

На правах рукописи

ВЕСЕЛОВА ДАРЬЯ ВАЛЕРЬЕВНА

**РАЗРАБОТКА РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩЕЙ ТЕХНОЛОГИИ ЛИПЫ
СЕРДЦЕВИДНОЙ ЦВЕТКОВ ЭКСТРАКТА ЖИДКОГО И
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ЕГО ОСНОВЕ**

14.04.01 – технология получения лекарств

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2020

Диссертационная работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор

Степанова Элеонора Федоровна

Официальные оппоненты:

Федосеева Людмила Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармации, профессор кафедры;

Джавахань Марина Аркадьевна – доктор фармацевтических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», экспериментально-технологический отдел, главный научный сотрудник.

Ведущая организация:

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

Защита диссертации состоится «24» марта 2020 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2, тел. (342) 233-55-01).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46) и на сайте (<http://www.pfa.ru>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 года

Ученый секретарь диссертационного совета Д 208.068.02,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время вопросы расширения возможностей использования отечественного лекарственного растительного сырья, отличающегося эффективностью и безопасностью, являются основным стратегическим направлением развития фармацевтической отрасли Российской Федерации согласно «Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года» и «Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года». При этом, важное значение при получении фитопрепаратов имеет разработка ресурсосберегающей технологии, которая способствует повышению качества и экономической эффективности готовой продукции.

Среди многочисленных растительных объектов обращает на себя внимание липа сердцевидная, имеющая большой опыт использования в народной медицине, благодаря своему широкому фармакологическому диапазону, и в тоже время на современном фармацевтическом рынке практически отсутствуют официальные лекарственные средства из этого распространенного отечественного сырья. Одними из причин является очень сложный, многопрофильный фитохимический состав, что затрудняет выбор центрального целевого направления использования, а также отсутствие оптимальных технологических, экономически выгодных решений в отношении лекарственных средств из липы сердцевидной и соответственно комфортных лекарственных форм.

Анализ ассортимента лекарственных препаратов, зарегистрированных в Государственном реестре лекарственных средств, выявил, что доля противовоспалительных, иммуностимулирующих, адаптогенных и антиоксидантных ЛС составляет всего 1,32% от общего числа, из них лишь 1/5 приходится на долю лекарственных препаратов растительного происхождения. Применение ЛС на основе фитокомпонентов обусловлено возможностью их длительного приёма за счет сведённого к минимуму побочного действия. В тоже время лекарственные средства растительного происхождения обладают богатым комплексом биологически активных веществ, в частности флавоноидов и антиоксидантов и могут быть использованы при лечении и профилактике инфекционно-воспалительных заболеваний и иммунодефицитных состояний. В фармакотерапевтической группе иммуностимулирующих и иммуномодулирующих средств среди фитопрепаратов зарегистрированных в ГРЛС известны, лишь препараты содержащие экстракт или сок эхинацеи пурпурной, поэтому такая фармакологическая направленность как иммунотропное действие не может считаться в достаточной мере обеспеченной.

Вышеизложенное свидетельствует об актуальности разработки ресурсосберегающей технологии липы сердцевидной цветков экстракта жидкого и скорректированных лекарственных форм на его основе – сиропа и леденцов, которые позволят расширить ассортимент современных иммунотропных и антиоксидантных лекарственных средств на основе фитокомпонентов.

Степень разработанности темы. Особенности химического состава цветков липы сердцевидной и фармакологическая активность их экстракта изучена в работах Дорогойченкова В.Н. (1988), Яковлева А.И. (1987), Медведевой Т.М. (2013), Лобановой А.А., Бурковой Е.А. (2015), Ожимковой Е.В. (2009) и других. Сырьевая база значительна, что подтверждено ресурсными исследованиями (Турова А.Д., 1984,

Лесиовская Е.Е., 2003). Однако при использовании в качестве лекарственного средства цветки липы сердцевидной применяются только для изготовления настоев.

Что касается скорректированных лекарственных форм, то конечно, основополагающие исследования принадлежат Тенцовой А.И. (1968). Конкретно скорректированными лекарственными формами подробно занимались Шевченко А.М., Темирбулатова А.М. (2007), Якусевич Р.В. (2013), Царахова Л.Н. (2007), Сысуев Б.Б. (2001), Саблина О.С. (2013) и др.

Однако, дальнейшие исследования в этом направлении применительно к конкретному объекту – цветкам липы сердцевидной целесообразны и практически значимы. Такие данные свидетельствуют о целесообразности дальнейших научных исследований в этом направлении.

Цель исследования: разработка ресурсосберегающей технологии получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого, его стандартизация, подтверждение фармакологической активности и создание на его основе скорректированных лекарственных форм.

Задачи исследования:

1. разработать технологию получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого с использованием ресурсосберегающего метода;
2. провести определение основных показателей качества экстракта, установить нормы качества, валидировать используемые для него методики;
3. разработать состав, технологию и нормы качества сиропа и леденцов содержащих экстракт цветков липы сердцевидной;
4. разработать и утвердить нормативную документацию: акт технологической апробации на экстракт и сироп липы;
5. провести доклинические исследования для подтверждения иммуностропного и антиоксидантного действия разработанного липы сердцевидной цветков экстракта жидкого.

Научная новизна исследования. Впервые предложен способ получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого методом реперколяции с применением ресурсосберегающей технологии (патент РФ №2684782). Получение скорректированных лекарственных форм на основе экстракта цветков липы сердцевидной – сиропа и леденцов и обоснование их состава также проведено впервые. Разработана технологическая схема производства экстракта, способы качественного и количественного анализа действующих веществ в экстракте и скорректированных лекарственных формах. При проведении доклинических исследований впервые получены данные об иммуностропной активности экстракта цветков липы сердцевидной в отношении функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов. Выполнена стандартизация липы сердцевидной цветков экстракта жидкого.

Теоретическая и практическая значимость работы. Показана возможность составления технологической схемы ресурсосберегающего типа для цветков липы сердцевидной, содержащих флавоноидную группу и обладающих иммуностропным действием. Такая схема может в дальнейшем быть использована для подобных сырьевых объектов. Поэтому возможен выпуск скорректированных лекарственных форм на основе экстракта цветков липы сердцевидной, полученного методом реперколяции, обладающих иммуностропным и антиоксидантным действием в отношении клеток врожденной иммунной системы - нейтрофильных гранулоцитов.

На разработанный экстракт цветков липы сердцевидной жидкий 1:1,8 составлен лабораторный регламент, утвержденный в ПМФИ – филиале ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России от 10.04.2018г. Технологическая апробация экстракта подтверждена актом ООО «Флора Кавказа» от 05.06.2018г., технологическая апробация сиропа липы подтверждена актом ООО «Флора Кавказа» от 27.09.2018г. (Карачаево-Черкесская Республика). Критерии и способы оценки качества разработанного экстракта, а также методики исследования иммунологической активности внедрены в работу центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (акт внедрения от 18.12.2019). Показатели ресурсосберегающей технологии экстракта липы, используются в учебном процессе на кафедре фармации ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (акт внедрения от 18.12.2019) с целью обобщения ресурсосберегающих направлений этой группы биологически активных веществ.

Методология и методы исследований. При проведении диссертационной работы использованы различные методы исследований: технологические, спектрофотометрические, физико-химические, фармакологические (в т.ч. иммунологические) и статистические. Методология работы основывается на концепции фармацевтической разработки требований ГФ Российской Федерации и научных трудах в области фармацевтической технологии.

Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты процесса экстрагирования цветков липы сердцевидной: выбор оптимального экстрагента, метода и условий экстракции;
- результаты выбора оптимальных критериев и методов оценки качества липы сердцевидной цветков экстракта жидкого;
- результаты разработки оптимального состава, технологии и норм качества сиропа с липы сердцевидной цветков экстрактом жидким;
- результаты исследования по разработке оптимального состава, технологии и норм качества леденцов с липы сердцевидной цветков экстрактом жидким;
- данные по исследованию иммунологической и антиоксидантной активности липы сердцевидной цветков экстракта жидкого.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов достигнута благодаря использованию ресурсосберегающих технологических методов и научных подходов, позволяющих получить воспроизводимые и однозначные результаты. Результаты исследования обработаны с использованием современных методов статистической обработки с учетом характера распределения выборки. Основные результаты работы были доложены на научно-практической конференции с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки» (Пермь, 2018); на XXIV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2017); на V, VI, VII Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения» (Пятигорск, 2016, 2017, 2018); IV, V Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, Казахстан, 2016, 2017); на Всероссийской научно-практической конференции «Теоретические и прикладные исследования в области естественных, гуманитарных и технических наук» (Прокопьевск, 2016); на 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2016).

Личный вклад автора заключается в разработке дизайна диссертационного исследования, подборе оптимальных методик и общей концепции научной работы. Автор провел анализ и обобщение источников отечественной и зарубежной литературы, а также патентный поиск проведены автором диссертационной работы. Технологические и биологические исследования проводились автором на кафедре фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Физико-химические исследования осуществлялись на базе кафедры фармацевтической и токсикологической химии биотехнологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, также непосредственно автором диссертации. Выполнение иммунологических исследований, определение острой токсичности проводились автором совместно с научными сотрудниками отдела клинко-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Таким образом, объем личного вклада автора составляет не менее 90%.

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, номер государственной регистрации темы 115081110023.

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 14.04.01 - технология получения лекарств. Результаты данного исследования отвечают пунктам 3, 7 паспорта научной специальности технология получения лекарств.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа представлена на 187 страницах, содержит иллюстративный материал: 62 таблицы, 22 рисунка, состоит из оглавления, списка сокращений, введения, 5 глав, заключения и списка литературы, включающего 181 источник из них 19 - иностранных авторов, а также 5 приложений.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ общим объемом 1,18 печатных листов, в том числе 2 работы (2 статьи) в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, 3 работы (3 статьи), индексируемые в базах цитирования Web of Science, Scopus, 7 работ в материалах региональных, всероссийских и международных конференций, 1 статья, индексируемая в РИНЦ, 1 зарубежная публикация, а также 1 патент.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава 1 Обзор литературы

В обзоре литературы содержатся сведения о применении липы сердцевидной в народной и научной медицине, а также освещено состояние изученности фармакологического действия данного сырьевого объекта. Рассмотрена актуальность создания скорректированных лекарственных форм на базе фитосоставов иммуностропной направленности действия. Обзор литературы по теме исследования обуславливает актуальность скорректированных лекарственных форм на базе экстракта цветков липы.

Глава 2 Объекты и методы исследования

Объекты исследования:

Для проведения диссертационного исследования использовали цветки липы сердцевидной – *Tilia cordata* Mill. (ФС.2.5.0024.15), собранные в фазу активного

цветения в мае – июне 2016 г. в Краснодарском крае и в Ставропольском крае в районе Кавказских Минеральных Вод.

Методы исследования:

Физико-химические исследования

Качественные реакции на содержание флавоноидов в сырье и в липы цветков экстракте жидком проводили по методике ГФ XIII с порошком магния и раствором кислоты хлористоводородной концентрированной (цианидиновая проба). *Количественное содержание флавоноидов в сырье и в липы цветков экстракте жидком* определяли с использованием спектрофотометрического метода при длине волны 415 нм по реакции комплексообразования с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида, вычисление содержания суммы флавоноидов (в %) в абсолютно сухом сырье производили в пересчете на рутин. *Выбор оптимального экстрагента при получении липы цветков экстракта жидкого* проводили согласно ГФ РФ XIII.

Технологические исследования

Определение влажности исходного сырья проводили в соответствии с методикой ГФ РФ XIII и XIV издания. *Определение насыпной массы, коэффициента наполнения сухого и набухшего сырья, коэффициент вытеснения, коэффициента поглощения сырья, образования внутреннего сока, увеличения объема при растворении экстрактивных веществ* производилось согласно способам расчета, применяемому в производстве жидких экстрактов методом реперколяции с законченным циклом.

Микробиологические исследования

Определение микробиологической чистоты готовой лекарственной формы – сиропа, проводили в соответствии с действующей на период проведения исследования нормативной документацией - ГФ XIII ОФС.1.2.4.0002.15. *Количественное определение микроорганизмов в сиропе липы* проводили с помощью чашечного агарового метода с использованием сред для выращивания бактерий и грибковых микроорганизмов, *испытание микробиологической чистоты леденцов с целью определения сроков годности* проводилось в асептических условиях по методике регламентированной ОФС.1.2.4.0002.18 ГФ XIV.

Доклинические и токсикологические исследования

Определение острой токсичности экстракта и сиропа липы проводили на белых лабораторных крысах согласно руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Миронов А.Н., 2012г.). *Оценка реакции фагоцитоза и кислородзависимых механизмов нейтрофилов в NBT-тесте* проводилась по поглотительной способности, завершенности фагоцитоза и переваривающей и микробицидной кислородзависимой функции нейтрофилов (модификация И.В. Нестеровой, 2017 г.). *Определение общей токсичности, антиоксидантного и мембраностабилизирующего действия* выполняли с использованием простейших - *Paramecium caudatum*, при этом оценивали скорость размножения, размер клеток, характер движения инфузорий под действием токсикантов 1% раствора перекиси водорода и 14% спирта этилового (по А.Н. Кудрину, 1997г.).

Глава 3 Разработка технологической схемы и стандартизация липы сердцевидной цветков экстракта жидкого

Определение товароведческих показателей цветков липы сердцевидной

Качество собранных серий сырья определяли по ФС.2.5.0024.15 ГФ РФ XIII (Таблица 1).

Таблица 1 - Соответствие фактических товароведческих показателей сырья с требованиями ГФ РФ

Показатели	Фактические значения, всех изученных серий	Требуемое значение по ГФ XIII ФС. 2.5.0024.15
Влажность сырья, %	5,80 - 6,64	не более 13
Количество экстрактивных веществ, %	8,67 - 24,3	-
Количество флавоноидов, %	0,436 - 0,446	-
Зола общая, %	5,26 - 6,55	не более 10
Зола, нерастворимая в HCl, %	2,0 - 2,28	не более 3

Определение технологических показателей сырья

Определение технологических характеристик цветков липы сердцевидной проводилось для выбора оптимальных условий экстрагирования. В результате исследований пяти различных серий цветков липы определены следующие технологические показатели, в см³/г:

- f (коэффициент наполнения сухого сырья) – 2,72 - 2,91;
- Δ (коэффициент вытеснения сырья) – 1,05 - 1,16;
- φ (коэффициент наполнения набухшего сырья) – 1,78 - 1,89;
- γ (насыпная масса) – 0,250 - 0,260;
- K_п (коэффициент поглощения сырья) – 2,28 - 2,49;
- K (коэффициент образования внутреннего сока) – 1,89 - 1,945;
- Z (коэффициент увеличения объема при растворении экстрактивных веществ) – 0,785 - 0,792.

Выбор оптимального экстрагента при получении липы сердцевидной цветков экстракта жидкого

В ходе исследований проведен подбор экстрагента, обеспечивающего оптимальный выход флавоноидов из цветков липы, как веществ потенциально обладающих иммуностропным и антиоксидантным действием за счет своей небольшой молекулярной массы и невозможностью их вовлечения в реакции гидролитического расщепления, а также обладающих восстановительным потенциалом в реакциях окислительного взрыва при митохондриальном окислении субстрата и в реакциях иммунной защиты.

По полученным данным нами установлено, что оптимальным экстрагентом флавоноидов цветков липы является этиловый спирт с концентрацией 70%, при этом содержание экстрактивных веществ составило 0,439 %.

Выбор оптимального числа диффузоров и соотношения фаз при получении экстракта цветков липы жидкого

Выбор условий и параметров процесса экстрагирования, обеспечивающих максимально возможную эффективность реперколяции в производстве, проводили путем подбора оптимального числа перколяторов и соотношения фаз при сохранении концентрации сухих веществ в экстракте не менее регламентированных в нормативной документации, согласно методике Ю.Г. Пшукова.

Нами было исследовано изменение эффективности экстракции в зависимости от числа диффузоров в батарее (n) и коэффициента распределения веществ между

внутренним и внешним соком (η). Коэффициент распределения веществ между внутренним и внешним соком (η) находили, используя формулу 1.

$$\eta = y/K \quad (1),$$

где y - коэффициент съёма готовой продукции, г/см³; K - коэффициент образования внутреннего сока.

В зависимости от полученных значений η вычисляют значение степени истощения исходного сырья (S , %):

- при η от 0,3333 до 1,0

$$S = 54,425\eta - 2,496 + \frac{\eta \lg n}{0,00711 - 0,001375\eta + 0,017031\eta^2} \quad (2);$$

- при η от 1, до 2,0

$$S = 51,06 + 94,5988 \lg n + \frac{\lg n}{0,025227 - 0,015469\eta + 0,012653\eta^2} \quad (3),$$

где η - коэффициент распределения действующих веществ или соотношение объема внешнего к внутреннему соку; n - число диффузоров.

Значения степени истощения сырья в батарее, характеризующие эффективность процесса экстрагирования приведены в Таблице 2.

Таблица 2 - Зависимость эффективности процесса экстрагирования (S) от числа диффузоров (n) с учетом коэффициента распределения веществ (η)

η	y	S				
		$n=3$	$n=4$	$n=5$	$n=6$	$n=7$
0,524	1,0	48,56	54,48	59,06	62,81	65,99
0,576	1,1	53,79	57,80	62,47	66,28	69,51
0,628	1,2	54,78	60,83	65,53	69,37	72,62
0,681	1,3	57,59	63,64	68,33	72,17	75,41
0,733	1,4	60,28	66,29	70,95	74,76	77,98
0,785	1,5	62,85	68,79	73,39	77,16	80,34
0,838	1,6	65,36	71,21	75,75	79,46	82,59
0,890	1,7	67,80	73,55	78,00	81,64	84,72
0,942	1,8	70,21	75,88	80,20	83,77	86,78
0,995	1,9	72,59	78,09	82,36	85,85	88,80
1,047	2,0	74,95	80,33	84,51	87,92	90,80

Примечание к Таблице 2: η - коэффициент распределения веществ, n - число диффузоров, y - отношение объема готовой продукции к массе сырья, см³/г, S - среднее значение эффективности экстракции, рассчитанное по 5 итерациям эксперимента.

Анализ данных Таблицы 2 позволяет выявить максимальное возрастание эффективности экстракции (S) от 75,40% до 76,32%, которое наблюдается при $n = 4$ и $y=1:1,8$ см³/г. Прирост эффективности экстракции при значениях n от 5 до 7 менее значителен и экономически нецелесообразен, в связи с этим мы остановились на батарее из 4-х диффузоров. Таким образом, предложенная нами ресурсосберегающая технология повышает эффективность экстракционного процесса в 1,57 раза, в отличие от промышленного способа ($n = 3$ и $y = 1,0$).

Содержание сухих веществ в экстракте липы жидком (C , %) рассчитывали по формуле 4 (y от 1,0 до 2,0 и $K=1,945$, $X=18,67\%$).

$$C = \frac{X \cdot S}{100 \cdot y} \quad (4),$$

где S - теоретическая эффективность экстракции, %; y - коэффициент съёма готовой продукции, г/см³; X - содержание экстрактивных веществ в сырье, %.

Сравнительный анализ промышленной (традиционной) технологии с использованием трех диффузоров и при соотношении фаз 1:1,0 и предложенной нами

ресурсосберегающей технологии из сырья с заданным содержанием экстрактивных веществ ($X = 18,67\%$) показал, что содержание сухих веществ в экстракте составило 8,85% и 7,98% соответственно, при этом относительное снижение концентрации сухих веществ в экстракте составляет 9,83% (Таблица 3).

Таблица 3 - Значения концентраций сухих веществ и теоретической эффективности экстракции при соотношения фаз от 1,0 до 2,0

y, см ³ /г	n = 3		n = 4	
	S, %	C, %	S, %	C, %
1,0	47,99	8,85	53,88	10,05
1,1	51,23	8,69	57,24	9,71
1,2	54,19	8,43	60,25	9,37
1,3	56,98	8,18	63,04	9,05
1,4	59,68	7,96	65,70	8,76
1,5	62,22	7,74	68,18	8,48
1,6	64,72	7,55	70,60	8,23
1,7	67,12	7,37	72,90	8,01
1,8	69,48	7,20	75,40	7,98
1,9	71,85	7,06	77,40	7,60
2,0	74,16	6,92	79,58	7,42

Дальнейшее увеличение соотношения фаз до 1:1,9 и 1:2,0 становится нецелесообразным, так как приводит к снижению концентрации сухих веществ в экстракте.

Разработка технологии экстракта липы жидкого

Технологическая схема получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого представлена на Рисунке 1.

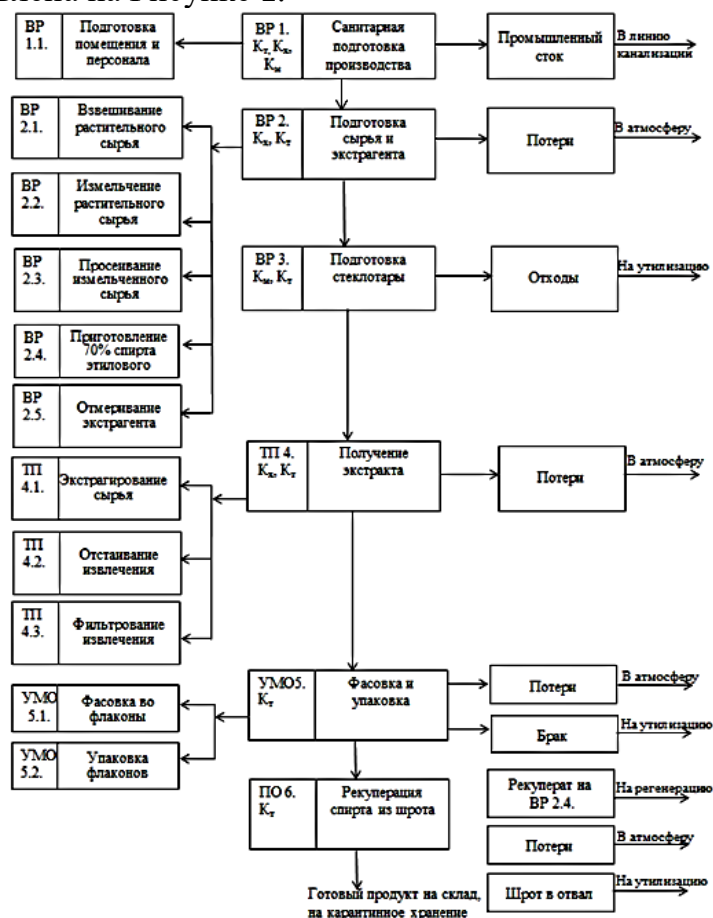


Рисунок 1 - Технологическая схема получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого

Примечание к Рисунку 1: К_т – контроль технологический, К_х – контроль химический, К_м – контроль микробиологический, ВР – вспомогательные работы, ТП – технологический процесс, ПО – переработка отходов, УМО – упаковка, маркировка и отгрузка готового продукта

Получение экстракта липы жидкого проводили противоточным экстрагированием в батарее из 4-х диффузоров. Противоток создавался при встрече извлечения с высокой концентрацией экстрактивных веществ со свежим сырьем. После прохождения сырья четырех диффузоров проводился отбор продукции из диффузора №4, а остальные исключали из работы. На каждой ступени технологического процесса экспозиция составляла 8 и 16 часов, общая продолжительность процесса экстрагирования - 96 часов.

Полученный по данной схеме липы сердцевидной цветков экстракт жидкий перемешивали и оставляли отстаиваться на 48 часов при t 8–10°C для осаждения балластных веществ и последующей фильтрации. Упаковывали во флаконы темного стекла объёмом 25,0 мл закупоренные полиэтиленовыми пробками и навинчивающимися пластмассовыми крышками

Расчет фактической эффективности экстрагирования

Фактическую эффективность и относительную эффективность экстрагирования (S_ф, S_о) рассчитывали по формулам 5-7 в процентах и по массе соответственно:

$$S_{\phi} = \frac{100 MC}{G X} \quad (5); S_{\phi} = \frac{100 M \lambda}{G \beta} \quad (6), S_o = \frac{S_{\phi}}{S} \quad (7)$$

где S_ф - фактическая эффективность экстрагирования, %; С - содержание сухих веществ в экстракте, %; G - масса сырья, г; X - содержание экстрактивных веществ в сырье, %; λ - содержание флавоноидов в экстракте, %; β - содержание флавоноидов в сырье, %; S_о – относительная эффективность экстрагирования, %; S - теоретическая эффективность экстрагирования, %.

Результаты расчетов представлены в Таблице 4.

Таблица 4 - Результаты сравнительной оценки эффективности ресурсосберегающей и промышленной технологии экстрагирования цветков липы

№ серии	Содержание фармакологически активных веществ в сырье, %		Ресурсосберегающая технология n = 4			Промышленный способ n = 3		
	X	λ	S _ф	S	S _о	S _ф	S	S _о
1	22,45	0,736	68,01	70,26	0,968	46,99	48,64	0,966
2	16,62	0,439	73,41	76,32	0,962	46,99	48,95	0,960
3	19,22	0,681	72,23	75,40	0,958	46,02	47,99	0,959
4	18,67	0,708	73,13	76,10	0,961	46,91	48,76	0,962
5	22,11	0,721	72,15	75,71	0,953	46,21	48,44	0,954

Анализ данных Таблицы 4 показывает, что S_ф при получении липы сердцевидной цветков экстракта жидкого в батарее из четырех диффузоров и у = 1:1,8см³/г составляет 73,41 % и близка к теоретической - 76,32 %. Относительная эффективность S_о предлагаемого и промышленного способа экстрагирования лекарственного растительного сырья колеблется в пределах от 0,953 до 0,968, т.е. близка к единице. Фактическая эффективность экстрагирования S_ф составляет 90-96% от теоретически возможной предельной эффективности S.

Количественное определение флавоноидов в липы сердцевидной цветков экстракте жидком

В результате анализа фармакопейных статей и проведенных экспериментальных исследований нами разработана оптимальная методика определения содержания флавоноидов в экстракте липы в пересчете на рутин:

1. Навеску экстракта объемом 50 мл помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл.

2. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане, в течение 2 часов, поддерживая слабое кипение.

3. Содержимое колбы тщательно взбалтывают и фильтруют через сухой бумажный фильтр. Первые 20 мл отбрасываются (испытуемый раствор) в сухую колбу.

4. После этого 2 мл испытуемого раствора, помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 % и 2 капли уксусной кислоты 30%, доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А).

5. Оптическую плотность раствора А измеряют на спектрофотометре при 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл испытуемого раствора, 2 капель уксусной кислоты 30 %, доведенный спиртом 70 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Величины оптических плотностей измеряемых растворов представлены на Рисунке 2.

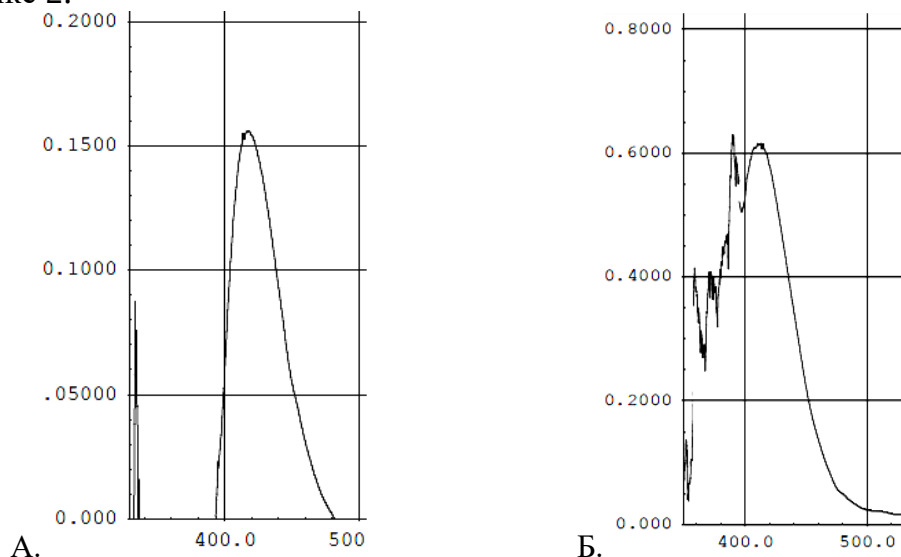


Рисунок 2 – Спектры поглощения комплекса флавоноидов липы сердцевидной цветков экстракта жидкого 1:1,0 (А) и 1: 1,8 (Б) с раствором алюминия хлорида

Результаты определения содержания флавоноидов в исследуемых экстрактах, представлены в Таблице 5.

Таблица 5 - Содержание флавоноидов в липы сердцевидной цветков экстрактах жидких 1:1,0 и 1: 1,8.

Липы сердцевидной цветков экстракт жидкий	Содержание флавоноидов, $\bar{x}$	
	%	г/мл
1:1,0	0,307	0,003070
	$S\bar{x}=0,0017, \Delta X=0,0043, \varepsilon\%=1,39\%$	
1:1,8	0,327	0,003271
	$S\bar{x}=0,0053, \Delta X=0,0022, \varepsilon\%=1,73\%$	

Разработанная методика была валидирована по показателям: специфичность, линейность ($r = 0,998$), воспроизводимость ($RSD = 1,36\%$), правильность (открываемость рутина $R_{cp}=99,33\%$).

Спецификация показателей качества липы сердцевидной цветков экстракта жидкого

На основании проведённых аналитических испытаний установлены основные показатели качества липы сердцевидной цветков экстракта жидкого, представленные в Таблице 6.

Таблица 6 - Проект спецификации показателей качества экстракта цветков липы сердцевидной жидкого

Показатель	Методы	Нормы	Характеристика образца
Описание	Визуальный Органолептический ГФ XIII ОФС.1.4.1.0021.15	Жидкость светло-коричневого цвета с характерным ароматным запахом, сладковатого вкуса	Соответствует
Подлинность	Качественная реакция на флавоноиды ГФ XIII	Наличие красного окрашивания в реакции с порошком Mg и раствором HCl конц.	Соответствует
Содержание спирта этилового, %	ГФ XIII ОФС.1.4.1.0021.15	Не менее 62	63
Содержание флавоноидов, %	Спектрофотометрический (сумма флавоноидов в пересчёте на рутин)	Не менее 0,26	0,327
Содержание тяжелых металлов, %	ГФ XIII ОФС.1.4.1.0021.15	Не более 0,01	Не обнаружены
Сухой остаток	ГФ XIII ОФС.1.4.1.0021.15	Не менее 7,13	8,64
Упаковка	Флаконы тёмного стекла объёмом 25,0 мл укупоренные полиэтиленовыми пробками и навинчивающимися пластмассовыми крышками		
Маркировка	В соответствии с НД		
Хранение	В прохладном, защищенном от света месте. Срок годности – 2 года.		

Полученные данные свидетельствуют о соответствии липы сердцевидной цветков экстракта жидкого нормируемым требованиям. Установленные показатели качества были использованы при разработке НД на липы сердцевидной цветков экстракт жидкий.

Глава 4. Доклинические и токсикологические исследования липы сердцевидной цветков экстракта жидкого

Определение острой токсичности экстракта цветков липы сердцевидной

Для определения среднесмертельной дозы раствор исследуемого лекарственного средства, вводили белым лабораторным крысам массой однократно перорально в дозах 2,0; 5,0; 10,0; 12,5; 25,0 мл на 1000 г массы животного. В течение эксперимента во всех наблюдаемых группах гибели животных не выявлено, что не позволило установить LD₅₀. В ходе исследований все животные были активны, подвижны с нормальной концентрацией движения, нормальной частотой дыхательных движений с хорошим аппетитом и внешним видом.

Таким образом, установлено, что при пероральном введении экстракт цветков липы сердцевидной жидкий 1:1,8 относится к веществам малоопасным (4 класс опасности), согласно ГОСТ 12.1.007-76.

Исследование иммуностропных свойств липы сердцевидной цветков экстракта жидкого in vitro

Оценка эффектов экстракта цветков липы 1:1,8 в разовой и суточной дозах на нейтрофилы условно-здоровых лиц в нагрузочном NBT-тесте, отражающим

активность NADPH- оксидазы, продемонстрировала повышение показателей %ФПК спонтанного и стимулированного на фоне значений коэффициента мобилизации (КМ), не отличающихся от контрольных значений. При исследовании фагоцитарной функции нейтрофилов в этой же экспериментальной группе выявлено недостоверное повышение показателей %ФАН, ФЧ, ФИ ($p>0,05$), характеризующих функции захвата НГ, и показателей %П, ИП отражающих переваривающую активность ($p>0,05$) (Таблица 7).

Таблица 7 – Показатели фагоцитарной и кислород-зависимой микробицидной функции нейтрофилов условно здоровых лиц (контрольная группа), Me[Q₁-Q₃].

Показатель	Интактная кровь	Разовая доза ЭЦЛ 1:1,8	Суточная доза ЭЦЛ 1:1,8
Фагоцитарная активность			
%ФАН	55,5 [54,8; 56,3]	56,5 [55,5;57,5]	59,0 [56,8;63,5]
ФЧ	6,1 [5,4;6,9]	10,2 [9,6;10,7]	10,9 [9,3;11,5]
ФИ	2,8 [2,3;3,0]	3,8 [2,3;5,5]	3,3 [2,5;3,7]
%П	56,6 [54,4;56,9]	54,0[53,3;54,8]	60,3 [59,0;62,3]
ИП	1,7 [1,5;2,0]	1,8 [1,7;1,9]	2,4 [2,4;2,5]
Кислород-зависимая микробицидная активность			
%ФПКсп.	1,5 [1,0; 2,5]	3,5 [3,0;5,3]	3,5 [2,8;4,0]
%ФПК ст.	5,0 [3,5; 6,3]	6,0 [5,5;6,5]	8,0[4,8;11,3]
СЦИ сп.	1,0 [1,0; 1,10]	1,1 [1,1; 1,1]	1,1 [1,0; 1,1]
СЦИ ст.	1,1 [1,1; 1,1]	1,2 [1,1;1,3]	1,2 [1,1;1,4]
КМ-%ФПК	2,5 [1,9; 3,3]	1,73 [1,3;1,9]	2,29 [1,7;3,1]

Примечание к Таблице 7: ЭЦЛ – экстракт цветов липы, %ФАН – активно-фагоцитирующие нейтрофилы, ФЧ – фагоцитарное число, ФИ – фагоцитарный индекс, %П – процент переваривания бактериального антигена, СЦИ – средний цитохимический индекс, %ФПК – процент формазан-позитивных клеток, КМ – коэффициент мобилизации (показатели NBT-теста).

Таким образом, исследуемый экстракт не проявил иммуностимулирующего действия в отношении показателей полученных в ходе эксперимента с периферической кровью условно-здоровых лиц, что свидетельствует о его иммуномодулирующей активности.

Липы сердцевидной цветков экстракт жидкий 1:1,8 позволил *in vitro* полностью нормализовать относительное содержание активных фагоцитов и их переваривающую функцию (%П) при бактериальной и вирусной инфекции. (Рисунок 3).

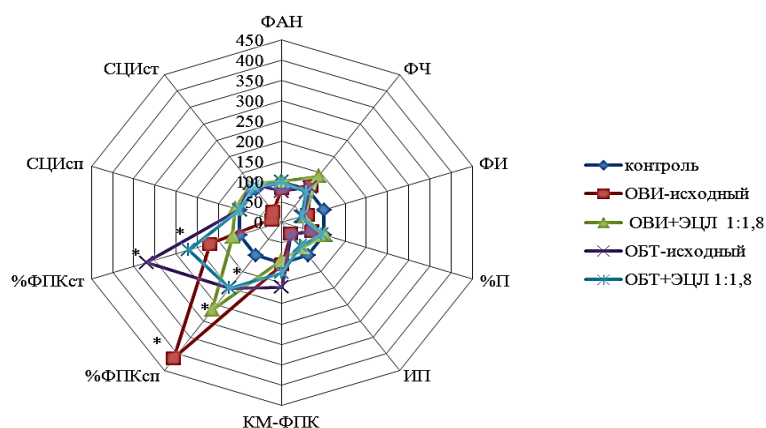


Рисунок 3 - Влияние экстракта цветков липы 1:1,8 *in vitro* на показатели фагоцитарной и микробицидной функции нейтрофилов больных острой бактериальной инфекцией и острой вирусной инфекцией

Примечание к Рисунку 3: ЭЦЛ – экстракт цветов липы; ОБИ – острая бактериальная инфекция; ОВИ – острая вирусная инфекция; %ФАН – активно-фагоцитирующие нейтрофилы, ФЧ – фагоцитарное число, ФИ – фагоцитарный индекс, %П – процент переваривания бактериального антигена, СЦИ – средний цитохимический индекс, %ФПК – процент формазан-позитивных клеток, КМ – коэффициент мобилизации (показатели NBT-теста),* - значимость отличий от контроля.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что экстракт цветков липы *in vitro* способен изменять параметры функциональной активности нейтрофилов при их дефектах, возникающих при острых вирусных и бактериальных инфекциях.

Биотестирование липы сердцевидной цветков экстракта жидкого на культуре *Paramecium caudatum*

В результате исследования установлено, что концентрация живых парameций в присутствии экстракта цветков липы увеличилась относительно контрольной пробы, что свидетельствует об экологически благоприятной среде для развития парameций. Мембраностабилизирующую активность разработанного экстракта характеризует увеличение времени движения парameций до полной остановки, под воздействием спирта этилового, компоненты которого препятствуют повреждению белковой части биомембраны. Повышение времени движения парameций при добавлении 1% раствора пероксида водорода свидетельствует о наличии антиоксидантной активности. Это связано со способностью компонентов экстракта тормозить перекисное окисление липидов мембраны. Таким образом, разработанный экстракт обладает биологической активностью в отношении антиоксидантного и мембраностабилизирующего действия.

Глава 5 Разработка состава и технологии скорректированных лекарственных форм на базе липы сердцевидной

При изготовлении сиропов фармакологически активной основой служил липы сердцевидной цветков экстракт жидкий 1:1,8 в концентрации 5%. В качестве подсластителей изучали сахарозу, фруктозу, сорбит, глюкозу, а также заранее приготовленные их концентрированные растворы. Кроме того, одним из компонентов предложенного состава выбран мед пчелиный натуральный, так как он обладает приятным специфическим ароматом, усиливающим аромат липы сердцевидной цветков экстракта жидкого (Таблица 8).

Таблица 8 - Составы изученных композиций сиропа липы

Компоненты сиропа, г	Номер образца									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Липы сердцевидной цветков экстракт жидкий	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Сироп сахарозы	85,0									
Мед пчелиный натуральный	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0			
70 % раствор сорбита		85,0								
70 % раствор фруктозы			85,0							
70 % раствор сахарозы и сорбит (2:5)				85,0						
70 % раствор фруктозы и сорбит (2:5)					85,0					
70 % раствор сахарозы и сорбит (1:1)						85,0				
Сахароза							55,0	35,0	20,0	
Поливиниловый спирт										1,0
Агар									0,5	
Желатоза								1,0		
Фруктоза								20,0	40,0	40,0
Глюкоза										15,0
Вода очищенная, до 100	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Оценку органолептических свойств 10 исследуемых композиций сиропа липы проводили по методике И.Н. Андреевой. В соответствии с системой оценки по данной шкале верхний оценочный предел - 26 баллов, нижний – меньше 15. Установлено, что высокой оценкой (26 баллов) органолептических свойств обладают образец №1 на сиропе сахарозы с медом и образец №7 с медом на сахарозе, который был принят за оптимальный для разрабатываемого препарата, так как массовое содержание сахарозы в нем на 15% ниже, чем в образце №1.

Технологическая схема получения сиропа с липы экстрактом жидким представлена на Рисунке 4.

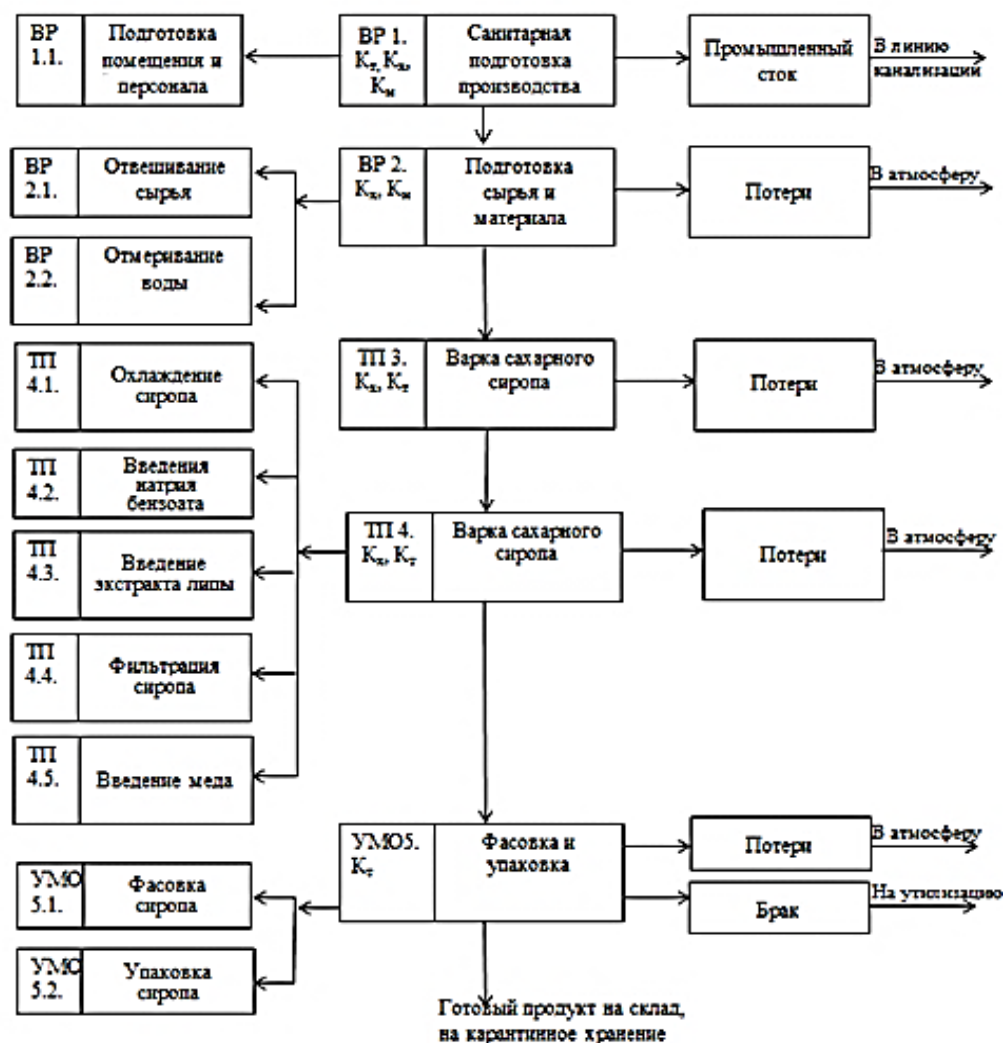


Рисунок 4 - Технологическая схема получения сиропа липы

Примечание к Рисунку 4: К_т – контроль технологический, К_х – контроль химический, К_м – контроль микробиологический, ВР – вспомогательные работы, ТП – технологический процесс, ПО – переработка отходов, УМО – упаковка, маркировка и отгрузка готового продукта

Определение острой токсичности сиропа липы

В ходе эксперимента на белых лабораторных крысах было установлено, что при пероральном введении сироп липы относится к веществам малоопасным (4 класс опасности) согласно ГОСТ 12.1.007-76.

Оценка качества сиропа липы

На основании проведенных аналитических испытаний установлены основные показатели качества сиропа липы, представленные в Таблице 10.

Таблица 10 - Проект спецификации показателей качества сиропа липы

Показатель	Методы	Нормы	Характеристика
Описание	Визуальный Органолептический ГФ XIII ОФС.1.2.1.0014.15	Прозрачный раствор светло-коричневого цвета с характерным ароматным запахом, сладкого вкуса	Соответствует
Подлинность	Качественная реакция на флавоноиды ГФ XIII	Красное окрашивание в реакции с порошком Mg и раствором HCl конц.	Соответствует
Плотность	ОФС.1.2.1.0004.15 ГФ XIII	1,280 – 1,320	1,297
pH	ОФС.1.2.1.0004.15 ГФ XIII	5,7-6,0	5,8
Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0002.15 ГФ XIII	Категория ЗБ	Соответствует
Извлекаемый объём, %	ГФ XIII ОФС.1.4.2.0002.15	Уср. 10 упаковок - не менее 100 %	100,4
Содержание флавоноидов, мг	Спектрофотометрический	Содержание флавоноидов в 100 мл не менее 11 мг	11,34
Упаковка	Флаконы тёмного стекла объёмом 100 мл с винтовой горловиной, с полиэтиленовыми пробками с контрольным вскрытием		
Маркировка	В соответствии с НД		
Хранение	При t не > 25°C, в защищенном от света месте. Срок годности – 18 месяцев.		

Полученные данные свидетельствуют о соответствии сиропа липы нормируемым требованиям.

Разработка оптимального состава, технологии и норм качества леденцов на базе экстракта цветков липы сердцевидной

При разработке состава и технологии леденцов с липы экстрактом жидким в качестве основы леденцов изучали: сахар, патоку, инвертный сироп, изомальт в разных соотношениях (Таблица 11).

Таблица - 11 Составы и характеристики изученных композиций леденцов липы

Параметр	образец 1	образец 2	образец 3	образец 4	образец 5	образец 6
Состав						
Липы сердцевидной экстракт	5	5	5	5	5	5
Сахар	60	60	60	-	45	-
Патока	30	-	30	-	45	65
Инвертный сироп	10	30	-	-	-	-
Изомальт	-	-	-	90	-	30
Вода очищенная	-	10	10	10	10	5
Органолептические свойства						
Внешний вид	Леденцы овальной формы с ровными поверхностями и краями					
Цвет	Темный	Светлый	Темный	Светлый	Светлый	Темный
Вкус и аромат	Ярко выраженные, характерные для экстракта липы					
Поверхность, ровная, без вкраплений	+	+	+	+	+	+
Форма, овальная	+	+	+	+	+	+
Физико – химические показатели						
Влажность леденцов, < 1%	+	+	+	+	+	+
Пластичность при температуре разделки	Нет	Да	Да	Да	Да	Да
Температура плавления	90 – 100°C	130 – 140°C	130 – 140°C	130 – 140°C	130 – 140°C	130 – 140°C
Средняя масса 1 леденца, г	1,7±0,5	1,7±0,5	1,7±0,5	1,7±0,5	1,7±0,5	1,7±0,5
Отклонения в массе от средней массы, %	±10%	±10%	±10%	±10%	±10%	±10%
Изменение структуры при хранении леденцов	Гигро- скопичны	Быстро кристал- лизуются	Гигро- скопичны	Стабильна	Стабильна	Стабильна

Нами выбран состав № 4, основой которого является изомальт, обладающий гликемическим индексом в 7,5 раз ниже, чем у сахарозы, что актуально в условиях повышения тенденции к заболеваниям сахарным диабетом.

Технологическая схема получения леденцов с экстрактом цветков липы сердцевидной жидким представлена на Рисунке 5.

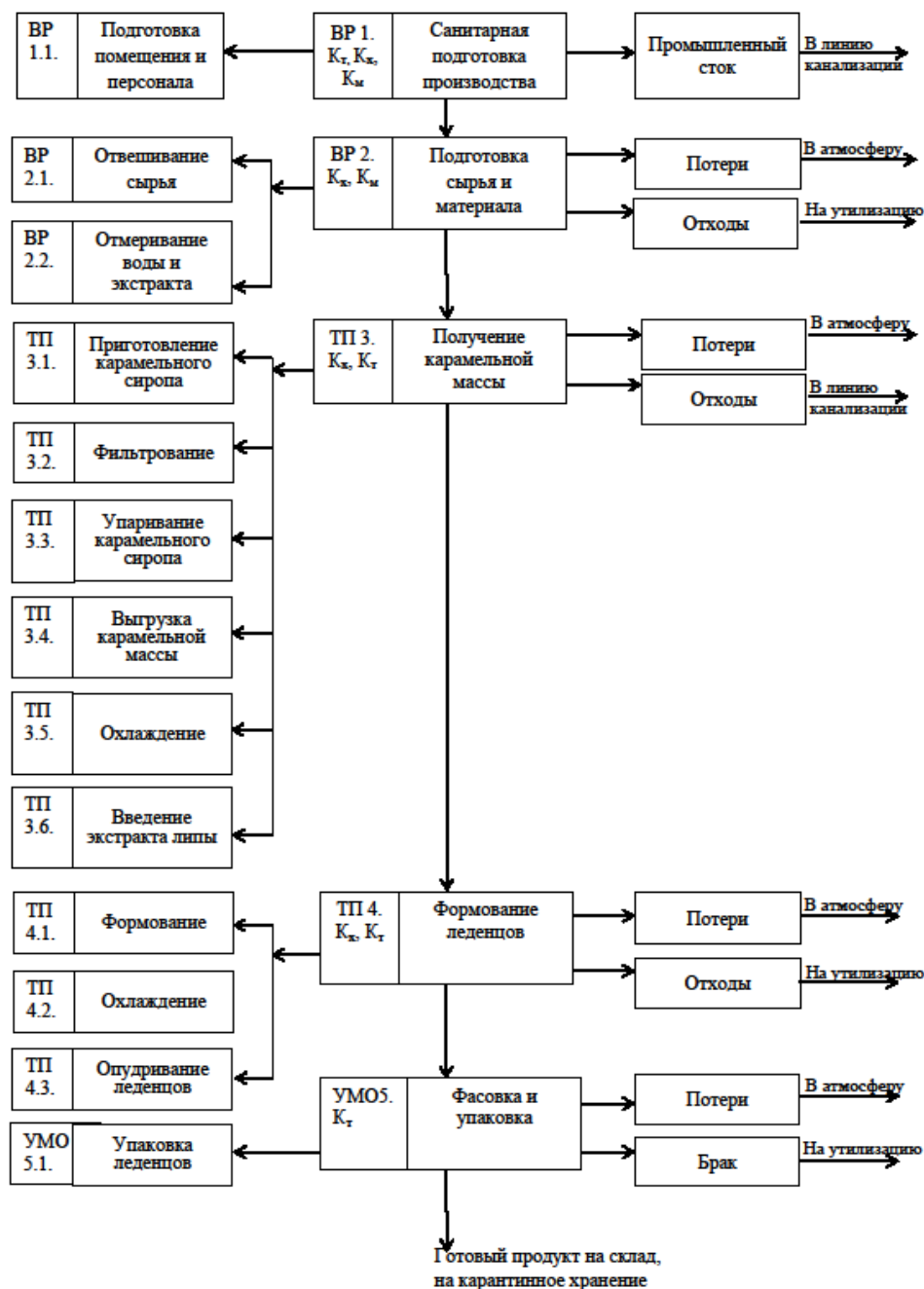


Рисунок 5 - Технологическая схема получения леденцов с экстрактом цветков липы сердцевидной

Примечание к Рисунку 5: К_т – контроль технологический, К_х – контроль химический, К_м – контроль микробиологический, ВР – вспомогательные работы, ТП – технологический процесс, ПО – переработка отходов, УМО – упаковка, маркировка и отгрузка готового продукта

На основании проведённых аналитических испытаний установлены основные показатели качества леденцов с липы сердцевидной цветков экстрактом жидким, представленные в Таблице 12.

Таблица 12 - Проект спецификации показателей качества леденцов с липы сердцевидной цветков экстрактом жидким

Показатель	Методы	Нормы	Характеристика
Описание	Визуальный Органолептический ГФ XIV ОФС.1.4.1.0030.18	Леденцы овальной формы светлого цвета с ровными поверхностями и краями с характерным вкусом и запахом липы	Соответствует
Однородность массы дозированных лекарственных форм	ГФ XIV ОФС.1.4.2.0009.15	Допустимое отклонение не более 5% от средней массы	Соответствует
Однородность дозирования (по содержанию флавоноидов)	Метод прямого определения ГФ XIV ОФС.1.4.2.0008.18	Первый показатель приемлемости должен быть меньше максимально допустимого значения	Соответствует
Микробиологическая чистота	ГФ XIV ОФС.1.2.4.0002.18	Категория 3Б	Соответствует
Содержание флавоноидов, мг	Спектрофотометрия	Содержание флавоноидов в 1 леденце не менее 3 мг	3,2
Упаковка	Жестяная сборная банка со съемной крышкой объёмом 150см ³		
Маркировка	В соответствии с НД		
Хранение	При температуре не более 25°С, в сухом защищенном от света месте. Срок годности – 12 месяцев.		

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлены оптимальные параметры и условия проведения экстракции методом реперколяции, в частности определены показатели насыпной массы сырья, образования внутреннего сока, установлено число ступеней экстракции и соотношение фаз – 1:1,8. Разработана технологическая схема получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого и проведена сравнительная оценка эффективности традиционной и вновь предложенной ресурсосберегающей технологии, эффективность разработанного варианта выше в 1,57 раза. Доказано, что оптимальными показателями является: число диффузоров - 4, степень измельченности сырья 2-4 мм, оптимальный экстрагент - спирт этиловый 70%. При этом эффективность экстракции составила 73,41 %.

2. Установлено количественное содержание флавоноидов в липы сердцевидной цветков экстракте жидком на основании собственной методики определения содержания флавоноидов в экстракте – 0,327% (при погрешности определения не более 2%). Теоретически разработаны, и экспериментально обоснованы нормы качества липы сердцевидной цветков экстракта жидкого:

- сухих веществ – не менее 7,13 %;
- флавоноидов – не менее 0,26 %;
- концентрация спирта этилового в экстракте – не менее 62 %;
- плотность – не более 0,8256 %.

Проведена валидация соответствующих методик.

3. Разработан сироп липы на основе полученного экстракта, определены ВВ – мед, сахара, консервант – натрия бензоат 0,5%, выявлены его основные органолептические показатели, установлен срок годности - 18 месяцев. Сконструирована технологическая схема и определены критические точки процесса. Предложены и обоснованы основные показатели качества сиропа липы. Разработаны леденцы с липы сердцевидной цветков экстрактом жидким, создана технологическая схема их получения, показатели качества, установлен срок годности – 12 месяцев.

4. Разработан лабораторный регламент на липы сердцевидной цветков экстракт жидкий 1:1,8. В условиях производства апробированы технологии получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого и сиропа липы, получены соответствующие акты апробации.

5. Биотестирование липы сердцевидной цветков экстракта жидкого на культуре *Parametium caudatum* показало, что экстракт обладает мембраностабилизирующим и антиоксидантным действием. В эксперименте *in vitro* на нейтрофильных гранулоцитах периферической крови установлено иммунотропное действие липы сердцевидной цветков экстракта жидкого. Экстракт способен изменять параметры функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов при их дефектах, возникающих на фоне острых инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной этиологии и обеспечивает коррекцию нарушенных функций нейтрофильных гранулоцитов как при острой бактериальной, так и при острой вирусной инфекции практически до значений изучаемых показателей условно - здоровых лиц. Экспериментально доказано отсутствие острой токсичности липы сердцевидной цветков экстракта жидкого и сиропа липы. Анализ полученных данных, свидетельствует, что экстракт и сироп липы относится к веществам малоопасным (4 класс опасности) при пероральном введении в эксперименте *in vivo*.

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования предполагает совершенствование имеющихся и апробированных НД с целью более активного их внедрения в производство, а так же более широкое участие настоящих материалов в учебном процессе. Разработанная ресурсосберегающая технология получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого 1:1,8 и полученная на его основе скорректированная ЛФ – сироп включены в перспективный план к промышленному освоению в 2019-2020 гг ООО «Флора Кавказа» (акты внедрения от 05.06.2018г. и от 27.09.2018г.). Экспериментальные данные, полученные в результате диссертационного исследования, могут быть использованы для разработки и создания новых иммуностимулирующих и антиоксидантных лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Степанова, Э.Ф. Разработка и анализ жидкого экстракта цветков липы / Э.Ф. Степанова, Д.В. Веселова, А.Г. Курегян, М.А. Огай, А.М. Темирбулатова, Т.С. Кочконян // *Фармация*. – 2019. – Т. 68. - № 2. – С. 33-38.

2. Способ получения экстракта из цветков липы: пат. 2684782 РФ: МПК A61K 36/185, B01D 11/02/ Веселова Д.В., Темирбулатова А.М., Степанова Э.Ф., Верниковский В.В. - №2018111357; заявл. 29.03.2018; опубл. 15.04.2019 Бюл. № 11. – 3 с.

3. Веселова, Д.В. Технологическое обоснование и нормирование качества липы экстракта жидкого и леденцов на его основе / Д.В. Веселова, А.М. Темирбулатова // *Colloquium-journal*. – 2019. - № 5-2 (29). – С. 22-25.

4. Веселова, Д.В. Получение и исследование экстрактов липы сердцевидной / Д.В. Веселова, Э.Ф. Степанова, А.М. Темирбулатова, В.В. Верниковский // *Беликовские чтения: материалы VI Всероссийской научно-практической конференции*. – Пятигорск. – 2018. – С. 443-447.

5. Темирбулатова, А.М. Фармакотехнологические исследования композитного сиропа на основе растительного сырья / А.М.Темирбулатова, Э.Ф.Степанова, Л.П.Лежнева, З.Д.Хаджиева, Д.В.Веселова // *Кубанский научный медицинский вестник*. – 2017. – № 1(162). – С. 130-134.

6. Веселова, Д.В. Разработка состава и технологические исследования сиропа липы / Д.В.Веселова, А.М.Темирбулатова, Э.Ф. Степанова // Кубанский научный медицинский вестник. - 2017. - № 2 (163). - С. 39-43.

7. Веселова, Д.В. Перспектива разработки скорректированных лекарственных форм на основе экстракта цветков липы / Д.В. Веселова // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием. – Пятигорск. – 2016. – С. 610-611.

8. Веселова, Д.В. Использование в современной медицине цветков липы сердцевидной / Д.В. Веселова, Э.Ф. Степанова // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4. - № 1. – С. 4-9.

9. Веселова, Д.В. Технология получения сухого экстракта липы сердцевидной / Материалы всерос. науч.-практ. конф.(июнь 2016 г).- Прокопьевск, 2016. -С. 5-9.

10. Веселова, Д.В. Применение экстракта цветков липы в современной медицине / Материалы науч.-практ. конф.(декабрь 2016 г).- Шымкент, Республика Казахстан, 2016. -С. 37-38.

11. Веселова, Д.В. Проведение анализа микробиологической чистоты сиропа, приготовленного на основе экстракта цветков липы / Д.В. Веселова, Э.Ф. Степанова // Материалы науч.-практ. конф. / Шымкент, Республика Казахстан, декабрь 2017, Перспективы развития биологии, медицины и фармации, 2017. - С. 139-140.

12. Веселова, Д.В. Сироп на основе жидкого экстракта цветков липы / Д.В. Веселова, Э.Ф. Степанова // Материалы XXIV Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (10-13 апреля). - Москва, 2017. -С. 92.

13. Веселова, Д.В. Фармакотехнологические исследования цветков липы сердцевидной / Д.В. Веселова, А.М.Темирбулатова, А.Г.Курегян, Э.Ф.Степанова // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – Пермь, 2018.- №22.- С.133-136.

14. Темирбулатова, А.М. Исследования по расширению спектра использования экстрактов родиолы розовой, липы сердцевидной и астрагала эспарцетного в медицинской практике / Темирбулатова А.М., Э.Ф.Степанова, Д.В. Веселова, Л.П.Лежнева // Научные результаты биомедицинских исследований, 2019. -Т. 5. -№ 1. - С. 84-93. DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-1-0-6

15. Веселова, Д.В. Иммуностимулирующее действие экстракта цветков липы в эксперименте in vitro / Д.В. Веселова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова, Э.Ф. Степанова, Т.В. Русинова // Биофармацевтический журнал, 2019. – Т.11. - №3. – С. 17-20.

Веселова Дарья Валерьевна (Россия)

Разработка ресурсосберегающей технологии липы сердцевидной цветков экстракта жидкого и лекарственных форм на его основе

Теоретически и экспериментально разработана ресурсосберегающая технология получения липы сердцевидной цветков экстракта жидкого (патент РФ №2684782), разработана методика количественного определения содержания флавоноидов спектрофотометрически в липы сердцевидной цветков экстракте жидком. Показано мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие экстракта на культуре *Parametium caudatum*. В эксперименте in vitro на нейтрофильных гранулоцитах периферической крови установлено иммуностропное действие полученного экстракта. Разработан состав сиропа липы на основе исследуемого

экстракта, сконструирована технологическая схема его получения и определены основные показатели качества. Создана технологическая схема получения леденцов с липы сердцевидной цветков экстрактом жидким, установлены показатели качества и срок годности.

Veselova Daria Valerievna (Russia)

Development of resource-saving technology for linden (*Tilia cordata* Mill.) flowers of liquid extract and its medicinal forms

Theoretically and experimentally developed a resource-saving technology for producing linden flowers of liquid extract (patent № 2684782), a method for quantitative determination of flavonoid content spectrophotometrically in linden flowers and liquid extract has been developed. The membrane stabilizing and antioxidant effect of the extract is shown on the *Parametium caudatum* culture. During in vitro experiment on neutrophilic granulocytes of peripheral blood, the immunotropic effect of the obtained extract was established. The composition of linden syrup based on the studied extract was developed, the technological scheme for its production was constructed, and the main quality indicators were determined. The technological scheme for producing lollipops from the linden flowers with liquid extract has been created; quality indicators and expiration date have been established.

ВЕСЕЛОВА ДАРЬЯ ВАЛЕРЬЕВНА

**РАЗРАБОТКА РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩЕЙ ТЕХНОЛОГИИ ЛИПЫ
СЕРДЦЕВИДНОЙ ЦВЕТКОВ ЭКСТРАКТА ЖИДКОГО И
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ЕГО ОСНОВЕ**

14.04.01 – технология получения лекарств

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук