свете при длине волны 254 нм.

На хроматограмме стандартного раствора силибина должна обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции РСО силибина, допускается обнаружение других зон адсорбции.

### **2.3.5. Количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин**

Испытание проводилось в соответствии с ФС.2.5.0035.15 «Расторопши пятнистой плоды» – раздел количественное определение суммы флаволигнанов в

пересчете на силибин методом УФ-спектроскопии. Чтобы определить содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) проводили расчеты с использованием величины удельного показателя поглощения силибина по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 500000}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$  – поглощение силибина при длине волны 289 нм, равный 450;

a – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

### **2.3.6. Количественное определение жирного масла**

Испытание проводилось в соответствии с ФС.2.5.0035.15 «Расторопши пятнистой плоды» – раздел количественное определение жирного масла в расторопши пятнистой плодах.

### **2.3.7. Количественное определение экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 80%**

Количественное определение экстрактивных веществ в расторопши пятнистой плодах проводили в соответствии с методом 1, приведённым в ГФ XV, по ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» с использованием в качестве экстрагента спирта этилового 80%.

### **2.3.8. Определение содержания тяжелых металлов**

Определение содержания тяжелых металлов проводили методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) в соответствии с ГФ XV, по ОФС.1.5.3.0009.15 [70].

## 2.4. Количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в спирто-водном извлечении после экстрагирования спиртом этиловым 70 и 80%

Для определения количественного содержания суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в спирто-водном извлечении после экстрагирования спиртом этиловым 70 и 80% аналитическая проба сырья измельчилась до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 3,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 150 мл спирта. Настаивали в течение 30 минут. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 30 мин. Вслед за тем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр. После охлаждения фильтрата добавляли спирта до достижения объема 200 мл (раствор А испытуемого раствора).

1,0 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора спиртом до метки и перемешивали (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора испытуемого раствора измеряли на спектрофотометре при длине волны 289 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали спирт.

Чтобы определить содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) проводили расчеты с использованием величины удельного показателя поглощения силибина по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 500000}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора Б;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$  – поглощение силибина при длине волны 289 нм, равный 450;

a – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Примечание. При экстрагировании сырья этиловым спиртом в соотношениях сырье : экстрагент 1:10, 1:20, 1:30 и 1:40 в методику вносились следующие изменения: 3,0 г сырья заливали 30, 60 и 90 мл спирта соответственно; после охлаждения и фильтрования в каждый из растворов добавляли спирт до достижения объема 200 мл. При исследовании времени экстрагирования нагревание на водяной бане вели в течение 15, 30 и 45 минут.

## **2.5. Методы анализа и стандартизации фармацевтической субстанции – сухого экстракта расторопши пятнистой плодов**

### **2.5.1. Описание**

Приводилось визуальное описание консистенции, цвета и запаха полученного сухого экстракта расторопши пятнистой плодов.

### **2.5.2. Потеря в массе при высушивании**

Определение потери в массе при высушивании полученного сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводилось по ОФС.1.2.1.0010 [115], с использованием анализатора влажности Эвлас-2М – Россия, с инфракрасным нагревателем. Навеска составляла 3,0 г. Перед началом анализа навеска равномерно распределялась на чаше для проб, выставлялась температура сушки 100-105 °С. Далее запускался процесс определения потери в массе при высушивании, по истечении которого на дисплее отображался результат анализа.

### **2.5.3. Подлинность**

Определение подлинности полученного сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводили двумя методами:

Метод 1 – Тонкослойная хроматография (ТСХ).

Около 0,01 г (точная навеска) стандартизованного экстракта расторопши пятнистой плодов (содержание силибин не менее 80%) помещали в колбу вместимостью 25 мл и взбалтывали с 10 мл спирта 96%. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр (раствор РСО силибин).

0,01 г сухого экстракта помещали в колбу вместимостью 25 мл и взбалтывали с 10 мл спирта 96 %. Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке точно при помощи капилляра наносили равное количество испытуемого раствора и раствора РСО силибина. Пластинку с нанесенными пробами помещали в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 2 ч смесью растворителей углерода тетрагидрид – ацетонитрил (6:4), и хроматографировали восходящим способом. В моменте, где фронт растворителей проходил около 80 - 90% длины пластинки от линии старта, ее вынимали из камеры, сушили до удаления следов растворителей и просматривали в УФ-свете при длине волны 254 нм.

На хроматограмме раствора стандартного образца силибина должна обнаруживаться зона адсорбции с интенсивной флуоресценцией фиолетового цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должна быть обнаружена зона адсорбции с интенсивной флуоресценцией фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции РСО силибина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

#### Метод 2 – УФ-спектроскопия

УФ-спектр раствора, приготовленного для количественного определения, в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны  $288 \pm 3$  нм.

#### **2.5.4. Количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин**

Количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в разработанном СЭР определено с образцом по 0,05 г (точная навеска) сухого экстракта по вышеописанной методике. (см. п. 2.3.5).

#### **2.5.5. Остаточные органические растворители**

Для сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводилось испытание определение остаточных органических растворителей в соответствии с

ГФ XV изд. по ОФС.1.1.0008 методом газовой хроматографии, на приборе хроматограф газовый с пламенно-ионизационным детектором Clarus 680, PerkinElmer, США, испытание проводилось по следующей методике.

Стандартный раствор. 10 мкл (6,55 мг) стандартного образца гексана помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объём раствора диметилсульфоксидом до метки и перемешивали. 1,25 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объём раствора диметилсульфоксидом до метки и перемешивали.  $C = 0,00655$  мг/мл.

5,0 мл стандартного раствора помещали во флакон для парофазного анализа, герметично закрывали пробкой.

Испытуемый раствор. Около 0,5 г сухого экстракта (точная навеска) помещали во флакон для парофазного анализа, добавляли 5,0 мл диметилсульфоксида, герметично закрывали пробкой.

Хроматографировали паровую фазу стандартного раствора и испытуемого раствора при следующих условиях:

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| Колонка                        | капиллярная Elite-WAX ETR 60м, 0,32 мм, 1 мкм   |
| Газ-носитель                   | азот, 2 мл/мин, деление потока 10 мл/мин  |
| Температура термостата колонки | 120 °С в течение 4 минут, увеличение температуры со скоростью 10 °С/мин до 180 °С, затем 5 минут при конечной температуре |
| Температура инжектора          | 120 °С  |
| Температура детектора          | 220 °С  |
| Детектор                       | ионизационно-пламенный, расход водорода – 40 мл/мин, расход воздуха – 400 мл/мин  |
| Парофазный дозатор             |   |
| Температура термостатирования  | 110 °С  |

|                     |                   |
|---------------------|-------------------|
| образца             |                   |
| Время               |                   |
| термостатирования   | 30 мин            |
| Температура иглы    | 115 °С            |
| Температура линии   |                   |
| переноса            | 120 °С            |
| Время нагнетания    | 2 мин             |
| Ввод пробы          | 0,06 мин (1,7 мл) |
| Давление            | 26 psi            |
| Время               |                   |
| хроматографирования | 15 мин            |

По окончании процесса хроматографии определяли время удерживания гексана, площадь пика гексана в стандартном растворе и площадь пика гексана в испытуемом растворе.

Количественное содержание гексана в сухом экстракте расторопши в ppm (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_{\text{исп}} \cdot C \cdot 1,25 \cdot 5}{S_{\text{ст}} \cdot a \cdot 50 \cdot 25},$$

где  $S_{\text{исп}}$  – площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_{\text{ст}}$  – площадь пика на хроматограмме стандартного раствора;

C – концентрация стандартного раствора, мг/мл;

a – навеска сухого экстракта, г.

### 2.5.6. Насыпная плотность

Определение насыпной плотности разработанного сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводили в соответствии с методом 1, приведенным в ГФ XV изд. по ОФС.1.4.2.0024 «Насыпная плотность и плотность после уплотнения» [116]. Испытание проводилось с помощью прибора Тестер насыпной плотности ERWEKA SVM 221, Германия. При использовании текущей формулы 1 мл равно 1 см<sup>3</sup>.

Плотность после уплотнения ( $\rho_{tapped}$ ) рассчитывают по формуле:

$$\rho_{tapped} = \frac{m}{V_f},$$

где,  $\rho_{tapped}$  – плотность после уплотнения, г/см<sup>3</sup>;

$m$  – масса испытуемого образца в цилиндрическом сосуде до уплотнения, г

$V_f$  - конечный насыпной объём испытуемого образца после уплотнения, мл

Для определения показателей прессуемости: коэффициент прессуемости (индекс Карра) и коэффициент Хауснера используются следующие формулы

$$\text{Индекс Карра} = \frac{V_0 - V_f}{V_0},$$

$$\text{Коэффициент Хауснера} = \frac{V_0}{V_f},$$

Где,  $V_0$  – масса испытуемого образца в цилиндрическом сосуде до уплотнения, г

$V_f$  - конечный насыпной объём испытуемого образца после уплотнения, мл

Интерпретация результатов показателей прессуемости представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1. Интерпретация результатов показателей прессуемости

| Индекс Карра, % | Сыпучесть          | Коэффициент Хауснера |
|-----------------|--------------------|----------------------|
| 1 – 10          | Отличная           | 1,00 – 1,11          |
| 11 – 15         | Хорошая            | 1,12 – 1,18          |
| 16 – 20         | Приемлемая         | 1,19 – 1,25          |
| 21 – 25         | Удовлетворительная | 1,26 – 1,34          |
| 26 – 31         | Слабая             | 1,35 – 1,45          |
| 32 – 37         | Плохая             | 1,46 – 1,59          |
| более 38        | Очень плохая       | более 1,60           |

### 2.5.7. Сыпучесть

Определение сыпучести сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводили в соответствии с методом 1, приведенным в ГФ XV изд. по

ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков» [117], испытание проводилось с помощью прибора Электронный тестер для измерения сыпучести GT ERWEKA, Германия.

### 2.5.8. Гигроскопичность

Гигроскопичность сухого экстракта расторопши пятнистой плодов определяли в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.1.0042 «Определение гигроскопичности» [118] двумя методами.

Метод 1 – данное испытание проводилось с помощью эксикаторов с постоянной относительной влажностью. Для подготовки эксикаторов использовали раствор магния хлорида (относительная влажность 40%), раствор натрия хлорида (относительная влажность 70%), воду (относительная влажность 100%).

В три предварительно взвешенных стеклянных бюксов (с крышкой) ровным слоем засыпали по 1,0 г сухого экстракта. Затем пробы помещали на решетку каждого из трех подготовленных эксикаторов, снимали крышку с бюксов, и выдерживали пробу в течение 24 ч.

Метод 2 – данное испытание проводилось с помощью прибора климатическая камера гигроскопичности НРР 110, Memmert, (Германия) при постоянной относительной влажности от 65%. В три предварительно взвешенных стеклянных бюксов (с крышкой) ровным слоем засыпали по 1,0 г сухого экстракта. Затем пробы помещали в климатической камере, снимали крышку с бюксов, и выдерживали пробу в течение 24 ч при температуре 25 °С.

Для обоих методов рассчитывают увеличение массы сухого экстракта в процентах (X) по формуле:

$$X = \frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1} \cdot 100,$$

где,  $m_1$  – масса пустого стеклянного бюкса, г,

$m_2$  – масса бюкса с сухим экстрактом до экспозиции во влажной среде, г

$m_3$  – масса бюкса с сухим экстрактом после экспозиции во влажной среде, г.

По полученным результатам интерпретировали гигроскопичность сухого экстракта, используя следующие термины:

- *Расплывается на воздухе*, когда масса поглощает достаточное количество водяных паров с образованием жидкости;
- *Очень гигроскопичен*, когда увеличение в массе составляет 15% и более;
- *Гигроскопичен*, когда увеличение в массе составляет 2% и более, но менее 15%;
- *Слегка гигроскопичен*, когда увеличение в массе составляет 0,2% и более, но менее 2%.

### **2.5.9. Определение содержания тяжелых металлов**

Количественное содержание тяжелых металлов и мышьяка проводилось в соответствии с ГФ XV, по ОФС.1.5.3.0009 метод – III [121].

## **2.6. Методы анализа и стандартизации ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов**

### **2.6.1. Методы анализа ТДС СЭР**

#### **2.6.1.1. Остаточные органические растворители**

Для ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводилось испытание определение остаточных органических растворителей в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.1.0008 методом газовой хроматографии, с помощью прибора хроматограф газовый с пламенно-ионизационным детектором Clarus 680, PerkinElmer, США. Испытание проводилось по следующей методике.

Стандартный раствор, 35,4 мг стандартного образца метанола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объём раствора водой очищенной до метки и перемешивают.  $C = 0,354$  мг/мл. 2,0 мл стандартного раствора помещают во флакон для парофазного анализа, закрывают пробкой и герметично укупоривают.

Около 0,2 г ТДС сухого экстракта (точная навеска) помещают во флакон для парофазного анализа, добавляют 2,0 мл воды очищенной, закрывают пробкой и герметично укупоривают.

Хроматографировали паровую фазу стандартного раствора и испытуемого раствора при следующих условиях:

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| Колонка                               | капиллярная ZB-624, 30м, 0,53 мм, 3 мкм  |
| Газ-носитель                          | азот, 2 мл/мин, деление потока 1:1   |
| Температура термостата колонки        | 40 °С в течение 10 минут   |
| Температура инжектора                 | 190 °С   |
| Температура детектора                 | 220 °С   |
| Детектор                              | ионизационно-пламенный, расход водорода – 40 мл/мин, расход воздуха – 400 мл/мин |
| Парофазный дозатор                    |  |
| Температура термостатирования образца | 80 °С  |
| Время термостатирования               | 20 мин   |
| Температура иглы                      | 110 °С   |
| Температура линии переноса            | 120 °С   |
| Время нагнетания                      | 2 мин  |
| Ввод пробы                            | 0,08 мин   |
| Давление                              | 16 psi   |
| Время хроматографирования             | 10 мин   |

Хроматографируют паровую фазу стандартного раствора и испытуемого раствора, результаты исследования: время удерживания метанола – 5,52 мин

Количественное содержание метанола в ТДС сухого экстракта расторопши в ppm (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{C(\text{ст}) \cdot S(\text{мет}) \cdot 2 \cdot 100}{S(\text{ст}) \cdot a \cdot 1000}$$

где  $S_{\text{мет}}$  – площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_{\text{ст}}$  – площадь пика на хроматограмме стандартного раствора;

$C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора, мг/мл;

$a$  – навеска ТДС сухого экстракта, г.

### 2.6.1.2. Анализ распределения размера частиц

Анализ распределения размера частиц разработанных твердых дисперсионных систем сухого экстракта расторопши проводили на приборе лазерном анализаторе размера частиц (Microsizer 201 С. Россия). Анализ проводился в сравнении с образцом исходного образца сухого экстракта расторопши пятнистой плодов. Образцы ТДС сухого экстракта расторопши и СЭР по 0,5 г растворялись сь в стакане, содержащем 5 мл очищенной воды при комнатной температуре.

### 2.6.1.3. Тест «Растворение» ТДС СЭР

Тест «Растворение» разработанных ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводили в соответствии с методикой, описанной Краснюком И.И. и др. 2021 [119]. Образцы ТДС СЭР по 1,0 г и сухой экстракт расторопши 0,1 г растворяли в стакане, содержащем 750 мл среды растворения - фосфатного буференного раствора, рН  $6,8 \pm 0,5$ ; согласно ГФ XV изд. по ОФС.1.3.0003 «Буферные растворы» [120], при температуре  $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , и перемешивании на магнитной мешалке (ИКА HS7, Германия) со скоростью 200 оборотов в минуту.

Пробы отбирали через 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 и 120 минут с последующем восполнением средой растворения. Высвобождение силибина контролировалось по сумме флаволигнанов в пересчете на силибин спектрофотометрическим методом при длине волны  $\lambda = 289 \text{ нм}$ .

### 2.6.1.4. ИК-спектрометрия с преобразованием по Фурье

Взаимодействие полимера носителя с сухим экстрактом расторопши определяется в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.2.1.1.0001 «Спектрометрия в ближней инфракрасной области» методом инфракрасной спектроскопии – Фурье (ИК-Фурье). Снятие ИК-спектров образцов проводили на приборе ИК-Фурье спектрометре Spectrum 3 (PerkinElmer, США) с использованием приставки нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в диапазоне длин волн от 4000 до 400 см<sup>-1</sup>, число накоплений – 10.

## **2.6.2. Стандартизация ТДС СЭР**

### **2.6.2.1. Описание**

Проводилось визуальное описание формы, цвета и запаха полученных твердых дисперсионных систем сухого экстракта расторопши.

### **2.6.2.2. Подлинность**

Определение подлинности полученного ТДС сухого экстракта расторопши проводили методом УФ-спектроскопии. УФ-спектр раствора, приготовленного для количественного определения, в области длин волн от 250 до 330 нм, должен иметь максимум поглощения при длине волны 288 ±3 нм.

### **2.6.2.3. Количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин**

Количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в ТДС СЭР определилось с образцом по 0,5 г (точная навеска) ТДС сухого экстракта по вышеописанной методике. (см. п. 2.3.5).

### **2.6.2.4. Потеря в массе при высушивании**

Определение потери в массе при высушивании полученного ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводилось по ОФС.1.2.1.0010 с использованием анализатора влажности Эвлас-2М – Россия. (см. п. 2.5.2).

### **2.6.2.5. Насыпная плотность**

Определение насыпной плотности ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводили в соответствии с ГФ XV изд. (см. п. 2.5.6).

### **2.6.2.6. Сыпучесть**

Определение сыпучести разработанной ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводили в соответствии с ГФ XV изд. (см. п. 2.5.7).

#### **2.6.2.7. Гигроскопичность**

Гигроскопичность ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов определялась в соответствии с ГФ XV изд. (см. п. 2.5.8).

### **2.7. Методики анализа и стандартизация комбинированного препарата –гранул ТДС СЭР и УДХК**

#### **2.7.1. Стандартизация АФС – УДХК**

Активная фармацевтическая субстанция – урсодезоксихолевая кислота (Чжуншань Беллинг Биотекнолоджи Ко. Лтд. Китай) была проанализирована в соответствии с ГФ XV [121], по показателям: описание, потеря в массе при высушивании, насыпная плотность, индекс Карра, коэффициент Хауснера и сыпучесть; кроме того определено количественное содержание УДХК методом ВЭЖХ в соответствии с фармакопеей США по USP – 44, NF – 39 [122], чтобы подтвердить ее качество для использования в качестве активной фармацевтической субстанции.

##### **2.7.1.1. Описание**

Проводилось визуальное описание формы, цвета и запаха урсодезоксихолевой кислотой .

##### **2.7.1.2. Потеря в массе при высушивании**

Испытание проводилось в соответствии с ГФ XV изд. ОФС.1.2.1.0010. по ОФС.1.2.1.0010 с использованием анализатора влажности Эвлас-2М – Россия. (см. п. 2.5.2).

##### **2.7.1.3. Насыпная плотность**

Определение насыпной плотности УДХК проводилось в соответствии с ГФ XV изд. (см. п. 2.5.6).

##### **2.7.1.4. Сыпучесть**

Определение сыпучести УДХК проводилось в соответствии с ГФ XV изд. (см. п. 2.5.7).

#### 2.7.1.5. Количественное содержание УДХК

Содержание УДХК определялось согласно методике, описанной в фармакопее США по USP – 44, NF – 39 [122], методом высокой эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В качестве подвижной фазы использовался свежеприготовленный раствор, содержащий ацетонитрил, раствор натрия дигидрофосфата (0,78 г/л) и метанол в соотношении 30 : 37 : 40 по объему.

Для приготовления раствора натрия дигидрофосфата 0,78 г натрия дигидрофосфата помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворился в 900 мл воды, доводили рН до 3,0 фосфорной кислотой, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали.

Раствор стандартного образца готовили следующим образом, 40 мг (точная навеска) стандарта УДХК (количественное содержание стандарта = 99,17%) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и добавляли метанол до метки. Затем 2 мл стандартного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и добавляли раствор подвижной фазы до метки (концентрация = 0,8 мг/мл).

Раствор испытуемого образца готовили следующим образом, 40 мг (точная навеска) УДХК помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и добавляли метанол до метки. Затем 2 мл испытуемого раствора УДХК помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и добавляли раствор подвижной фазы до метки (теоретическая концентрация = 0,8 мг/мл).

Образцы стандартного и испытуемого образца по 2 мл проанализированы при следующих хроматографических условиях

Колонка : 250 ×4,6 мм, 5 мкл, Intersil ODS-2  
(силикагель октадецилсилильный  
эндкепированный для хроматографии)

|                                |                     |
|--------------------------------|---------------------|
| Скорость потока :              | 1,0 мл/мин          |
| Температура колонки :          | 40 °С               |
| Детектор :                     | Рефрактометрический |
| Температура ячейки детектора : | 40 °С               |
| Чувствительность детектора     | 64                  |
| Объем вводимой пробы :         | 150 мкл             |

Расчет концентрации урсодезоксихолевой кислоты проводили по формуле

$$X = R_U (R_S / C)$$

где,

X – концентрация испытуемого образца УДХК, мг/мл

C – концентрация стандартного образца

R<sub>U</sub> – площадь пика испытуемого образца

R<sub>S</sub> – площадь пика стандартного образца

Расчет количественного содержания в % испытуемого образца урсодезоксихолевой кислоты проводили по формуле

$$\% \text{ УДХК} = (X / T_C) * 100$$

где,

X – концентрация испытуемого образца УДХК, мг/мл

T<sub>C</sub> – Теоретическая концентрация испытуемого образца УДХК, мг/мл

### **2.7.2. Стандартизация гранулятов**

Для разработанных составов гранулятов, содержащих ТДС сухого экстракта расторопши и УДХК была проведена стандартизация в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.1.0004.

#### **2.7.2.1. Описание**

Проводилось визуальное описание формы гранул, цвета и запаха полученных составов гранулятов.

#### **2.7.2.2. Подлинность**

Подлинность ТДС СЭР

Определение подлинности ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов в гранулах проводилось методом УФ-спектроскопии. (см. п. 2.3.5).

#### Подлинность УДХК

Определение подлинность УДХК в гранулах проводилось методом ВЭЖХ в соответствии с фармакопеей США по USP – 44, NF – 39. (см. п. 2.7.1.5).

#### **2.7.2.3. Потеря в массе при высушивании**

Определение потери в массе при высушивании полученных составов гранулятов, содержащих ТДС сухого экстракта расторопши и УДХК проводилось по ОФС.1.2.1.0010 с использованием анализатора влажности Эвлас-2М – Россия. (см. п. 2.5.2).

#### **2.7.2.4. Гигроскопичность**

Гигроскопичность полученных составов гранулятов, содержащих ТДС сухого экстракта расторопши и УДХК обрядилась в соответствии с ГФ XV изд. (см. п. 2.5.8).

#### **2.7.2.5. Насыпная плотность**

Определение насыпной плотности полученных составов гранулятов, содержащих ТДС сухого экстракта расторопши и УДХК проводилось в соответствии с ГФ XV изд. (см. п. 2.5.6).

#### **2.7.2.6. Сыпучести**

Определение сыпучести полученных составов гранулятов, содержащих ТДС сухого экстракта расторопши и УДХК проводилось в соответствии с ГФ XV изд. (см. п. 2.5.7).

#### **2.7.2.8. Ситовой анализ**

Определение фракционного состава сухого экстракта расторопши пятнистой плодов проводили с методом, приведенным в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.2.0032 «Ситовой анализ» [123], испытание проводилось методикой механического встряхивания с 50 г образца сухого экстракта расторопши, в наборе сито с размерами от 315 мм; 2,50 мм; 2,00 мм; 1,40 мм; 1,00

мм; 710 мкм; 500 мкм; 355 мкм и <355 мкм, испытание проводилось в течение 5 минут при постоянно встряхивании.

## **2.8. Методики анализа и стандартизация комбинированного препарата –гранул ТДС СЭР и УДХК в твердых желатиновых капсулах**

### **2.8.1. Проверка распадаемости кишечнорастворимых капсул**

В качестве лекарственной формы были выбраны голубые цилиндрические твердые кишечнорастворимые желатиновые капсулы с размером «2» и длиной замки от  $17,5 \pm 0,7$  мм (ООО «ФармаПак», Китай) на основе желатина, гипромеллоза фталата, диоксид титана и брильянтового синего (E133). Проверка распадаемости данных капсул проводилась в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость твердых лекарственных форм» [124], метод – 1. Испытание проводилось по 6 единиц (пустых капсул) в приборе тестер распадаемости ERWEKA ZT 220, Германия; в средах с pH от 1,0; 6,8 и 8,4 при температуре  $37 \pm 0,2$  °C в течение 60 минут.

В качестве кислой среды (симулированной среды желудочного сока) использовался раствор хлороводородной кислоты pH 1,0.

В качестве щелочной среды (симулированной среды тонкого кишечника) использовался фосфатный буферный раствор, приготовленного по ОФС.1.3.0003 «Буферные растворы» pH  $6,8 \pm 0,5$ .

В качестве щелочной среды (симулированной среды толстого кишечника) использовался фосфатный буферный раствор, приготовленного по ОФС.1.3.0003 «Буферные растворы» pH  $8,4 \pm 0,5$ .

### **2.8.2. Стандартизация капсул, наполненных с гранулятом**

Стандартизованный комбинированный гранулят, содержащий ТДС сухого экстракта расторопши, УДХК и МКЦ, был использован в качестве наполнителя кишечнорастворимых твердых желатиновых кишечнорастворимых капсул. Стандартизацию проводили в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.1.0005 «Капсулы» по следующим показателям качества.

### **2.8.2.1. Описание капсул**

Проводилось визуальное описание капсул.

### **2.8.2.2. Однородность массы капсул**

Определилась однородность массы наполненных капсул гранулятом в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.2.0009 «Однородность массы дозированных лекарственных форм» [125].

Для проведения испытания взвешивались 20 единиц (невскрытых наполненных испытуемых капсул) по отдельности и рассчитывали среднюю массу и стандартное отклонение, затем вскрывали каждую капсулу и удалили как можно полное содержимое, затем взвешивали ее оболочку. Для определения содержимого рассчитывали разность между взвешиваниями, такая же методика повторилась на 19 оставшихся капсул.

### **2.8.2.3. Распадаемость капсул**

Распадаемость наполненных капсул была определена методикой – 1, описанной ГФ XV изд. по ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость твёрдых лекарственных форм» [124], на приборе тестер распадаемости ERWERKA ZT 221, Германия. Испытание проводилось в двух средах (кислой и буферной) по 6 единиц (капсул) при температуре  $37 \pm 0,5$  °С. Капсулы помещались в кислую среду в 1000 мл раствора хлороводородной кислоты рН  $1,0 \pm 0,2$ , в течение не менее 1 ч. Затем удалили кислую среду. Капсулы помещали в буферную среду по 500 мл фосфатного буферного раствор рН  $6,8 \pm 0,5$ , приготовленного по ОФС.1.3.0003 «Буферные растворы» в течение 60 минут.

### **2.8.2.4. Растворение капсул**

Тест растворения испытуемых капсул был выполнен методикой, описанной ГФ XV изд. по ОФС.1.4.2.0014 «Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм» [126], на приборе тестер растворения ERWEKA DT 326/1000 НН, Германия. Испытание проводилось в 2 средах (кислой и в буферной) по методике для лекарственных препаратов второй группы с отсроченным высвобождением (в том числе кишечнорастворимые капсулы) с

использованием аппарата II – лопастная мешалка, со скоростью от 75 об/мин и при температуре  $37 \pm 0,5$  °С.

6 испытуемых капсул помещали в каждый из 6 сосудов для растворения, содержащихся 1000 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М; рН 1,0  $\pm 0,5$ . Процесс растворения продолжали в течение не менее 120 мин.

Затем 6 испытуемых капсул удалили из кислой среды и помещали в 500 мл фосфатного буферного раствора рН 6,8  $\pm 0,5$  при температуре  $37 \pm 0,5$  °С. Испытание проводилось в течение 45 минут. Отбирали аликвоту через 30, 45 и 60 минут и анализировали по нижеописанной методике.

#### **2.8.2.4.1. Определение высвобождения силибина**

Пробы по 5 мл испытуемого раствора отбирали через 30, 45 и 60 минут после начала испытания, пробы отфильтровали через мембранный фильтр – PES с диаметром пора от 0,45 мкм (TRP, Швейцария). Оптическую плотность испытуемых проб измеряли на спектрофотометре при длине волны 289 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения использовался фосфатный буферный раствор с рН 6,85.

Чтобы определить содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в процентах (X) проводили расчеты с использованием величины удельного показателя поглощения силибина по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 500000}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$  – поглощения раствора силибина при длине волны 289 нм, равный 450;

a – количество СЭР, содержащего в каждой испытуемой капсуле; г

W – влажность гранулята, %.

#### **2.8.2.4.2. Определение высвобождения УДХК**

Количественное содержание УДХК определялось согласно с методикой, описанной производителем методом высокой эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В качестве подвижной фазы использовался свежеприготовленный раствор, содержащий ацетонитрил, раствор натрия дигидрофосфата (0,78 г/л) и метанол в соотношении 30 : 37 : 40 по объему.

Для приготовления раствора Раствор натрия дигидрофосфата 0,78 г натрия дигидрофосфата помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворился в 900 мл воды, доводили рН до 3,0 фосфорной кислотой, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали.

Раствор стандартного образца пригодился растворяя 25 мг (точная навеска) стандарта УДХК (количественное содержание стандарта = 99,17%) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и добавляли метанол до метки. Затем 1 мл стандартного раствора УДХК помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и добавляли раствор подвижной фазы до метки (концентрация = 0,25 мг/мл).

Испытуемые растворы УДХК по 5 мл (пробы отобраны через 30, 45 и 60 минут после начала теста растворения) помещали в стеклянные бюксы вместимостью 10 мл, затем пробы отфильтровывали через мембранный фильтр – PES с диаметром пора от 0,45 мкм (TRP, Швейцария).

Образцы стандартного и испытуемого образца по 2 мл проанализированы при следующих хроматографических условиях

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| Колонка :                         | 250 ×4,6 мм, 5 мкл, Intersil ODS-2<br>(силикагель октадецилсилильный<br>эндкепированный для хроматографии) |
| Скорость потока :                 | 1,0 мл/мин   |
| Температура колонки :             | 40 °С  |
| Детектор :                        | Рефрактометрический  |
| Температура ячейки<br>детектора : | 40 °С  |
| Чувствительность детектора        | 64   |
| Объем вводимой пробы :            | 150 мкл  |

Расчет количественного высвобождения урсодезоксихолевой кислоты в капсуле по формуле

$$X = 100000(R_U/R_S)(C/W)$$

где, X – количественное высвобождение УДХК, %

$R_U$  – площадь пика испытуемого образца

$R_S$  – площадь пика стандартного образца

C – концентрация стандартного образца

W – Количество УДХК в капсуле, мг

Площадь пика стандартного образца

Площадь пика испытуемого образца

Концентрация стандартного образца, мг/мл

Количество УДХК в капсуле,

## **2.9. Определение показателя «Стабильность и сроки годности»**

Определение стабильности и сроков годности сухого экстракта расторопши и капсул с ТДС СЭР и УДХК методом естественного хранения (долгосрочные испытания стабильности) проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» ГФ РФ XV изд.

Образцы сухого экстракта расторопши хранились в банках из темного стекла, укуренных навинчиваемыми пластмассовыми крышками с прокладками. Образцы капсул с ТДС СЭР и УДХК хранились в банках из темного стекла с натягиваемой крышкой. Исследуемые образцы хранились при температуре  $(25 \pm 2)$  °С и относительной влажности  $(60 \pm 5)$  % в климатической камере Memmert HPP 110. Изучение стабильности проводили каждые 3 месяца путем оценки соответствия образцов показателям качества. Результаты представлены в приложении 1 и 2. Изучение показателя стабильности готового продукта продолжается, поэтому в проекте спецификации на капсулы с ТДС СЭР и УДХК сроки годности не указаны

## 2.10. Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов данной диссертационной работы проводили в соответствии с ГФ XV, по ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» [127]. В таблицах с опытными данными указывали доверительные интервалы. Статистическая обработка результатов анализа проводилась при  $n$  повторных анализах однородного материала, где:  $n$  – число измерений;  $X_i$  – данные отдельных измерений;  $\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$  – среднее арифметическое;  $f = n - 1$  – число степеней свободы;  $S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{f}}$  – выборочное стандартное отклонение;  $S_x = \frac{S}{\sqrt{n}}$  – стандартное отклонение среднего результата;  $P$  – доверительная вероятность;  $t(P; f)$  – критерий Стьюдента;  $\Delta X = t(P; f) \cdot S_x$  – абсолютная ошибка среднего арифметического;  $E_{\text{отн}} = \frac{\Delta X \cdot 100}{X}$  – относительная ошибка;  $Y = \bar{X} \pm \Delta X$  – среднее значение.

### **ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СУХОГО ЭКСТРАКТА**

Для создания оригинального комбинированного гепатопротекторного средства, содержащего в составе экстракт расторопши пятнистой, проведена разработка технологии данной фитосубстанции, обогащенной силибином.

Согласно патенту RU2102999C1 «Способ получения экстракта расторопши пятнистой», экстракцию ведут 80% этиловым спиртом методом реперколяции сначала при комнатной температуре, затем при 60-85 °С [128].

Стоит отметить, что патент на это изобретение был опубликован в 1998 году, и, судя по анализу литературы, за последние 25 лет в России не проводилось разработок по совершенствованию технологии получения сухого экстракта расторопши пятнистой плодов.

В связи с выше изложенным, были проведены исследования по повышению эффективности технология экстрагирования расторопши пятнистой плодов и получения сухого экстракта расторопши, обогащенного силибином.

#### **3.1. Разработка технологии экстрагирования расторопши пятнистой плодов**

##### **3.1.1. Результаты входного контроля сырья расторопши пятнистой плодов**

Для проведения исследований были использованы расторопши пятнистой плоды от двух фирм-производителей. Входной контроль проводился с использованием методик, описанных в ГФ РФ XV изд. по ФС.2.5.0035.15 [62]. С целью выбора сырья расторопши пятнистой плодов с большим содержанием БАВ был проведен сравнительный анализ по показателям качества.

Полученные результаты определения показателей качества расторопши пятнистой плодов представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1. Результаты сравнительного анализа показателей качества расторопши пятнистой плодов

| Показатель  | Экспериментальные данные  |                                | Требования ГФ XIV по ФС.2.5.0035.15   |               |              |
|---|---|--------------------------------|---|---------------|--------------|
|   | ООО Фирма «Биокор» (Пенза)  | ООО «Сампо» (Тверская область) |   |               |              |
| Описание  | Цельное сырье. Плоды – семянки яйцевидной формы, слегка сдавленные с боков, длиной от 5 до 8 мм, шириной от 2 до 4 мм. Цвет от черного до светло-коричневого. Запах слабый. |                                |   |               |              |
| Определение основных БАВ                            | На хроматограммах испытуемых растворов обнаруживаются зоны адсорбции фиолетового цвета на уровне зон адсорбции РСО силибина.  |                                | На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции РСО силибина, допускается обнаружение других зон адсорбции. |               |              |
| Влажность, %  | 1,01 ± 0,04   | 4,54 ± 0,18                    | Не более 12%  |               |              |
| Зола общая, %                                       | 5,50 ± 0,28   | 5,46 ± 0,27                    | Не более 6%   |               |              |
| Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, % | 3,65 ± 0,17   | 3,47 ± 0,16                    | Не более 4%   |               |              |
| Тяжелые металлы, мг/кг                              | ОФС. 1.5.3.0009.15<br>Метод - 3   | Соответствует                  | Соответствует   | Свинец        | Не более 6,0 |
|   |   |                                |   | Кадмий        | Не более 1,0 |
|   |   |                                |   | Ртуть         | Не более 0,1 |
|   |   |                                |   | Мышьяк        | Не более 0,5 |
| Количественное определение, %                       | Сумма флаволигнано в в пересчете на силибин   | 2,42 ± 0,01                    | 5,47 ± 0,28   | Не менее 2,4% |              |
|   | Экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом 80 %  | 6,06 ± 0,36                    | 10,79 ± 0,64  | Не менее 4%   |              |
|   | Жирное масло, %   | 32,76 ± 1,64                   | 29,17 ± 1,46  | Не менее 15%  |              |

Таким образом, сравнительный анализ качества расторопши пятнистой плодов различных от двух производителей показал соответствие качеству сырья требованиям в соответствии ГФ XV по ФС.2.5.0035.15. Однако, сырье, полученное от производителя №2 содержало большее количество суммы флаволигнанов и было использовано в дальнейшем исследовании по разработке технологии экстракта расторопши пятнистой плодов.

Основным биологически активным веществом, содержащим в расторопши пятнистой плодах, является силимарин – природная композиция БАВ, состоящая, главным образом, из флаволигнанов и флавоноидов. Одним из главных компонентов силимарина выступает силибин, по которому проводят стандартизацию плодов и получаемого сухого экстракта. Поэтому целью разработки технологии фитосубстанции является выбор метода и условий экстракции и способа очистки, при которых выход сухого экстракта, обогащенного силибином, будет максимальным. В рамках определения наилучших условий экстрагирования проводилось исследование для выбора экстрагента, метода экстракции, соотношения сырья: экстрагент и времени экстракции.

### 3.1.2. Выбор экстрагента

Согласно литературным данным, силимарин извлекается спиртом этиловым высокой концентрации [128,129]. В связи с этим была изучена степень извлечения суммы флаволигнанов в пересчете на силибин такими экстрагентами, как спирт этиловый 96%, спирт этиловый 80% и спирт этиловый 70%. Результаты представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2. Влияние концентрации спиртового экстрагента на содержание суммы флаволигнанов в извлечении

| Концентрация спирта этилового, %                         | 96          | 80          | 70          |
|--|-------------|-------------|-------------|
| Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, % | 5,47 ± 0,28 | 6,64 ± 0,35 | 3,83 ± 0,19 |

Из представленных результатов показано, что наиболее количество биологически активных веществ извлекается спиртом этиловым 80%.

### 3.1.3. Выбор метода экстракции

Поскольку лекарственное растительное сырье содержит около 30% жирного масла, помимо классических методов экстракции с одним экстрагентом были исследованы способы экстракции с применением двухфазной системы экстрагентов, где в качестве неполярного вещества был выбран гексан. В рамках

сравнительного анализа были выбраны следующие методы экстрагирования с учетом особенностей состава ЛРС. Результаты представлены на рисунке 3.1.

1. Ультразвуковая экстракция
2. Ультразвуковая экстракция с применением двухфазной системы экстрагентов (ДСЭ)
3. Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане
4. Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением ДСЭ

#### **Ультразвуковая экстракция**

Для проведения ультразвуковой экстракции измельчилось сырье до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 3.0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 30 мл спирта 80%. Настаивали в течение 30 минут. Колбу с содержимым устанавливали в ультразвуковую ванну, нагретую до температуры 90-100 °С и вели экстракцию в течение 15 минут. Затем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр «Белая лента» с диаметром пора – 110 мм.

#### **Ультразвуковая экстракция с применением ДСЭ (спирт этиловый 80% - гексан, 1:1)**

Для проведения ультразвуковой экстракции с применением ДСЭ (спирт этиловый 80% - гексан). Измельчилось сырье до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 3.0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 30 мл спирта 80%. Настаивали в течение 30 минут, после чего добавляли 30 мл гексана. Колбу с содержимым устанавливали в ультразвуковую ванну, нагретую до температуры 90-100 °С и вели экстракцию в течение 10 минут. Затем извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр «Белая лента» с диаметром пора – 110 мм. Во время экстракции наблюдалось эмульгирование при

смешении экстрагентов, что в дальнейшем усложнило процесс фильтрации и разделения фаз.

#### **Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане**

Для проведения экстракции методом мацерации с обратным холодильником на кипящей водяной бане измельчилась точная навеска сырья до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,3-0,5 мм. Около 3.0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 150 мл спирта 80%. Настаивали в течение 30 минут. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 30 мин. Затем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр «Белая лента» с диаметром пора – 110 мкм.

#### **Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением ДСЭ (спирт этиловый 80% - гексан, 1:1)**

Для проведения экстракции методом мацерации с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением ДСЭ (спирт этиловый 80% - гексан ,1:1) измельчилось сырье до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 3.0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 30 мл спирта 80%. Настаивали в течение 30 минут, после чего добавляли 30 мл гексана. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут. Затем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр «Белая лента» с диаметром пора – 110 мкм. Эмульгирования экстрагентов не наблюдалось.

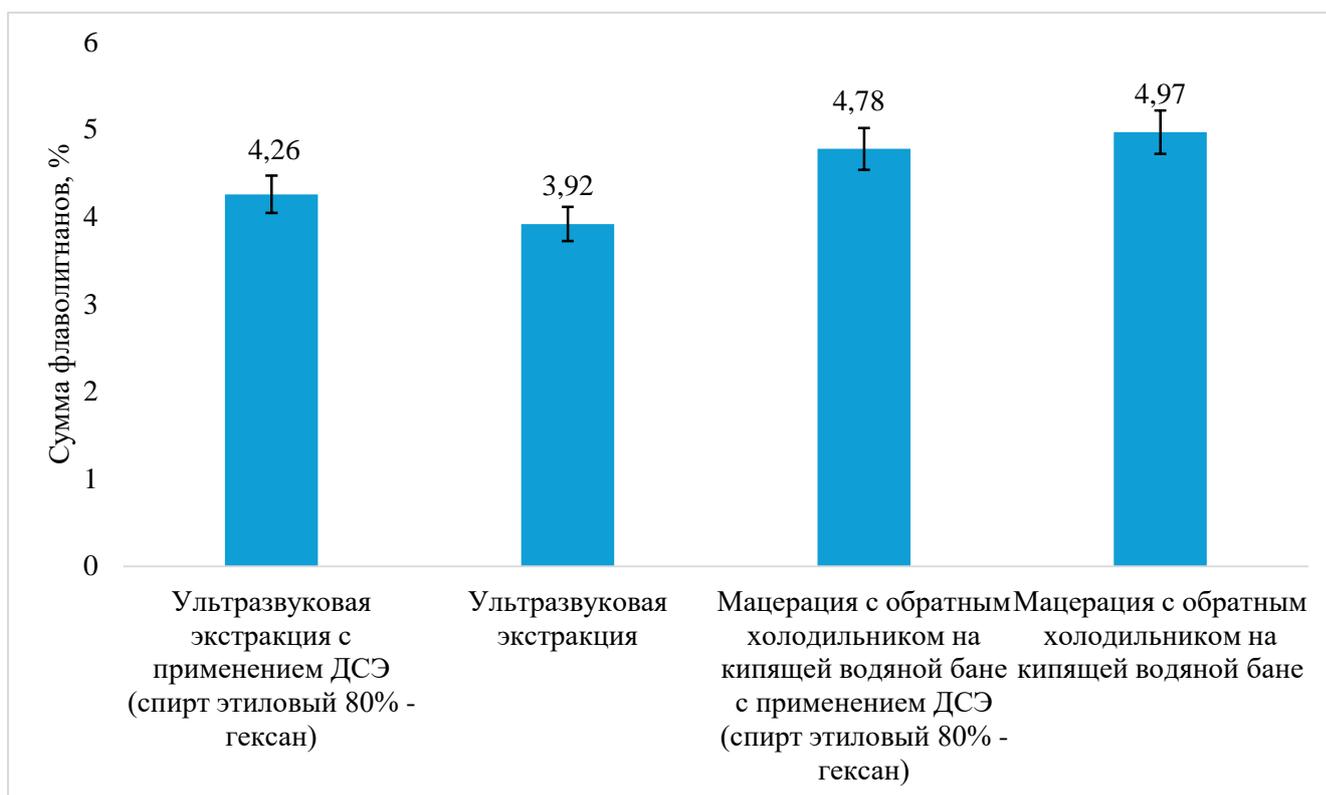


Рисунок 3.1. Результаты сравнительного анализа методов экстрагирования

На основании анализа вышеизложенных результатов установлено, что наибольший выход по БАВ получается при экстракции методом мацерации с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением ДСЭ (спирт этиловый 80% - гексан, 1:1) и мацерации с обратным холодильником на кипящей водяной бане.

### 3.1.4. Соотношение ЛРС:экстрагент

На основании анализа литературных данных для сравнительного анализа соотношения сырье : экстрагент были выбраны следующие соотношения 1:10, 1:20, 1:30, 1:40 и 1:50. Экстракцию и количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в спирто-водных извлечениях проводили согласно методу, описанному ранее. Результаты представлены на рисунке 3.2.

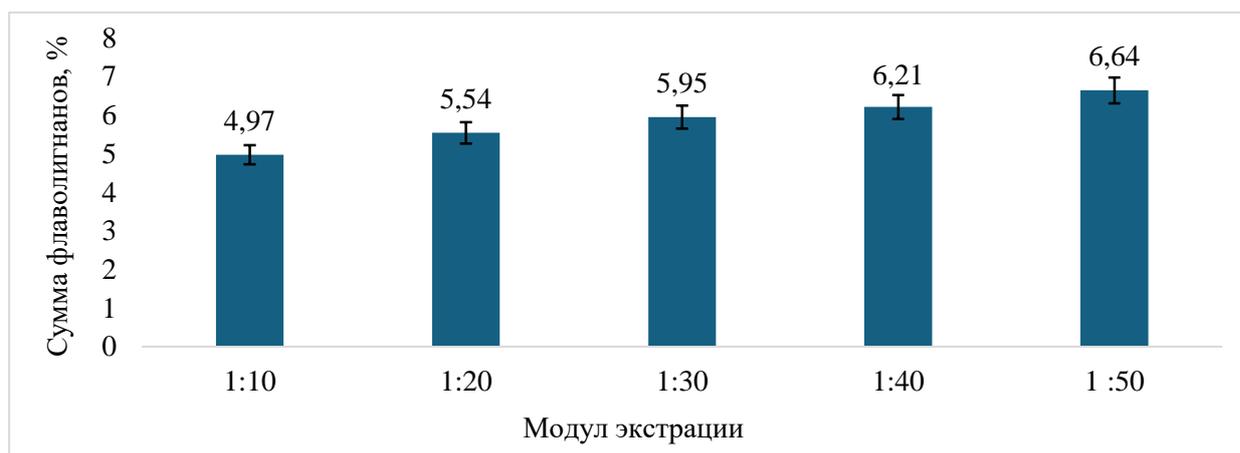


Рисунок 3.2. Влияние гидромодуля на выход суммы флаволигнанов в извлечение

Основываясь на результатах представленных на рис. 3.2, можно сделать вывод о том, что при модуле экстракции 1:30, 1:40 и 1:50 увеличение выхода БАВ статистически не значимо, поэтому для дальнейших исследований выбран модуль экстракции 1:30.

### 3.1.5. Время экстракции

Была исследована зависимость степени извлечения БАВ от времени экстрагирования. На основании анализа результатов содержания БАВ в извлечении в зависимости от времени экстракции, представленных на рис. 3.3, можно сделать вывод, что в течение 30 минут содержание суммы флаволигнанов в извлечении в пересчете на силибин достигает 5,95 %, а затем начинает уменьшаться.

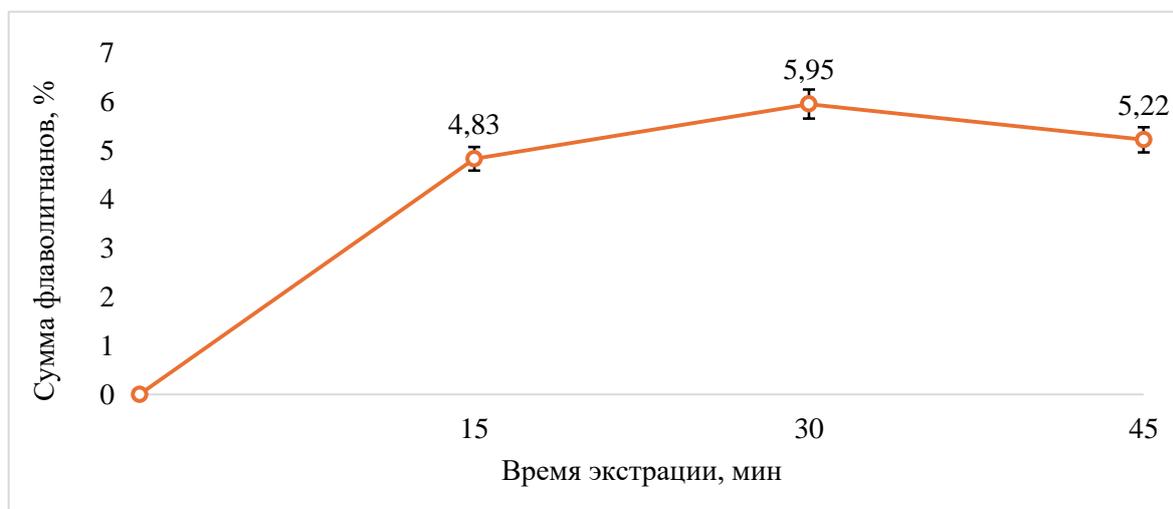


Рисунок. 3.3. Выход БАВ в зависимости от времени экстракции

### 3.1.6. Способы очистки спирто-водного извлечения

С целью получения очищенного сухого экстракта был разработан способ очистки извлечения перед стадией сушки.

Расторопши пятнистой плоды содержат около 20% водорастворимых белков, которые могут перейти в спирто-водное извлечение при экстрагировании спиртом этиловым 80%. Для очистки от водорастворимых балластных веществ полученное извлечение необходимо отстаивать при пониженной температуре (не более 8 °С) не менее 2 суток и после их осаждения отделяли осадок методом фильтрации.

Плоды расторопши содержат жирное масло в значительных количествах, поэтому для очистки извлечений добавили стадию очистки гексаном методом жидкостной экстракции в соотношении 1:1 (спирто-водное извлечение : гексан). Очищенные извлечения подвергали высушиванию.

Полученные сухие экстракты взвешивали и определяли содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин. Результаты представлены в таблице 3.3. Таблица 3.3. Масса сухого экстракта и содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин после стадии очистки

| Метод экстракции   | Масса полученного сухого экстракта, г | Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, % |
|--|---------------------------------------|--|
| Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением ДСЭ (спирт этиловый 80% - гексан, 1:1)          | 0,17 ± 0,01                           | 67,17 ± 3,63   |
| Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с последующей очисткой гексаном методом жидкостной экстракции | 0,21 ± 0,01                           | 79,20 ± 3,96   |

Таким образом, из всех исследованных методов экстракции расторопши пятнистой плодов самым эффективным с точки зрения выхода по сухому экстракту и содержанию суммы флаволигнанов является мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с последующей очисткой, сначала отстаиванием при пониженной температуре, а далее гексаном методом жидкостной экстракции

После разработки условий экстрагирования сухого экстракта расторопши пятнистой плодов была предложена процессуальная схема производства сухого экстракта, представленная на рисунке 3.4. Была разработана и предложена технологическая схема производства сухого экстракта, представленная на рисунке 3.5.

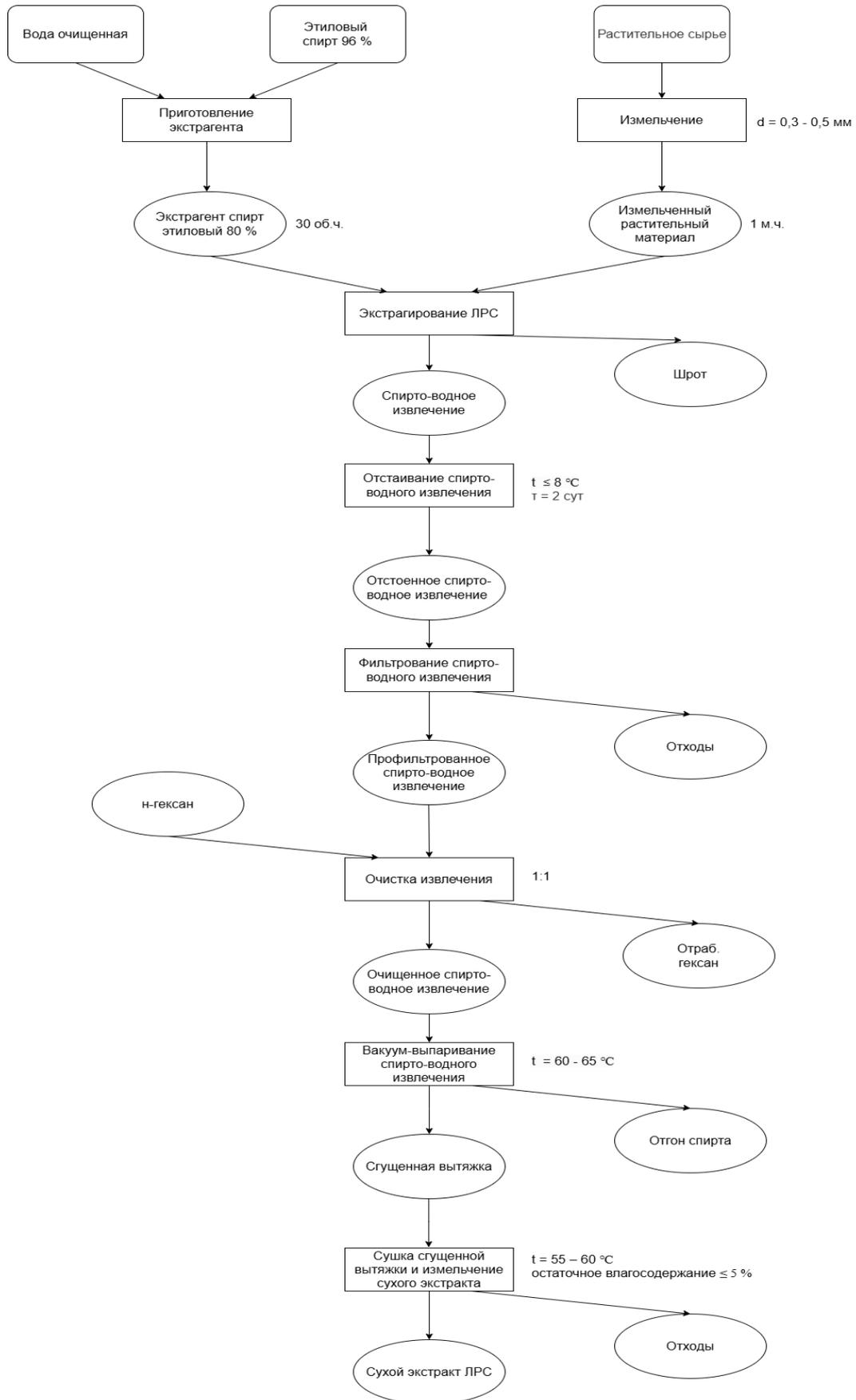
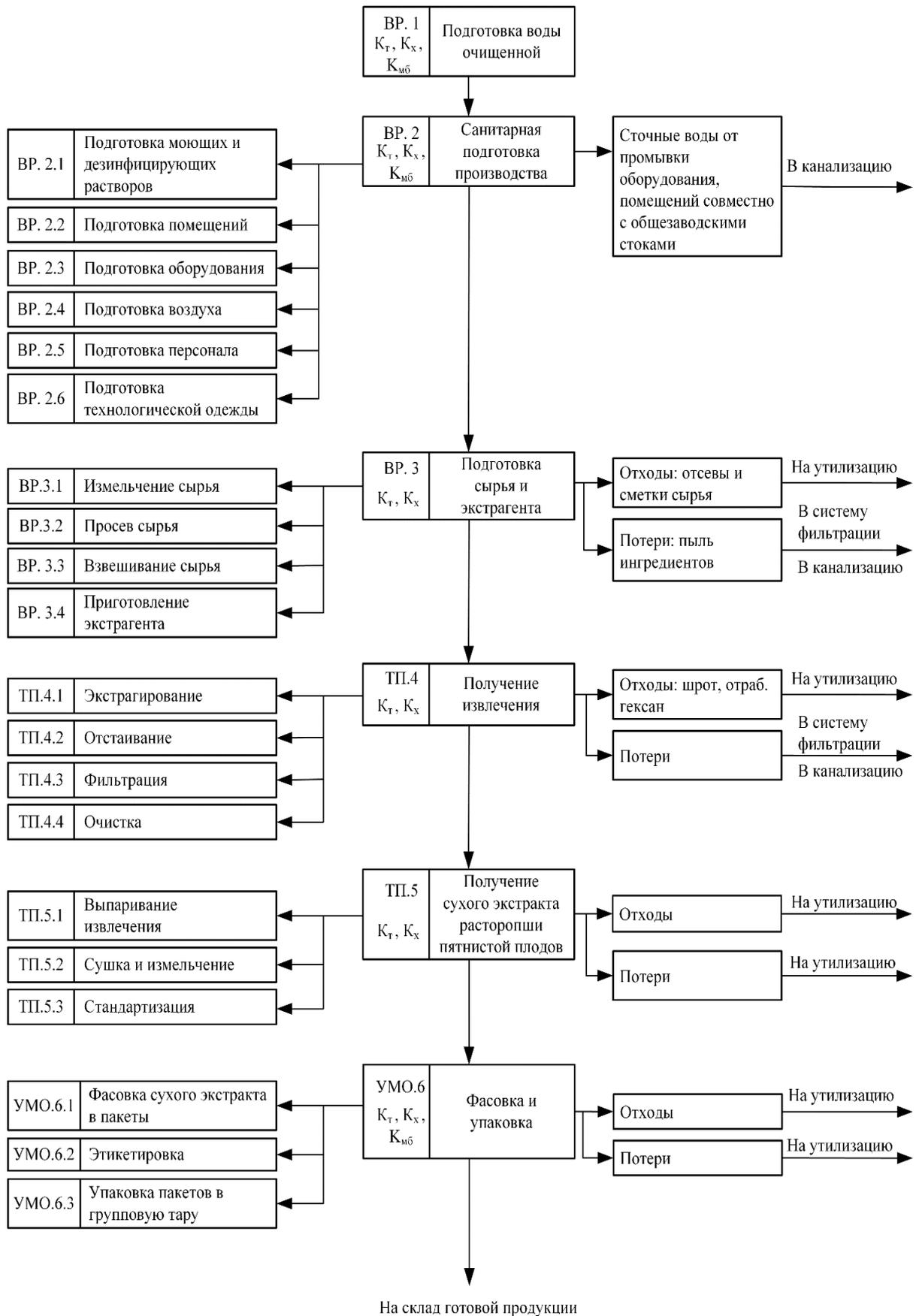


Рисунок 3.4. Процессуальная схема производства сухого экстракта



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

Рисунок 3.5. Технологическая схема производства сухого экстракта

## **3.2. Изложение технологического процесса производства сухого экстракта**

### **ВР.3. Подготовка сырья и экстрагента**

Все поступившее основное и вспомогательное сырье должно быть обеспечено сертификатами предприятия-изготовителя. Все сырье подвергают входному контролю в соответствии с необходимыми показателями, для чего от каждой серии химик ОКК отбирает пробы.

На основании результатов входного контроля ОКК делает заключение о пригодности основного и вспомогательного сырья, после чего оно вместе с паспортом ОКК поступает на производство.

От каждой полученной серии сырья отбирают образцы на случай проведения повторных аналитических проверок.

#### **ВР. 3.1. Измельчение сырья**

Сырье, прошедшее входной контроль, поступает на операцию измельчения в передаточной емкости. Измельчение осуществляют в измельчителе до величины частиц 0,3-0,5 мм. По окончании операции измельченное сырье помещают в передаточную емкость, которую маркируют идентификационной этикеткой и передают на операцию ВР.3.2. Просев сырья.

#### **ВР. 3.2. Просев сырья**

Измельченное сырье из передаточной емкости загружают в вибросито с отверстиями диаметром 0,5 мм. После окончания операции просеивания сырье из патрубка вибросита выгружается в передаточную емкость. Операцию ведут, избегая пылеобразования. Маркированную идентификационной этикеткой передаточную емкость с измельченным сырьем передают на операцию ВР.3.3. Взвешивание сырья.

#### **ВР. 3.3 Взвешивание сырья**

Просеянное сырье поступает в передаточную емкость. Взвешивание осуществляют на предварительно откалиброванных весах в отдельную емкость.

После окончания взвешивания маркированную идентификационной этикеткой передаточную емкость передают на операцию ТП.4.1. Экстрагирование.

### **ВР. 3.4. Приготовление экстрагента**

Подготовленную воду очищенную загружают однократно в реактор для приготовления экстрагента. Одновременно с этим в реактор поступает 96% спирт этиловый. Процесс приготовления экстрагента заключается в перемешивании спирта с водой внутри реактора, окончание процесса проверяют по оптической плотности пробы раствора из реактора. По окончании процесса готовый 80% спирт поступает на операцию ТП. 4.1. Экстрагирование.

## **ТП. 4. Получение извлечения**

### **ТП. 4.1. Экстрагирование**

Сырье загружают в экстрактор, после чего заливают его всем объемом экстрагента. Затем настаивают в течение 30 минут, после чего в рубашку экстрактора подают глухой пар, доводят смесь до кипения, и при умеренном кипении ведут экстракцию в течение 30 минут. По окончании процесса спирто-водная вытяжка поступает на операцию ТП.4.2. Отстаивание.

### **ТП. 4.2. Отстаивание**

Полученное спирто-водное извлечение сливают в отстойник, где отстаивают в течение 2 суток при температуре не выше 8 °С до осаждения балластных веществ. После отстаивания спирто-водное извлечение поступает на операцию ТП.4.3. Фильтрация.

### **ТП. 4.3. Фильтрация**

Фильтрация спирто-водного извлечения осуществляется в фильтр-прессе. Профильтрованная спирто-водная вытяжка поступает на операцию ТП.4.3. Очистка.

Поскольку часть экстрагента впитывается сырьем, рационально после этого производить регенерацию спирта, а шрот утилизировать.

### **ТП. 4.4. Очистка вытяжки**

Профильтрованная вытяжка поступает в жидкостной экстрактор для проведения очистки от балластных веществ методом жидкостной экстракции. В качестве тяжелой фазы выступает спирто-водная вытяжка БАВ и подается сверху, в качестве легкой фазы – гексан, подается снизу. Очищенное от балластных веществ спирто-водное извлечение поступает на операцию ТП.5.1. Выпаривание извлечения.

## **ТП. 5. Получение сухого экстракта расторопши пятнистой плодов**

### **ТП. 5.1. Выпаривание извлечения**

Очищенная спирто-водная вытяжка поступает в вакуум-выпарной аппарат. Вытяжку концентрируют до удаления основного количества экстрагента. Сгущенная вытяжка поступает на операцию ТП.5.2. Сушка и измельчение.

### **ТП. 5.2. Сушка и измельчение**

Сгущенную вытяжку подают в распылительную сушилку, в которой достигается необходимая степень измельчения в зависимости от режима распыления. Полученный сухой экстракт с содержанием остаточной влаги не более 5% выгружается в передаточную емкость, которая маркируется идентификационной этикеткой, и подается на операцию ТП.5.3. Стандартизация.

### **ТП. 5.3. Стандартизация**

Сухой экстракт стандартизуется по спецификации, приведенной в разделе 3.5. Стандартизованный экстракт в передаточной емкости, маркированной идентификационной этикеткой, подается на стадию УМО.6. Фасовка и упаковка.

### **УМО.6. Фасовка и упаковка**

Стандартизованный сухой экстракт поступает на фасовку в банки из темного стекла, укупоренные навинчиваемыми пластмассовыми крышками с прокладками. После этого фасованный в банки экстракт передают на операцию УМО.6.2. Этикетировка.

### **УМО.6.2. Этикетировка**

На банки с экстрактом наносят идентификационную этикетку с названием продукта, датой производства и номером серии. После этого этикетированные

банки с сухим экстрактом передают на операцию УМО.6.3. Упаковка в групповую тару.

### УМО.6.3. Упаковка в групповую тару

Для удобства хранения этикетированные банки с сухим экстрактом укладывают в групповую тару – гофрокороба, после чего передают в помещение хранения.

### 3.3. Стандартизация сухого экстракта

По разработанной технологии были наработаны 3 серии сухого экстракта плодов расторопши пятнистой и определены показатели качества согласно ГФ РФ XV изд. по ОФС.1.4.1.0021 – Экстракты сухие [61]. Результаты испытаний приведены в таблице 3.4 и 3.5.

Таблица 3.4. Показатели качества сухого экстракта расторопши пятнистой плодов

| Показатель   | Метод определения  | Норма   | Экспериментальные данные |
|--|--|---|--------------------------|
| Описание   | Визуально  | Аморфный порошок от серовато-желтого до светло-коричневого цвета без характерного запаха                            |                          |
| Потеря в массе при высушивании, %  | ОФС.1.2.1.0010   | Не более 5,0  | 1,00 ±0,04               |
| Подлинность  | ОФС.1.2.1.1.0003<br>Спектрофотометрия в УФ в видимой области | УФ-спектр раствора в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны 288 ±3 нм. | Соответствует            |
| Количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, % | ОФС.1.2.1.1.0003<br>Спектрофотометрия в УФ и видимой области | Не менее 65   | 79,2±3,9                 |
| Остаточные органические растворители, ppm                                | ОФС.1.1.0008   | 290   | 1,3                      |
| Микробиологическая чистота   | ОФС.1.2.4.0002.15  | Категория 3Б  | Соответствует            |
| Тяжелые металлы,   | Свинец   | ОФС.1.5.3.0009  | Соответствует            |
|  | Кадмий   | Метод 3   |                          |
|  |  | Не более 6  |                          |
|  |  | Не более 1  |                          |

|               |  |                 |  |               |
|---------------|--|-----------------|--|---------------|
| мг/кг         | Ртуть  |                 | Не более 0,1   |               |
|               | Мышьяк   |                 | Не более 0,5   |               |
| Упаковка      |  | ОФС.1.1.0019.15 | В банках из тёмного стекла, укупоренных навинчиваемыми пластмассовыми крышками с прокладками | Соответствует |
| Хранение      | В сухом, защищённом от света месте при температуре не выше 25 °С |                 |  |               |
| Срок годности | 2 года   |                 |  |               |

При оценке содержания остаточных органических растворителей изучали содержание гексана, как растворителя 2 класса токсичности, используемого в технологии получения сухого экстракта. Содержание гексана в независимых трех пробах сухого экстракта составило  $1,3 \pm 0,1$  ppm.

Хроматограммы стандартного и испытуемого растворов представлены на рис. 3.6 и 3.7. Содержание гексана не превышает предельно заявленного (не более 290 ppm), что говорит о соблюдении технологии очистки сухого экстракта.

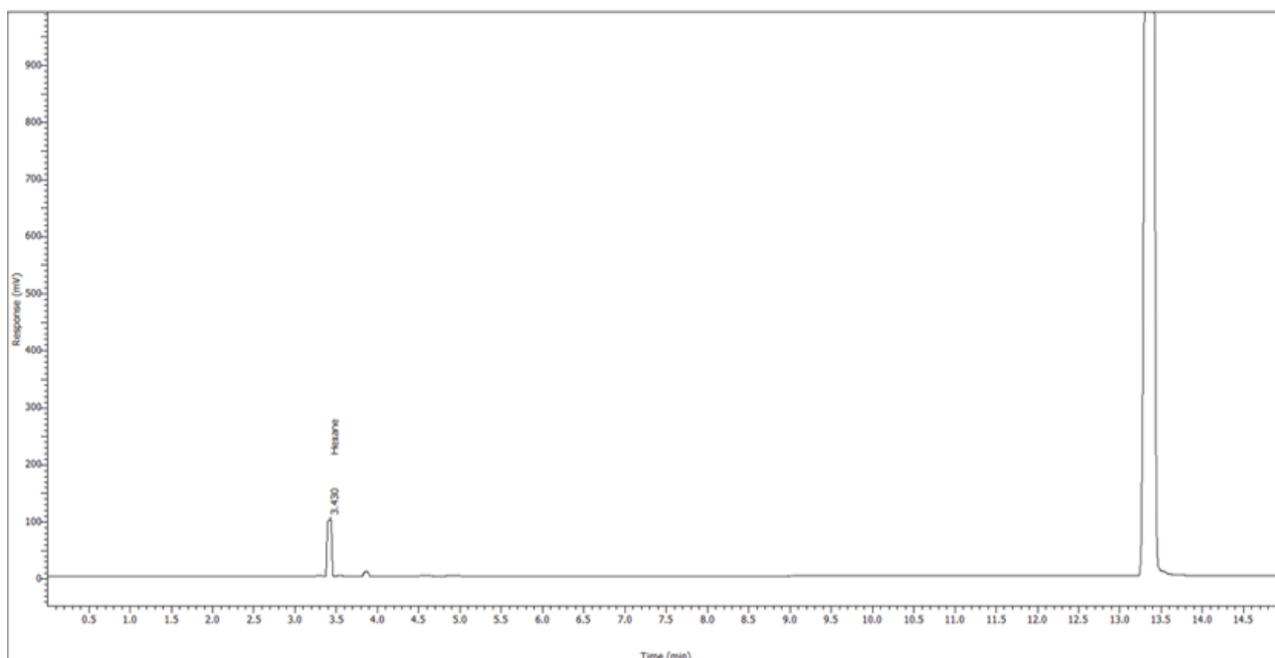


Рисунок 3.6. Хроматограмма стандартного раствора гексана

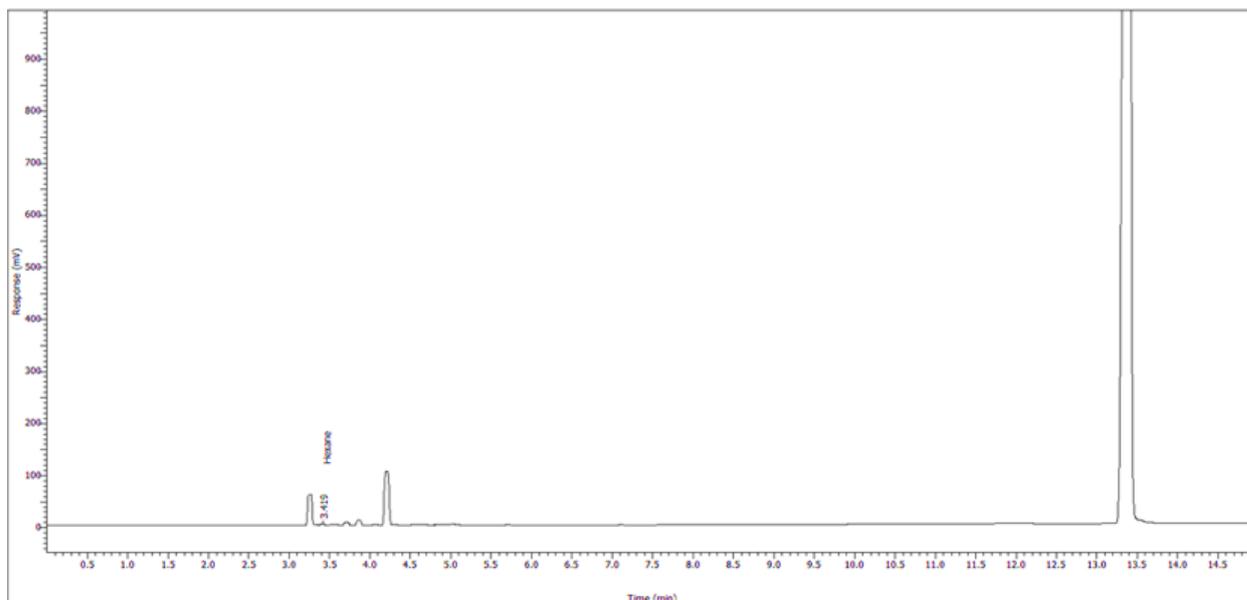


Рисунок 3.7. Хроматограмма исследуемого образца сухого экстракта

Определение стабильности и сроков годности сухого экстракта расторопши проводили методом естественного хранения (долгосрочные испытания стабильности) в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» ГФ РФ XV изд. Результаты представлены в Приложении 1. Установлен срок годности сухого экстракта расторопши 2 года.

Таблица 3.5. Технологические свойства сухого экстракта расторопши пятнистой плодов

| Показатель                            | Метод определения | Экспериментальные данные |
|---------------------------------------|-------------------|--------------------------|
| Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup> | ОФС.1.4.2.0024    | 1,78 ±0,08               |
| Индекс Карра, %                       |                   | 40,43                    |
| Коэффициент Хауснера                  |                   | 1,68                     |
| Степень сыпучести, с                  | ОФС.1.4.2.0016    | Сыпучесть отсутствует    |

Результаты исследования гигроскопичности сухого экстракта расторопши пятнистой плодов представлены в таблице 3.5. Для определения гигроскопичности сухого экстракта расторопши пятнистой использовали раствор

магния хлорида (относительная влажность 40%), раствор натрия хлорида (относительная влажность 70%), воду (относительная влажность 100%).

Таблица 3.6. Изучение гигроскопичности сухого экстракта расторопши пятнистой

| Увеличение массы сухого экстракта, % | Относительная влажность среды, % |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| 0,30 ± 0,02                          | 40                               |
| 3,48 ± 0,07                          | 70                               |
| 6,49 ± 0,37                          | 100                              |

Таким образом, увеличение массы в среднем находится в пределах от 2 до 15%, что говорит о гигроскопичности сухого экстракта расторопши пятнистой.

### ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3

1. Проведена разработка технологии экстракта расторопши пятнистой, обогащенной силибином, для использования в качестве фитосубстанции в технологии оригинального комбинированного гепатопротекторного средства.

2. Проведено сравнительное изучение условий экстрагирования расторопши пятнистой плодов. Рассмотрены различные методы экстрагирования ЛРС, из которых выбран метод, позволяющий получить наибольший выход как по БАВ, так и по сухому экстракту – мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане. Определено оптимальное соотношение сырья к экстрагенту (1:30), время экстракции – 30 минут.

3. Предложен способ очистки спирто-водного извлечения после стадии экстракции от балластных веществ белковой природы отстаиванием при пониженной температуре, далее отделение липофильных балластных веществ гексаном методом жидкостной экстракции в соотношении 1:1 (спирто-водное извлечение : гексан).

4. Проведена стандартизация полученного сухого экстракта расторопши пятнистой плодов согласно с ГФ XV изд. по ОФС. «Экстракты» по показателям качества: описание, потеря в массе при высушивании, подлинность,

количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, насыпная плотность, степень сыпучести, остаточные органические растворители и гигроскопичность. Определен срок годности -2 года.

5.Разработаны процессуальная и технологические схемы производства сухого экстракта расторопши пятнистой плодов.

## **ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ТДС СУХОГО ЭКСТРАКТА РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ ПЛОДОВ**

Клиническое применение и терапевтическая эффективность флаволигнанов силимарина, содержащихся в экстракте расторопши, ограничены из-за их плохой биодоступности. Последнее обусловлено, в частности, кристаллическим состоянием и низкой растворимостью в воде флаволигнанов силимарина при комнатной температуре [74], в результате этого силимарин относится к IV классу активных фармацевтических субстанций (АФС) в соответствии с системой классификации биофармацевтических систем [71]. Существует ряд подходов для повышения растворимости АФС: микронизация субстанции, создание липосомальных форм, добавление поверхностно-активных веществ и полимеров, абсорбция на мезопористых носителях [130].

В связи с вышеизложенным, целью данного исследования являлась разработка методов повышения биодоступности сухого экстракта расторопши.

### **4.1. Микронизация СЭР физическим методом**

#### **4.1.1. Разработка физической микронизации СЭР**

С целью повышения растворимости сухого экстракта расторопши путем уменьшения размера частиц проводился сравнительный анализ классических методов микронизации измельчением и трением. Для полученных сухих экстрактов анализировали изменение по распределению размера частиц с помощью лазерного анализатора размера частиц. Результаты физической микронизации представлены на рисунке 4.1.

При разработке физической микронизации путем измельчения образцы по 15 г сухого экстракта расторопши измельчали на мельнице лабораторной при последовательных 3 циклах измельчения со скоростью ~ 14000 об/мин; в течение 10 минут.

При разработке физической микронизации путем трения образцы по 15 г сухого экстракта расторопши перемешивали в миксере Y-образной формы с металлическими стальными шариками (диаметра 5 см), со скоростью 200 об/мин, в течение 3 часа 45 минут.

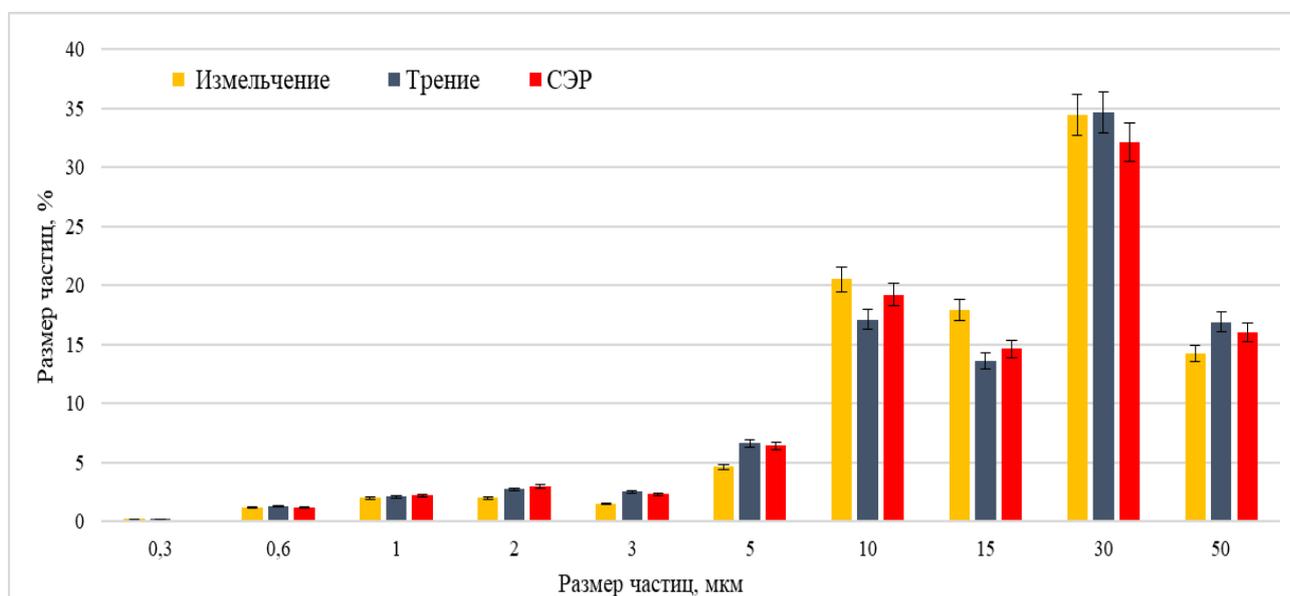


Рисунок 4.1. Результаты физической микронизации методом измельчения и трения

По сравнению с контролем, СЭР, при микронизации измельчением увеличилась доля частиц размером от 0,3 до 5 мкм на 3,7 % и уменьшалась доля частиц размером от 10 до 50 мкм на 5,1%, при микронизации трением увеличилась доля частиц размером от 0,3 до 5 мкм на 3,9% и уменьшилась доля частиц размером от 10 до 50 мкм на 4,8 %. Таким образом применение физических методов микронизации измельчением и трением не показали значительного изменения по распределению размера частиц по сравнению с СЭР.

## 4.2. Разработка технологии ТДС СЭР методом удаления растворителя

### 4.2.1. Выбор метода разработки ТДС

Одним из методов повышения биодоступности лекарственных веществ является введение их в твердые дисперсные системы (ТДС). Важно отметить, что при разработке ТДС важным является выбор метода и полимеров носителей.

Наиболее подходящим методом получения ТДС с экстрактами является метод удаления растворителя, поскольку не требует применения высокого температурного режима в процессе получения ТДС, что позволяет разработать с термочувствительными веществами [76].

#### 4.2.2. Выбор полимеров-носителей для разработки ТДС

При разработке ТДС использовались водорастворимые полимеры-носители, подходящие для метода удаления растворителя: поливинилпирролидон – ПВП К-29/32, поливинилпирролидон винилацетатом 6:4 – ПВПВА 64, гидроксипропилметилцеллюлозой – ГПМЦ, желатин и лаурилсульфат натрия – SDS. Все вышеупомянутые полимеры являются гидрофильными с аморфным состоянием (ПВП К-29/32, ПВПВА 64, ГПМЦ и лаурилсульфат натрия, которые приводят к образованию аморфных твердых дисперсионных систем), желатин имеет кристаллическое строение и приводит к образованию твердых дисперсионных систем кристаллического состояния.

#### 4.2.3. Выбор растворителя в разработке ТДС СЭР

Для получения ТДС сухого экстракта расторопши был разработан ряд составов твердых дисперсионных систем в соотношениях и комбинациях, представленных в таблице 4.1

Таблица 4.1. Состав ТДС для выбора растворителя

| Состав ТДС    | Полимер     |      |         | СЭР |
|---------------|-------------|------|---------|-----|
|               | ПВП К-29/32 | ГПМЦ | Желатин |     |
| Количество, г | 0,16        | 0,16 | 0,16    | 0,3 |

Для разработки ТДС СЭР растворилось соответствующее количество СЭР в 10 мл этилового или метилового спирта при перемешивании на магнитном мешалке и при температуре  $25 \pm 1$  °С до полного растворения. Соответствующие количества полимеров взвешивали и растворяли в 50 мл воды очищенной при

постоянном перемешивании (780 – 820 оборот/мин) с помощью магнитной мешалки до полного растворения. Затем растворы СЭР и полимеров объединяли при постоянным перемешивании со скоростью от 580 – 620 об/минут в течение 20 минут.

Для удаления растворителя образцы ТДС СЭР №1 с метанолом и этанолом высушили в шкафу сушильном вакуумном при температуре 55 – 60 °С до остаточной влажности не более 2%, измельчали на мельнице лабораторной. Изменение на распределение размера частиц определилось лазерным анализатором размера частиц. Результаты были сопоставлены с размером частиц сухого экстракта расторопши и представлены на рисунке 4.2

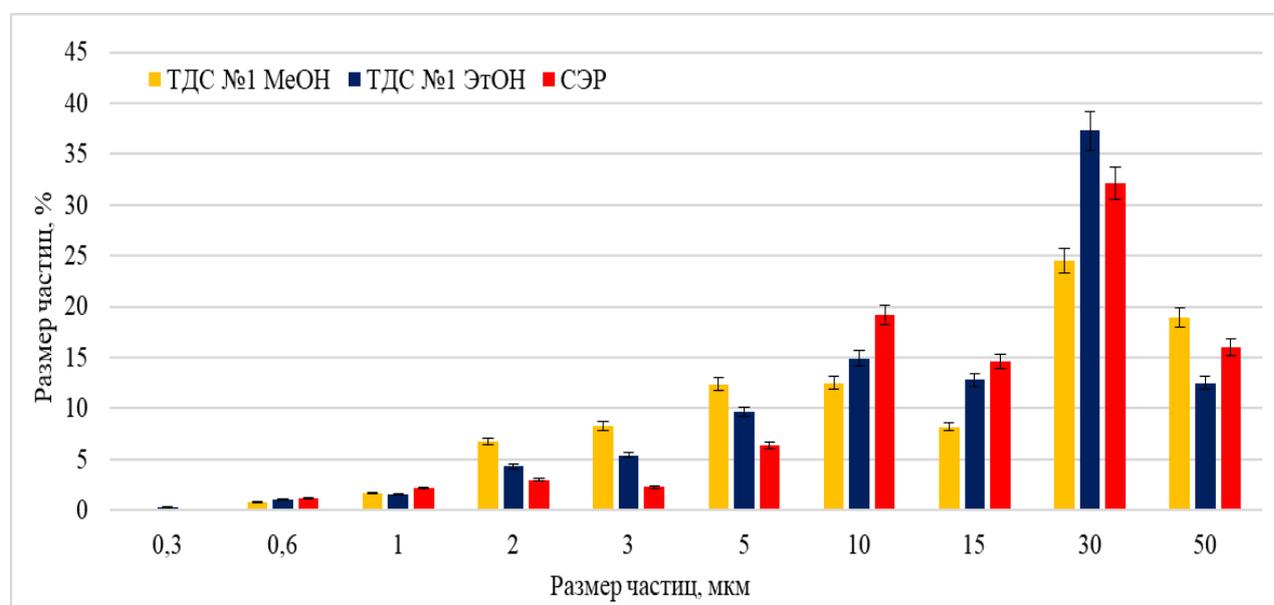


Рисунок 4.2. Распределение в ТДС СЭР частиц по размерам при использовании метанола и этанола в качестве растворителей СЭР

По сравнению с СЭР, в разработанных ТДС сухого экстракта расторопши состава №1 с использованием метанола и этанола повышалась доля частиц размером от 0,3 до 5 мкм на 14,9 и 7,1% соответственно, и уменьшалась доля частиц размером от 10 до 50 мкм на 17,8 и 9,6% соответственно.

Поскольку метанол является токсичным растворителем второй группы и необходимо было после его удаления определить остаточное содержание метанола в ТДС СЭР в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.1.0008 «Остаточные органические растворители». Анализ проводился методом газовой хроматографией с пламенно-ионизационным детектором Clarus 680. В результате испытания в образце ТДС СЭР содержание метанол составило 19,5 ppm, что соответствует норме «не более 3000 ppm». Хроматограммы стандартного образца и испытуемого образца показаны в рис. 4.3 и 4.4.

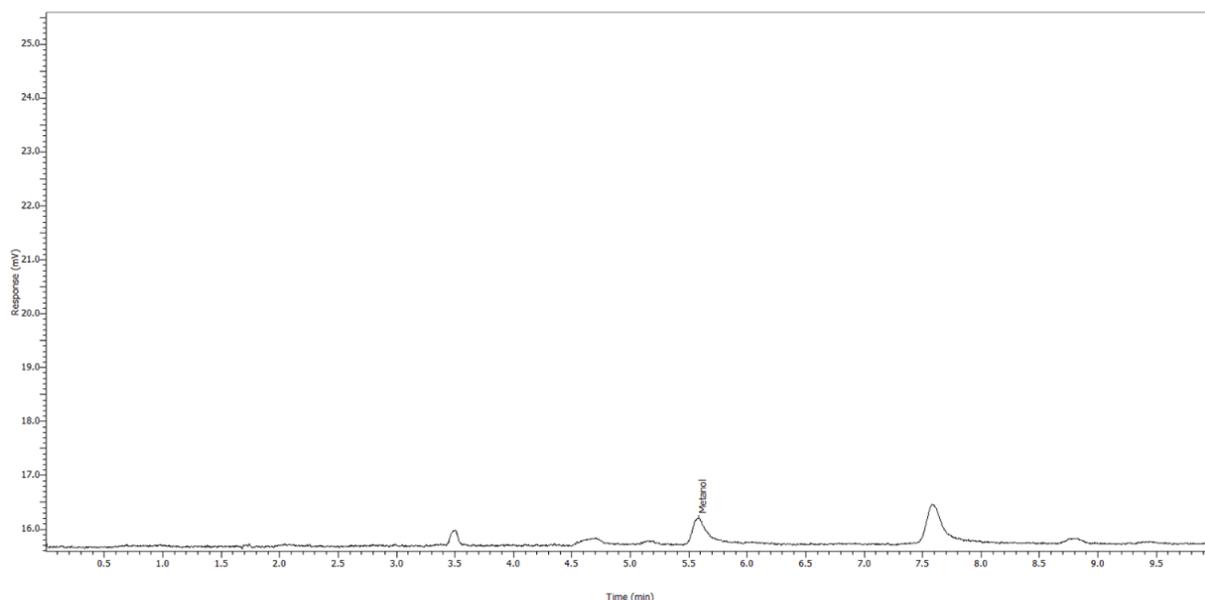
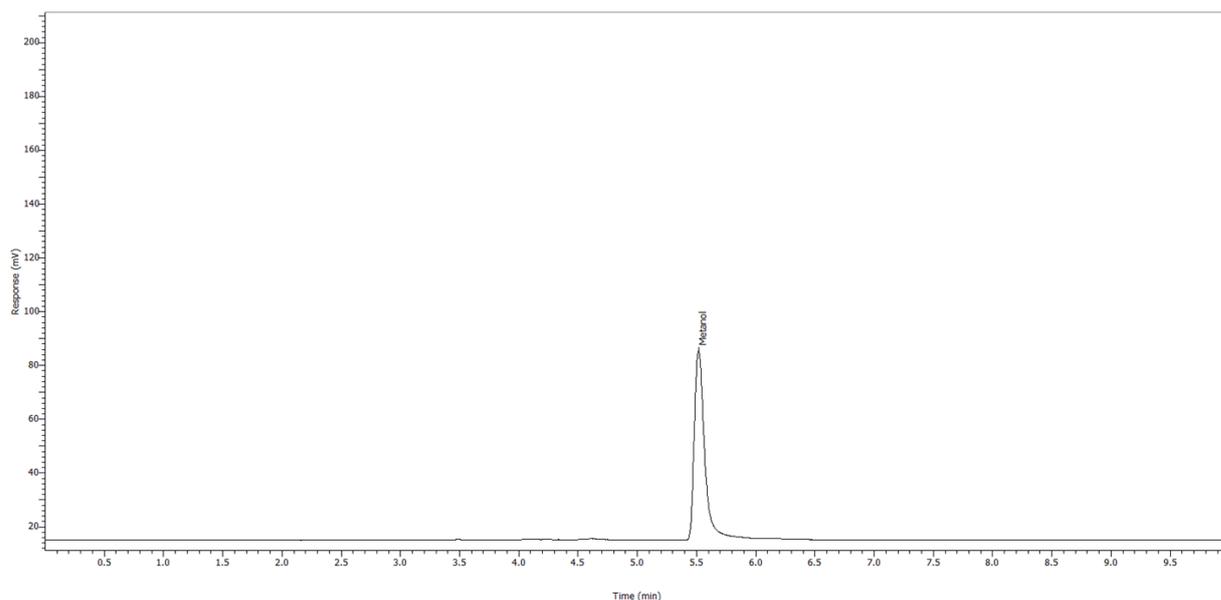


Рисунок 4.3. Хроматограмма стандартного образца метанола

Рисунок 4.4. Хроматограмма испытуемого образца ТДС №1 – Метанол

Расчет количественного содержания метанола в ТДС СЭР в ppm (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{C_{\text{ст}} \cdot S_{\text{мет}} \cdot 2 \cdot 100}{S_{\text{ст}} \cdot a \cdot 1000} = 19,5$$

где X – количественное содержание метанола, ppm

$S_{\text{мет}}$  – площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_{\text{ст}}$  – площадь пика на хроматограмме стандартного раствора;

$C_{\text{ст}}$  – концентрация стандартного раствора, мг/мл;

a – навеска ТДС сухого экстракта, г.

По результатам испытания,

Площадь пика на хроматограмме испытуемого раствора = 2523,5

Площадь пика на хроматограмме стандартного раствора = 430886

Концентрация стандартного раствора, мг/мл = 0,3540

Навеска ТДС сухого экстракта, г = 0,2125

Таким образом, остаточное содержание метанола в образце ТДС СЭР удовлетворяет требованиям ГФ.

Однако, несмотря на то, что использование метанола незначительно увеличивает долю частиц с размером от 0,3 до 5 мкм, но так как метанол является растворителем 2-ой группы токсичности и требует соблюдения соответствующих условий по использованию, то для последующих исследований растворение СЭР проводили в этаноле.

### **4.3. Разработка ТДС сухого экстракта расторопши**

При создании ТДС сухого экстракта расторопши, технология которой разрабатывается впервые, был применен риск-ориентированный подход. Среди существующих методов управления риском для качества наиболее известная и часто используемая – диаграмма причин и следствий (диаграмма Исикавы).

Для мониторинга и обеспечения качества при разработке ТДС сухого экстракта была разработана и предложена диаграмма Исикавы процесса

получения ТДС СЭР, где отмечены параметры, влияющие на качество получаемого готового продукта (рисунок 4.5). Помимо этого были определены диапазоны критических параметров процесса получения ТДС СЭР, представленные в таблице 4.2.

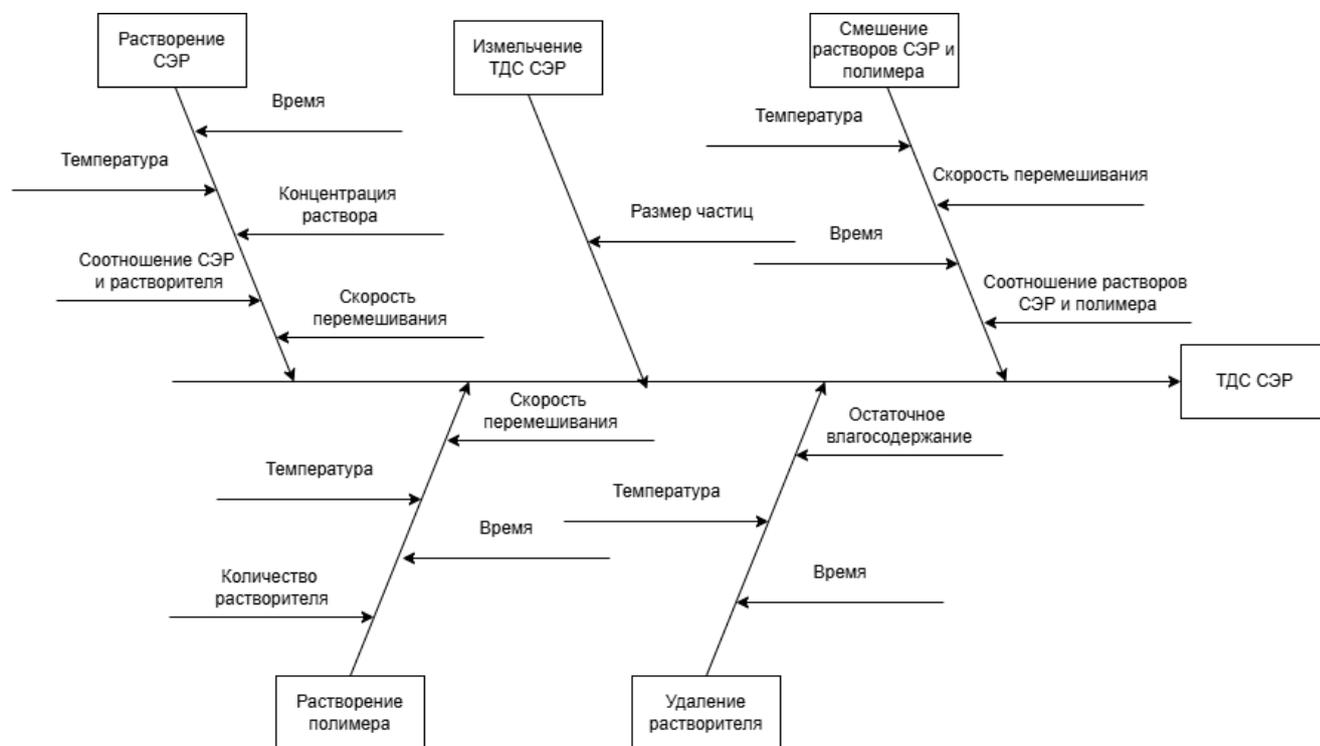


Рисунок 4.5. Диаграмма Исикавы. Факторы влияющие на процесс получения ТДС СЭР

Таблица 4.2. Критические параметры процесса получения ТДС СЭР

| Показатель                 | Стадия  | Значение  |
|----------------------------|---|---|
| Скорость перемешивания     | 1) Растворение СЭР<br>2) Растворение полимера<br>3) Смешение растворов СЭР и полимера | 1) 780 – 820 об/мин<br>2) 780 – 820 об/мин<br>3) 580 – 620 об/мин |
| Время                      | Образование ТДС СЭР   | 20 ± 5 мин  |
| Температура                | Удаление растворителя   | 55 – 60 °С  |
| Остаточное влагосодержание | Удаление растворителя   | ≤ 2 %   |
| Размер частиц              | Измельчение   | ≤ 50 мкм  |

Для получения ТДС сухого экстракта расторопши, соответствующее количество СЭР растворяли в 10 мл этилового спирта при перемешивании на магнитной мешалке до полного растворения. Комбинация и количества СЭР и полимеров для разработки ТДС СЭР представлены в таблице 4.3.

Полимеры взвешивали и растворяли в 50 мл воды очищенной при постоянном перемешивании 780 – 820 об/мин с помощью магнитной мешалки до полного растворения. Затем растворы СЭР и полимеров объединяли при постоянным перемешивании со скоростью от 580 – 620 об/мин в течение 20 минут.

Для удаления растворителя образцы ТДС сушили в шкафу сушильном вакуумном при температуре 55 – 60 °С до остаточной влажности не более 2%, измельчали на мельнице лабораторной до порошка, частицы которого проходят через сито с размером ячеек 50 мкм. В лабораторных условиях наработано по 10,0 г каждого образца.

Таблица 4.3. Полимеры используемые к разработке ТДС сухого экстракта расторопши

| Образец<br>ТДС | Количество, г  |      |         |      |              |     |
|----------------|----------------|------|---------|------|--------------|-----|
|                | ПВП<br>К-29/32 | ГПМЦ | Желатин | SDS  | ПВП ВА<br>64 | СЭР |
| 1              | 0,16           | 0,16 | 0,16    | -    | -            | 0,3 |
| 2              | 0,08           | 0,16 | 0,16    | -    | -            | 0,3 |
| 3              | 0,80           | 0,16 | -       | 0,16 | -            | 0,3 |
| 4              | 0,16           | 0,16 | -       | -    | -            | 0,3 |
| 5              | 0,80           | 0,50 | -       | -    | -            | 0,3 |
| 6              | -              | 0,16 | -       | -    | 0,50         | 0,3 |
| 7              | -              | 0,50 | -       | -    | 0,80         | 0,3 |
| 8              | -              | -    | -       | -    | 0,80         | 0,3 |
| 9              | -              | -    | -       | 0,16 | -            | 0,3 |
| 10             | -              | -    | -       | 0,50 | -            | 0,3 |

|    |   |   |   |      |     |     |
|----|---|---|---|------|-----|-----|
| 11 | - | - | - | 0,80 | -   | 0,3 |
| 12 | - | - | - | -    | 0,3 | 0,3 |
| 13 | - | - | - | -    | 1,2 | 0,3 |
| 14 | - | - | - | -    | 2,7 | 0,3 |

#### 4.4. Анализ распределения размера частиц ТДС сухого экстракта расторопши

После разработки твердых дисперсионных систем сухого экстракта расторопши методом удаления растворителя было проанализировано распределение частиц для ряда ТДС сухого экстракта на лазерном анализаторе размера частиц. Анализ проводился в сравнении с образцом СЭР, результаты распределения частиц по размерам наилучших вариантов ТДС полученных на основе полимеров ПВП 29/32, ПВП ВА 64, ГПМЦ, желатин и SDS показаны на рис. 4.6.

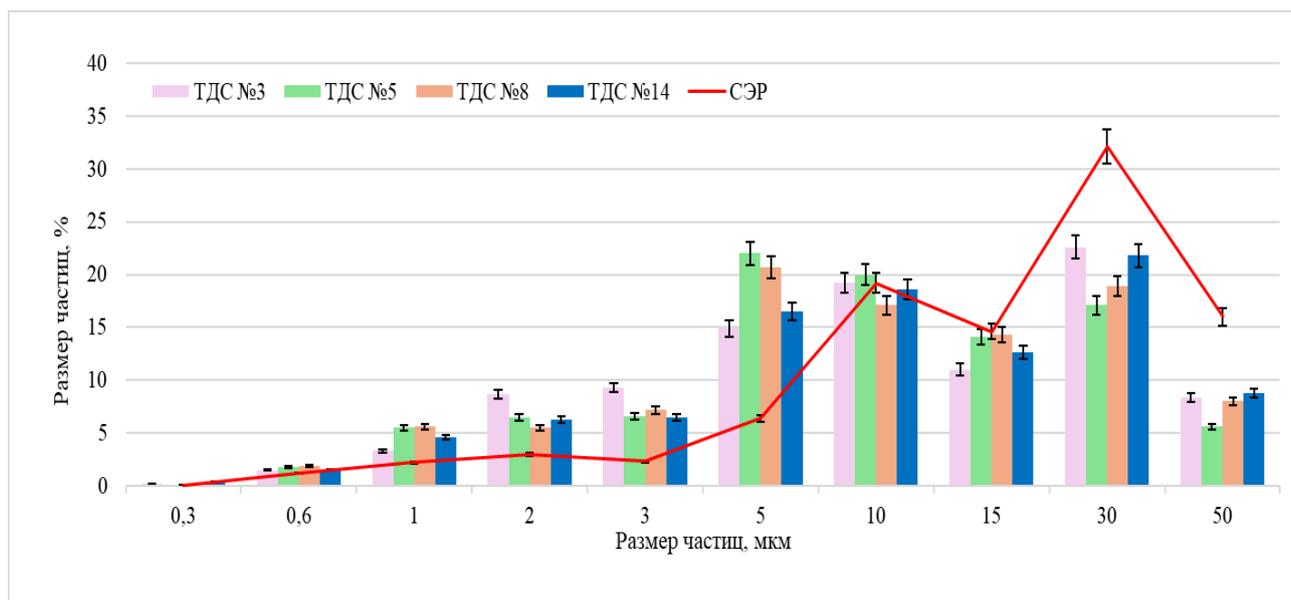


Рисунок 4.6. Распределение размера частиц СЭР и ТДС

По сравнению с СЭР, в образцах ТДС СЭР №3, 5, 8 и 14 увеличилась доля частиц размером от 0,3 до 5 мкм на 22,7; 27,2; 25,7 и 20,6 % соответственно, и уменьшилась доля частиц размером от 10 до 50 мкм на 20,7; 25,1; 23,6 и 20,1 % соответственно. Однако, с учетом выхода ТДС по процессу получения были выбраны образцы № 5 и 14 для дальнейших исследований.

#### 4.5. Профиль растворения ТДС СЭР

Проводили тест «Растворение» для наилучших вариантов ТДС сухого экстракта, выбранных по распределению размера частиц и по выходу процесса получения. Тест растворения проведен в соответствии с методикой, описанной Краснюком И.И. и др. 2021 [103]. Образцы ТДС по 1,0 г и сухой экстракт расторопши 0,1 г растворяли в стакане, содержащем 750 мл среды растворения - фосфатного забуференного физиологического раствора, рН  $6,8 \pm 0,5$ , согласно ГФ XV по ОФС. 1.3.0003 «Буферные растворы» [104], при температуре  $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , и перемешивании на магнитной мешалке со скоростью 200 оборотов в минуту.

Пробы отбирали через 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 и 120 минут с последующим восполнением среды растворения. Высвобождение силибина контролировали спектрофотометрическим методом при длине волны  $\lambda = 289$  нм. Результаты профиля растворения образцов ТДС сухого экстракта и образца СЭР представлены на рис. 4.7.

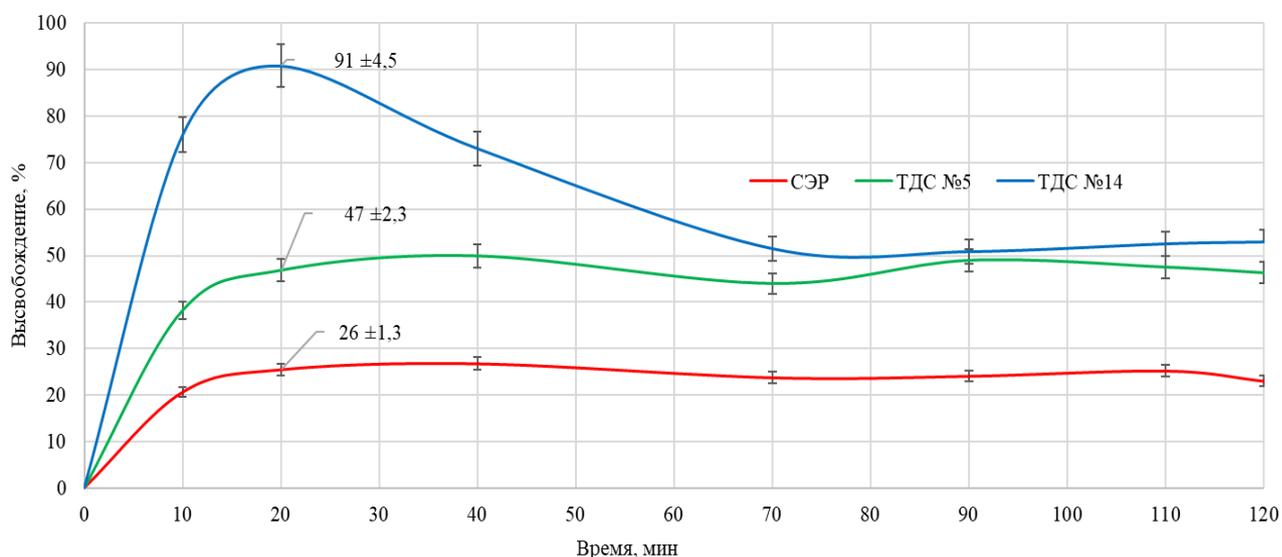


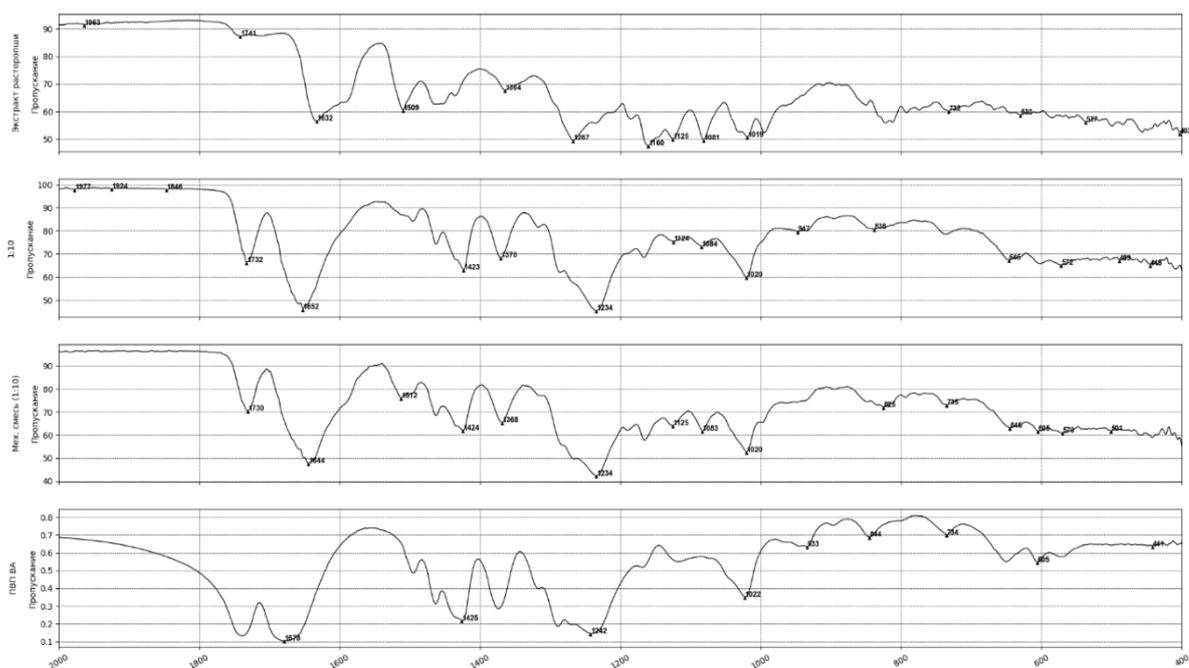
Рисунок 4.7. Профиль растворения СЭР и ТДС СЭР

Установлено, что за 20 минут из ТДС №14 высвободилось  $91 \pm 4,5\%$  силибина, за это время из ТДС № 5 высвободилось  $47 \pm 2,3\%$  и из СЭР –  $26 \pm 1,3\%$ . Таким образом, разработан состав ТДС СЭР (ТДС №14), позволивший

увеличить биодоступность субстанции, за счет высвобождения в 3 раза больше силибина, чем из сухого экстракта расторопши.

#### 4.6. ИК-спектрометрия с преобразованием по Фурье

При определении ИК-спектров образцы, СЭР (1), ТДС СЭР (2), механическая смесь (3) и полимер ПВПВА 64 (4); отмечено, что в ИК-спектре ТДС (2) при длине волны от  $1400 \sim 1000 \text{ см}^{-1}$  наблюдаются пики функциональных групп  $-\text{СН}$  и  $-\text{ОН}$ , соответствующих флаволигнанам с относительной вибрацией по сравнению с ИК-спектром образца СЭР, это показывает взаимодействие сухого экстракта с полимером. Сняты ИК-спектров образцов представлены на рис. 4.8.



1 – СЭР; 2 – ТДС сухого экстракта. 3 – Механическая смесь; 4 – Полимер ПВПВА 64

Рисунок 4.8. ИК-спектры анализа взаимодействия полимер-СЭР

После разработки технологии ТДС сухого экстракта расторопши была разработана и предложена процессуальная схема получения ТДС сухого экстракта (рисунок 4.9).

После разработки технологии ТДС сухого экстракта расторопши была разработана и предложена процессуальная схема получения ТДС сухого экстракта

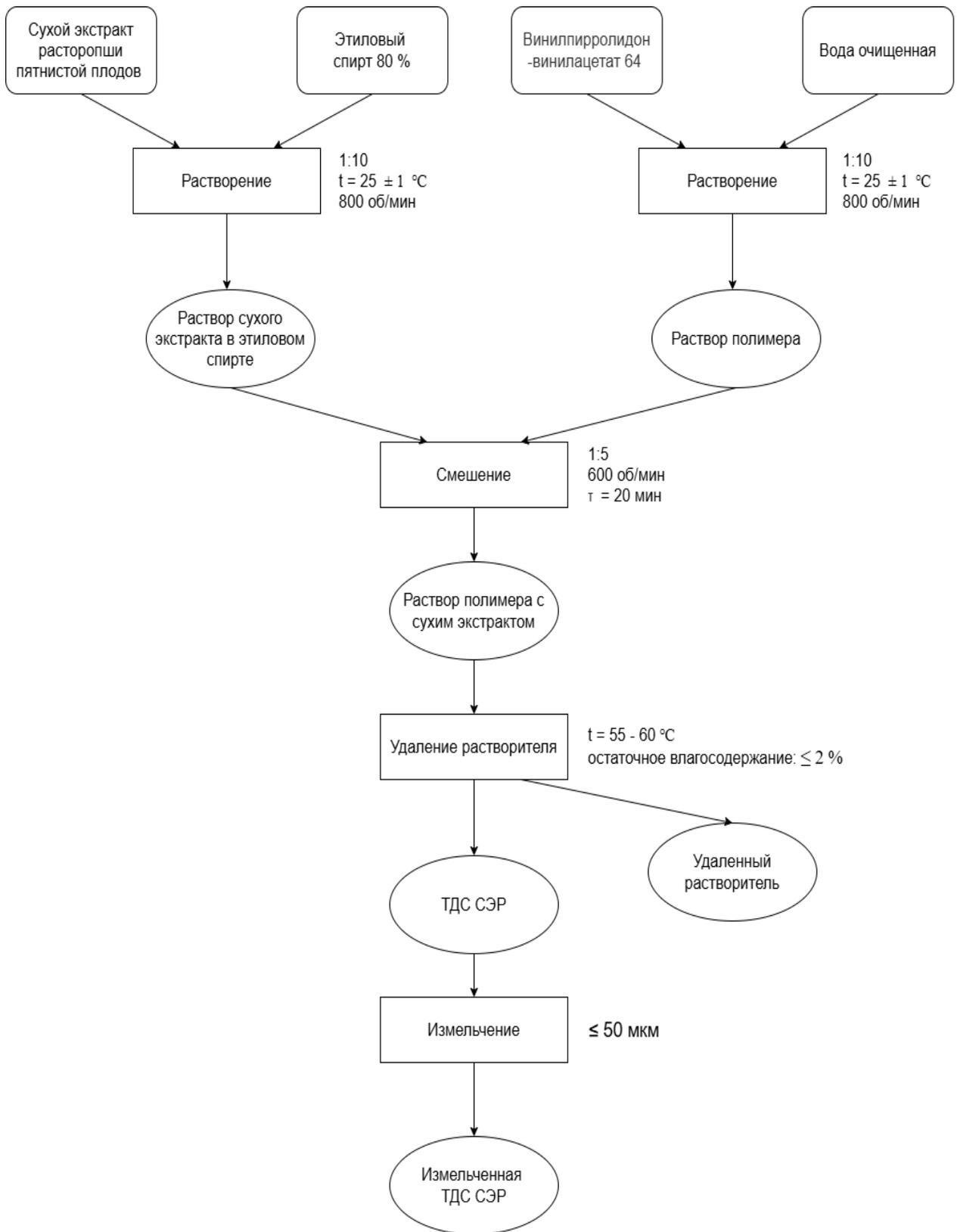


Рисунок 4.9. Процессуальная схема получения ТДС сухого экстракта

#### 4.7. Стандартизация ТДС сухого экстракта

Для наилучшего варианта ТДС СЭР по высвобождению силибина проведена стандартизация по показателям качества: описание, подлинность, содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, потеря в массе при высушивании. Определены технологические свойства ТДС СЭР: насыпная плотность, степень сыпучести, индекс Карра, коэффициент Хауснера и степень гигроскопичности. Исследования проводили в сравнении с образцом СЭР. Результаты представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4. Показатели качества ТДС СЭР

| Показатель  | Метод  | Норма<br>Проект НД  | Образец  |  |
|---|--|---|--|--|
|   |  |   | ТДС СЭР  | СЭР  |
| Описание  | Визуально  | Полукристаллический порошок желтый-белого цвета без запаха                                      | Полукристаллический порошок желтый-белого цвета без запаха | Аморфный порошок желтый-коричневого цвета без запаха |
| Подлинность   | УФ спектроскопия в видимой области, $\lambda=289$ нм | УФ-спектр раствора в области от 250 до 330 нм имеет максимум поглощения при длине волны 289 нм. | Соответствует  | Соответствует  |
| Количественное содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, % | УФ спектроскопия в видимой области, $\lambda=289$ нм | Не менее 65%  | 78,20 $\pm$ 0,32   | 79,20 $\pm$ 3,96                                     |
| Потеря в массе при высушивании, %                                       | ОФС.<br>1.2.1.0010                                   | Не более 5%   | 0,14 $\pm$ 0,01  | 0,58 $\pm$ 0,03                                      |
| Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup>                                   | ОФС.<br>1.4.2.0024                                   | Не более 1,8  | 0,94 $\pm$ 0,05  | 1,78 $\pm$ 0,08                                      |

|                      |                    |                                 |                                 |                                   |
|----------------------|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| Индекс Карра, %      |                    | Не более 41                     | 29,41                           | 40,43                             |
| Коэффициент Хауснера |                    | Не более 1,7                    | 1,42                            | 1,68                              |
| Степень сыпучести, с | ОФС.<br>1.4.2.0016 | Соответствие сыпучести          | 15,07 ±0,67                     | Не имеет сыпучести                |
| Гигроскопичность     | ОФС.<br>1.1.0042   | Увеличение в массе не более 15% | Увеличение в массе составило 3% | Увеличение в массе составило 3,2% |

По содержанию суммы флаволигнанов в пересчете на силибин ТДС СЭР соответствует требованиям НД к сухому экстракту расторопши. Кроме того, условия разработки ТДС практически не влияют на количественное содержание силибина по сравнению с содержанием его в контрольном образце СЭР.

Остаточная влажность полученной ТДС СЭР несколько снизилась по сравнению с контрольным образцом СЭР, что может повысить стабильность образца при хранении.

По сравнению с СЭР, ТДС СЭР показала уменьшение на 0,739 г/см<sup>3</sup> значение насыпной плотности, что повышает ее сыпучесть.

При изучении гигроскопичности было установлено, что ТДС также, как и контрольный образец СЭР, гигроскопичен, что необходимо будет учитывать при разработке лекарственной формы комбинированного препарата с ТДС.

**ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4.**

1. Разработана физическая микронизация сухого экстракта расторопши методами измельчения и трения, однако данные методы не позволили получить значительное изменения по распределению размера частиц по сравнению контрольным образцом сухого экстракта расторопши..

2. Разработана технология ТДС сухого экстракта методом удаления растворителя. Используются разные полимеры, в разных комбинациях и соотношениях. Определено, что наилучший вариант – ТДС сухого экстракта на основе ПВПА 64 по соотношению 1:10 (СЭР : полимер), поскольку увеличилась доля размера частиц от 3 до 5 мкм и уменьшилась доля частиц размером от 10 до 50 мкм на 20 % по сравнению с контрольным образцом СЭР.

3. Создание ТДС сухого экстракта расторопши значительно повысило биодоступность фитосубстанции за счет увеличения степени высвобождения силибина в 3 раза по сравнению с контрольным образцом СЭР.

4. Показано взаимодействие в ТДС между СЭР и полимером-носителем поливинилпирролидоном винилацетатом с помощью ИК-Фурье спектроскопии.

5. Для разработанной ТДС были определены показатели качества такие как, подлинность, количественное содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, влажность, насыпная плотность, степень сыпучести, индекс Карра, коэффициент Хауснера и степень гигроскопичность.

## ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ

### 5.1. Стандартизация УДХК

В качестве действующего вещества в состав разрабатываемого комбинированного препарата гепатопротекторного действия входит урсодезоксихолевая кислота (Чжуншань Беллинг Биотекнолоджи Ко. Лтд., Китай). Входной контроль активной фармацевтической субстанции проводилось в соответствии с ГФ XV изд., по показателям: описание, потеря в массе при высушивании, насыпная плотность, индекс Карра, коэффициент Хауснера и степень сыпучести. Испытание на количественное содержание проводилось методом ВЭЖХ в соответствии с фармакопеей США по USP – 44, NF – 39. Результаты контроля качества субстанции УДХК представлены в таблице 5.1. и хроматограммы стандартного и испытуемого образца УДХК представлены в рис. 5.1 и 5.2.

Таблица 5.1. Входной контроль качества субстанции УДХК

| Показатель                            | Метод определения, НД | Норма   | Экспериментальное значение |
|---------------------------------------|-----------------------|---|----------------------------|
| Описание                              | Визуально             | Белый порошок с кристаллической формой без запаха |                            |
| Потеря в массе при высушивании, %     | ОФС.1.2.1.0010        | Не более 0,5%                                     | 0,32±0,04                  |
| Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup> | ОФС.1.4.2.0024        | -   | 0,7813 ±0,4                |
| Индекс Карра, %                       |                       | -   | 24,71                      |
| Коэффициент Хауснера                  |                       | -   | 1,33                       |
| Степень сыпучести, с                  | ОФС.1.4.2.0016        | -   | 44,4 ±1,6                  |
| Количественное содержание, %          | ВЭЖХ                  | 98,5 – 101,5                                      | 99,05 ±0,2                 |

По результатам определения показателей качества УДХК установлено, что урсодезоксихолевая кислота соответствует требованиям качества и может быть использована в качестве фармацевтической субстанции при разработке комбинированного препарата гепатопротекторного действия.

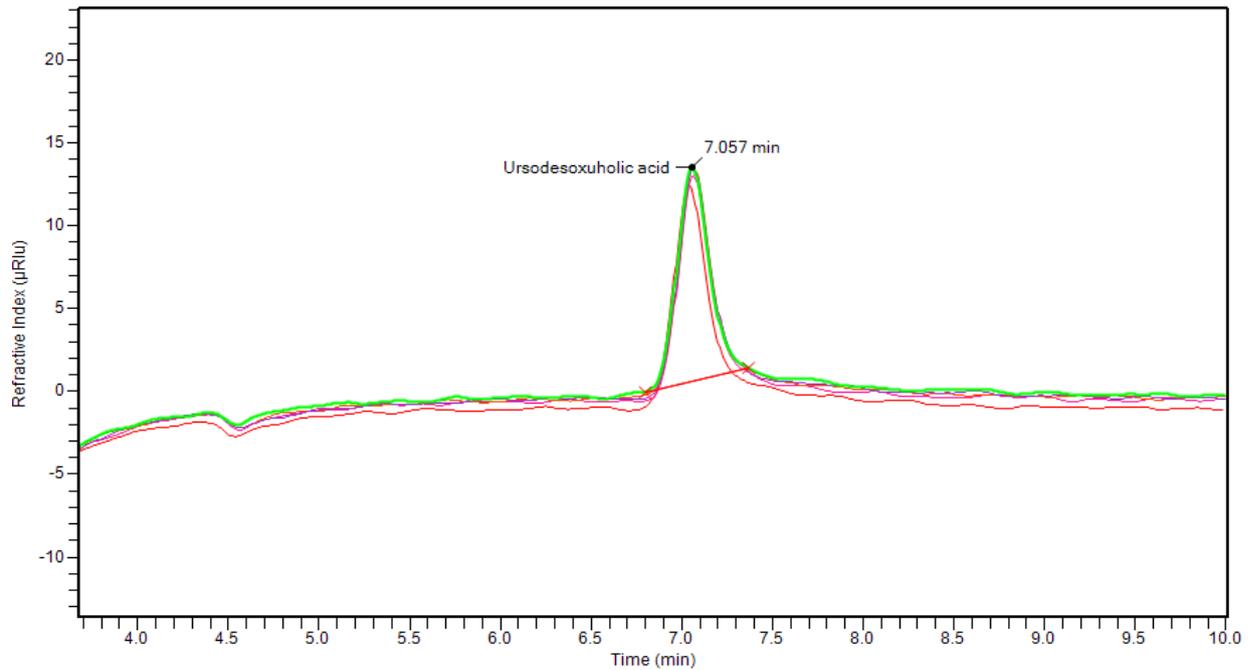


Рисунок 5.1. Хроматограмма стандартного образца УДХК

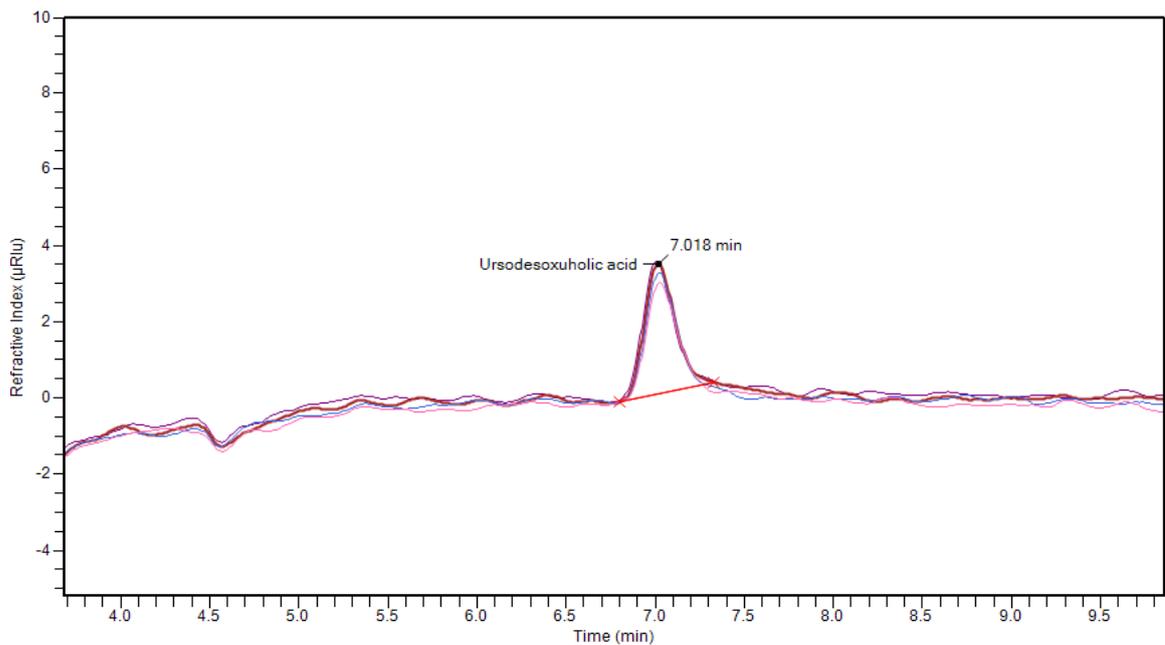


Рисунок 5.2. Хроматограмма испытуемого образца УДХК

Расчет концентрации урсодезоксихолевой кислоты по формуле

$$X = R_U (R_S / C) = 0,79236$$

где,

X – концентрация испытуемого образца УДХК, мг/мл

C – концентрация стандартного образца = 0,79336 мг/мл

$R_U$  – площадь пика испытуемого образца

$R_S$  – площадь пика стандартного образца

Площадь пика стандартного образца = 516,01

Площадь пика испытуемого образца = 513,64

Количественное содержание стандартного образца = 99,17%

Расчет количественного содержания в % испытуемого образца урсодезоксихолевой кислоты по формуле

$$\% \text{ УДХК} = (X / T_C) * 100 = 99,05 \pm 0,17$$

где,

X – концентрация испытуемого образца УДХК, мг/мл

$T_C$  – Теоретическая концентрация испытуемого образца УДХК, мг/мл

## 5.2. Разработка состава и технологии гранул

### 5.2.1. Разработка состава гранул

С целью создания нового комбинированного препарата для лечения заболеваний печени в данной работе проведены исследования по разработке состава гранул, содержащих твердую дисперсионную систему сухого экстракта расторопши пятнистой на основе поливинилпирролидон винилацетата 64 – ПВПВА 64; в соотношении 1:10, и урсодезоксихолевую кислоту. В качестве вспомогательных веществ использовали микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ), как дезинтегратор, и магния стеарат, как лубрикант. Исследуемые составы гранул представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2. Составы исследуемых гранул

| Состав | Содержание компонента, мг |
|--------|---------------------------|
|--------|---------------------------|

|   | <b>ТДС сухого экстракта</b> | <b>УДЖК</b> | <b>МКЦ</b> | <b>Магния стеарат</b> |
|---|-----------------------------|-------------|------------|-----------------------|
| 1 | 180 ±9                      | 130 ±7,     | -          | 0,67 ±0,03            |
| 2 | 180 ±9                      | 130 ±7      | 13,3 ±0,7  | 0,67 ±0,03            |

### **5.2.2. Технологии гранулирования**

Гранулирование исследуемых составов проводили методом классической влажной грануляции, в качестве связующего вещества для агломерации смеси компонентов использовали 5% водный раствор крахмала картофельного.

Для получения гранул состава №1 и № 2 определенные количества компонентов смешивали и смесь компонентов увлажняли достаточным количеством 5% водный раствор крахмала картофельного с помощью спрея дозатора для того, чтобы предупредить переувлажнение масс. Полученные увлажненные массы гранулировали через сито-гранулятор с диаметром отверстия 3 мм. Полученные гранулы высушивали в сушильном шкафу с принудительной конвекцией при температуре  $60 \pm 5$  °С в течение 45 – 60 минут. Затем высушенные гранулы калибровали через сито-гранулятор с диаметром отверстия 1 мм и опудривали магния стеаратом. Гранулы расфасовывали в маркированные стеклянные контейнеры темного стекла и хранили при комнатной температуре ( $25 \pm 5$  °С)

### **5.3. Стандартизация гранул**

Был проведен контроль качества гранул по показателям: описание, подлинность, количественное содержимое АФС в капсуле, считая на среднюю массу одной капсулы, потеря в массе при высушивании, гигроскопичность, насыпная плотность, индекс Карра, коэффициент Хауснера, сыпучесть и ситовой анализ в соответствии с ОФС.1.4.1.0004. «Гранулы». Результаты представлены в таблице 5.3.

Таблица 5.3. Показатели качества гранул

| Показатель   | Метод определения, НД   | Норма  | Экспериментальные значения |                   |
|--|---|--|----------------------------|-------------------|
|  |   |  | Состав №1                  | Состав №2         |
| Описание   | Визуально   | Гранулы светло-желтого цвета с круглой формой, без запаха  | Соответствует              | Соответствует     |
| Подлинность  | ТДС СЭР<br>УФ спектроскопия в видимой области, $\lambda=289$ нм | УФ-спектр испытуемого раствора в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $288 \pm 3$ нм                                | Соответствует              | Соответствует     |
|  | УДХК<br>ВЭЖХ  | Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО УДХК | Соответствует              | Соответствует     |
| Количественное содержимое в капсуле, считая на среднюю массу одной капсулы, мг | ОФС.<br>1.4.1.0005  | ТДС СЭР<br>171 – 189 мг  | Соответствует              | Соответствует     |
|  |   | УДХК<br>124 – 136 мг   | Соответствует              | Соответствует     |
| Потеря в массе при высушивании, %  | ОФС.<br>1.2.1.0010  | Не более 5%  | $4,3 \pm 0,2\%$            | $3,3 \pm 0,4\%$   |
| Гигроскопичность   | ОФС.<br>1.1.0042  | Увеличение в массе не более 15%  | $4,16 \pm 0,02\%$          | $3,07 \pm 0,50\%$ |
| Насыпная плотность, г/см <sup>3</sup>  | ОФС.<br>1.4.2.0024  | -  | $0,64 \pm 0,02$            | $0,74 \pm 0,04$   |
| Индекс Карра, %  |   | -  | 12,3                       | 9,76              |

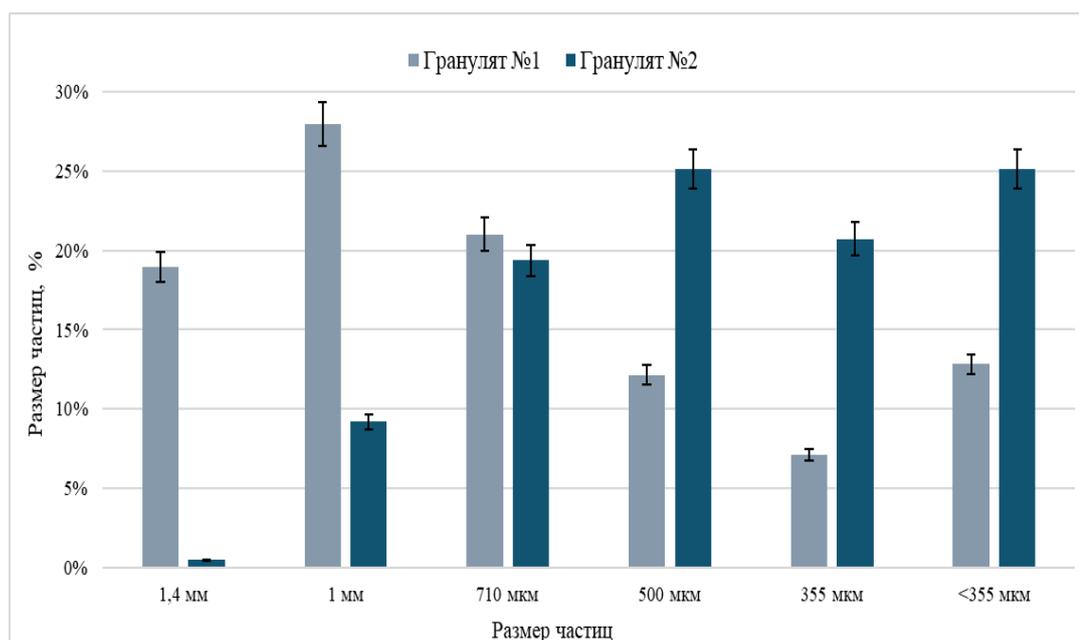
|                      |                 |                                 |               |               |
|----------------------|-----------------|---------------------------------|---------------|---------------|
| Коэффициент Хауснера |                 | -                               | 1,14          | 1,11          |
| Степень сыпучести, с | ОФС.1.4.2.0016  | -                               | 2,30 ± 0,17   | 2,27 ± 0,15   |
| Ситовой анализ, %    | ОФС. 1.4.2.0032 | Доля одной фракции не более 30% | Соответствует | Соответствует |

Были отмечены некоторые различия по качеству между составами гранул. Так, гранулы состава №2 показали меньшее содержание влаги в среднем на 1% по сравнению с гранулами состава №1, что прогнозирует лучшую стабильность при хранении.

По степени гигроскопичности гранулы составов №1 и 2 являются гигроскопичными, однако гранулы состава №2 в меньшей степени.

По насыпной плотности гранулы состава №2 показали повышение показателя на 0,1062 г/см<sup>3</sup>, что говорит о лучшей сыпучести.

По результатам ситового анализа отмечено, что гранулы состава №2 имеют меньший разброс по фракционному составу, поскольку 74,41% гранул имеют размер частиц от 355 мкм до 1 мм, по сравнению с гранулами состава №1, в которых 87,20% гранул имеют размер частиц от 355 мкм до 1,4 мм. Результаты определения фракционного состава гранул представлены на рис. 5.4.



#### Рисунок 5.4. Результаты ситового анализа разработанных составов гранул

Таким образом, установлено, что по показателям качества разработанные составы гранул соответствуют требованиям ГФ РФ XV, однако гранулы состава №2 обладают лучшими свойствами по показателям влажности, степени гигроскопичности, насыпной плотности, степени сыпучести и фракционному составу. Таким образом гранулы состава №2, дополнительно содержащие КМЦ, были использованы в технологии нового комбинированного лекарственного средства для гепатотропной терапии.

#### 5.4. Проверка распадаемости кишечнорастворимых капсул

В качестве готовой лекарственной формы были выбраны голубые цилиндрические твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы с размером «2» и длиной замки от  $17,5 \pm 0,7$  мм (ООО «ФармаПак», Китай) на основе желатина, гипромеллозы фталата, диоксида титана и брильянтового синего (E133). С целью верификации соответствия капсул по распадаемости в щелочной среде был проведен тест распадаемости в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость твердых лекарственных форм»

Испытание распадаемости капсул проводилось по методу – I, в соответствии с которым, 6 единиц (закрытых пустых капсул) были помещены в 1000 мл фосфатного буферного раствора, приготовленного по ОФС.1.3.0003 «Буферные растворы» рН  $6,8 \pm 0,5$ ; при температуре  $37 \pm 2$  °С. Помимо этого испытание повторилось в кислотной среде рН 1,0 с хлористоводородной кислотой и в щелочной среде рН 8,4 с фосфатным буфером. Результаты испытания представлены в таблице 5.4.

Таблица 5.4. Тест распадаемости твердых желатиновых капсул

| Показатель | Метод определения, НД | Норма  | Экспериментальное значение |
|------------|-----------------------|--|----------------------------|
| Описание   | Визуально             | Цилиндрические капсулы голубого цвета, без запаха с размером «2» |                            |

|                       |                    |   |               |
|-----------------------|--------------------|---|---------------|
| Распадаемость,<br>мин | ОФС.<br>1.4.2.0013 | Отсутствие распадаемости в кислой среде рН 1,0 в течение 60 мин     | Соответствует |
|                       |                    | Полностью распадаемость в фосфатном буфере рН 6,8 в течение 60 мин. | Соответствует |
|                       |                    | Отсутствие распадаемости в фосфатном буфере рН 8,4 в течение 60 мин | Соответствует |

По результатам испытания уставлено, что капсулы являются кишечнорастворимыми, поскольку соответствуют отсутствию распадаемости в кислотной рН 1,0 (как и в желудочном соке) и в щелочной среде рН 8,4 (как и в толстом кишечнике), и полностью распадаются в среде рН 6,8 как и в тонком кишечнике.

### 5.5. Разработка и стандартизация капсул с ТДС СЭР и УДХК

Твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы наполняли гранулами, содержащим твердую дисперсионную систему сухого экстракта расторопши, УДХК и МКЦ с помощью инструмента – наполнитель капсул размер «2». Наполненные капсулы расфасовывали в маркированные банки из тёмного стекла, укупоривали натягиваемой крышкой и хранили при комнатной температуре ( $25 \pm 5$  °С). Было наработано 3 серии твердых желатиновых капсул с гранулами ТДС СЭР и УДХК.

Проведена стандартизация капсул в соответствии с ГФ XV изд. по ОФС.1.4.1.0005 «Капсулы». Были определены следующие показатели: описание, подлинность, количественное содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, количественное содержание УДХК, однородность массы дозированных лекарственных форм, распадаемость и растворение. Результаты проведенной стандартизации представлены в таблице 5.5.

Определение стабильности и сроков годности капсул с гранулами ТДС СЭР и УДХК методом естественного хранения (долгосрочные испытания

стабильности) проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» ГФ РФ XV изд.

Образцы капсул с гранулами ТДС СЭР и УДХК хранились в банках из темного стекла с натягиваемой крышкой. Исследуемые образцы хранились при температуре  $(25 \pm 2)$  °С и относительной влажности  $(60 \pm 5)$  % в климатической камере Memmert HPP 110. Изучение стабильности проводили каждые 3 месяца путем оценки соответствия образцов показателям качества. Результаты представлены в Приложении 2. Изучение показателя стабильности готового продукта продолжается, поэтому в проекте спецификации на капсулы с ТДС СЭР и УДХК сроки годности не указаны

Таблица 5.5. Проект спецификации капсул с гранулами ТДС СЭР и УДХК

| Показатель  | Метод определения, НД   | Норма  | Экспериментальные данные |
|-------------|---|--|--------------------------|
| Описание    | Визуально   | Одноцветные голубые капсулы цилиндрической формы размер «2» с гранулами светло-желтого цвета внутри  |                          |
| Подлинность | ТДС СЭР<br>ОФС.1.4.2.0014<br>УФ спектроскопия в видимой области, $\lambda=289$ нм | УФ-спектр испытуемого раствора в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны $288 \pm 3$ нм                                | Соответствует            |
|             | УДХК<br>ВЭЖХ  | Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО УДХК | Соответствует            |

|  |  |  |               |
|--|--|--|---------------|
| Количественное содержимое в капсуле, считая на среднюю массу одной капсулы, мг | ОФС.<br>1.4.1.0005   | ТДС СЭР<br>171 – 189 мг  | Соответствует |
|  |  | УДХК<br>124 – 136 мг   | Соответствует |
| Однородность массы дозированных лекарственных форм, %                          | ОФС.<br>1.4.2.0009   | Допустимое отклонение<br>7,5%  | Соответствует |
| Распадаемость, мин   | ОФС.<br>1.4.2.0013   | Отсутствие повреждений в кислой среде рН 1,0 не менее 60 мин                 | Соответствует |
|  |  | Распад в фосфатном буфере рН 6,8 в течение 60 мин                            | Соответствует |
| Растворение, %   | СЭР<br>УФ спектроскопия в видимой области, $\lambda=289$ нм      | В кислой среде рН 1,0 должно высвободиться не более 10 % ДВ через 120 мин    | Соответствует |
|  |  | В буферной среде рН 6,8 должно высвободиться не менее 75 +5% ДВ через 45 мин | Соответствует |
|  | УДХК<br>ВЭЖХ   | В кислой среде должно высвободиться не более 10 % ДВ через 120 мин           | Соответствует |
|  |  | В буферной среде рН 6,8 должно высвободиться не менее 75 +5% ДВ через 45 мин | Соответствует |
| Микробиологическая чистота   | ГФ XV  | Категория 3А   | Соответствует |
| Упаковка   | В банках из тёмного стекла с натягиваемой крышкой                |  |               |
| Хранение   | В сухом, защищённом от света месте при температуре не выше 25 °С |  |               |
| Срок годности  | --   |  |               |

При выполнении теста «Растворение» определяли высвобождение силибина и УДХК за 30, 45 и 60 минут. Высвобождение силибина контролировали спектрофотометрическим методом при длине волны  $\lambda = 289$  нм и высвобождение УДХК контролировали методом ВЭЖХ в соответствии с фармакопеей США по USP – 44, NF – 39. Уставлено, что за 45 минут высвободилось  $89 \pm 0,5\%$  силибина, за это время высвободилось  $97 \pm 0,3\%$  УДХК. Результаты динамического высвобождения АФС представлены в рис. 5.5. Хроматограммы стандартного и испытуемого образца УДХК из капсул представлены в рис. 5.6 и 5.7.

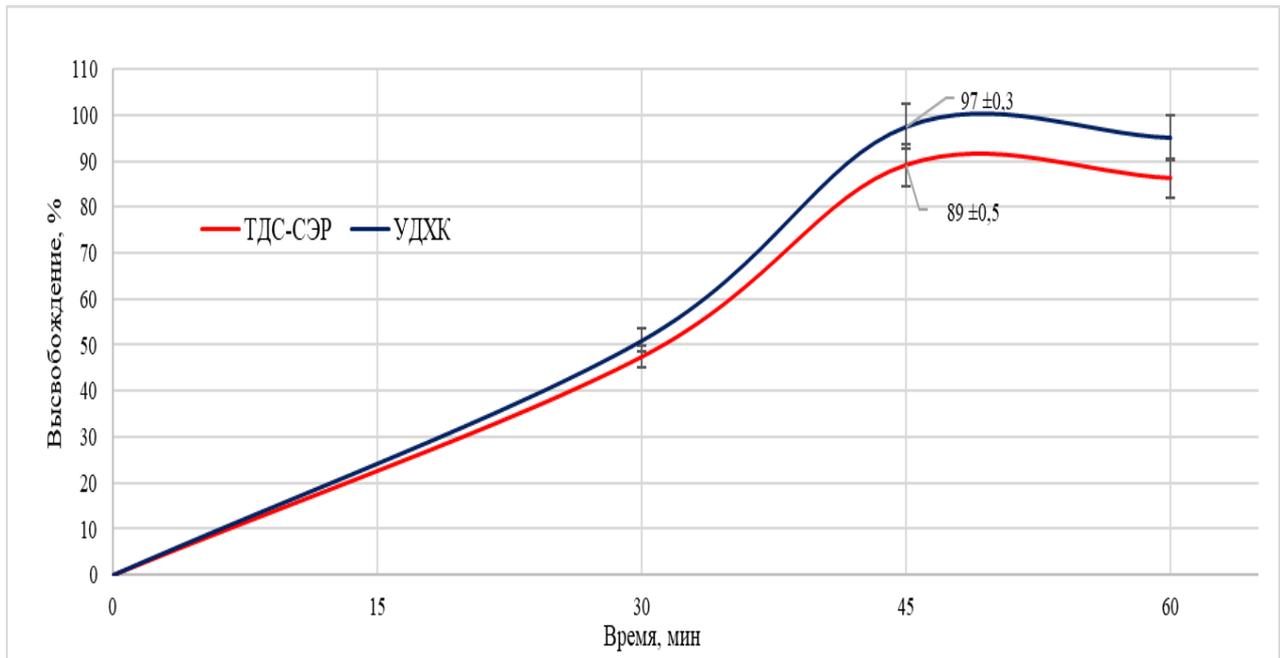


Рисунок 5.5. Высвобождение ТДС СЭР и УДХК

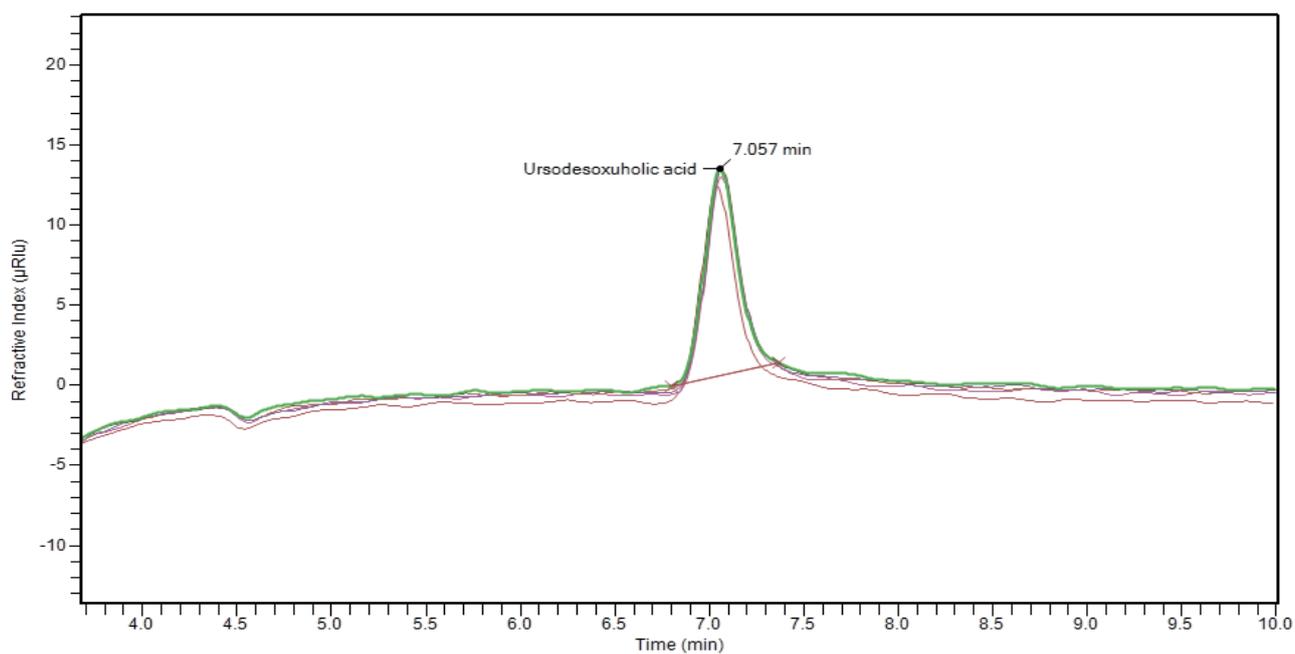


Рисунок 5.6. Хроматограмма стандартного образца УДХК

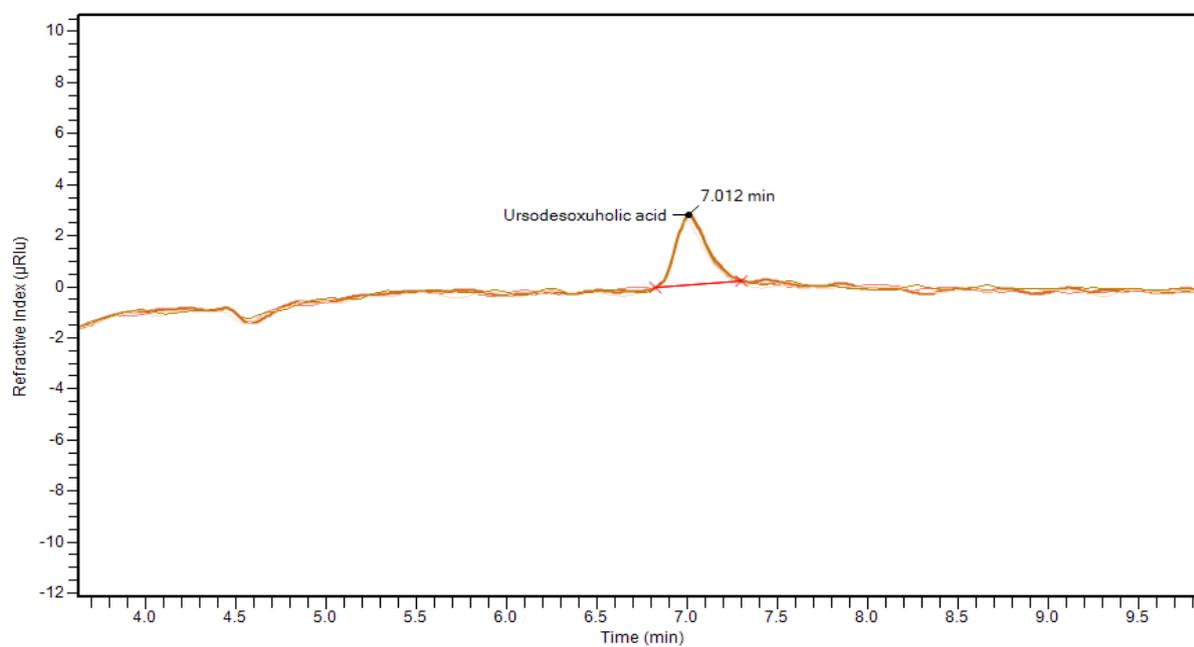


Рисунок 5.7. Хроматограмма испытуемого образца УДХК из капсул

Расчет количественного высвобождения урсодезоксихоловой кислоты из капсуле через 45 минут по формуле

$$X = 100000(R_U/R_S)(C/W) = 97 \pm 0,3$$

где,

X – количественное высвобождение УДХК, %

$R_U$  – площадь пика испытуемого образца

$R_S$  – площадь пика стандартного образца

C – концентрация стандартного образца

W – Количество УДХК в капсуле, мг

Площадь пика стандартного образца = 160,14

Площадь пика испытуемого образца = 80,94

Концентрация стандартного образца, мг/мл = 0,25

Количество УДХК в капсуле, мг = 128,30

Расчет количественного высвобождения силибина из капсул через 45 минут по формуле,

$$X = \frac{A \cdot 500000}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 1 \cdot (100-W)} = 89 \pm 0,5$$

где,

X – количественное высвобождение силибина, %

A – оптическая плотность испытуемого раствора

$A_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения раствора силибина при длине волны 289 нм, равный 450

a – Количество ТДС СЭР в капсуле, г

W – потеря в массе при высушивании, %

Оптическая плотность испытуемого раствора = 0,0270

Количество СЭР в ТДС СЭР из капсул, г = 0,01759

Потеря в массе при высушивании, % = 3,32

Предложена технологическая схема производства твердых желатиновых капсул с гранулятом ТДС и УДХК, представленная на рисунке 5.8.

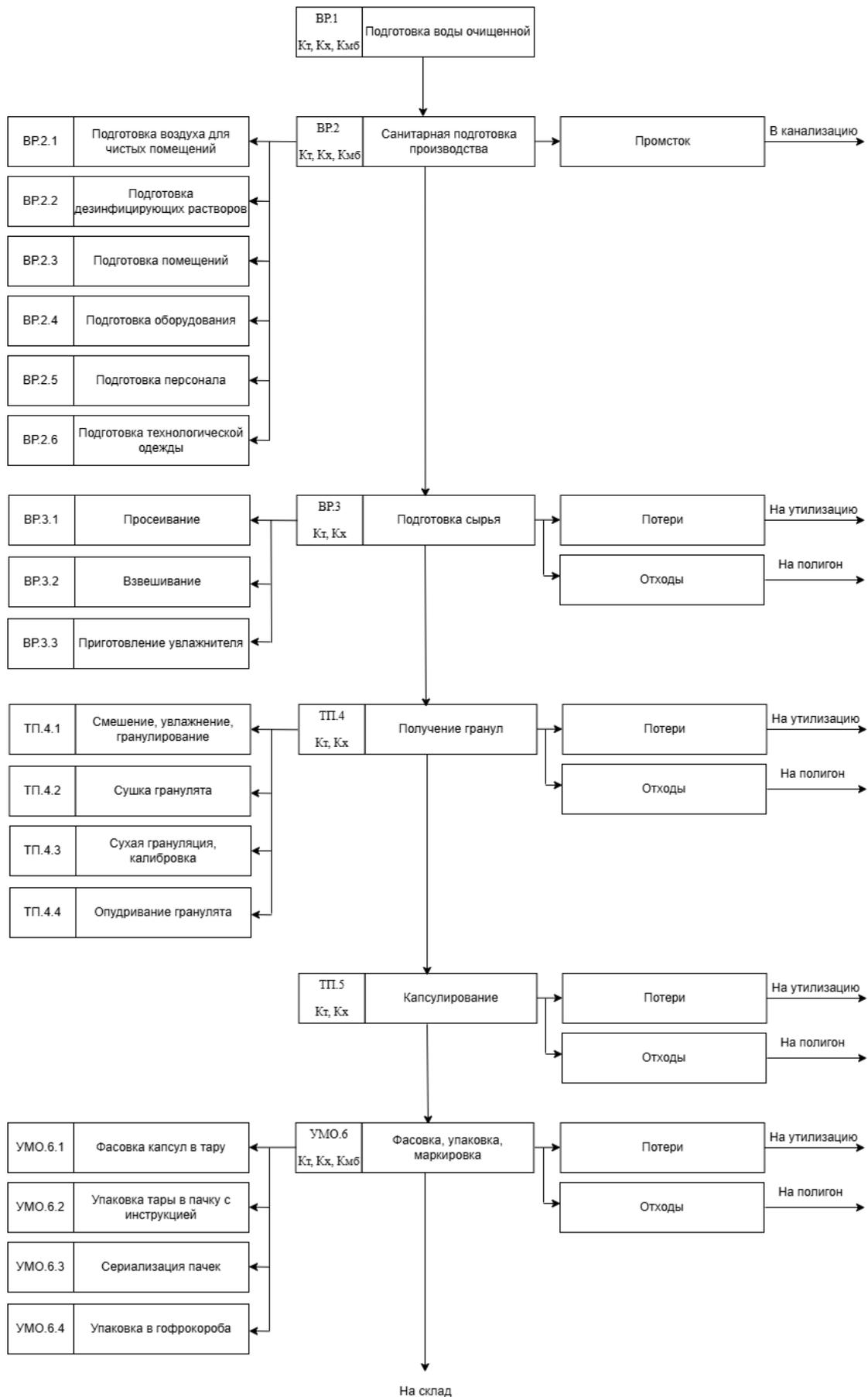


Рисунок 5.8. Технологическая схема производства твердых желатиновых капсул с гранулами ТДС и УДЖК

## **5.6. Изложение технологического процесса**

### **ВР. 3. Подготовка сырья**

Твердая дисперсная система сухого экстракта расторопши пятнистой на основе поливинилпирролидон-винилацетата 64 (ТДС СЭР) и урсодезоксихолевая кислота (УДХК) как действующие вещества, микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) как дезинтегратор и магния стеарат как лубрикант, были просеяны с использованием набора сит, взвешены с определенной точностью. В качестве связующего вещества приготовлен 5 % водный раствор крахмального клейстера.

### **ТП. 4. Получение гранул**

Для получения гранул сухие компоненты (ТДС сухого экстракта, УДХК, МКЦ) тщательно смешивали, увлажняли 5 % водным раствором крахмального клейстера с помощью дозатора. Влажное гранулирование проводили методом продавливания влажных масс через сито-гранулятор с диаметром отверстий 3 мм. Влажные гранулы подвергали сушке в сушильном шкафу с принудительной конвекцией при температуре  $60 \pm 5$  °С в течение 45 – 60 минут. Гранулы откалибровывали через сито-гранулятор с диаметром отверстия 1 мм. Полученные гранулы опудривали магния стеаратом.

### **ТП. 5. Капсулирование**

Гранулы фасовали в твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы № 2 с помощью капсулонаполняющей машины.

Процесс наполнения капсул в капсульной машине состоит из следующих операций: подача и ориентация пустых капсул, разделение их с помощью вакуума на составные части – корпус и крышечку, наполнение капсул из дозирующего бункера гранулами, закрытие наполненных капсул.

### **УМО. 6. Фасовка и упаковка**

Твердые кишечнорастворимые капсулы, наполненные гранулами ТДС СЭР и УДХК, хранили в банках из темного стекла с натягиваемой крышкой в сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С.

## ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5

1. Разработаны составы гранулятов с ТДС сухого экстракта расторопши, УДХК и микрокристаллической целлюлозой методом классической влажной грануляции с 5% водным раствором картофельного крахмала в качестве связующего вещества. Стандартизованы и сравнены составы гранулятов по показателям качества и по технологическим свойствам и уставлено что гранулят, содержащий дополнительно МКЦ, имеет лучшие технологические свойства: потеря в массе при высушивании, степень гигроскопичности, насыпная плотность, Индекс Карра, коэффициент Хауснера, степень сыпучести. Таким образом, этот состав гранулята может быть использован в технологии создания нового комбинированного лекарственного средства для гепатотропной терапии

2. Проведена проверка распадаемости кишечнорастворимых капсул в среде рН 1,0; 6,8; 8,4 и уставлено, что капсулы полностью распадаются в буферной среде рН 6,8 (как и в тонком кишечнике).

3. Разработана технология кишечнорастворимых капсул, наполненных гранулами, содержащем ТДС СЭР и УДХК. Составлена технологическая схема с изложением технологических стадий.

4. Определены показатели качества и стандартизованы по ОФС «Капсулы» по показателям качества: описанию, подлинности, количественному содержанию суммы флавоноидов в пересчете на силибин (методом УФ спектроскопии) количественному содержанию УДХК (методом ВЭЖХ), однородность массы дозированных лекарственных форм, распадаемость, растворение, микробиологическая чистота. Разработан проект спецификации на кишечнорастворимые капсулы с гранулами ТДС СЭР и УДХК.

5. Изучены профили высвобождения АФС из кишечнорастворимых капсул и уставлено, что к 45 мин высвободилось  $89 \pm 0,5\%$  суммы флаволигнанов в пересчете на силибин и  $97 \pm 0,3\%$  УДХК соответственно, что соответствует требованиям ГФ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. С целью разработки комбинированного препарата гепатотропной терапии на основе анализа научных публикаций обоснован выбор активных фармацевтических субстанций – сухой экстракт расторопши пятнистой плодов и урсодезоксихолевая кислота, обладающих выраженной гепатотропной активностью.

2. Разработана технологии сухого экстракта расторопши пятнистой плодов, обогащенного силибином для использования в качестве фитосубстанции в составе оригинального комбинированного гепатопротекторного средства.

Показано, что в технологии сухого экстракта наиболее эффективен метод мацерации с обратным холодильником на кипящей водяной бане. Определено оптимальное соотношение сырья к экстрагенту (1:30), время экстракции – 30 минут. Предложен способ очистки спирто-водного извлечения после стадии экстракции. Для очистки от балластных веществ белковой природы используется отстаивание при пониженной температуре (не более 8 °С) не менее 2 суток с последующей фильтрацией. Очистка от липофильных балластных веществ осуществляется гексаном методом жидкостной экстракции в соотношении 1:1 (спирто-водное извлечение : гексан).

3. Проведена стандартизация полученного сухого экстракта расторопши пятнистой плодов согласно ГФ XV изд. по ОФС «Экстракты» по показателям качества: описание, потеря в массе при высушивании, подлинность, количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, насыпная плотность, степень сыпучести, остаточные органические растворители и гигроскопичность. Определен срок годности - 2 года. Разработаны процессуальная и технологические схемы производства сухого экстракта расторопши пятнистой плодов.

4. Изучена возможность повышения растворимости сухого экстракта расторопши. Установлено, что создание ТДС сухого экстракта расторопши методом удаления растворителя значительно повышает биодоступность

фитосубстанции за счет увеличения степени высвобождения силибина из ТДС экстракта в 3 раза по сравнению с контрольным образцом СЭР. Показано взаимодействие в ТДС между СЭР и полимером-носителем поливинилпирролидоном винилацетатом с помощью ИК-Фурье спектроскопии.

5. Разработана технология ТДС сухого экстракта расторопши с учетом риск-ориентированного подхода. Определены показатели качества такие как, подлинность, количественное содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, влажность, насыпная плотность, степень сыпучести, индекс Карра, коэффициент Хауснера и степень гигроскопичности.

6. Разработаны состав и технология комбинированного гепатопротекторного препарата в твердых желатиновых капсулах с гранулами ТДС СЭР и УДХК. Предложены показатели качества и составлен проект спецификации на готовый продукт. Определен профиль растворения активных компонентов из кишечнорастворимых капсул и установлено, что к 45 мин высвободилось из ТДС СЭР  $89 \pm 0,5\%$  суммы флаволигнанов в пересчете на силибин и  $97 \pm 0,3\%$  УДХК, что соответствует требованиям ГФ. Составлена технологическая схема производства твердых желатиновых капсулах с гранулами ТДС СЭР и УДХК.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АА, Антиоксидантная активность

АВ, Активное вещество

АЛТ, Аланинаминотрансфераза АФК, Активная форма кислорода

АСТ, Аспартатаминотрансфераза

АФС, Активная фармацевтическая субстанция

БАВ, Биологическое активное вещество

БКС, Биофармацевтическая классификационная система

ВВ, Вспомогательное вещество

ГПМЦ, Гидроксипропил метилцеллюлоза

ГФ, Государственная фармакопея

ГФ РФ, Государственная фармакопея Российской Федерации

ИК, Инфракрасный спектр

МКЦ, Микрокристаллическая целлюлоза

ОФС, Официальная фармакопейная статья

ПВП, Поливинилпирролидон

ПВПВА 64, Поливинилпирролидон винилацетат

ПК, Показатель качества

СВ, Связующего вещества

СЭР, Сухой экстракт расторопши

ТДС, Твердая дисперсионная система

УДХК, Урсодезоксихолевая кислота

ФС, Фармакопейная статья

ЭФЛ, Эссенциальные фосфолипиды

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Cheemerla, S. Global Epidemiology of Chronic Liver Disease. Review / S. Cheemerla, M. Balakrishnan // *Clinical Liver Disease*. – 2021. – Vol. 17, – № 5. – P. 365-370.
2. Vargas, N. Hepatoprotective effect of silymarin / N. Vargas, E. Madrigal, Á. Morales [et al.] // *World J Hepatol*. – 2014. – Vol. 16, № 3. – P. 144-149.
3. Оковитый, С. В. Комбинированная гепатопротекторная фармакотерапия заболеваний печени / С. В. Оковитый, К. Л. Райхельсон, В. А. Приходько // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2022. – Т. 7, № 203. – С. 5-20.
4. Hashem, A. Expert Opinion on the Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in the Middle East with a Focus on the Use of Silymarin / A. Hashem, Y. Shastri, M. Al Otaibi [et al.] // *Gastroenterol Insights*. – 2021. – Vol. 12, – P. 155-165.
5. Robles, M. Role of ursodeoxycholic acid in treating and preventing idiosyncratic drug-induced liver injury, a systematic review / M. Robles, L. Nezcic, V. Vujic-Aleksic [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 12, № 744488. – P. 1-13.
6. Simental, M. Effect of ursodeoxycholic acid on liver markers: A systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled clinical trials / M. Simental, A. Sanchez, L. Simental [et al.] // *Br J Clin Pharmacol*. – 2020. – Vol. 86, № 1, – P. 1476-1488.
7. Maqbool, M. Hepatotoxicity and Hepatoprotective agents: A Mini review / M. Maqbool, M. Dar, S. Rasool [et al.] // *PharmaTutor*. – 2019. – Vol. 7, – № 9, – P. 34-40.
8. Liao, J. Acetaminophen-induced liver injury: Molecular mechanism and treatments from natural products/ J. Liao, Q. Lu, Z. Li [et al.]// *Front Pharmacol*. – 2023. – Vol. 14, – № 1122632.
9. Ali, S. Hepatoprotective Activity of Some Medicinal Plants in Sudan / S. Ali, N. Sharief, Y. Mohamed // *Evid Based Complement Alternat Med*. – 2019. – №. 2196315.

10. Costanzo, A. Formulation Strategies for Enhancing the Bioavailability of Silymarin: The State of the Art / A. Di Costanzo, A. Ruggero // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, – №2155.
11. Nair, A. Overview of Extensively Employed Polymeric Carriers in Solid Dispersion Technology / A. Nair, Y. Dani, S. Vullendula [et al.] // *AAPS PharmSciTech*. – 2020. – Vol. 21, – № 30.
12. Tomar, D. Amorphous systems for delivery of nutraceuticals: challenges opportunities / D. Tomar, P. Singh, S. Hoque [et al.] // *Crit Rev Food Sci Nutr*. – 2020. – Vol. 62, – № 5. – P. 1204-1221.
13. Devarbhavil, H. Global burden of liver disease: 2023 update / H. Devarbhavil, S. K. Asrani, J.P. Arab, [et al.] // *Journal of hepatology*. – 2023. – Vol. 2, № 79. – P. 516–537.
14. Sharma, A. Chronic Liver Diseases [Электроник ресурс] // *StatPearls* (FL, США). Режим – доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554597/> (дата обращения: 25.07.2024).
15. Sivakrishnan, S. Liver diseases – an overview / S. Sivakrishnan // *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. – 2019. – Vol. 8, № 1. – P. 1385-1395.
16. Hepatoprotectors for the liver: a list of the best drugs for treatment [Электроник ресурс] // – Режим доступа: <https://medhelpsis.com/es/posts/2954> (Дата обращения: 18.07.2024).
17. Zou, Y. Values-added utilization of protein and hydrolysates from animal processing by-product livers: A review / Y. Zou, F. Shahidi, H. Shi [et al.] // *Trends in Food Science & Technology*. – 2021. – Vol. 110, – P. 432–442.
18. Liao, Y. Animal-derived natural products for hepatocellular carcinoma therapy: current evidence and future perspectives / Y. Liao, F. Wei, Z. He [et al.] // *Front. Pharmacology*. – 2024. – Vol. 15, № 1399882.
19. Sreevallabhan, S. Hepatoprotective effect of essential phospholipids enriched with virgin coconut oil (Phoscoliv) on paracetamol-induced liver toxicity /

Sreevallabhan, R. Mohana, P. Svenia [et al.] // *Journal of Food Biochemistry*. – 2021. – Vol. 45, № 13606.

20. Ivashkin, V.T. Safety and effectiveness of essential phospholipids paste in patients with non-alcoholic fatty liver disease or viral hepatitis / V.T. Ivashkin, I.V. Maev, C. S. Pavlov [et al.] // *Turk J Gastroenterol*. – 2021. – Vol. 32, № 9. – P. 750-757.

21. Lüchtenborg, C. Lipid Profiles of Five Essential Phospholipid Preparations for the Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Comparative Study/ C. Lüchtenborg, B. Niederhaus, B. Brügger// *Lipids*. – 2020. – Vol. 55, – P. 271–278.

22. Dajani, A. Popovic, B. Essential phospholipids for nonalcoholic fatty liver disease associated with metabolic syndrome: A systematic review and network meta-analysis / A. Dajani, B. Popovic // *World Journal of Clinical Cases*. – 2020. – Vol. 8, № 21. – P. 5235-5249.

23. Wupperfeld, D. Essential phospholipids decrease apoptosis and increase membrane transport in human hepatocyte cell lines / D. Wupperfeld, G. Fricker, B. Bois De Fer [et al.] // *Lipids in Health and Disease*. – 2022. – Vol. 21, № 91.

24. Manuc, T. Sylmarin versus essential phospholipids in metabolic associated steatotic liver disease (MASLD) – a prospective comparative randomized trial / T. Manuc, C. Preda, D. Istratescu [et al.] // *Maedica*. – 2024. – Vol. 19, № 1. – P. 9-16.

25. Jiao, T. Bile acid and receptors: biology and drug discovery for nonalcoholic fatty liver disease / T. Jiao, Y. di Ma, X. Guo [et al.] // *Acta Pharmacol Sin*. – 2022. – Vol. 43, – P. 1103-1119.

26. Radun, R. Role of FXR in Bile Acid and Metabolic Homeostasis in NASH: Pathogenetic Concepts and Therapeutic Opportunities / R. Radun, M. Trauner // *Semin Liver Diseases*. – 2021. – Vol. 41, – P. 461-475.

27. Gillard, J. Biological tuners to reshape the bile acid pool for therapeutic purposes in non-alcoholic fatty liver disease / J. Gillard, I. Leclercq // *Journal of Clinical Science*. – 2023. – Vol. 137, – P. 65-85.

28. Nguyen, T. Bile acids – a peek into their history and signaling / T. Nguyen, H. Shaw, Anakk, S. // *Endocrinology*. – 2022. – Vol. 163, № 11.
29. Ugwu, C. Medicinal plants with hepatoprotective potentials against carbon tetrachloride-induced toxicity: a review / C. Ugwu, S. Suru // *Egyptian Liver Journal*. – 2021. – Vol. 11, № 88.
30. Hussain, A. Hepatoprotective effects of various medicinal plants: A systematic review / A. Hussain, B. Quetta, P. Aadil [et al.] // *JPP*. – 2021. – Vol. 10, № 3. – P. 109-121.
31. Saha, P. Role of Natural Phenolics in Hepatoprotection: A Mechanistic Review and Analysis of Regulatory Network of Associated Genes / P. Saha, A. Das Talukdar, R. Nath [et al.] // *Front Pharmacol*. – 2019. – Vol. 10, № 509.
32. Arige, S. A review on hepatoprotective activity/ S. Arige, S. Arige, L. Rao // *International Journal of Current Research*. – 2017. – Vol. 9, – № 6. – P. 51876-51881.
33. Ali, M. Selected hepatoprotective herbal medicines: Evidence from ethnomedicinal applications, animal models, and possible mechanisms of actions / M. Ali, T. Khan, K. Fatima [et al.] // *Phytother Res*. – 2018. – Vol. 32, – C. 199–215.
34. Zhao, H. Peppermint essential oil: its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application / H. Zhao, S. Ren, H. Yang [et al.] // *Biomedicine and pharmacotherapy*. – 2022. – Vol. 154, – № 113559.
35. Ogaly, H. Antifibrogenic Influence of *Mentha piperita* L. Essential Oil against CCl<sub>4</sub>-Induced Liver Fibrosis in Rats / H. Ogaly, N. Eltablawy, R. Abd-Elsalam // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2018. – Vol. 2018, – № 4039753.
36. Bellassoued, K. Protective effects of *Mentha piperita* L. leaf essential oil against CCl<sub>4</sub> induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats/ K. Bellassoued, A. Hsouna, K. Athmouni [et al.]// *Lipids Health Dis*. – 2018. – Vol. 17, – № 1.
37. Doostkam, A. Therapeutic Effects of Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) and Artichoke (*Cynara scolymus* L.) on Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Type 2 Diabetic Rats / A. Doostkam, M. Fathalipour, M. Anbardar [et al.] // *Can J Gastroenterol Hepatol*. – 2022. – Vol. 1, – № 2868904.

38. Colak, E. The hepatocurative effects of *Cynara scolymus* L. leaf extract on carbon tetrachloride-induced oxidative stress and hepatic injury in rats / E. Colak, M. Ustuner, N. Tekin [et al.] // Springerplus. – 2016. – Vol. 5, – № 216.
39. Salem, M. LC-MS/MS Analysis and Hepatoprotective Activity of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Leaves Extract against High Fat Diet-Induced Obesity in Rats / M. Salem, K. Ksouda, R. Dhouibi [et al.] // Biomed Res Int. – 2019. – № 4851279.
40. Stawarczyk, K. Insight into the Way the Content of Biologically Active Compounds in Meadowsweet Inflorescences (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) Is Shaped by Phytosociological Habitats / K. Stawarczyk, A. Chrupek, A. Sękara [et al.] // Molecules. – 2021. – Vol. 26, – № 17:5172.
41. Gainche, M. Xanthine Oxidase Inhibitors from *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. and Their Efficient Detections by HPTLC and HPLC Analyses / M. Gainche, C. Ogeron, I. Ripoché [et al.] // Molecules. – 2021. – Vol. 26, – № 1939.
42. Zhang, H. Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Properties and Chemical Compositions of *Filipendula palmata* (Pall.) Maxim / H. Zhang, G. Li, R. Han [et al.] // Evid Based Complement Alternat Med. – 2021. – Vol. 2021, – № 6659620.
43. Judzentiene, A. Antioxidant and Toxic Activity of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench and *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oils and Extracts / A. Judzentiene, J. Budiene, I. Nedveckyte [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27, – № 1311.
44. Sawilska, A. The content of flavonoids and polyphenolic acids in inflorescences of Sandy Everlasting [*Helichrysum arenarium* (L.) Moench] from natural stands and plantations / A. Sawilska, S. Mielcarek // Herba Polonica. – 2009. – Vol. 55, – № 3. – С 118-126.
45. Pljevljakušić, D. Sandy Everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): Botanical, Chemical and Biological Properties / D. Pljevljakušić, D. Bigović, T. Janković [et al.] // Front Plant Sci. - 2018. – Vol. 9, – № 1123.
46. Николаев, СМ. Многокомпонентные лекарственные препараты: преимущества их применения в клинической практике / С.М. Николаев, Л.Н.

Шантанова, В.Б. Хобракова, и другие // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т.24, – № 2. – С. 3-8.

47. Гепатопротекторы [Электронный ресурс] // Регистр лекарственных средств России. РЛС. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/pharm-groups/geratorprotektory-197>. (Дата обращения: 30.01.2025).

48. Гепатопротекторы в комбинациях [Электронный ресурс] // Регистр лекарственных средств России. РЛС. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/pharm-groups/geratorprotektory-v-kombinaciyax-222>. (Дата обращения: 30.01.2025).

49. Bathe your Liver in Milk (Thistle) [Электронный ресурс] // Simply Hijama. – Режим доступа: <https://simplyhijama.wildapricot.org/page-18125/6691489> (Дата обращения: 30.07.2024).

50. Gillessen, A. Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review / A. Gillessen, H. Schmidt // *Adv Ther.* – 2020. – Vol. 37, – С. 1279-1301.

51. Farghali, H. Hepatoprotective properties of extensively studied medicinal plant active constituents: Possible common mechanisms / H. Farghali, N. Canová, S. Zakhari // *Pharm Biol.* – 2015. – Vol. 53, – № 6. – P. 781-791.

52. Гепатопротекторы : Руководство для врачей / С. В. Оковитый, В. А. Приходько, Н. Н. Безбородкина, Б. Н. Кудрявцев. – II издание, переработанное и дополненное. – Москва : Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2022. – 240 с.

53. Royal Botanic Garden. Plants of the world online.] Milk thistle. [Электронный ресурс] // Royal Botanic Garden. Plants of the world online. Режим доступа: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:249211-1> (Дата обращения: 22.03.2025).

54. Aghemo, A. Role of silymarin as antioxidant in clinical management of chronic liver diseases: a narrative review / A. Aghemo, O. Alekseeva, F. Angelico [et al.] // *Ann Med.* – 2022. – Vol. 54, – № 1. – P. 1548–1560.

55. Wang, X. Health Benefits of *Silybum marianum*: Phytochemistry, Pharmacology, and Applications / X. Wang, Z. Zhang, S. Wu // *J. Agric. Food Chem.* – 2020. – Vol. 68, – № 42. – P. 11644-11664.
56. Шульпекова, Ю.О. Препараты на основе расторопши экстракта сухого в лечении болезней печени / Ю.О. Шульпекова // *Русский медицинский журнал.* – 2012. – Т. 20, – № 34. – С. 1648-1652.
57. Чубарова, А.С. Содержание флаволигнанов в плодах расторопши пятнистой (*silybum marianum* L.) Различных хеморас / А.С. Чубарова, М. А. Капустин, Е. В Спиридович и другие // *Вестник фармации.* – 2012. – Т. 4, – № 58.
58. Дурдыев, Т. Инновационный метод получения сухого экстракта из семян расторопши пятнистой/ Т. Дурдыев, Б. Данатаров, А. Акмырадов и другие // *International Journal of Humanities and Natural Sciences.* – 2024. – Т. 10, – № 97. – С. 25-31.
59. Рамазанов, Р.А. Химический состав плодов и масла расторопши пятнистой, произрастающей на территории Республики Дагестан / Р.А. Рамазанов, Ш.А. Балаева, К.Ш. Шахбанов // *Химия растительного сырья.* – 2019. –№ 20.– С. 113–118.
60. Silymarin. [Электронный ресурс] // PubChem. – Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5213>. (Дата обращения: 22.07.2024560)
61. Bijak, M. Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.) – Chemistry, Bioavailability, and Metabolism / M. Bijak // *Molecules.* – 2017. – Vol. 22, – № 1942.
62. Biochemical profile of milk thistle 53 Aziz, M. Biochemical profile of milk thistle (*Silybum Marianum* L.) with special reference to silymarin content / M. Aziz, F. Saeed, N. Ahmad [et. al.] // *Food Sci Nutr.* – 2020. – Vol. 9,– №1. – P. 244-250.
63. Chen, Q. Effectiveness of Prophylactic Use of Hepatoprotectants for Tuberculosis Drug-Induced Liver Injury: A Population-Based Cohort Analysis Involving 6,743 Chinese Patients / Q. Chen, A. Hu, A. Ma [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 13, – № 813682.

64. Girish, C. Hepatoprotective activities of picroliv, curcumin, and ellagic acid compared to silymarin on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in mice / C. Girish, S. Pradhan // *J Pharmacol Pharmacother.* – 2012. – Vol. 3, – № 2. – P. 149-155.
65. Torres, L. In vitro assessment of hepatoprotective agents against damage induced by acetaminophen and CCl<sub>4</sub> / L. Torres, N. Waksman, L. Muñoz [et al.] // *BMC Complement Altern Med.* – 2017. – Vol. 17, – № 39.
66. Yang, L. Silibinin improves nonalcoholic fatty liver by regulating the expression of miR 122: An in vitro and in vivo study / L. Yang, L. Qianqian, Z. He [et al.] // *Mol Med Rep.* – 2021. – Vol. 23, – № 335.
67. Ou, Q. Silybin Alleviates Hepatic Steatosis and Fibrosis in NASH Mice by Inhibiting Oxidative Stress and Involvement with the Nf κB Pathway / Q. Ou, Y. Weng, S. Wang [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2021. – Vol. 63, – № 12, – P. 3398-3408.
68. Domitrovic, R. A comprehensive overview of hepatoprotective natural compounds: mechanism of action and clinical perspectives / R. Domitrovic, I. Potocnjak // *Arch Toxicol.* – 2016. – Vol. 90, – № 1. – P. 39-79.
69. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания. Экстракты. [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-1-lekarstvennyye-formy/ekstrakty/> (дата обращения: 02.08.2024).
70. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. Расторопша пятнистая плоды – *silybi mariani fructus*. [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.ru/fs-2-5-0035-15-rastoropshi-pyatnistoj-plody/> (Дата обращения: 27.07.2024).
71. Samineni, R. Emerging Role of Biopharmaceutical Classification and Biopharmaceutical Drug Disposition System in Dosage form Development: A Systematic Review / R. Samineni, J. Chimakurthy, S. Konidala // *Turk J Pharm Sci.* – 2022. – Vol. 19, – № 6. – P. 706-713.
72. База данных по классам БКС [Электронный ресурс] // [fptl.ru](http://www.fptl.ru) – Режим доступа: <http://www.fptl.ru/index.html> (дата обращения: 15.12.2023).

73. Christodoulou, E. Serum and tissue pharmacokinetics of silibinin after per-OS and I.V. administration to mice as a HP- $\beta$ -CD lyophilized product / E. Christodoulou, I. Kechagia, S. Tzimas[et al.] // *Int J Pharm.* – 2015. – Vol. 30, – № 493. – P. 366-373.
74. Safarpour, S. The protective effects of silymarin nanoemulsion on 5-fluorouracil induced gastrointestinal toxicity in rats / S. Safarpour, S. Safarpour, A. Moghadamnia [et al.] // *Saudi Pharm J.* – 2023. – Vol. 3, – № 101672.
75. Савельева, Е. И. Современные технологии модифицированного высвобождения биологически активных веществ в фармацевтической разработке / Е. И. Савельева // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 56-66.
76. Гулякин, И. Д. Основные методы повышения растворимости гидрофобных и труднорастворимых веществ / И. Д. Гулякин, Л. Л. Николаева, Н. А. Оборотова [и другие] // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* – 2016. – Т. 2, №15. – С. 52-59.
77. Блынская, Е. В. Способы улучшения растворимости труднорастворимых фармацевтических субстанций / Е. В. Блынская, Д. В. Юдина, К. В. Алексеев, А. И. Марахова // *Фармация.* – 2017. – Т. 66, № 6. – С. 15-19.
78. Алексеев, К. В. Технология повышения биологической и фармацевтической доступности лекарственных веществ / К. В. Алексеев, Н. В. Тихонова, Е. В. Блынская [и другие] // *Вестник новых медицинских технологий.* – 2012. – Т. 19, № 4. – С. 43-47.
79. Sherikar, A. Preparation and Evaluation of Silymarin-Loaded Solid Eutectic for Enhanced Anti-Inflammatory, Hepatoprotective Effect: In Vitro–In Vivo Prospect / A. Sherikar, M. Siddique, M. More [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2021, – № 1818538.
80. Chang, L. Silymarin in liposome and ethosome on pharmacokinetics and tissue distribution in free-moving rats by HPLC-MS/MS / L. Chang, M. Hou, Tsai, T // *J Agric Food Chem.* – 2014. – Vol. 62,– № 48. – P. 11657-11665.

81. Ding, Y. Preclinical validation of silibinin/albumin nanoparticles as an applicable system against acute liver injury / Y. Ding, S. Zhang, Z. Sun [et al.] // *Acta Biomater.* – 2022. – Vol. 146, – P. 385–395.
82. Takke, A. Nanotherapeutic silibinin: An insight of phytomedicine in healthcare reformation / A. Takke, P. Shende // *Nanomedicine.* – 2019. – Vol. 21, – № 102057.
83. Aryan, H. Evaluation of the efficacy of oral nano-silymarin formulation in hospitalized patients with COVID-19: A double-blind placebo-controlled clinical trial / H. Aryan, R. Farahani, M. Chamanara [et al.] // *Phytotherapy Research.* – 2022. – Vol. 36, – P. 3924–3931.
84. Yin, L. In vitro and in vivo studies on a novel solid dispersion of repaglinide using polyvinylpyrrolidone as the carrier / L. Yin, S. Huang, C. Zhu [et al.] // *Drug Dev Ind Pharm.* – 2012. – Vol. 38, – № 11. – P. 1371-1380.
85. Лугэнь, Б. Разработка состава липосомальной лекарственной формы гидрофобного производного индолокарбазола / Б. Лугэнь, М. В. Дмитриева, О. Л. Орлова [и другие] // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* – 2020. – Т. 9, №3. – С. 21-26.
86. Krishnaiah, Y. Pharmaceutical Technologies for Enhancing Oral Bioavailability of Poorly Soluble Drugs / Y. Krishnaiah // *J Bioequiv Availab.* – 2010. – Vol. 2, – № 2. – P. 28-36.
87. Zhang, X. Pharmaceutical Dispersion Techniques for Dissolution and Bioavailability Enhancement of Poorly Water-Soluble Drugs / X. Zhang, H. Xing, Y. Zhao [et al.] // *Pharmaceutics.* – 2018. – Vol. 10, – № 74.
88. Теслев, А. А. К вопросу применения твердых дисперсных систем для улучшения биофармацевтических характеристик лекарственных средств / А. А. Теслев // *Фармацевтические технологии и упаковка.* – 2014. – № 2. С. 18-21.
89. Tran, P. Overview of the Manufacturing Methods of Solid Dispersion Technology for Improving the Solubility of Poorly Water-Soluble Drugs and Application to Anticancer Drugs / P. Tran, Y. Pyo, D. Kim [et al.] // *Pharmaceutics.* – 2019. – Vol. 11, – № 132.

90. Alshehri, S. Potential of solid dispersions to enhance solubility, bioavailability, and therapeutic efficacy of poorly water-soluble drugs: newer formulation techniques, current marketed scenario and patents / S. Alshehri, S. Imam, A. Hussain [et al.] // *Drug Deliv.* – 2020. – Vol. 27, – № 1. – P. 1625-1643.
91. Полковникова, Ю. А. Перспективы разработки твёрдых дисперсных систем антибиотиков: Обзор предметного поля / Ю. А. Полковникова, О. С. Гущина // *Health, Food & Biotechnology.* – 2021. – Т. 4, № 1. – С. 24-33.
92. Kim, D. Recent Technologies for Amorphization of Poorly Water-Soluble Drugs / D. Kim, Y. Kim, Y. Tin [et al.] // *Pharmaceutics.* – 2021. – Vol. 13, – № 1318.
93. Yousaf, A. Silymarin-laden PVP-PEG polymeric composite for enhanced aqueous solubility and dissolution rate: Preparation and in vitro characterization / A. Yousaf, U. Malik, Y. Shahzad [et al.] // *J Pharm Anal.* – 2019. – Vol. 9, – P. 34-39.
94. Hwang, D. A novel solid dispersion system for natural product-loaded medicine: silymarin-loaded solid dispersion with enhanced oral bioavailability and hepatoprotective activity / D. Hwang, Y. Kim, K. Cho [et al.] // *J Microencapsul.* – 2014. – Vol. 31, – № 7. – P. 619-626.
95. Терентьева, О. А. Современные подходы к повышению биологической доступности малорастворимых лекарственных средств / О. А. Терентьева, А. А. Теслев, А. А. Логинов // *Sciences of Europe.* – 2016. – Т. 7, №7. – С. 27–31.
96. Baghel, S. Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs / S. Baghel, H. Cathcart, O. Niall // *J Pharm Sci.* – 2016. – Vol. 105, – № 9. – P. 2527-2544.
97. Bhalani, D. Bioavailability Enhancement Techniques for Poorly Aqueous Soluble Drugs and Therapeutics / D. Bhalani, B. Nutan, A. Kumar [et al.] // *Biomedicines.* – 2022. – Vol. 10, – № 2055.
98. Смехова, И. Е. Дезинтегранты и их влияние на растворение субстанций разных классов по биофармацевтической классификационной системе / И. Е.

Смехова, В. А. Вайнштейн, Ю. М. Ладутько [и другие] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – Т. 4, № 25. – С. 62-72.

99. Meng, F. Classification of solid dispersions: correlation to (i) stability and solubility (ii) preparation and characterization techniques / F. Meng, U. Gala, H. Chauhan // *Drug Dev Ind Pharm.* – 2015. – Vol. 41, – № 9. – P. 1401-1415.

100. Weerapol, Y. Improved dissolution of *Kaempferia parviflora* extract for oral administration by preparing solid dispersion via solvent evaporation / Y. Weerapol, S. Tubtimsri, C. Jansakul [et al.] // *Asian J Pharm Sci.* – 2017. – Vol. 12, – № 2. – P. 124-133.

101. Vioglio, P. Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges / P. Vioglio, M. Chierotti, R. Gobetto // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2017. – Vol. 1, – № 117. – P. 86-110.

102. Healy, A. Pharmaceutical Solvates, Hydrates and Amorphous Forms / A. Healy, Z. Worku, D. Kumar [et al.] // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2017. – Vol. 1, – № 117. P. 25-46

103. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания. Гранулы. [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-1-lekarstvennyye-formy/granuly/> (Дата обращения: 10.03.2025).

104. Vadaga, A. Comprehensive review on modern techniques of granulation in pharmaceutical solid dosage forms / A. Vadaga, S. Gudla, G. Kumar [et al.] // *Intelligent Pharmacy.* – 2024. – Vol. 2, – P. 609-629.

105. Shanmugam, S. Granulation techniques and technologies: recent progresses / S. Shanmugam // *BioImpacts.* – 2015. – Vol. 5, – №1. – P. 55-63.

106. Shahidulla, S. Granulation techniques: an overview / S. Shahidulla, A. Hafsa, A. Azeez // *WJPPS.* – 2019. – Vol.8, – №5. – P. 525-546.

107. Shinde, N. Recent advances in granulation techniques / N. Shinde, N. Aloorkar, A. Kulkarni [et al.] // *Asian J. Res. Pharm. Sci.* – 2014. – Vol. 4, – №1. – P. 38-47.

108. Бркич, Г.Э. Технология влажного гранулирования в промышленной фармации / Г.Э. Бркич // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2022. – Т. 24, – №5. – С. 24-28.
109. Jannat, E. Granulation techniques & its updated modules / E. Jannat, A. Arif, M. Has [ et al.] // ТРИЈ. – 2016. – Vol. 5, – №10. – Р. 134-141.
110. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания. Капсулы. [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-1-lekarstvennye-formy/kapsuly/> (Дата обращения: 10.02.2025).
111. Оборудование для наполнения капсул в коммерческих масштабах [Электронный ресурс] // Capsugel. – Режим доступа: <https://www.capsugel.ru/ihc/commercial-scale-capsule-filling-machine-ultra-iii> (дата обращения: 25.11.2023).
112. Могилюк, В. Твердые лекарственные формы: капсулы / В. Могилюк // Фармацевтическая отрасль. – 2015. – Т. 50, № 3. – С. 32-37.
113. Fu, M. Enteric hard capsules for targeting the small intestine: positive correlation between in vitro disintegration and dissolution times / M. Fu, J. Al-Gousous, J. Blechar [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2020. – Vol. 12, – №123.
114. Gullapalli, R. Gelatin and non-gelatin capsule dosage forms / R. Gullapalli, C. Mazzitelli [et al.] // *JPharmSci*. – 2017. – Vol. 106, – №6. – Р. 1453-1465.
115. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Потеря в массе при высушивании [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/poterya-v-masse-pri-vysushivanii/> (дата обращения: 12.01.2025).
116. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Насыпная плотность и плотность после уплотнения [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/nasypnaya-plotnost-i-plotnost-posle-uplotneniya/> (дата обращения: 12.01.2025).

117. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Сыпучесть порошков [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/sypuchest-poroshkov/> (дата обращения: 12.01.2025).
118. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Определение гигроскопичности [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/opredelenie-gigroskopichnosti/> (дата обращения: 12.01.2025).
119. Краснюк, И.И. Влияние твердых дисперсий на растворимость метронидазола / И.И. Краснюк, С.Р. Нарышкин, И.И. Краснюк [и другие] // Фармация и фармакология. – 2021. – Т.9, – №3. – С.195-204.
120. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. Буферные растворы [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-3/bufernye-rastvory/> (дата обращения: 18.05.2024).
121. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения: 18.05.2023).
122. Государственная Фармакопея США. [Электронный ресурс] // United States Pharmacopoeia 44th Edition. – Режим доступа: <https://www.webofpharma.com/2023/05/usp-2023pdf-united-state-pharmacopoeia.html> (дата обращения: 15.01.2025).
123. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. Ситовой анализ [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/sitovoy-analiz/> (дата обращения: 18.05.2024).

124. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. Распадаемость твёрдых лекарственных форм [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/raspadaemost-tvyerdykh-lekarstvennykh-form/> (дата обращения: 18.08.2024).
125. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. Однородность массы дозированных лекарственных форм [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/odnorodnost-massy-dozirovannykh-lekarstvennykh-form/> (дата обращения: 03.12.2024).
126. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. Растворение для твёрдых дозированных лекарственных форм [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/rastvorenie-dlya-tvyerdykh-dozirovannykh-lekarstvennykh-form/> (дата обращения: 16.01.2025).
127. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Статистическая обработка результатов химического эксперимента [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/statisticheskaya-obrabotka-rezultatov-fizicheskikh-fiziko-khimicheskikh-i-khimicheskikh-isyptaniy/> (дата обращения: 12.01.2024).
128. Куркин, В.А. Способ получения экстракта расторопши пятнистой. Патент РФ на изобретение № RU 2102999. 27.01.1998/ В.А., Куркин, А.А. Лебедев, Е.В. Авдеева и другие// – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/RU2102999C1/ru>. (дата обращения: 12.10.2023).
129. Saleh, I. Ultrasonic-Assisted Extraction and Conventional Extraction of Silymarin from Silybum marianum seeds / I. Saleh, M. Vinatoru, T. Mason [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical. – 2015. – Vol. 6, – № 2. – P. 709-717.

130. Гусев, К.А. Разработка состава и технологии получения твердой дисперсной системы методом экструзии горячего расплава для повышения биодоступности действующего вещества / К.А. Гусев, Д.Н. Маймистов, В.И. Павловский [и другие] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т. 11, – №4. – С. 108–115.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1. Таблица 1. Результаты изучения стабильности сухого экстракта расторопши плодов

| № серии | Срок хранения, мес. | Описание   | Подлинность   | Потеря в массе при высушивании, % | Количественное содержание                                 | Остаточные органические растворители, ppm               | Микробиол. чистота |
|---------|---------------------|--|---|-----------------------------------|---|---|--------------------|
|         |                     | Аморфный порошок от серовато-желтого до светло-коричневого цвета без характерного запаха | УФ-спектр раствора в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны 288 ±3 нм. | Не более 5,0%                     | Суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, не менее 65 % | В соответствии с требованиями ОФС.1.1.0008 не более 290 | Категория 3Б       |
| 110123  | 0                   | Соответствует  | Соответствует   | 1,0 ±0,1                          | 79,2 ±4,0   | 1,3   | Соответствует      |
|         | 3                   | Соответствует  | Соответствует   | 1,2 ±0,1                          | 79,2 ±4,0   | 1,2   | Соответствует      |
|         | 6                   | Соответствует  | Соответствует   | 1,3 ±0,1                          | 78,4 ±3,9   | 1,3   | Соответствует      |
|         | 9                   | Соответствует  | Соответствует   | 1,6 ±0,1                          | 79,2 ±4,0   | 1,1   | Соответствует      |
|         | 12                  | Соответствует  | Соответствует   | 1,6 ±0,1                          | 79,1 ±4,0   | 1,2   | Соответствует      |
|         | 18                  | Соответствует  | Соответствует   | 1,7 ±0,1                          | 79,3 ±4,0   | 1,3   | Соответствует      |
|         | 24                  | Соответствует  | Соответствует   | 1,7 ±0,1                          | 78,6 ±3,9   | 1,3   | Соответствует      |

|        |    |               |               |               |                |     |               |
|--------|----|---------------|---------------|---------------|----------------|-----|---------------|
|        | 30 | Соответствует | Соответствует | $1,7 \pm 0,1$ | $78,2 \pm 3,9$ | 1,3 | Соответствует |
| 120123 | 0  | Соответствует | Соответствует | $3,1 \pm 0,2$ | $79,2 \pm 4,0$ | 1,9 | Соответствует |
|        | 3  | Соответствует | Соответствует | $3,2 \pm 0,2$ | $79,2 \pm 4,0$ | 2,0 | Соответствует |
|        | 6  | Соответствует | Соответствует | $3,4 \pm 0,2$ | $78,4 \pm 3,9$ | 1,9 | Соответствует |
|        | 9  | Соответствует | Соответствует | $3,3 \pm 0,2$ | $79,2 \pm 4,0$ | 2,1 | Соответствует |
|        | 12 | Соответствует | Соответствует | $3,6 \pm 0,2$ | $79,1 \pm 4,0$ | 2,2 | Соответствует |
|        | 18 | Соответствует | Соответствует | $3,7 \pm 0,2$ | $79,3 \pm 4,0$ | 2,0 | Соответствует |
|        | 24 | Соответствует | Соответствует | $3,7 \pm 0,2$ | $78,6 \pm 3,9$ | 2,3 | Соответствует |
|        | 30 | Соответствует | Соответствует | $3,7 \pm 0,2$ | $78,2 \pm 3,9$ | 2,1 | Соответствует |
| 130123 | 0  | Соответствует | Соответствует | $4,1 \pm 0,2$ | $79,2 \pm 4,0$ | 3,1 | Соответствует |
|        | 3  | Соответствует | Соответствует | $4,2 \pm 0,2$ | $78,4 \pm 3,9$ | 3,4 | Соответствует |
|        | 6  | Соответствует | Соответствует | $4,3 \pm 0,2$ | $79,2 \pm 4,0$ | 3,5 | Соответствует |
|        | 9  | Соответствует | Соответствует | $4,2 \pm 0,2$ | $79,1 \pm 4,0$ | 3,4 | Соответствует |
|        | 12 | Соответствует | Соответствует | $4,4 \pm 0,2$ | $79,3 \pm 4,0$ | 3,3 | Соответствует |
|        | 18 | Соответствует | Соответствует | $4,4 \pm 0,2$ | $78,6 \pm 3,9$ | 3,5 | Соответствует |
|        | 24 | Соответствует | Соответствует | $4,5 \pm 0,2$ | $78,5 \pm 3,9$ | 3,7 | Соответствует |
|        | 30 | Соответствует | Соответствует | $4,4 \pm 0,2$ | $78,6 \pm 3,9$ | 3,5 | Соответствует |

Приложение 2. Таблица 2. Результаты изучения стабильности капсул с ТДС СЭР и УДХК

| № серии | Срок хранения, мес. | Описание  | Подлинность   |  | Растворение  | Количественное содержание             |                                    | Однородность массы дозированных лекарственных форм, %  | Микробиол. чистота |
|---------|---------------------|---|---|--|--|---------------------------------------|------------------------------------|--|--------------------|
|         |                     | Одноцветные голубые капсулы цилиндрической формы размер «2» с гранулами светло-желтого цвета внутри | ТДС СЭР<br>УФ-спектр испытуемого раствора в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны 288 ±3 нм | УДХК<br>На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживаются характерный пик | В буферной среде рН 6,8 должно высвободиться не менее 75 +5% ДВ через 45 мин | ТДС СЭР<br>От 171 до 189 мг в капсуле | УДХК<br>От 124 до 136 мг в капсуле | В соответствии с требованиями ОФС для капсул, средней массы более 300мг допустимое отклонение 7,5% | Категория 3А       |
| 100924  | 0                   | Соответствует   | Соответствует   | Соответствует  | 181,5  | 130,4                                 | 5,4 ±0,3                           | Соответствует  |                    |
|         | 3                   | Соответствует   | Соответствует   | Соответствует  | 181,7  | 130,1                                 | 5,4 ±0,3                           | Соответствует  |                    |
|         | 6                   | Соответствует   | Соответствует   | Соответствует  | 181,5  | 130,7                                 | 5,2 ±0,3                           | Соответствует  |                    |
| 110924  | 0                   | Соответствует   | Соответствует   | Соответствует  | 179,7  | 128,5                                 | 4,8 ±0,2                           | Соответствует  |                    |
|         | 3                   | Соответствует   | Соответствует   | Соответствует  | 179,8  | 128,9                                 | 4,9 ±0,2                           | Соответствует  |                    |

|        |   |               |               |               |       |       |          |               |
|--------|---|---------------|---------------|---------------|-------|-------|----------|---------------|
|        | 6 | Соответствует | Соответствует | Соответствует | 179,8 | 128,9 | 4,9 ±0,2 | Соответствует |
| 120924 | 0 | Соответствует | Соответствует | Соответствует | 183,6 | 131,5 | 5,9 ±0,3 | Соответствует |
|        | 3 | Соответствует | Соответствует | Соответствует | 183,9 | 131,4 | 5,7 ±0,3 | Соответствует |
|        | 6 | Соответствует | Соответствует | Соответствует | 183,2 | 131,6 | 5,8 ±0,3 | Соответствует |

## Приложение 3. Акт внедрения

УТВЕРЖДАЮ  
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ  
Минздрава России,  
д.фарм.н., профессор



И.А. Наркевич

« 25 » 2025г.

**Акт внедрения  
результатов научно-практической работы  
в научно-исследовательский процесс**

Комиссия в составе:

|                   |  |                                |
|-------------------|--|--------------------------------|
| Председателя      | проректора по научной работе,<br>доктора фармацевтических наук,<br>профессора  | Е.В. Флисюк                    |
| и членов комиссии | и.о. директора департамента науки<br>и подготовки научно-педагогических<br>кадров, кандидата фармацевтических<br>наук<br>заведующего аспирантурой,<br>кандидата технических наук | К.О. Сидорова<br>Н.Е. Шашкиной |

назначенная приказом ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России от «06» марта 2025 г. № 100, составила акт о нижеследующем:

Результаты диссертационной работы Перес Гусман Баирон Альберто на тему «Разработка состава и технологии комбинированного препарата гепатотропной терапии», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, а именно: «Разработка ТДС сухого экстракта расторопши пятнистой плодов», использованы в научно-исследовательской деятельности кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов им. Ю.К. Сандера ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках выполнения темы «Иновационные технологии в разработке фитопрепаратов».

|                |  |                              |
|----------------|--|------------------------------|
| Председатель   | проректор по научной работе,<br>доктор фармацевтических наук,<br>профессор   | Е.В. Флисюк                  |
| члены комиссии | и.о. директора департамента<br>науки и подготовки<br>научно-педагогических кадров,<br>кандидат фармацевтических<br>наук<br>заведующий аспирантурой,<br>кандидат технических наук | К.О. Сидоров<br>Н.Е. Шашкина |

## Приложение 4. Акт внедрения

«УТВЕРЖДАЮ»  
И. о. директора института фармации, химии  
и биологии НИУ «БелГУ» Т.Н.Глубшева  
*6.03.2025* 2025 г.

**АКТ О ВНЕДРЕНИИ**

результатов диссертационной работы на тему «Разработка состава и технологии комбинированного препарата гепатотропной терапии» аспиранта Перес Гусман Баирон Альберто в учебный процесс кафедры фармацевтической технологии института фармации, химии и биологии НИУ «БелГУ»

- 1. Наименование предложения для внедрения:** Фрагмент диссертационной работы «Технология получения твердой дисперсии сухого экстракта расторопши пятнистой».
- 2. Кем предложено, адрес, исполнители:** Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России), 197022, г. Санкт-Петербург, вн. тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14 литера А. Перес Гусман Баирон Альберто.
- 3. Цель внедрения:** внедрение методики получения твердых дисперсий сухих экстрактов в учебный процесс дисциплин «Технология фитопрепаратов» и «Технология твердых лекарственных форм» для магистрантов 2 курса направления подготовки 18.04.01. Химическая технология, программа «Промышленная технология лекарств» и «Фармацевтическая технология. Промышленное производство» обучающихся по специальности 33.05.01. Фармация. кафедры фармацевтической технологии института фармации, химии и биологии НИУ «БелГУ»
- 4. Кем и где апробировано:** Фадеевой Д.А., доцентом кафедры фармацевтической технологии и Автиной Н.В. доцентом кафедры фармацевтической технологии института фармации, химии и биологии НИУ «БелГУ»; 308015, г. Белгород ул. Победы 85, к. 17.
- 5. Результаты внедрения:** результаты внедрения методики включены в учебно-методическое пособие «Технология фитопрепаратов»
- 6. Эффективность внедрения:** результаты апробации внедряемой методики получения ТД сухого экстракта расторопши пятнистой показали ее практическую значимость.
- 7. Замечания и предложения:** отсутствуют.

**Ответственный за внедрение:**

Зав. кафедрой фармацевтической технологии,  
фарм.н. профессор

личную подпись  
удостоверить  
Специальный отдел  
кадрового обеспечения  
Управления  
организационного и  
кадрового обеспечения

*Е.Т. Жиликова*  
06.03.2025

Е.Т. Жиликова