

Пономарева Екатерина Ивановна

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЯГКИХ
ЖЕЛАТИНОВЫХ КАПСУЛ, СОДЕРЖАЩИХ ЭФИРНЫЕ МАСЛА
PELARGONIUM GRAVEOLENS L'HER И *CITRUS MEYERI TAN***

14.04.01 – технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Молохова Елена Игоревна**

Научный консультант:

кандидат биологических наук **Холов Абдулхаким Кувватович**

Официальные оппоненты:

Мизина Прасковья Георгиевна – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», заместитель директора по научной работе;

Шиков Александр Николаевич – доктор фармацевтических наук, ЗАО «Санкт-Петербургский Институт Фармации», заместитель генерального директора по инновационной деятельности.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул

Защита диссертации состоится «25» декабря 2018 г. в 12.00 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 «___» _____ 2018 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Благодаря уникальным природно-климатическими условиям, Республика Таджикистан является производителем широкой номенклатуры эфирных масел: гераниевого, лимонного, кориандрового и др., которые содержат биологически активные вещества – монотерпены. В НИИ гастроэнтерологии Академии наук Республики Таджикистан А. К. Холовым и Д. А. Азоновым изучена специфическая фармакологическая активность ряда эфирных масел. Установлено, что эфирные масла герани душистой травы (*Pelargonium graveolens L'Her*) и лимона Мейера экзокарпия (*Citrus Meyeri Tan*) обладают широким спектром фармакологического действия: желчегонным, противовоспалительным, гиполипидемическим, гепатозащитным и спазмолитическим.

В большинстве случаев эфирные масла получают с использованием дистилляционных методов: гидродистилляции или перегонкой паром (Ефремов А. А., 2013), для плодов цитрусовых используют механический способ (Мишарина Т. А., 2010). Одним из современных способов экстракции для эфиромасличного растительного сырья является сверхкритическая углекислотная экстракция (Алиев А.М., 2010). Согласно литературным данным, выход эфирного масла герани душистой травы на промышленном оборудовании составляет 64 – 78%. С целью повышения выхода эфирного масла необходимо провести выбор метода получения и оптимизацию условий его проведения.

Для масляных растворов эфирных масел, с учётом возможной области медицинского применения рационально использовать в качестве лекарственной формы мягкие желатиновые капсулы, преимущества которых заключаются в способности сохранять и доставлять липофильные вещества в легкодоступной для организма форме (Демченко Д.В., 2015).

Расширение номенклатуры лекарственных препаратов в мягких желатиновых капсулах делает актуальным разработку технологии и стандартизации лекарственных форм, содержащих эфирные масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия.

Степень разработанности темы исследования

Лечебные свойства и методы получения эфирных масел известны ещё с древности. Фармакологические свойства эфирного масла герани душистой травы изучены многими авторами (Лебединский В.П., 1944, Шишкин О.Н., 1974, Вичканова С.А., 1973, Fayed S.A., 2009, Cavar S., 2012, Boukhris M., 2012, 2013, Zore G.B., 2011, Hsouna A.B., 2012). Однако, лекарственные препараты с эфирным маслом герани душистой травы на сегодняшний день на фармацевтическом рынке не представлены.

Многие авторы (Babu K.G., 2005, 2012, Нажбудинов С.И., 2011, Hsouna A.B., 2012, Boukhatem M.N., 2013, Vermia R.S., 2013, Nejada A.R., 2014, Шарапов Ф.С., 2014) изучали химический состав эфирного масла герани душистой. Исследования, посвящённые изучению компонентного состава лимона Мейера, не так многочисленны

(Wenzel, 1958, Kesterson и Hendrickson, 1958, Ram M.Uckoo, 2015). При этом установлено, что выход и компонентный состав эфирного масла существенно зависит от хемотипа растения, поэтому, изучение сырья, заготовленного в Республике Таджикистан, является актуальным.

В работе Д. А. Азонова (1987) показана возможность получения мягких желатиновых капсул с эфирными маслами лимона, герани душистой, кориандра и ферулы, однако, системных исследований по научно-экспериментальному обоснованию, разработке технологии и стандартизации этих лекарственных форм ранее не проводилось.

Цель и задачи исследования

Цель работы - разработка состава, технологии и стандартизация мягких желатиновых капсул с эфирными маслами герани душистой травы (*Pelargonium graveolens L'Her*) и лимона Мейера экзокарпия (*Citrus meyeri Tan*) из сырья, заготовленного в Республике Таджикистан.

Задачи исследования:

1. Установить метод и оптимальные условия получения эфирного масла герани душистой травы;
2. Провести нормирование качества эфирного масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия, изучить сроки и условия их хранения;
3. Разработать состав оболочки и технологию мягких желатиновых капсул с эфирными маслами герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия;
4. Провести стандартизацию препаратов в форме мягких желатиновых капсул с эфирным маслом герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия, изучить условия и сроки их хранения;
5. Изучить общую токсичность и специфическую активность разработанных лекарственных форм.
6. Разработать нормативную документацию на «Эфирное масло герани душистой травы», «Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия», «Липовитол» - мягкие желатиновые капсулы с эфирным маслом герани душистой травы и «Лимонеол» - мягкие желатиновые капсулы с эфирным маслом лимона Мейера экзокарпия и провести апробацию разработанной технологии мягких желатиновых капсул.

Научная новизна

Впервые в качестве фармакологически активных субстанций в технологии мягких желатиновых капсул использованы эфирные масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия, полученные из сырья, заготовленного в Республике Таджикистан.

В ходе комплексного исследования структурно-механических и реологических свойств желатиновой массы обоснован оптимальный состав оболочки для получения капсул ротационно-матричным методом.

Хромато-масс-спектрометрическим методом проведён качественный и количественный анализ эфирного масла герани душистой травы, в результате

идентифицировано 32 компонента, среди которых основные: гераниол (10,36%), цитронеллол (42,81%) и линалоол (3,56%). Впервые в качестве реперного компонента определён – 2- фенилэтанол (0,80%).

В результате анализа эфирного масла лимона Мейера экзокарпия идентифицировано 14 компонентов и установлено содержание основного компонента – лимонен (71,86%).

Определены технологические параметры сверхкритической углекислотной экстракции, обеспечивающие увеличение содержания в CO₂- экстракте основных компонентов, для герани душистой травы: время – 30 мин; температура – 40 °С; давление – 16 МПа; для лимона Мейера экзокарпия: температура – 50 °С; давление – 16 МПа, время – 30 мин.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы заключается в разработке научно-методологических подходов к созданию мягких желатиновых капсул, содержащих эфирные масла.

Оптимизирован метод гидродистилляции с насадкой Клевенджера для получения эфирного масла герани душистой травы. При использовании предложенных условий выход увеличился до 93%, что на 23 % больше традиционного метода получения эфирного масла.

Разработаны и валидированы методики испытания на подлинность и количественного определения цитронеллола, гераниола и линалоола – в эфирном масле герани душистой травы и лимонена – в эфирном масле лимона Мейера экзокарпия.

С использованием современных физико-химических и химических методов проведена стандартизация эфирного масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия из сырья, заготовленного в Республике Таджикистан, с целью создания лекарственных средств на их основе.

В ходе комплексного исследования установлено, что при получении капсул ротационно-матричным методом реологический оптимум желатиновой массы характеризуется диапазонами вязкости 11,46 - 5028,76 Па•с и напряжением сдвига 2788 – 2808 Па. Желатиновые ленты имеют следующие механические характеристики: модуль Юнга 35 – 50 МПа, удлинение при разрыве 210 – 240 %, предел прочности 8 – 9 МПа.

Разработана технологическая схема получения мягких желатиновых капсул «Липовитол» и «Лимонеол».

Разработаны проекты нормативной документации на:

- субстанцию эфирного масла герани душистой травы.
- субстанцию эфирного масла лимона Мейера экзокарпия.
- лекарственное средство в форме мягких желатиновых капсул с эфирным маслом герани душистой – «Липовитол».

- лекарственное средство в форме мягких желатиновых капсул с эфирным маслом лимона Мейера – «Лимонеол».

Методология и методы исследования

Методологический подход базируется на выполнении комплекса теоретических, технологических, химических, физико-химических и математических исследований, обеспечивающих разработку качественных, эффективных и безопасных лекарственных препаратов в форме мягких желатиновых капсул.

Положения, выносимые на защиту

- данные по выбору рационального метода получения эфирного масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия и результаты оптимизации выбранного метода;

- нормы качества для стандартизации эфирных масел герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия, данные по изучению срока их хранения;

- результаты исследования по разработке состава, технологии и стандартизации мягких желатиновых капсул с эфирными маслами герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия, определения вида упаковки, условий и сроков их хранения.

- итоги изучения токсичности и специфической фармакологической активности разработанных лекарственных форм.

Степень достоверности и апробация результатов

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на первой Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва, 2013); финальном туре VIII регионального конкурса научных проектов по программе «УМНИК» (г. Пермь, 2013); научно-практической конференции с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление инновационного развития фармацевтической науки» (г. Пермь, 2014); дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Инновации в медицине и фармации 2015» (г. Минск, 2015); IX Всероссийской научной конференции с международным участием и школе молодых учёных «Химия и технология растительных веществ» (г. Москва, 2015); научно-практической конференции памяти проф. А. В. Казьянина «Инновации в биофармацевтике» (г. Пермь, 2015), XX Юбилейном международном съезде «Фитофарм-2016» (г. Санкт-Петербург, 2016); научно-практической конференции с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки» (г. Пермь, 2017).

Внедрение результатов исследования

С положительным результатом апробированы:

- технология эфирного масла герани душистой травы методом гидродистилляции с насадкой Клевенджера в лабораторных условиях естественно-математического

факультета Сибайского института (филиал) ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет» (акт от 13 ноября 2017 г.).

- методики контроля качества эфирных масел герани душистой травы, лимона Мейера экзокарпия и капсул «Липовитол», «Лимонеол» по показателям «Подлинность» и «Количественное определение» в РИЦ Фарматест ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (акт от 20 декабря 2017 г., 6 декабря 2017 г, 15 ноября 2017 г. и 29 ноября 2017 г.).

- технология мягких желатиновых капсул «Липовитол» и «Лимонеол» в производственных условиях АО «РеалКапс», Московская область, Щелковский р-н, р.п. Свердловский (акт от 26 декабря 2017 г.).

- перспективная технология CO₂ - экстрактов герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия в производственных условиях ООО «Биоцевтика», Московская обл., Истринский район, г. Дедовск (акт от 25 декабря 2017 г.).

Материалы диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России и используются при изучении темы «Капсулированные препараты» по дисциплине промышленная технология лекарств (акт внедрения от 1 марта 2018 г.).

Личный вклад автора

Результаты эксперимента, представленные в диссертации, получены автором лично либо при его непосредственном участии. Автор самостоятельно провёл научно-информационный поиск и анализ литературных данных, статистическую обработку и интерпретацию полученных результатов, оформил статьи по материалам исследований, диссертацию и автореферат.

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России совместно с Государственным научно-исследовательским институтом питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан (договор от 01.06.2013). Диссертационная работа поддержана программой «УМНИК» Федерального государственного бюджетного учреждения «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.01 - технология получения лекарств, а именно пунктам: 3 - разработка технологий получения субстанции и готовых лекарственных форм; 4 - исследования по изучению особенностей технологии получения готовых лекарственных форм из различных видов субстанций, сырья и вспомогательных веществ.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 5 статей в изданиях перечня ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 183 страницах печатного текста, содержит 47 таблиц, 42 рисунка и 9 приложений. Список использованной литературы включает 212 литературных источников, в том числе, 70 иностранных.

Во введении сформулированы актуальность, цель и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования.

Первая глава содержит анализ отечественной и зарубежной литературы, отражающий характеристику растительных источников, химическую структуру и фармакологические свойства эфирных масел, содержащих монотерпены. Обобщена информация по современным методам выделения эфирных масел (ЭМ), в частности, по сверхкритической углекислотной экстракции (СУЭ). Проведён анализ ассортимента лекарственных препаратов, содержащих ЭМ.

В главе 2 описаны объекты и методы исследования.

В третьей главе приведены результаты исследования по выбору метода получения ЭМ и CO₂-экстрактов герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия.

В четвертой главе представлены материалы по выбору параметров качества и стандартизации эфирных масел герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия.

В главе 5 отражены результаты разработки состава и технологии мягких желатиновых капсул (МЖК), содержащие ЭМ. Представлена технологическая схема МЖК, установлены их нормы и показатели качества, определены условия и срок хранения капсул, результаты фармакологических исследований капсул «Липовитол» и «Лимонеол».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты исследования: Образцы для получения эфирного масла представлены свежей зелёной надземной частью без одревесневших стеблей и веток герани душистой (*Pelargonium graveolens L'Her*), семейства Гераниевых – *Geraniaceae*, 30-40 см в длину, заготовленные в фазу цветения в РФ: Пермском крае, г. Краснокамске и г. Перми в сентябре 2014 г, Республике Башкортостан, г. Сибай в сентябре 2014 г.

Образцы для получения CO₂ - экстрактов:

1. зелёная надземная часть без одревесневших стеблей и веток герани душистой (*Pelargonium graveolens L'Her*), семейства Гераниевых – *Geraniaceae*, 30-40 см в длину, высушенной на воздухе при температуре от 15 до 25 °С, заготовленные в фазу цветения в Республике Таджикистан, г. Турсунзаде в августе/сентябре 2013-2014 гг.

2. экзокарпий лимона Мейера – *Citrus meyeri Tan.*, семейства Рутовые – *Rutaceae*, отделённый вручную с помощью ножей от зрелых плодов лимона Мейера, высушенный на воздухе при температуре от 15 до 25 °С., собранный в Республике Таджикистан, г. Худжанд в ноябре/октябре 2013-2014 гг.

Для разработки технологии мягких желатиновых капсул «Липовитол» и «Лимонеол» использовали: эфирное масло герани душистой травы, полученное дистилляцией свежих или слегка подсушенных надземных частей герани душистой – *Pelargonium graveolens L'Her*, сем. Гераниевых – *Geraniaceae*, собранных в Республике Таджикистан в фазу цветения в августе/сентябре 2012 г (Серия 010812, 010912, 300912); эфирное масло лимона Мейера экзокарпия, полученное методом прямого прессования без нагрева из свежей кожуры зрелых плодов лимона Мейера – *Citrus meyeri Tan.*, сем. Рутовые – *Rutaceae*, собранных в Республике Таджикистан в ноябре 2012 г. (Серия 011112, 101112, 301112).

ЭМ получены различными методами дистилляции на лабораторных установках, углекислотные экстракты – на установке КОЭРС1 (ООО НИЦ ЭР «ГОРО», г. Ростов-на-Дону).

Показатели качества ЭМ определяли по ОФС.1.5.2.0001.15., ГОСТ ISO 4731-2014, ГОСТ 31791- 2012 и ГОСТ ISO 1271—2014. Качественный и количественный анализ ЭМ проводили хромато-масс-спектрометрическим методом на хроматографе Varian CP 3800 с квадрупольным масс-спектрометром 4000 MS в качестве детектора по разработанной нами методике. Идентификацию отдельных компонентов совершали на основе сравнения времён удерживания, индексов Ковача и полных масс-спектров с соответствующими данными чистых соединений и данные библиотеки масс-спектров входящей в программное обеспечение хромато-масс-спектрометра и данных масс-спектров и линейных индексов удерживания. При стандартизации ЭМ для количественного определения основных компонентов применялся метод калибровочной кривой. Использовали стандарты фирмы Alfa Aesar: гераниол (A13736. Lot 10180072) - 97%; линалоол - 97% (A14424. Lot 1017400); цитронеллол - 97% (A19016. Lot 10180517); 2- фенилэтанол - 97% (A15241.Lot 10179159); лимонен (L04733.AP) - 97%.

Для реологических исследований желатиновой массы использовали желатин различных производителей: Образец № 1 - Foodchem (Китай, серия 12061214) - 11,60 Н, № 2 - Brodnicke Zaklady Żelatyny Sp. z o.o. (Польша, серия A-091213) - 13,00 Н, № 3 - Italgelatine s.p.a. (Италия, серия 010211) - 14,25 Н, № 4 - Ewald-Gelatine GmbH (Германия, серия T-0141006) - 15,50 Н, № 5 - Weishardt International (Франция, серия 081086087) - 16,80 Н.

Реологические свойства желатиновых масс (ЖМ) исследовали с помощью ротационного вискозиметра «Reotest 2» типа RV (Германия). Механические исследования желатиновых лент (ЖЛ) проводили согласно ГОСТ 11262-80 на испытательной машине Zwick Z100/SN5A (Германия). МЖК получали на автоматической линии RJWJ – 115 Soft Gelatin Encapsulator Machine (Китай). Показатели качества МЖК определяли в соответствии с ОФС.1.4.1.0005.15.

Для оптимизации выделения ЭМ герани душистой использовали метод кругого восхождения (Бокса-Уилсона). Статистическую обработку результатов проводили по методикам ГФ XIII с использованием стандартных компьютерных программ Excel.

Сравнительная характеристика эфирного масла герани душистой травы, полученного различными методами дистилляции

В Республике Таджикистан ЭМ герани душистой получают методом паровой перегонки. В результате выход составляет 64 – 78%. Нами проведены исследования по выбору рационального метода получения ЭМ герани душистой травы с целью повышения выхода.

В работе проведено сравнение трёх методов: гидродистилляции, гидропародистилляции и паровой перегонки. На основании результатов, представленных в табл. 1, по эффективности методы дистилляции расположились в следующей последовательности: гидродистилляция, гидропародистилляция и паровая перегонка с когобацией дистилляционной воды. Наибольший выход ЭМ наблюдался при всех трёх способах дистилляции при использовании в качестве приёмника насадки Клевенджера.

Таблица 1

Количество ЭМ герани душистой травы, полученного различными методами дистилляции

Метод дистилляции	Количество эфирного масла, в массо-объёмных %	
	градуировочный приёмник	сосуд типа насадки Клевенджера
паровая перегонка	0,17±0,01	-
гидродистилляция	0,21±0,01*	0,25±0,01**
гидропародистилляция	0,19±0,01*	0,21±0,01
паровая перегонка + когобация	0,20±0,01**	

Примечание: * различия достоверны по сравнению с методом паровой перегонки, при $p < 0,05$; ** различия достоверны по сравнению с методом при использовании градуировочного приёмника, при $p < 0,05$.

При количественном анализе образцов ЭМ установлено, что метод, который обеспечивает наибольшее содержание основных компонентов (цитронеллола, гераниола и линалоола) - гидродистилляция (табл. 2).

Таблица 2

Содержание основных компонентов в ЭМ герани душистой травы, полученного различными методами дистилляции

№ п.п	Наименование компонента	% содержание в пробе				
		гидродистилляция	гидропародистилляция	паровая перегонка	когобация	паровая перегонка + когобация
1	Линалоол	5,34±0,04	4,16±0,04	3,46±0,03	5,47±0,03	3,79±0,04
2	Цитронеллол	46,71±0,03	45,47±0,02	42,61±0,03	45,71±0,02	45,76±0,02
3	Гераниол	12,46±0,03	11,44±0,03	10,29±0,03	10,85±0,03	10,15±0,04

С целью увеличения выхода ЭМ проведена оптимизация данного способа.

Оптимизация метода получения эфирного масла герани душистой травы

За параметр оптимизации (Y) приняли выход ЭМ в массо-объемных процентах. В качестве факторов исследовались: гидромодуль, время гидродистилляции, измельченность сырья. Кодированные значения, уровни и интервал варьирования факторов представлены в табл. 3.

Таблица 3

X _i	Фактор	Уровни			Интервал варьирования
		нижний	Основной	верхний	
X ₁	гидромодуль	1:10	1:20	1:30	1:10
X ₂	время гидродистилляции, ч	2	2,5	3	0,5
X ₃	измельченность сырья, мм	3	5	7	2

С использованием модели полного факторного эксперимента с тремя переменными рассчитано уравнение регрессии: $Y = 0,2363 - 0,002X_1 + 0,015X_2 - 0,00375X_3$

В результате статистического анализа уравнения регрессии установили, что средняя ошибка аппроксимации составляет $A = 2,37\%$, среднеквадратичное отклонение – $S = 0,00866$, $F_{кр} (3;4) = 6,59 < F_{расч} = 18,22$ при уровне значимости $p = 0,05$, дисперсия коэффициентов (S_{B_i}) = 0,00231 при уровне значимости $p = 0,05$ и числу степеней свободы (F) 7. В пределах исследуемого интервала коэффициент X₂ (время экстракции) – является статистически значимым и оказывает наибольшее влияние на процесс получения ЭМ.

Проведено крутое восхождение для критерия оптимизации Y. Результаты реализованного опыта подтвердили правильность расчётных данных, выход увеличился с 70% до 93%. На следующем этапе проведено исследование выхода основных компонентов в зависимости от времени дистилляции. Установлено, что максимальное содержание основных компонентов, обеспечивает время дистилляции - 210 мин.

В результате оптимизации процесса гидродистилляции с насадкой Клевенджера ЭМ герани душистой травы рекомендованы следующие условия: соотношение сырье: вода очищенная – 1:10; время дистилляции – 3 ч. 30 мин; размер частиц сырья – 3 мм. Оптимизированный метод позволил увеличить выход эфирного масла до 93%, что на 23 % больше традиционного метода получения ЭМ.

Выбор параметров качества и стандартизация эфирного масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия

При разработке методики идентификации компонентов ЭМ герани душистой методом тонкослойной хроматографии проведён подбор элюентов в зависимости от величины полярности и проявитель. Обоснованы следующие условия хроматографирования: элюирующая система – бензол/хлороформ (1:1), детектирующий реагент – 5 % спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты, объем наносимой пробы 5 мкл в концентрации 0,05 г/мл. Полученные хроматограммы представлены на рис. 1 и 2.

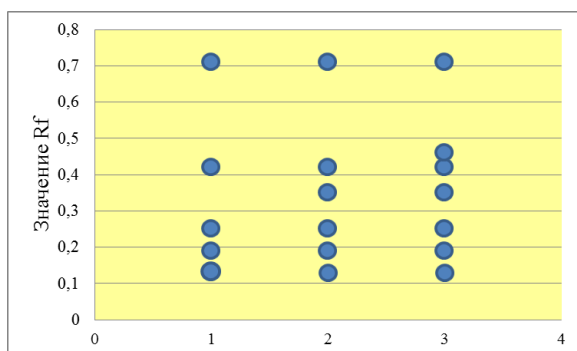


Рис. 1. Хроматографический профиль ЭМ герани душистой травы в разных концентрациях, г/мл: 1 - 0,001, 2 - 0,003, 3 - 0,005.

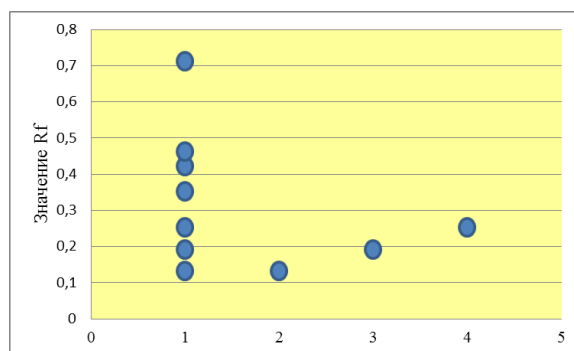


Рис. 2. Хроматографический профиль ЭМ герани душистой травы и стандартных образцов: 1 – гераниевое масло, 2 – гераниол, 3 – цитронеллол, 4 – линалоол.

Для основных веществ рассчитаны величины Rf: гераниола - $0,13 \pm 0,04$, цитронеллола – $0,19 \pm 0,01$, линалоола – $0,25 \pm 0,02$.

При анализе эфирного масла герани душистой травы **хромато-масс-спектрометрическим методом** идентифицировано 32 компонента, что составляет 98,4 % от цельного ЭМ, среди которых основные: гераниол (10,36%), цитронеллол (42,81%) и линалоол (3,56%). В качестве реперных компонентов выбраны кариофиллен (3,65%), так как он содержится в значительном количестве, и 2-фенилэтанол (0,80%), так как этот компонент не встречался в составе ЭМ герани душистой травы в других хемотипах (Fayed S.A., 2009, Boukhris M., 2012, Boukhatem M.N., 2013) (рис.3).

В результате анализа ЭМ лимона Мейера экзокарпия идентифицировано 14 компонентов (рис.4). При анализе содержания компонентов ЭМ установлено, что основным компонентом является лимонен (71,86%), кроме того в значительном количестве содержатся β -пинен (7,89%) и γ -терпинен (4,92%). Содержание 5 компонентов в концентрациях от 1,98 до 3,44 %: α -пинен (2,81%), мирцен (1,98%), п-цимол (3,44%), гераниаль (2,71%) и цис-п-мента-1(7),8-диен-2-о (1,99%). Остальные 6 компонентов обнаружены в концентрации менее 0,51 %.

На основании выбранных параметров для стандартизации ЭМ герани душистой и лимона Мейера разработана спецификация для проекта НД по следующим показателям: описание (внешний вид, цвет, прозрачность, запах); подлинность; числовые показатели (плотность, показатель преломления при 20 °С, угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С, кислотное число, эфирное число, массовая доля свободных спиртов, массовая доля карбонильных соединений); количественное определение основных компонентов; посторонние примеси (массовая доля фенолов, жирные и минеральные масла, спирт этиловый, вода); микробиологическая чистота.

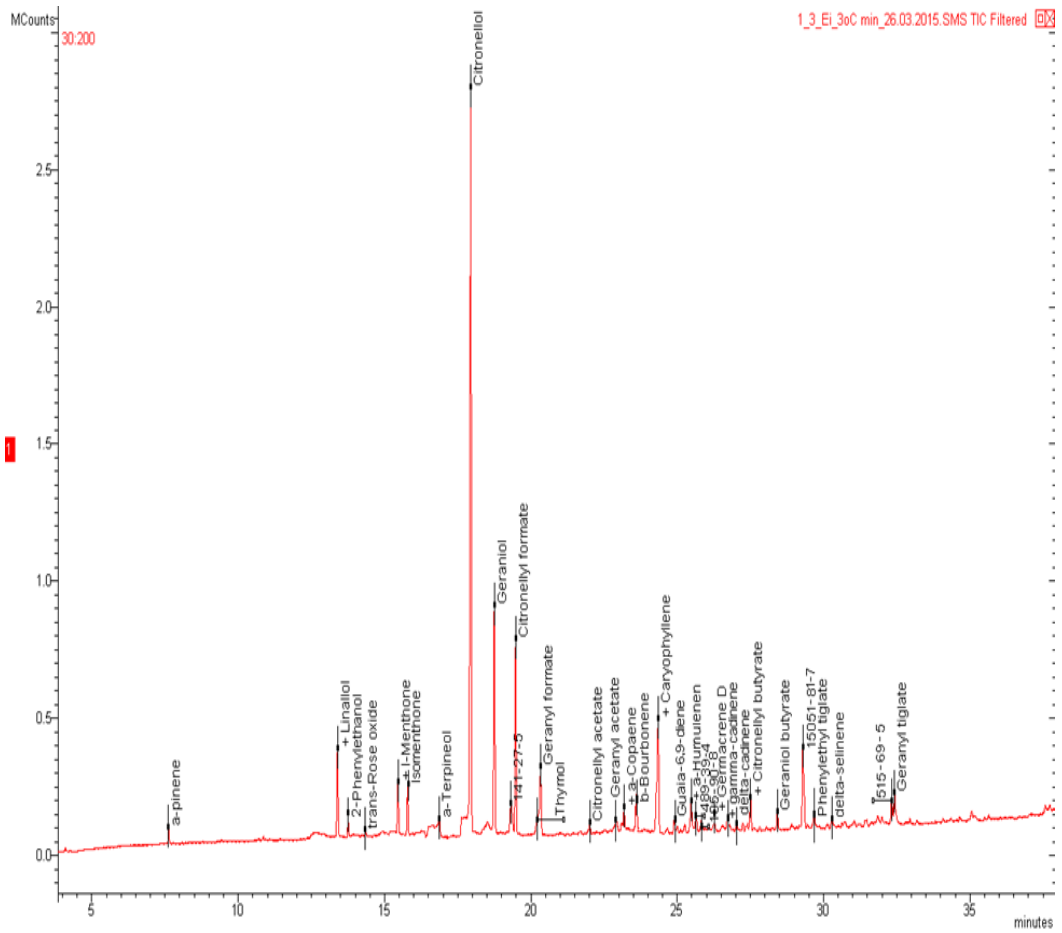


Рис. 3. Хроматограмма эфирного масла герани душистой травы

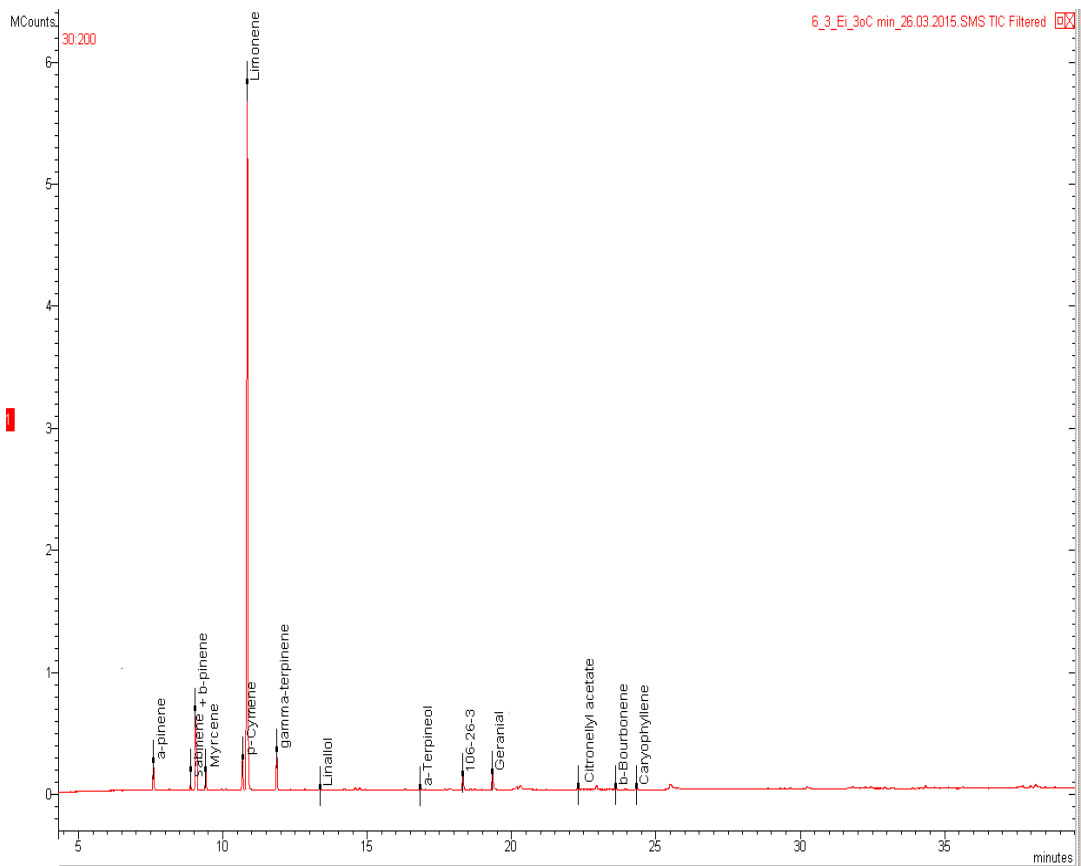


Рис. 4. Хроматограмма эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

Методом долгосрочных испытаний стабильности при хранении в стеклянных банках из тёмного стекла и температуре от 15 до 25 °С определён срок годности ЭМ герани душистой и лимона Мейера – 3 года.

Получение сверхкритических CO₂-экстрактов герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия

При выборе режима сверхкритической экстракции, учитывали выход основных компонентов ЭМ растений. По результатам качественного и количественного анализа выбраны рациональные технологические параметры: для герани душистой травы – длительность процесса 30 мин, 40 °С, 16 МПа (табл. 4); для лимона Мейера – 30 мин, 50 °С, 16 МПа (табл. 5).

Таблица 4

Содержание компонентов в CO₂-экстракте герани душистой травы в зависимости от технологических параметров, %

№	Компонент	Давление (МПа)			Температура (°С)			Время (мин)		
		8	16	24	40	50	60	15	30	60
1	линалоол	3,50 ±0,04	3,94 ±0,03	4,10 ±0,04	4,50 ±0,04	3,86 ±0,03	3,20 ±0,04	3,00 ±0,03	3,30 ±0,03	3,50 ±0,03
2	цитронеллол	41,20 ±0,03	42,60 ±0,04	43,00 ±0,02	42,10 ±0,03	42,60 ±0,03	42,30 ±0,03	42,00 ±0,03	43,10 ±0,03	42,30 ±0,03
3	гераниол	14,70 ±0,02	13,90 ±0,03	12,10 ±0,03	13,10 ±0,02	12,90 ±0,03	11,70 ±0,02	14,10 ±0,03	13,50 ±0,03	10,90 ±0,03

Таблица 5

Содержание компонентов в CO₂-экстракте лимона Мейера в зависимости от технологических параметров, %

№	Компонент	Давление (МПа)			Температура (°С)			Время (мин)		
		8	16	24	40	50	60	15	30	60
1	лимонен	66,95 ±0,03	73,01 ±0,05	71,05 ±0,05	66,75 ±0,05	75,38 ±0,05	73,21 ±0,03	65,75 ±0,06	75,28 ±0,05	73,2 ±0,05
2	γ-терпинен	10,15 ±0,04	11,08 ±0,03	11,46 ±0,04	10,05 ±0,04	11,18 ±0,03	11,16 ±0,05	10,15 ±0,04	11,28 ±0,05	11,56 ±0,05

Сравнительная характеристика эфирного масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия, полученного сверхкритической углекислотной экстракцией и традиционным методом

При сравнительном анализе компонентов ЭМ и углекислотного экстракта герани душистой травы установлено, что выход основных компонентов при СУЭ больше, чем в ЭМ, полученном дистилляцией. В CO₂-экстракте обнаружены дополнительные компоненты: камфен, β- пинен, сабинен и пиперетон. Также выявлено, что в CO₂-экстракте лимона Мейера присутствуют дополнительные 9 компонентов: α- туен, терпенолен, геранил ацетат и др. Выход основного компонента лимонена больше при сверхкритической экстракции по сравнению с традиционной технологией (механическим методом). Содержание γ - терпинена выше в 1,5 раза в CO₂-экстракте, чем в ЭМ.

Для принятия решения о целесообразности использования CO_2 -экстрактов в качестве фармацевтической субстанции необходимо проведение доклинических исследований, в частности, оценки токсичности и специфической фармакологической активности.

Разработка состава, технологии и стандартизация мягких желатиновых капсул с эфирными маслами герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия

В ходе комплексного фармакологического исследования в НИИ гастроэнтерологии Академии наук Республики Таджикистан Д. А. Азоновым и А. К. Холовым обоснованы составы капсул «Липовитол», содержащие ЭМ герани душистой травы и «Лимонеол», содержащие ЭМ лимона Мейера экзокарпия:

Состав на одну капсулу «Липовитол»:

Эфирное масло герани душистой травы 0,0400 г
 α -токоферола ацетата 0,0090 г
 ретинола ацетата 0,0069 г

Вспомогательное вещество:

подсолнечное масло до 0,5000 г

Состав на одну капсулу «Лимонеол»

Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия 0,0400 г

Вспомогательное вещество:

подсолнечное масло до 0,5000 г

При выборе оптимального состава ЖМ для получения МЖК с ЭМ ротационно-матричным методом составлены базовые отметки по технологическим характеристикам с использованием обобщенной функции желательности и приготовлены 24 образца ЖМ (табл. 6).

Таблица 6

Составы желатиновых масс и результаты их исследований

№ п.п.	Желатин: глицерин + вода до 100, %	Поведение желатиновой ленты на этапе запайки капсул	Образование капсул на этапе запайке	Распадаемость, мин	D
1	от 40 до 42 : от 20 до 26	ЖЛ плавилась при низких температурах	не формировались, не склеивались	-	0
2	44:22	ЖЛ выдерживала любую температуру инъекционного сегмента	качественные капсулы	15	0,7841
3	от 44 до 46 : от 24 до 26	ЖЛ выдерживала любую температуру инъекционного сегмента	шов капсул был тонкий	15	0,6852
4	46: от 20 до 22	ЖЛ плавилась при высоких температурах, капсулы частично не вырезались	у некоторых капсул шов склеивался с одной стороны	20	0,5477
5	46:24	ЖЛ выдерживала любую температуру инъекционного сегмента	качественные капсулы	20	0,6700
6	от 48 до 50 : от 20 до 26	ЖЛ плавилась при высоких температурах, капсулы частично не вырезались	у некоторых капсул шов склеивался с одной стороны	25	0

По критериям оценки ЖМ для капсулирования ротационно-матричным методом выбран оптимальный состав: желатин – $44\% \pm 1$, глицерин – $22\% \pm 1$, вода очищенная – $34\% \pm 1$.

На следующем этапе работы проведено комплексное исследование структурно-механических свойств желатиновых масс, имеющих в составе желатин разной прочности и регенерированной ЖМ. **Реологические параметры** измеряли при температуре $60,0\text{ }^\circ\text{C}$. Выбор температурного режима определён температурой ЖМ при подаче на барабаны для образования ЖЛ после термостатирования.

Экспериментальные данные показали, что при указанной температуре для всех образцов ЖМ характерно уменьшение значений эффективной вязкости при возрастании скорости сдвига, что характеризуют исследуемые образцы как структурированную дисперсную систему. Для более углублённого реологического исследования образцов ЖМ строили кривые кинетики деформации в координатах скорость сдвига от напряжения сдвига в области изменения скорости от малых к большим и от больших к малым, представленных на рис. 5. Наличие восходящих и нисходящих кривых указывают на то, что исследуемые образцы обладают тиксотропными свойствами.

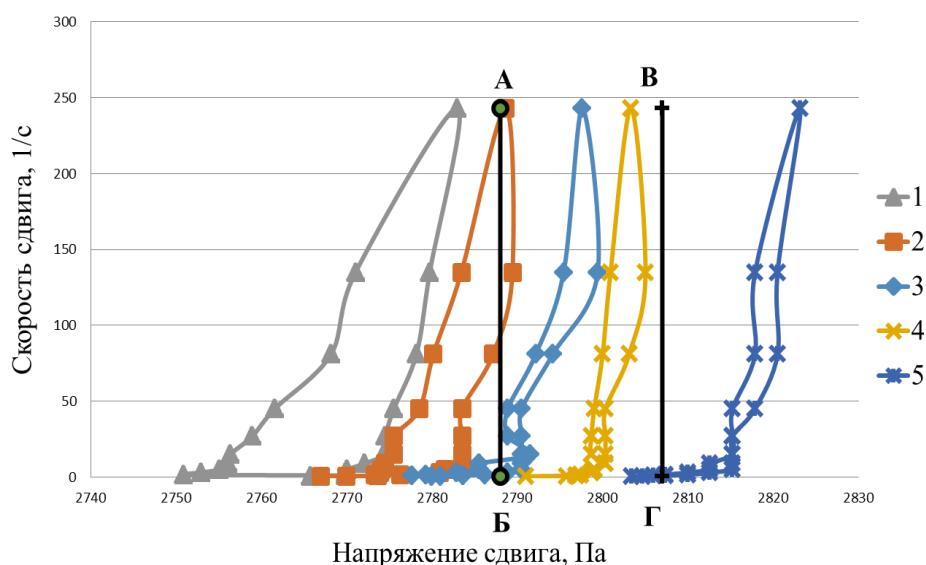


Рис. 5. Реограммы течения образцов желатиновой массы при температуре $60,0\text{ }^\circ\text{C}$

Как видно из представленных графиков, образец 1 и 2 имеют более широкие петли гистерезиса. В ходе производственного процесса из ЖМ этих образцов получались ЖЛ недостаточной прочности, которые разрывались во время движения между валиками, и капсулы с низким качеством спайки. Образцы 3 – 5 имеют более узкие петли гистерезиса. Капсулы, полученные из ЖМ 3 и 4 образцов, имели прочный шов и хорошо вырезались из ЖЛ. Из ЖМ образца 5 получались ЖЛ повышенной прочности, требовалась высокая температура для запайки капсул, в некоторых капсулах шов не склеивался с одной стороны, в результате капсулы получались жёсткими и хрупкими.

В результате работы определён реологический оптимум ЖМ, пригодной для получения капсул ротационно-матричным методом (АВ и ВГ) (рис. 5), который имеет

границы в диапазонах скоростей сдвига $0,556 - 243 \text{ с}^{-1}$ и развивающихся при этих скоростях диапазоны вязкости $11,46 - 5028,76 \text{ Па}\cdot\text{с}$ и напряжением сдвига $2788 - 2808 \text{ Па}$.

Механические свойства ЖЛ являются одними из основных параметров, которые влияют на эластичность, прочность и хрупкость капсул. В работе изучены модуль Юнга, удлинения при разрыве и предел прочности у ЖЛ разной толщины, а также ЖЛ из регенерированной ЖМ. Результаты измерения толщины ЖЛ до и после высыхания представлены в табл. 7.

Таблица 7

Результаты измерения толщины желатиновых лент

Образец	Толщина, мм	
	ЖЛ в момент формирования	ЖЛ после высыхания
лента 1	$0,50 \pm 0,07$	$0,47 \pm 0,02$
лента 2	$0,60 \pm 0,06$	$0,56 \pm 0,01$
лента 3	$0,70 \pm 0,05$	$0,69 \pm 0,01$
лента 4	$0,80 \pm 0,06$	$0,74 \pm 0,02$
лента 5 из регенерированной ЖМ	$0,50 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,03$

Установлено, что значения модуля Юнга для ЖЛ 1-4 находятся в интервале $35-45 \text{ МПа}$, тогда как лента 5, полученная из регенерированной ЖМ, обладает более высокой жёсткостью (среднее значение модуля Юнга 115 МПа) (рис. 6).

Наибольшее значение удлинения при разрыве демонстрируют образцы ЖЛ 1 и 2, у образца 5 – наименьшее. Таким образом, регенерированная ЖЛ обладает большей хрупкостью по сравнению с остальными образцами (рис. 7).

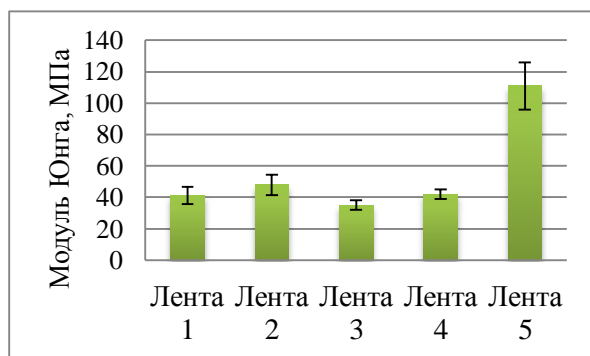


Рис. 6. Модуль Юнга ЖЛ после высыхания с доверительными интервалами (групповые средние значения в целом различаются значительно при $p < 0,05$)

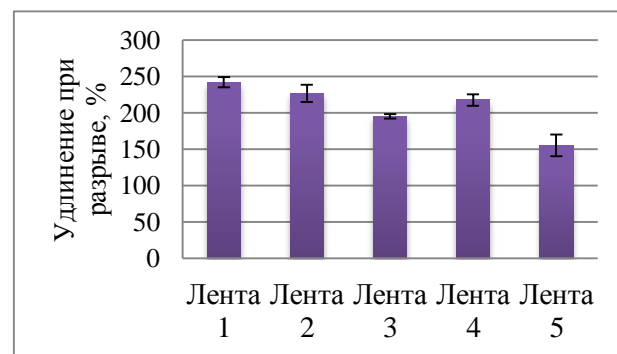


Рис. 7. Удлинение при разрыве ЖЛ после высыхания с доверительными интервалами (групповые средние значения в целом различаются значительно при $p < 0,05$)

Наибольший предел прочности характерен для образцов из ленты 4. Регенерированная желатиновая лента теряет свои прочностные характеристики в процессе переработки и обладает наименьшей прочностью (рис. 8).

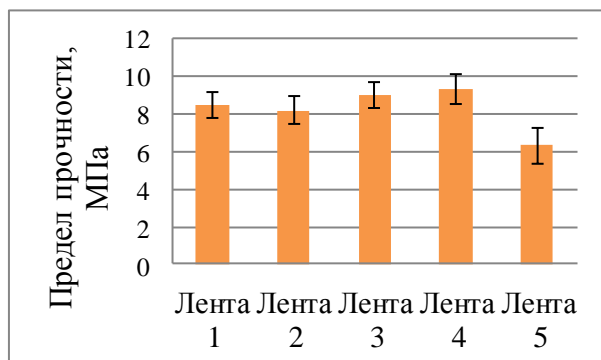


Рис. 8. Предел прочности ЖЛ после высыхания с доверительными интервалами (групповые средние значения в целом различаются значимо при $p < 0,05$)

Полученные результаты свидетельствуют, о том, что ЖЛ толщиной от 0,40 до 0,70 мм имеет схожие механические свойства и может использоваться в производстве МЖК. Таким образом, для сохранения прочности и эластичности оболочки капсулы во время производственного процесса и хранения, ЖЛ должны иметь следующие механические характеристики: модуль Юнга 35-50 МПа, удлинение при разрыве 210-240 %, предел прочности 8-9 МПа.

Технологическая схема производства мягких желатиновых капсул с эфирным маслом. В ходе работы разработана технологическая схема производства мягких желатиновых капсул с эфирным маслом (рис. 9), включающая следующие стадии:

- санитарная подготовка производства (ВР 1): подготовка производственных помещений, технологического оборудования, технологической одежды, персонала;
- подготовка сырья и упаковки (ВР 2): получение воды очищенной, взвешивание компонентов, подготовка упаковки;
- приготовление субстанции для капсулирования (ТП 3);
- приготовление желатиновой массы (ТП 4): растворение желатина, вакуумирование, стабилизация и фильтрование желатиновой массы;
- получение мягких желатиновых капсул (ТП 5): капсулирование, сушка, полировка, промывка калибровка и просмотр капсул;
- фасовка и упаковка капсул (УМО 6): фасовка капсул и упаковка готовой продукции.

Нормирование качества мягких желатиновых капсул и определение срока их хранения. Стандартизацию капсул «Липовитол» по показателю «количественное определение» проводили по содержанию в одной капсуле цитронеллола не менее 0,0164 г, гераниола не менее 0,0038 г, линалоола не менее 0,0010 г, фенилэтилового спирта не менее 0,0003 г; капсул «Лимонеол» по содержанию в одной капсуле лимонена не менее 0,0280 г. Показатель «однородность дозирования» определяли как среднее содержание эфирного масла в одной капсуле. По результатам проведённых исследований разработаны проекты НД на лекарственные препараты «Липовитол» и «Лимонеол» в МЖК. Спецификация капсул «Липовитол» представлена в табл. 8.

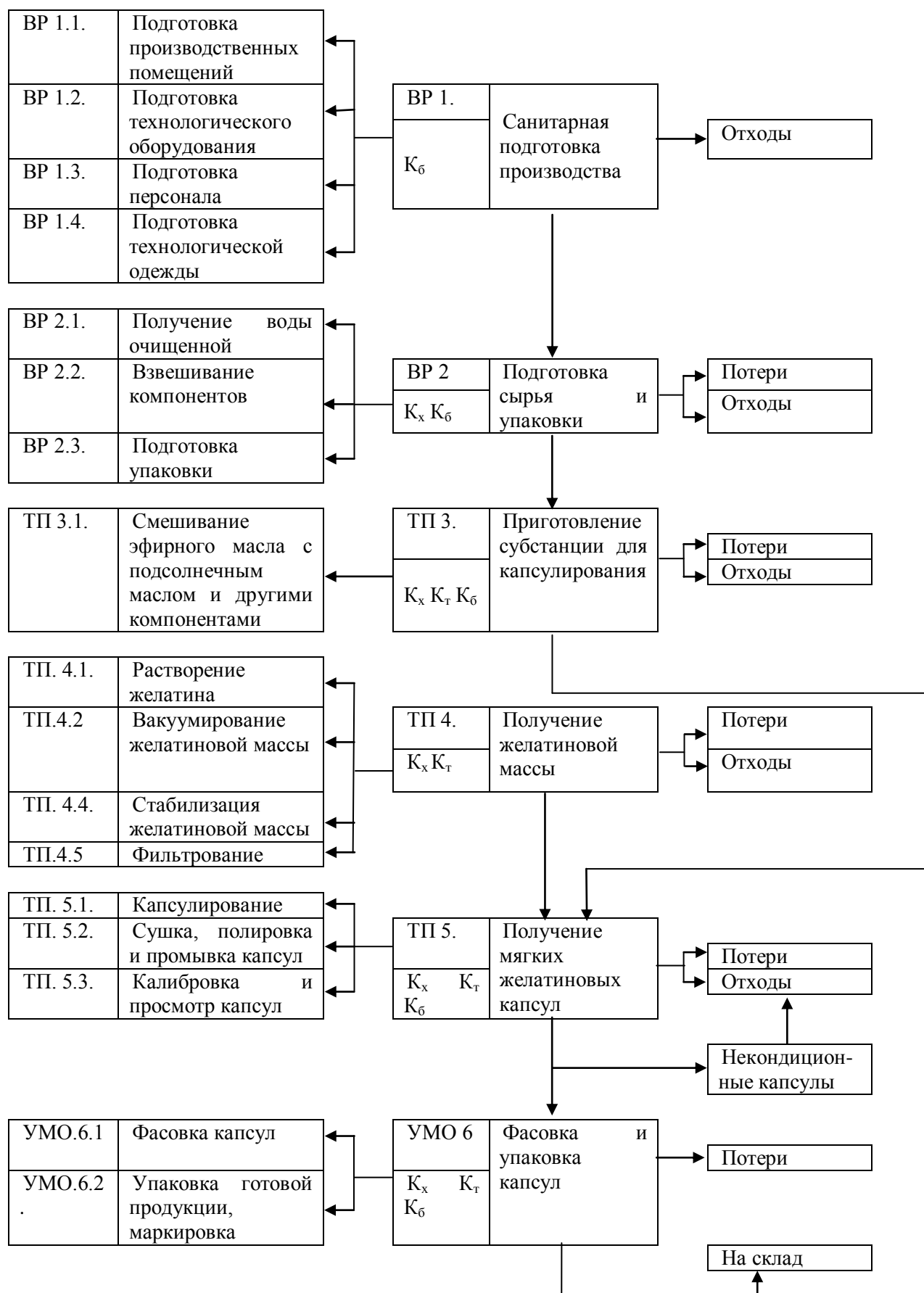


Рис. 9. Технологическая схема получения мягких желатиновых капсул с эфирным маслом травы герани душистой (K_t – контроль технологический, K_x – контроль химический, K₆ – контроль микробиологический)

СПЕЦИФИКАЦИЯ
«Липовитол». Мягкие желатиновые капсулы 0,50 г

Показатели	Методы	Нормы
Описание	ОФС.1.4.1.0005.15 Визуально	Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью жёлто-зелёного цвета со специфическим запахом
Подлинность 1. Компоненты эфирного масла 2. α-токоферола ацетата 3. ретинола ацетат	1. хромато-масс-спектрометрический метод 2. кач. реакции 3. кач. реакции	1. Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов 2. положительная 3. положительна
Количественное определение: 1. цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта 2. α-токоферола ацетата и ретинола ацетат	1. хромато-масс-спектрометрический метод 2. ВЭЖХ	1. Цитронеллола не менее 0,0168 г Гераниола не менее 0,0040 г, Линалоола не менее 0,0012 г, Фенилэтилового спирта не менее 0,0003 г 2. α-токоферола ацетата от 0,0081 до 0,0099 г ретинола ацетат 0,0062 до 0,0076 г.
Однородность дозирования эфирного масла	ОФС.1.4.2.0008.15 метод 2	В соответствии с требованиями
Однородность массы	ОФС.1.4.2.0009.15	В соответствии с требованиями
Распадаемость	ОФС.1.4.2.0013.15	не более 30 минут
Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0002.15	категория 3б
Упаковка		Полимерная банка
Хранение		от 15 до 25 °С
Срок годности		3 года (срок наблюдения)

Изучение стабильности капсул «Липовитол» и «Лимонеол» проводилось методом долгосрочных испытаний стабильности на основе трёх серий капсул, полученных в экспериментально-производственных условиях ротационно-матричным методом.

Образцы капсул хранились в стеклянных банках из тёмного стекла и полимерных банках при комнатной температуре и в условиях холодильника. При сравнении упаковочной тары и режима хранения установлено, что принципиальных различий в показателях качества МЖК нет, поэтому нами выбраны в качестве упаковочного материала – полимерные банки, температура хранения от 15 до 25 °С. Установленный срок годности составляет 3 года.

В процессе сушки и хранения капсул происходит миграция влаги из каркаса, следовательно, оболочка становится проницаема для легколетучих веществ – ЭМ (Иванова, 2013). В работе исследована проницаемость ЭМ в процессе хранения через желатиновую оболочку капсул по изменению количества основных компонентов ЭМ в капсуле в процессе хранения (табл. 9).

Динамика процесса миграции ЭМ и его компонентов через оболочку капсул
«Липовитол» и «Лимонеол»

Срок хранения	Количество ЭМ в капсуле Липовитол, г	Количество ЭМ в капсуле Лимонеол, г	Содержание действующих веществ, г			
			Липовитол			Лимонеол
			цитронеллол	гераниол	линалоол	лимонен
0	0,0410 ±0,0020	0,0400 ±0,0020	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0003	0,0290 ±0,0003
3 мес	0,0410 ±0,0020	0,0400 ±0,0020	0,0170± 0,0004	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0001	0,0290 ±0,0003
6 мес	0,0410 ±0,0020	0,0400 ±0,0010	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0004	0,0015± 0,0002	0,0290 ±0,0004
1 год	0,0410 ±0,0010	0,0400 ±0,0020	0,0170± 0,0002	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0003	0,0290 ±0,0002
1 год 6 мес	0,0410 ±0,0020	0,0400 ±0,0030	0,0170± 0,0003	0,0041± 0,0003	0,0012± 0,0001	0,0286 ±0,0003
2 года	0,0410 ±0,0010	0,0380 ±0,0010	0,0169 ±0,003	0,0041± 0,0003	0,0012± 0,0002	0,0286 ±0,0003
2 года 6 мес	0,0390 ±0,0010	0,0380 ±0,0020	0,0169± 0,0004	0,0040± 0,0002	0,0012± 0,0002	0,0285 ±0,0003
3 года	0,0390 ±0,0020	0,0380 ±0,0010	0,0169± 0,0004	0,0040± 0,0003	0,0012± 0,0002	0,0285 ±0,0002

За три года хранения капсул в закрытой полимерной банке содержание ЭМ в капсулах «Липовитол» уменьшилось на 4,88 %, в капсулах «Лимонеол» на 5 %, что свидетельствует о частичной миграции ЭМ через желатиновую оболочку, но содержание остаётся в пределах допустимых отклонений (±10%). Содержание основных компонентов ЭМ также остаётся в норме допустимых отклонений на протяжении всего срока хранения.

Дополнительно исследована миграция ЭМ через желатиновую оболочку капсул после вскрытия герметичной упаковки в течение 10 дней, так как предполагается, что потребитель для лечения будет использовать капсулы «Липовитол» и «Лимонеол» в указанном сроке. В течение 10 дней после вскрытия упаковки не наблюдалось изменение содержания ЭМ и его компонентов в капсуле, это свидетельствует об отсутствии миграции ЭМ через желатиновую оболочку за исследуемый период.

Биологические исследования капсул «Липовитол» и «Лимонеол»

Для подтверждения эффективности разработанных ЛФ изучены их токсичность и специфическая активность на базе отдела обмена веществ, иммунологии и фармакологии Государственного научно-исследовательского института питания Министерства промышленности и новых технологий Республики Таджикистан под руководством к.биол.н. А. К. Холова.

Исследования острой токсичности капсул «Липовитол» и «Лимонеол». На основе полученных результатов на белых мышах при внутрибрюшинном введении токсичность капсул «Липовитол» составила 0,8 г/кг, капсул «Лимонеол» 0,9 г/кг.

Соответственно, испытываемые препараты не обладают токсическим действием и могут быть отнесены к четвёртому классу (малотоксичные вещества).

Исследования желчегонных свойств капсул «Липовитол» и «Лимонеол». Проводили на белых крысах обоего пола с хронической формой интоксикации CCl_4 . В качестве препаратов сравнения использовали: капсулы «Жиروزиталь» (Республика Болгария), капсулы «Олиметин» (Российская Федерация), драже «Карсил» (Республика Болгария) (рис. 10.).

При 3-месячной интоксикации CCl_4 у крыс, на фоне лечения капсулами «Липовитол» и «Лимонеол» наблюдалось повышение объёма секретируемой жёлчи, что свидетельствует о положительном влиянии испытываемых препаратов на секреторную функцию печени. Также установлено, что исследуемые препараты способствовали нормализации химического состава жёлчи у подопытных крыс.

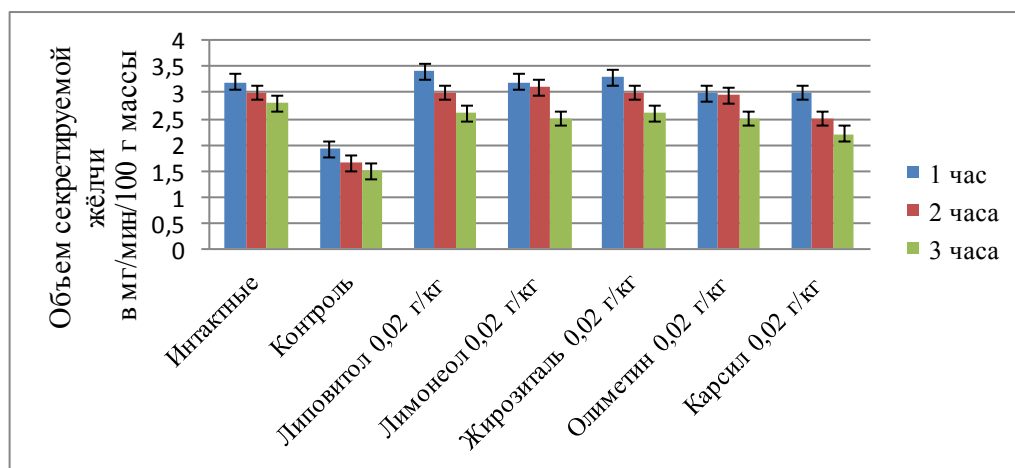


Рис. 10. Желчегонное действие испытываемых препаратов при хроническом токсическом поражении печени CCl_4 с доверительными интервалами (при $\gamma = 0.95$)

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. На основании сравнительного анализа выбран метод получения эфирного масла герани душистой травы - гидродистилляция с насадкой Клевенджера. Определены оптимальные условия проведения процесса: размер частиц сырья – 3 мм; время дистилляции – 210 мин; соотношение сырье: вода очищенная – 1:10. Предложенный метод позволил увеличить выход эфирного масла до 93%, что на 23 % больше традиционного метода получения.

2. Разработаны и валидированы методики испытания на подлинность и количественное определение основных компонентов изучаемых эфирных масел хромато-масс-спектрометрическим методом. Проведена стандартизация и составлена спецификация на эфирные масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия. Установлен срок их хранения в стеклянных банках из тёмного стекла и температуре от 15 до 25 °C – 3 года.

3. На основании комплексных исследований структурно-механических свойств желатиновой массы обоснован оптимальный состав оболочки для получения мягких капсул ротационно-матричным методом. Установлено, что реологический оптимум желатиновой массы характеризуется диапазонами вязкости 11,46 - 5028,76 Па•с и напряжением сдвига 2788 – 2808 Па. Желатиновые ленты имеют следующие механические характеристики: модуль Юнга 35 – 50 МПа, удлинение при разрыве 210 – 240 %, предел прочности 8 – 9 МПа.

Разработана технология мягких желатиновых капсул «Липовитол» и «Лимонеол», которая апробирована в производственных условиях ЗАО «РеалКапс» (акт апробации от 26 декабря 2017 г.).

4. Определены нормы качества и разработаны спецификации на мягкие желатиновые капсулы «Липовитол» и «Лимонеол». Установлен срок годности хранения капсул в полимерных банках при температуре от 15 до 25 °С – 3 года. Разработанные методики контроля качества капсул «Липовитол» и «Лимонеол» по показателям «Подлинность» и «Количественное определение» апробированы в РИЦ Фарматест ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (акт апробации от 15 ноября и 29 ноября 2017 г.).

5. В опытах на белых мышах установлено, что мягкие желатиновые капсулы «Липовитол» и «Лимонеол» не обладают токсическим действием и могут быть отнесены к четвёртому классу (малотоксичные вещества). На фоне лечения капсулами «Липовитол» и «Лимонеол» (после предварительной трёхмесячной интоксикации крыс СС1₄) у животных наблюдалось повышение объёма секретируемой жёлчи и нормализация её химического состава.

6. Разработаны проекты нормативной документации: «Эфирное масло герани душистой травы», «Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия», «Липовитол» - мягкие желатиновые капсулы с эфирным маслом герани душистой травы и «Лимонеол» - мягкие желатиновые капсулы с эфирным маслом лимона Мейера экзокарпия.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в проведении технологических исследований, разработка методик стандартизации и фармакологической оценке углекислотных экстрактов герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Романова, Е. И.* Гепатопротекторные свойства Липовитола при токсическом гепатите / Е. И. Романова, Е. И. Молохова, А. К. Холов // Сборник тезисов Первой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств». – Москва, 2013. – С. 100.

2. Регенерация желатиновой ленты при производстве капсул ротационно-матричным методом / Е. И. Романова, Е. И. Молохова, А. К. Холов [и др.] // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2013. – № 11. – С. 132 – 134.

3. **Разработка состава желатиновой массы для получения мягких желатиновых капсул / Е. И. Романова, Е. И. Молохова, А. К. Холов [и др.] // Медицинский альманах. – 2014. – № 2 (32). – С.135 – 138.**

4. Романова, Е. И. Сравнительная реологическая характеристика желатиновых масс для капсулирования / Е. И. Романова, А. Н. Хренков // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2014. – № 12. – С. 152 – 154.

5. Романова, Е. И. Технологические исследования мягких желатиновых капсул с эфирным маслом *Pelargonium graveolens* L'Her / Е. И. Романова, Е. И. Молохова, А. К. Холов // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2014. – № 14. – С. 23 – 27.

6. Пономарева, Е. И. Мягкие желатиновые капсулы с эфирным маслом *Citrus Limon* (L) Vurm: технология и оценка качества / Е. И. Пономарева, Е. И. Молохова, А. К. Холов // Инновации в медицине и фармации 2015: материалы дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых учёных. – Минск, 2015. – С. 900 – 904.

7. Пономарева, Е. И. Химический состав летучих компонентов углекислотного экстракта и эфирного масла *Pelargonium graveolens* L'Her / Е. И. Пономарева, Е. И. Молохова // Химия и технология растительных веществ: Тезисы докладов IX Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых. – М., 2015. – С. 142

8. Пономарева, Е. И. Идентификация компонентов эфирного масла герани душистой (*Pelargonium graveolens* L'Her) методом тонкослойной хроматографии / Е. И. Пономарева, Е. И. Молохова, А. К. Холов // Химия в интересах устойчивого развития. – 2015. – Т. 23, № 5. – С. 527 – 532.

9. Пономарева, Е. И. Применение эфирных масел в фармации / Е. И. Пономарева, Е. И. Молохова, А. К. Холов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4; URL: www.science-education.ru/127-21156

10. Пономарева, Е.И. Разработка условий определения компонентов эфирного масла *Pelargonium graveolens* L'Her методом газожидкостной хроматографии / Е. И. Пономарева, Е. Ю. Тумилович // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2015. – № 15 – С. 151 – 153

11. Пономарева, Е. И. Оценка эффективности сверхкритической углекислотной экстракции эфирного масла из герани душистой (*Pelargonium graveolens* L'Her) / Е. И. Пономарева, Е. И. Молохова // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. – 2017. – № 2. – С. 26 – 34.

12. Пономарева, Е. И. Изучение компонентного состава и противовоспалительных свойств эфирного масла лимона Мейера (*Citrus meyeri* Tan.) / Е. И. Пономарева, Е. И. Молохова, А. К. Холов // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2017. – № 20. – С. 122 – 125

13. Молохова, Е. И. Выбор рационального способа получения эфирного масла герани душистой / Е. И. Молохова, Е. И. Пономарева, А. К. Холов // Перспективы развития производства и применения иммунобиологических препаратов в XXI веке: Материалы конференции. – Пермь, 2018. – С. 315 – 319.

14. Механические и физико-технологические свойства желатиновых лент при производстве мягких желатиновых капсул / Е. И. Молохова, Е. И. Пономарева, А. А. Адамов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52, № 7. – С. 46 – 49.

Романова Е. И. * – далее Пономарева Е. И.