

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРМСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ПОНОМАРЕВА
Екатерина Ивановна

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук
по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук,
профессор Молохова Елена Игоревна

Научный консультант:
кандидат биологических наук,
Холов Абдулхаким Кувватович

Пермь, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Эфирные масла, содержащие монотерпены: растительные источники, химическая структура и фармакологические свойства	15
1.2. Эфирные масла флоры Республики Таджикистан	25
1.2.1. Эфирное масло герани душистой травы.....	25
1.2.2. Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия	30
1.3. Технологические аспекты создания лекарственных препаратов на основе эфирных масел.....	35
1.3.1. Современные методы выделения эфирных масел	35
1.3.2. Анализ ассортимента лекарственных препаратов, содержащих эфирное масло	39
1.3.3. Мягкие желатиновые капсулы как перспективная лекарственная форма.....	41
Выводы по главе 1	43
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	44
2.1. Объекты исследования.....	44
2.2. Вспомогательные вещества.....	46
2.3. Методы исследования.....	48
2.3.1. Получение эфирного масла герани душистой травы.....	48
2.3.2. Получение CO ₂ -экстрактов.....	52
2.3.3. Методы исследования эфирных масел	53
2.3.4. Получение мягких желатиновых капсул	59
2.3.5. Приготовление желатиновой массы.....	59

2.3.6. Получение желатиновых лент	60
2.3.7. Методы механических испытаний желатиновых лент	60
2.3.8. Реологические методы исследования желатиновой массы	61
2.3.9. Методы испытаний мягких желатиновых капсул «Липовитол» и «Лимонеол»	62
2.3.10. Фармакологические и токсикологические методы исследования	65
2.4. Приборы и оборудование.....	67
2.5. Метод обобщённой функции желательности.....	67
2.6. Математическое планирование эксперимента	68
2.7. Статистическая обработка результатов.....	68
ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И CO₂-ЭКСТРАКТОВ	
ГЕРАНИ ДУШИСТОЙ ТРАВЫ И ЛИМОНА МЕЙЕРА ЭКЗОКАРПИЯ.....	69
3.1. Выбор рационального способа получения эфирного масла герани душистой травы.....	69
3.1.1. Сравнительная характеристика эфирного масла герани душистой травы полученного различными методами дистилляции.....	69
3.2. Оптимизация метода получения эфирного масла герани душистой травы.....	75
3.3. Получение сверхкритических CO ₂ - экстрактов герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия	79
3.3.1. Сравнительная характеристика эфирных масел герани душистой травы, полученных сверхкритической углекислотной экстракцией и дистилляцией.....	83
3.3.2. Сравнительная характеристика эфирного масла лимона Мейера экзокарпия, полученного сверхкритической углекислотной экстракцией и методом прессования.....	87

Выводы по Главе 3.....	90
ГЛАВА 4. ВЫБОР ПАРАМЕТРОВ КАЧЕСТВА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ГЕРАНИ ДУШИСТОЙ ТРАВЫ И ЛИМОНА МЕЙЕРА ЭКЗОКАРПИЯ	91
4.1. Выбор параметров качества и стандартизации эфирного масла герани душистой травы.....	91
4.1.1. Определение показателя «Описание»	91
4.1.2. Определение подлинности эфирного масла герани душистой травы	93
4.1.3. Определение числовых показателей эфирного масла герани душистой травы.....	103
4.1.4. Количественное определение основных компонентов эфирного масла герани душистой травы	106
4.1.5. Определение посторонних примесей в эфирном масле герани душистой травы.....	107
4.2. Выбор параметров качества и стандартизации эфирного масла лимона Мейера экзокарпия.....	108
4.2.1. Определение показателя «Описание»	108
4.2.2. Определение подлинности эфирного масла лимона Мейера экзокарпия	109
4.2.3. Определение числовых показателей качества эфирного масла лимона Мейера экзокарпия	111
4.2.4. Количественное определение основного компонента эфирного масла лимона Мейера экзокарпия	112
4.2.5. Определение посторонних примесей в эфирном масле лимона Мейера экзокарпия.....	112

4.3. Спецификации на эфирные масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия.....	113
Выводы по главе 4.....	114
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ТЕХНОЛОГИИ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЯГКИХ ЖЕЛАТИНОВЫХ КАПСУЛ С ЭФИРНЫМИ МАСЛАМИ ГЕРАНИ ДУШИСТОЙ ТРАВЫ И ЛИМОНА МЕЙЕРА ЭКЗОКАРПИЯ.....	115
5.1. Исследование по определению рационального состава желатиновой массы для получения оболочки мягких капсул.....	116
5.2. Сравнительная реологическая характеристика желатиновых масс ...	120
5.3. Оценка целесообразности использования регенерированной желатиновой массы	123
5.4. Механические свойства оболочки мягких желатиновых капсул	125
5.5. Технологическая схема производства мягких желатиновых капсул с эфирным маслом.....	130
5.6. Нормирование качества мягких желатиновых капсул и определение срока их хранения.....	137
5.6.1. Стандартизация капсул «Липовитол» и «Лимонеол».....	137
5.6.2. Исследования стабильности капсул «Липовитол» и «Лимонеол» при хранении.....	139
5.7. Доклинические исследования капсул «Липовитол» и «Лимонеол» ..	143
5.7.1. Исследования острой токсичности капсул «Липовитол» и «Лимонеол».....	143
5.7.2. Исследование желчегонных свойств капсул «Липовитол» и «Лимонеол».....	144
5.7.3. Исследование желчегонных свойств капсул «Липовитол» и «Лимонеол» при токсическом гепатите	147

Выводы по главе 5.....	152
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	154
СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ	156
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	157
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	184
Приложение 1. Ассортимент лекарственных препаратов, содержащих эфирное масло	185
Приложение 2. Отчёт о валидации аналитических методик «Подлинность» и «Количественное определение» основных компонентов в эфирном масле герани душистой травы	189
Приложение 3. Отчет о валидация аналитических методик «Подлинность» и «Количественное определение» основных компонентов в эфирном масле лимона Мейера экзокарпия	203
Приложение 4. Результаты исследования стабильности эфирного масла герани душистой травы при хранении	212
Приложение 5. Результаты исследования стабильности эфирного масла лимона Мейера экзокарпия при хранении.....	217
Приложение 6. Результаты исследования стабильности препарата «Липовитол» при хранении в различных условиях.....	221
Приложение 7. Результаты исследования стабильности препарата «Лимонеол» при хранении в различных условиях	234
Приложение 8. Акты внедрения	243
Приложение 9. Проекты нормативной документации.....	252

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Благодаря уникальным природно-климатическими условиям, Республика Таджикистан является производителем широкой номенклатуры эфирных масел: гераневого, лимонного, кориандрового и др., которые содержат биологически активные вещества – монотерпены. В НИИ гастроэнтерологии Академии наук Республики Таджикистан А. К. Холовым и Д. А. Азоновым [1] 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 [30], для плодов цитрусовых используют механический способ [12]. Одним из современных способов экстракции для эфиромасличного растительного сырья является сверхкритическая углекислотная экстракция [4]. Согласно литературным данным выход эфирного масла герани душистой травы на промышленном оборудовании составляет 64-78%. С целью повышения выхода эфирного масла необходимо провести выбор способа и оптимизации условий его получения.

Для масляных растворов эфирных масел с учётом возможной области медицинского применения в качестве лекарственной формы рационально использовать мягкие желатиновые капсулы, преимущества которых заключаются в способности сохранять и доставлять липофильные вещества в легкодоступной форме – растворе [25]. 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 экзотарпия.

Степень разработанности темы исследования

Лечебные свойства и методы получения эфирных масел известны ещё в древности. Фармакологические свойства эфирного масла герани душистой травы изучены многими авторами (Лебединским В.П., 1944, Шишкиным О.Н., 1974, Вичкановой С.А., 1973, S.A.Fayed, 2009, S.Cavar, 2012, M.Boukhris, 2012, 2013, G.B.Zore, 2011, A.V.Hsouna, 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.V., 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.Uckoо, 2015). При этом установлено, что выход и компонентный состав эфирного масла существенно зависит от хемотипа растения, поэтому, актуально изучение сырья, собранного в Республике Таджикистан.

В работе Д.А. Азонова (1987) показана возможность получения капсул с эфирными маслами лимона, герани душистой, кориандра и ферулы капельным методом, однако системных исследований по научно-экспериментальному обоснованию, разработке технологии и стандартизации 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 экзотарпия (*Citrus meyeri Tan*) из сырья, заготовленного в Республике Таджикистан.

Задачи исследования:

1. Установить метода и оптимальные условия получения эфирного масла герани душистой травы;
2. Провести нормирование качества эфирного масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия и 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 и изучить условия и сроки их хранения;
5. Изучить общую токсичность и специфическую активность разработанных лекарственных форм.
6. Разработать нормативной документации 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 мягких желатиновых капсул ротационно-матричным методом.

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

результате идентифицировано 32 компонента и установлено содержание основных компонентов: 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 – лимонена (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

Теоритическая значимость работы заключается в разработке подходов по выбору состава желатиновой массы для получения капсул ротационно-матричным методом.

Оптимизирован метод гидродистилляции для получения эфирного масла герани душистой травы в аппарате Клевенджера. 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 методов проведена комплексная 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 желатиновых масс установлено, что при получении мягких желатиновых 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 – «Липовитол».

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 и 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 и результаты определения вида упаковки, условий и сроков их хранения.

- результаты исследований 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 Студенческого краевого конкурса научных проектов по программе «УМНИК» (г. Пермь, 2013); научно-практической конференции с международным участием ПГФА (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 в аппарате 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 экзкарпия 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 ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России на факультете очного обучения при изучении темы «Капсулированные препараты» по дисциплине промышленная технология лекарств на кафедре промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии (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, осуществил сбор и анализ литературных данных, выполнил статистическую обработку полученных данных, анализ результатов исследования, подготовку статей к публикации, написание глав диссертационной работы и автореферата.

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 формуле специальности 14.04.01 - технология получения лекарств. Результаты проведённого исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно 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, паспорта специальности - технология получения лекарств.

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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эфирные масла, содержащие монотерпены: растительные источники, химическая структура и фармакологические свойства

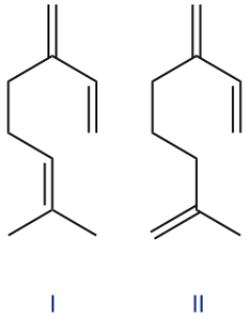
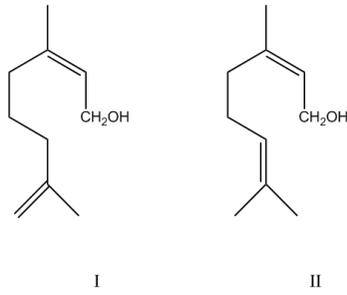
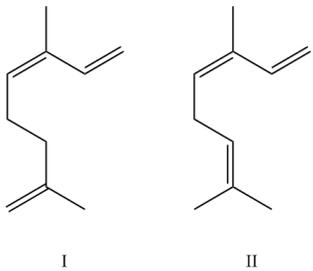
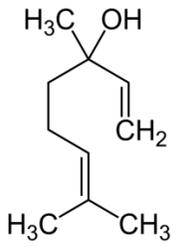
Эфирные масла (ЭМ) – продукты растительного происхождения, являющиеся многокомпонентными смесями летучих душистых веществ, способные перегоняться с водяным паром [18, 65].

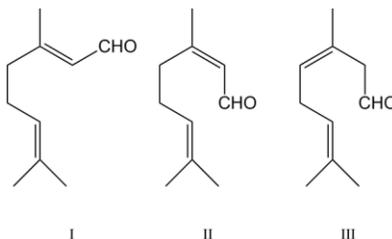
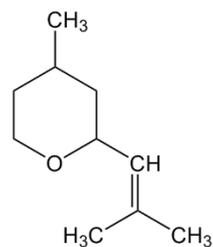
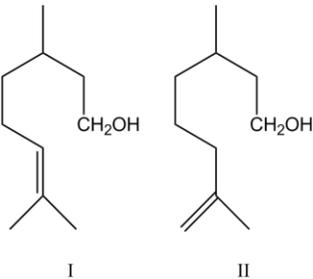
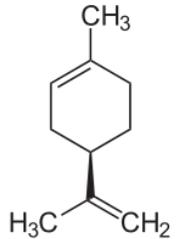
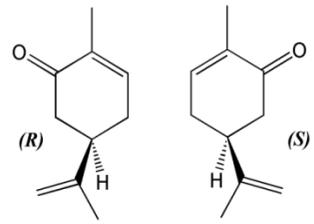
Основными компонентами большинства ЭМ растений являются монотерпены, которые в количественном отношении занимают доминирующее положение среди всех терпенов [88, 143].

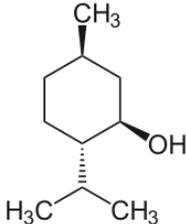
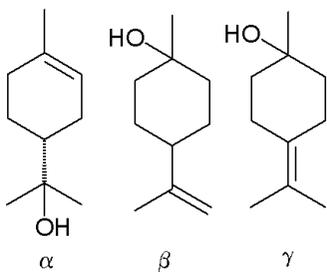
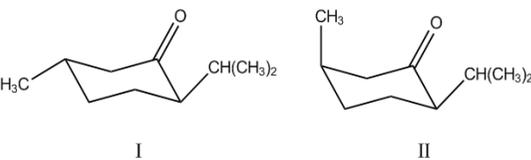
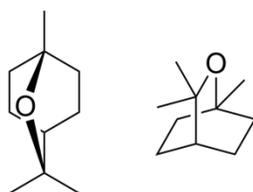
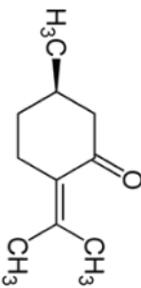
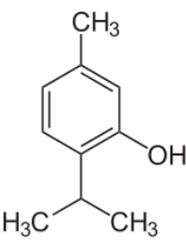
Классификация монотерпенов основана на строении углеродных скелетов молекул. В зависимости от степени циклизации и структуры цикла выделяют: ациклические, моноциклические и бициклические [66, 88]. Основные структурные типы монотерпенов и их растительные источники представлены в табл. 1.

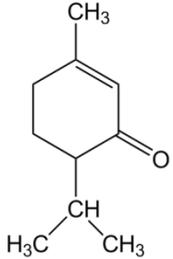
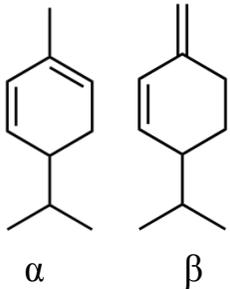
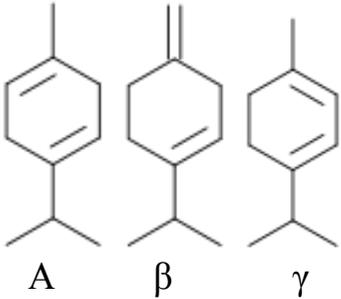
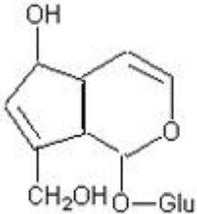
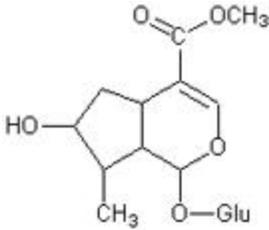
Ациклические природные монотерпены представляют собой ненасыщенные углеводородные соединения, их углеродный скелет имеет структуру 2,6-диметилоктана или 2,7-диметилоктана. Эти вещества различаются между собой количеством и положением двойных связей, а также присутствием функциональных групп: спиртовых, карбонильных, карбоксильных [87, 88]. В значительных концентрациях ациклические монотерпены содержатся в таких растениях, как *Artemisia absinthium* L., *Thymus serpyllum* L., *Anethum graveolens* L., *Coriandrum sativum* L. *Geranium sibiricum* L., *Pelargonium graveolens* L'Her., *Melissa officinalis* L., *Cymbopogon nardus* L. и *Cymbopogon winterianus* Jowitt., *Rosa damascena* Mill. и др.

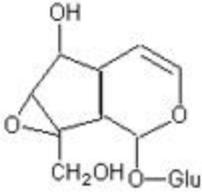
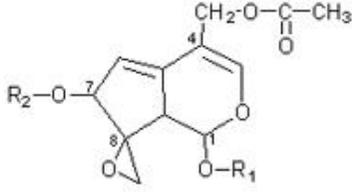
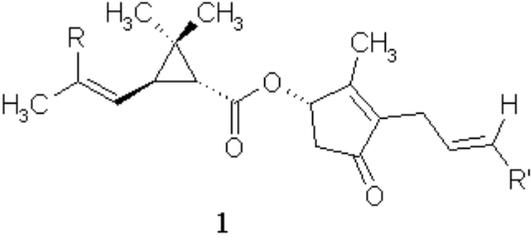
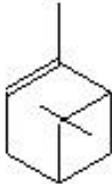
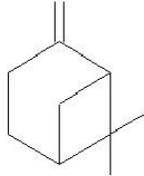
Типичные представители монотерпенов

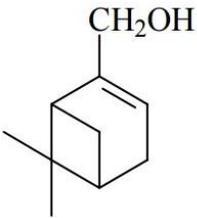
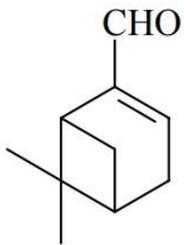
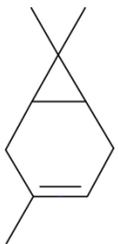
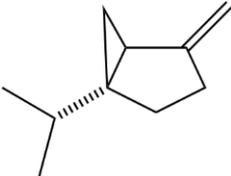
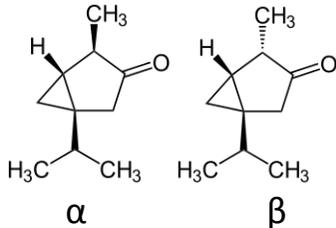
Соединение	Структура	Источник	Соединение	Структура	Источник
Ациклические монотерпены					
1	2	3	4	5	6
Мирцен	 <p style="text-align: center;">I II</p>	<i>Artemisia absinthium</i> L [77], <i>Thymus serpyllum</i> L [111] <i>Anethum graveolens</i> L.[140], <i>Coriandrum sativum</i> L.[59]	Гераниол Нерол	 <p style="text-align: center;">I II</p>	<i>Geranium sibiricum</i> L. [90], <i>Melissa officinalis</i> L [32] <i>Cymbopogon nardus</i> L. u <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt [39]
Оцимен	 <p style="text-align: center;">I II</p>	<i>Origanum vulgare</i> L.[177], <i>Artemisia scoparia</i> Waldst.et Kit [107], <i>Aegopodium podagraria</i> L. [49]	Линалоол		<i>Ocimum basilicum</i> [62], <i>Lavandula spica</i> L. [116], <i>Filipendula Ulmaria</i> (L) Maxsim [40], <i>Myrthus communis</i> L. [72]

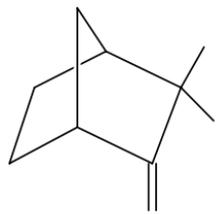
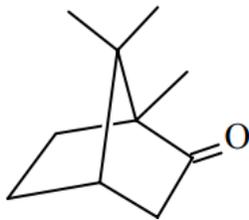
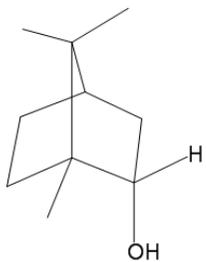
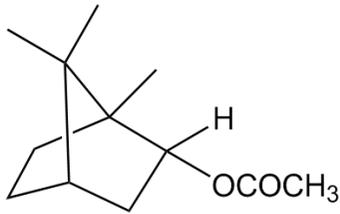
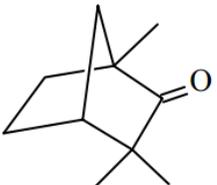
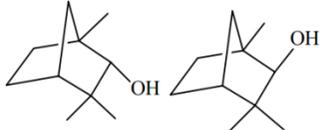
1	2	3	4	5	6
Цитраль Цитронелаль		<i>Melissa officinalis</i> [7], <i>Ocimum basilicum</i> L. [106] <i>Litsea cubeba</i> [154] <i>Cymbopogon citratus</i> [92]	Розеноксид		<i>Cymbopogon winterianus</i> [182], <i>Rosa damascena</i> Mill [166], <i>Pelargonium graveolens</i> L'Her [94]
Цитронеллол		<i>Cymbopogon nardus</i> L. u <i>Cymbopogon winterianus</i> [39], <i>Rosa damascena</i> Mill [166] <i>Pelargonium graveolens</i> L'Her [94]			
Моноциклические монотерпены					
Циклогексановые					
Лимонен		<i>Myrthus communis</i> L [72], <i>Citrus limon</i> L. [12], <i>Pinus pithyusa</i> Steven [41].	Карвон		<i>Carum carvi</i> L. [210], <i>Mentha spicata</i> L.[148], <i>Anethum graveolens</i> L., [184]

1	2	3	4	5	6
Ментол		<i>Mentha piperita</i> L. [78]	Терпинеолы		<i>Eucalyptus globulus</i> [177] <i>Artemisia frigida</i> Willd. [121] <i>Santolina chamaecyparissus</i> L. [60], <i>Thymus baicalensis</i> Serg [97]
Ментон		<i>Mentha piperita</i> L. [78], <i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam [2], <i>Pelargonium graveolens</i> L'Her [94]	1,8-цинеол		<i>Eucalyptus globulus</i> [177] <i>Laurus nobilis</i> L. [57], <i>Myrthus communis</i> L [72], <i>Mentha spicata</i> L. [148]
Пулегон		<i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam [63] <i>Agastache rugosa</i> L [26] <i>Ziziphora pamiroalaica</i> Lam. [2]	ТИМОЛ		<i>Thymus vulgaris</i> L. [208] <i>Anethum graveolens</i> L [184]., <i>Carum copticum</i> L. [184]

1	2	3	4	5	6
Пиперитон		<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (L.) Spreng. [155], <i>Mentha spicata</i> L. [206], <i>Eucalyptus dives</i> [176]	Фелландрен		<i>Angelica archangelica</i> L. [138] <i>Xylopiya aethiopica</i> [172], <i>Eucalyptus dives</i> [176]
α-, β- и γ-терпинены		<i>Chenopodium ambrosioides</i> L. [183], <i>Black Zira</i> [199], <i>Origanum majorana</i> L. [170], <i>Citrus meyeri</i> Tan [195]			
Циклопентановые					
Аукубин		<i>Euphrasia brevipila</i> [118], <i>Plantago major</i> L. [33], <i>Veronica officinalis</i> L. [76]	Логанин		<i>Menyanthes trifoliata</i> L. [34]

1	2	3	4	5	6
Каталпол		<i>Veronica officinalis</i> L. [76]	Валепотриаты		семейство <i>Valerianaceae</i> [122]
Циклопропановые					
Эфиры хризантемовой кислоты	 1	<i>Tanacetum cinerariifolium</i> [193] <i>Chrysanthemum morifolium</i> [178]			
Бидиклические монотерпены					
Пинены					
α -пинен		<i>Myrthus communis</i> L [72], <i>Pinus pithyusa</i> Steven [41], <i>Pinus silvestris</i> [41]	β -пинен		<i>Pinus pithyusa</i> Steven[41]. <i>Mentha spicata</i> L. [206], <i>Xylopi aethiopica</i> [172]

1	2	3	4	5	6
Миртенол		<i>Salvia multicaulis</i> Vahl. [203], <i>Sedum Microcarpum</i> (Sm.) [147], <i>Hyssopus officinalis</i> L. [98]	Миртеналь		<i>Artemisia dracunculus</i> L. [108] <i>Hyssopus officinalis</i> L. [120], <i>Cuminum cyminum</i> L. [161]
Караны					
2-карен		<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (L.) Spreng. [155]	3-карен		<i>Pinus pithyusa</i> Steven [41], <i>Pinus silvestris</i> [41], <i>Larix sibirica</i> Ldb. [129]
Туйяны					
Сабинен		<i>Juniperus oblonga</i> M. Beb [3] <i>Cupressus torul</i> [70] <i>Artemisia absinthium</i> L. [130]	α и β-туйен		<i>Photinia serrulata</i> [163] <i>Juniperus oblonga</i> Bieb. [85], <i>Coriandrum sativum</i> L. [42]

1	2	3	4	5	6
Камфаны и изокамфаны					
Камфен		<i>Thymus serpyllum L [111], Valeriana officinalis L. [50], Schisandra chinensis (Turcz.) Baill. [64]</i>	Камфора		<i>Cinnamomum camphora [165], Artemisia frigida Willd. [121], Thymus serpyllum L [111]</i>
Борнеол		<i>Artemisia frigida Willd. [121] Thymus baicalensis Serg [97] Artemisia sericea Weber ex Stechm [58]</i>	Борнилацетат		<i>Valeriana officinalis L [50] Pinus silvestris [41], Artemisia frigida Willd. [121] Artemisia sericea Weber ex Stechm [58]</i>
Фенханы					
α -фенхон		<i>Foeniculum vulgare L [162] Thuja plicata [61]. Lavandula stoechas L. [188]</i>	α и β -фенхол		<i>Tarchonanthus camphoratus L. [169]</i>

Именно ациклические монотерпены, придают растениям своеобразные запахи. Например, мирцен и оцимен создают аромат специй, гераниол – основной компонент запаха розы, пиона, ландыша [114, 130]. Установлено, что за последние десятилетия ациклические монотерпены обладают разнообразными фармакологическими свойствами: антигрибковой активностью, антисептическим, болеутоляющим, антигистаминным и гипотензивным действиями, стимулируют работу желудочно-кишечного тракта [7, 57] и обеспечивают выраженный седативный эффект [7, 96].

Моноциклические монотерпеновые спирты, сложные эфиры и кетоны - химические соединения, составляющие основу многих ЭМ [87]. Среди них группа производных **пара-ментана** (ментол и ментон), содержатся в *Mentha piperita L.*, *Ziziphora clinopodioides Lam.*, *Pelargonium graveolens L'Her* и др. растениях, группа производных **пара-ментена** (терпинеолы, пулегоны и пулеголы, пиперитоны, пиперитенон и пиперитолы) содержатся в *Eucalyptus globulus*, *Ziziphora clinopodioides Lam.*, *Agastache rugosa L.*, *Ziziphora pamiroalaica Lam* и др. растениях, а также **пара-ментадиена** (карвеол, дигидрокарвеол и их ацетаты, карвон и его производные карвенон и дигидрокарвон) содержатся в *Carum carvi L.*, *Mentha spicata L.*, *Anethum graveolens L.* и др. растениях [156]. Среди других производных ментана встречаются его карбонильные производные, циклические эфиры (1,8-цинеол), лактоны и др. [82], например в *Eucalyptus globulus*, *Laurus nobilis L.*, *Myrthus communis L.*, *Mentha spicata L.*

Для моноциклических монотерпенов установлено, что они обладают противовирусным [207], акарицидным [145], антимикробным [200], антигрибковым [146] и другими фармакологическими эффектами.

Особо место среди соединений ЭМ занимают **циклопентановые монотерпены** (группа иридоидов), являющиеся производными иридана и промежуточными продуктами в биосинтезе алкалоидов [85, 143]. В растениях иридоиды присутствуют, как правило, в виде гликозидов, в свободном виде они легко окисляются кислородом воздуха, с чем связано

почернение лекарственного растительного сырья при сушке [87]. Иридоиды распространены в семействах *Valerianaceae*, *Menyanthaceae*, *Gentianaceae*, *Lamiaceae*, *Plantaginaceae* и др., обладают разнообразными фармакологическими свойствами: антигрибковым, антибактериальным, противовоспалительным, желчегонным и др. [7, 89, 168].

Из растений семейства *Crysanthemum* выделены эфиры хризантемовой кислоты, которые представляют третью группу моноциклических монотерпенов – **циклопропаны** [88]. Эти эфиры обладают уникальной инсектицидной активностью при отсутствии токсичности по отношению к теплокровным животным. На основе синтеза соединений подобной структуры в настоящее время развилась целая отрасль пестицидного производства – химия и применение пиретроидов [87].

В зависимости от структуры **монотерпены с бициклическим** углеродным скелетом подразделяются на следующие семейства: бицикло[3.1.1]гептановые (семейство пинана), бицикло[2.2.1]гептановые (семейство борнана, камфана и фенхана), бицикло[4.1.0]гептана (семейство карана) и бицикло[3.1.0]гексана (семейство туйана) [66, 88].

Основные типы монотерпенов с бициклическим углеродным скелетом представлены в живицах хвойных, например в *Pinus pithyusa Steven*, *Pinus silvestris* и др., кроме того в малых дозах эти терпены входят в состав ЭМ *Salvia multicaulis Vahl.*, *Sedum Microcarpum Sm.*, *Hyssopus officinalis L.*, *Artemisia dracunculus L.*, *Hyssopus officinalis L.*, *Cuminum cyminum L.* и др. растений.

Последнее десятилетие характеризуется повышением интереса к ЭМ при производстве лечебно-профилактических средств, однако в основном они применяются в качестве вспомогательных веществ, в частности, как корригенты вкуса и запаха [64, 86]. К настоящему времени идентифицировано более 500 монотерпенов [88], которые обладают разнообразным фармакологическим действием [89, 156], что делает актуальным расширение использования ЭМ в качестве фармацевтической

субстанции. Активно ведутся исследования по изучению специфической фармакологической активности ЭМ лимона [196], можжевельника [164], герани душистой [1], чернушки посевной [52, 56, 103], розмарина [53], лаванды [54] и др., что показывает перспективность создания на их основе лекарственных препаратов (ЛП).

1.2. Эфирные масла флоры Республики Таджикистан

Располагая уникальными природно-климатическими условиями, Республика Таджикистан является производителем широкой номенклатуры ЭМ: гераневое, лимонное, кориандровое, ферулы и др., которые содержат биологически активные вещества (БАВ) – монотерпены. Наибольший объём среди промышленного производства занимают ЭМ герани душистой и лимона Мейера, что показывает актуальность их изучения для внедрения в медицинскую практику.

1.2.1. Эфирное масло герани душистой травы

В Республике Таджикистан герань душистую выращивают в промышленных масштабах и ежегодно производят около 3,5 тонн ЭМ герани из сорта *Pelargonium graveolens L. Her.* [14] на базе г. Турсунзаде [75]. ЭМ герани получают паровой дистилляцией свежих или слегка подсушенных травянистых частей из различных сортов *Pelargonium* x ssp [21].

1.2.1.1 Ботаническая характеристика и географическое распространение герани душистой

Синонимы: *P. roseum* Willd., *P. terebinthinaceum*, *P. asperum*, *P. intermedium*, *Geranium radula* [160, 187].

Ботаническое описание

Pelargonium graveolens L'Hér прямостоячий, сильно разветвлённый кустарник, который может достигать до 1,3 м в высоту. Молодые стебли травянистые и зелёные сильно опушены, с возрастом древеснеют и приобретают коричневый цвет. Листья 5–7-лопастные зелёные; лопасти

глубоковыемчатые (почти перисто-разделённые), опушённые с обеих сторон, с приятным сильным ароматом. Цветки разнообразной окраски от белого до розовато-фиолетового, собраны в зонтиковидные соцветия из 2-7 цветков, которые имеют семь плодородных тычинок (см. рис. 1) [187, 190].

Географическое распространение

Во всем мире герань душистую, культивируют для декоративных целей. Выделяют несколько регионов, в которых герань душистую выращивают для производства масла: остров Реюньон (масло производится из душистой герани типа Bourbon/Бюурбон), Марокко, Испания, Франция, Алжир, Сирия и Республика Таджикистан [75].



А

Б

Рис. 1. *Pelargonium graveolens* L'Her, А – соцветие, Б - листья

1.2.1.2 Химический состав эфирного масла герани душистой травы

Основным сырьём для получения ЭМ являются листья и цветки герани. [75, 179, 190]. Отмечается растущий интерес со стороны зарубежных и отечественных учёных к изучению БАВ травы герани душистой, установлено, что основным классом действующих веществ в ЭМ являются монотерпены около 65-70%, [158, 160, 179]. Среди них доминирующими компонентами являются линалоол, гераниол и цитронеллол (рис. 2): смесь этих терпеновых спиртов и их сложных эфиров составляет 70-80% [157, 160].

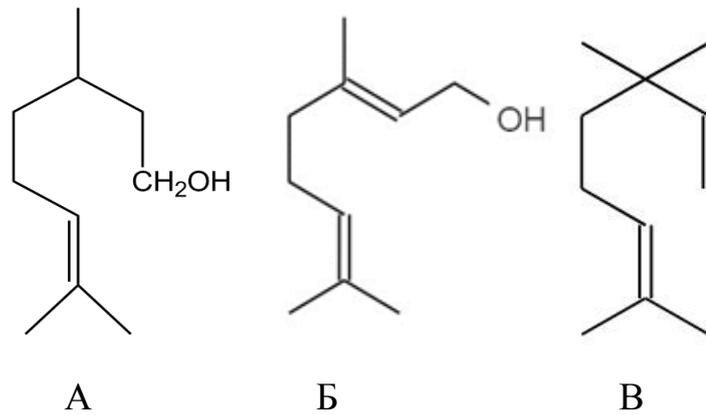


Рис. 2. Химические формулы основных компонентов эфирного масла герани душистой травы; *A* – цитронеллол, *B* – гераниол, *C* – линалоол

Литературные данные свидетельствуют о том, что содержание компонентов неодинаково в образцах масла герани выделенного из сырья, заготовленного в разных странах (см. табл. 2) [21, 197]. В зависимости от хемотипа герани душистой выделяют сорт масла, который, в первую очередь, определяется по содержанию трёх основных компонентов: цитронеллола, гераниола и линалоола, а также по наличию и содержанию реперных компонентов. Например, масло сорта Реюньон (Бурбон) состоит из цитронеллола и гераниола (1:1), значительно содержит гуа-6,9-диен и изоментон. Китайский тип содержит большое количество цитронеллола и цитрониллил формиата и низкую концентрацию гераниола. Африканский тип содержит цитронеллол и гераниол (1:0,5), а также 10-эпи-γ-эдисмол, в малом количестве или совсем не содержит гуайа-6,9-диен. Поскольку хемотип оказывает решающее влияние на состав ЭМ, то целесообразно изучить ЭМ герани душистой из сырья, собранного в Республике Таджикистан.

Содержание компонентов в различных сортах ЭМ герани душистой травы

№ п.п.	Наименование компонента	Содержание компонентов в зависимости от сорта ЭМ			
		Северная Африка	Китай	Бурбон	Мадагаскар
1.	Линалоол	4,0-8,5*	2,0-4,5	8,0-11,0	4,0-10,0
2.	цис-Розеноксид	0,7-1,5	1,5-3,5	0,3-1,1	0,4-1,4
3.	транс-Розеноксид	0,3-0,6	0,5-1,5	0,1-0,5	0,1-0,6-
4.	Ментон	0 -2,1	0 -2,5	0-2,0	0-2,0
5.	Изоментон	4,0-8,0	4,0-7,0	5,0-10,0	5,0-10,0
6.	α - Терпинеол	0,3-0,6	0,1-0,5	0,3-1,2	0,3-1,0
7.	Цитронеллол	25,0-36,0	32,0-43,0	18,0-26,0	18,0-26,0
8.	Гераниол	10,0-18,0	5,0-12,0	12,0-20,0	10,0-20,0
9.	Гуайа-6,9-диен	0-0,5	4,0-7,0	5,0-8,5	5,0-9,0
10.	Цитронеллил формиат	4,0-8,0	7,0-12,0	6,5-11,0	6,5-11,0
11.	Геранил формиат	2,0-7,0	1,0-3,0	4,0-8,0	3,8-7,0
12.	Гераниол бутират	0,7-2,0	0,4-1,0	0,7-2,0	0,7-1,7
13.	10-эпи- γ -эудесмол	3,0-6,2	-	-	-
14.	β - Фенилэтил тиглат	0,5-1,2	0,4-1,0	0,4-1,0	0,4-1,0
15.	Геранил тиглат	0,9-2,0	1-1,6	0,7-2,0	0,7-2,0

Примечание: * - приведены минимально и максимально возможные значения;

1.2.1.3 Фармакологические свойства эфирного масла герани душистой травы

До 2000 г встречались единичные работы, связанные с изучением фармакологических свойств ЭМ травы герани душистой. Так, В.П. Лебединский исследовал местное действие и токсичность эмульсий из гераниевого эфирного масла (1,5%), а также показал эффективность

применения при кожных гнойных процессах у животных [68]. С.А. Вичканова и соавторы изучали антимикробное действие ЭМ в различных концентрациях. В частности, ими установлено, что гераниевое ЭМ в концентрации 250 мкл/мл подавляет рост стафилококков, стрептококков и кишечных бактерий [11]. О.Н. Шишкин изучал антимикробное свойство гераниевого ЭМ при инфицированных ранах и показал благоприятное влияние использования ЭМ на течение гнойных процессов кожи [135]. С начала XXI века антимикробная активность ЭМ герани изучена многими авторами: Boukhatem и соавторы - против патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах [153], Hsouna и соавторы против ряда грамм-положительных бактерий: *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *M. luteus*, *L. monocytogenes* и грамм-отрицательных: *S. enterica*, *K. pneumoniae* [179].

Кроме того расширяется спектр специфических фармакологических свойств ЭМ герани душистой травы. Zore et и соавторы описали, что антикандидозная активность гераниола, геранилацетата и цитронеллола, связана с их способностью повреждать целостность мембраны клетки. При очень низких концентрациях они останавливают клеточный цикл *C. albicans* [173]. Исследования Fayed, Cavar и Boukhris показали, что ЭМ герани имеет достаточно высокую антиоксидантную активность [157, 160, 174]. ЭМ герани облегчало боль при постгерпетической невралгии. В сравнении с капсаицином, данный эффект наступал в более ранние сроки. Предполагаемый механизм обезболивающего (анальгетического) эффекта гераниола – блокада болевого ванилоидного рецептора (TRPV1) [201]. Антиканцерогенный эффект ЭМ герани показан на культуре человеческих клеток промиелоцитарной лейкемии. Эффекты автор связывает с наличием в ЭМ гераниола и цитронеллола [174]. Boukhris и соавторы показали, что гипогликемический эффект эфирного масла герани душистой в дозе 150 мг/кг массы тела значительно эффективнее, чем глибенкламид [180].

Изучение влияния ЭМ герани душистой травы на гепатобиллиардную систему проведено в Институте гастроэнтерологии Республики Таджикистан [1, 99]. Морфологическими исследованиями установлено, что ЭМ герани предотвращает развитие некрозов паренхимы, наблюдаемые при токсическом поражении печени. Если у крыс с острым и хроническим токсическим поражением печени в центролобулярных зонах развивались обширные очаги некроза, то у животных, получавших ЭМ герани душистой, только изредка обнаруживались единичные некрозы нескольких групп печёночных клеток. Одновременно с этим у животных с хроническим токсическим поражением печени под влиянием ЭМ степень развития фиброзной ткани значительно уменьшалась. Все это свидетельствует о гепатопротективном эффекте [123, 127].

Исследованиями установлено, что ЭМ герани душистой на фоне экспериментальной гиперлипидемии достоверно снижает повышенное количество холестерина, общих липидов и триглицеридов, наряду с этим значительно снижает активность ферментов периаминарирования и улучшают антиоксидантную функцию печени опытных животных [124].

Эфирное масло герани душистой нормализует активность АТФаз ткани печени на фоне острого и подострого токсического поражения органа. В результате острого, подострого и хронического токсического гепатита имело место достоверное повышение активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы сыворотки крови, что свидетельствует о гепатопротективном и мембраностабилизирующем эффекте [127].

1.2.2. Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия

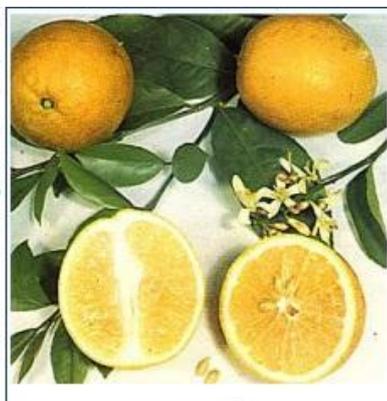
В Республике Таджикистан выращивают особый сорт лимонов – лимон Мейера (*Citrus meyeri Tan.*) [133, 136]. Этот гибрид настоящего лимона и апельсина или мандарина, назван в честь американского

исследователя Франца Мейера, который в 1908 году привёз его из Китая [192, 194]. ЭМ лимона получают из экзокарпия плодов методом холодного прессования. Из 1 тонны плодов получают около 3-4 кг прессового масла [12, 82].

1.2.2.1 Ботаническая характеристика и географическое распространение лимона Мейера

Citrus meyeri Tan. дерево, достигающее в высоту примерно от 2 до 3 метров. Листья тёмно-зелёные, блестящие, как у других сортов лимона. Цветки белые с фиолетовым основанием, ароматные [189].

Плоды лимона Мейера желтее и более круглые, чем плоды лимона обыкновенного. Цедра ароматная и тонкая, тёмно-жёлтого цвета, при созревании появляется лёгкий оранжевый оттенок (рис.3). Плоды лимона Мейера имеют более сладкий, менее кислый вкус, чем плоды более распространённых сортов лимона, таких как Лиссабон или Эврика. Мякоть тёмно-жёлтого цвета, содержит до 10 семян на один плод [133, 186].



А



Б

Рис. 3. *Citrus meyeri* Tan, А – плоды, Б – дерево

Географическое распространение

Лимон Мейера культивируется в малых количествах, как кадочная культура, в Китае и странах Европы. Широко культивируется в США,

Республике Узбекистан, Туркменистане, Киргизской Республике и Республике Таджикистан [133].

1.2.2.2 Химический состав эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

Исследования, посвящённые изучению компонентного состава лимона Мейера, немногочисленны.

Впервые отдельные компоненты ЭМ лимона Мейера изучили Moshonas и соавторы. Согласно этому исследованию двумя основными компонентами являются *D*-лимонен (92%) и γ -терпинен (6%) (рис. 4). Гераниаль и нераль, которые являются важными компонентами вкуса большинства лимонных масел, были обнаружены только в следовых количествах [195].

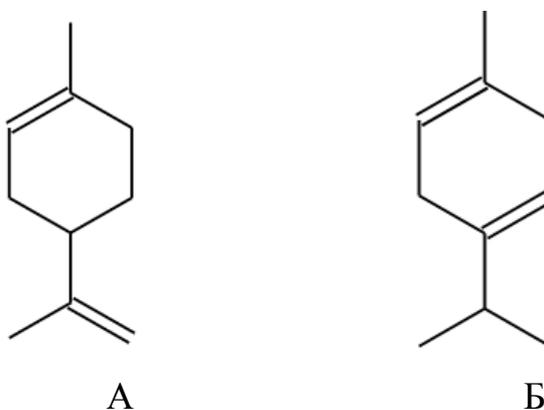


Рис. 4. Химические формулы основных компонентов эфирного масла лимона Мейера экзокарпия; А – *D*-лимонен, Б – γ -терпинен

Ram M. Usko и соавторы оценивали содержание флавоноидов, аминов, органических кислот и минералов в лимонах Мейера, выращенных в южном Техасе, с использованием различных методов культивирования. Результаты показывают, что органически выращенные лимоны содержат значительно более высокие уровни гесперидина, дидимиона и аскорбиновой кислоты, чем те, которые культивируются в традиционной системе [209].

Wenzel и соавторы изучили замороженные концентраты из 42 сортов лимона и показали, что лимоны Мейера имеют максимальный выход сока [211]. Kesterson и Hendrickson обнаружили, что ЭМ лимона Мейера Мейера

имеет самое низкое содержание цитраля среди изученных 42 разновидностях сортов лимона [185].

1.2.2.3. Фармакологические свойства эфирного масла лимона Мейера

Лечебные свойства лимона были известны ещё в древности. Например, арабские целители использовали его для лечения различных заболеваний [1]. В XI веке Авиценна писал о лимоне, как о лучшем лекарстве при болезнях сердца и при желтухе [69].

Современные исследования подтвердили, что *D*-лимонен обладает выраженной антиоксидантной активностью и не оказывает генотоксического эффекта в лимфоцитах и в клетках линии V79 [152]. Также показывает химиопрофилактическую эффективность в доклинических моделях гепатоцеллюлярной карциномы, при этом установлено, что действие обусловлено, в частности, от индукции специфических изоферментов цитохрома P450 [167]. Кроме того *D*-лимонен показал антиангиогенное и проапоптозное воздействие на клетки рака желудка человека, имплантированные мышам, за счёт ингибирования роста опухоли и метастаз, а также вызывает образование апоптозных тел в клетках рака желудка [196].

Установлено, что применение *D*-лимонена значительно снижает повреждение ДНК, активность фермента глутатионредуктазы и уровень малондиальдегида и значительно увеличивает уровень общего глутатиона и активность ферментов каталазы, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы и изменяет параметры липидов и ферментов печени у крыс с диабетом [169].

Согласно данным Азонова Д. А., Холова А. К. и соавторов [1, 125], ЭМ лимона не только увеличивали накопление гликогена в печёночных клетках, но и, подавляя активность нейраминидазы, восстанавливали содержание сиаловых кислот и мембранные структуры гепатоцитов.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что ЭМ лимона снижает активность процессов свободнорадикального окисления, о чем

свидетельствует снижение концентрации малонового диальдегида в среднем на 42 % в сыворотке крови и паренхиме печени [124]. Морфологическими исследованиями установлено, что ЭМ лимона предотвращает развитие некрозов паренхимы, наблюдаемых при токсическом поражении печени, и под влиянием испытуемых веществ степень развития фиброзной ткани значительно уменьшалась [126, 127]. Все это свидетельствует о гепатопротективном эффекте ЭМ лимона.

Согласно литературным данным, γ -терпинен обладает антиоксидантной, противовоспалительной, спазмолитической и антипролиферативной активностями [143].

Согласно литературным данным, фармакологические эффекты ЭМ герани душистой травы обеспечивают цитронеллол, гераниол и линалоол, а у ЭМ лимона Мейера экзокарпия – *D*-лимонен. Широкий спектр фармакологического действия ЭМ лимона и герани душистой показывает актуальность разработки новых ЛП на их основе. Для внедрения новых субстанций ЭМ в медицинскую практику необходим выбор рационального способа их получения, стандартизация и разработка проекта фармакопейной статьи на субстанцию и лекарственную форму.

1.3. Технологические аспекты создания лекарственных препаратов на основе эфирных масел

1.3.1. Современные методы выделения эфирных масел

В настоящее время в промышленном масштабе применяются такие способы получения ЭМ, как: паровая перегонка, гидродистилляция, экстракция конкмата летучими растворителями, мацерация, анфлераж, механический метод, кроме того, используют декантацию ЭМ и когобацию дистилляционной воды [22, 30]. Одним из современных способов получения ЭМ является сверхкритическая флюидная экстракция [55, 109, 113, 128].

В зависимости от характера сырья и основных свойств ЭМ для их извлечения применяют тот или иной способ, позволяющий получить наибольшие выходы и наилучшее качество [46, 67, 108, 110]. В большинстве случаев ЭМ получают с использованием дистилляционных методов: гидродистилляции или паровой перегонкой [9, 47], которые основаны на физическом законе парциального давления Дальтона – Ренье [30], в соответствии с которым две несмешивающиеся жидкости, нагреваемые вместе, закипают при температуре ниже температуры кипения каждой жидкости в отдельности. Для плодов цитрусовых, наиболее приемлем, механический способ получения ЭМ [12, 82].

Паровая перегонка эфирного масла

Данный способ получения ЭМ заключается в использовании пара высокого давления, при этом исключается перегрев растительного сырья, что даёт возможность отогнать труднолетучие компоненты ЭМ [28, 29]. К положительным качествам паровой перегонки можно отнести: быстроту и высокую степень извлечения масла, низкий расход пара и дистилляционных вод, отсутствие пригорания сырья и экстрагируемых водой веществ, высокую удельную производительностью аппаратов [30]. Основной недостаток – это то, что в дистилляционных водах в значительных количествах, остаётся ЭМ в растворенном и взвешенном состояниях [10, 28, 121]. Для дальнейшего его извлечения, необходимо использовать повторную перегонку (**когобацию**)

[30]. Кроме того недостатком метода является, то что его можно использовать только при высоком содержании ЭМ в сырье и если высокая температура пара не влияет на его качество, так как за счёт термической деструкции отдельных соединений, особенно таких, как терпеновые спирты и их сложные эфиры, происходит снижение качества ЭМ [29].

Гидродистилляция эфирного масла

Метод заключается в отгонке воды в присутствии растительного материала. К положительным сторонам гидродистилляции можно отнести доступность и простату метода, а также возможность использования при низком содержании ЭМ в сырье. Но данный метод обладает рядом недостатков. Основной из них – низкая скорость извлечения масла, из-за малой степени насыщения паровой фазы ЭМ, что приводит к значительному расходу пара и дистилляционных вод. Данная проблема решается использованием в качестве приёмника насадки Клевенджерера [30].

Часто используют гибридное сочетание двух вышеописанных методов – **гидропародистилляцию**. В этом методе вода и сырьё помещены также в один перегонный куб, как и в случае гидродистилляции, но они между собой разделены сетчатой перегородкой, что переводит стадию парообразования в отдельную фазу перегонки, как и в методе пародистилляции [30].

В методе гидропародистилляции отсутствует постоянный контакт с водой и процесс перегонки осуществляется при более низких температурах, что является более щадящим для лабильных компонентов ЭМ [30].

Результаты исследований [45, 140, 150, 151, 181, 212] показали, что способ получения ЭМ значительно влияет на его выход и содержание компонентов.

Механический метод получения эфирного масла. Метод прессования

Механический метод применяют при производстве ЭМ из плодов цитрусовых, так как кожура плодов имеет крупные эфиромасличные

вместилища [28, 29]. Прессование проводят на гидравлических прессах из кожуры, оставшейся после отжима сока из плодов [12, 141].

После прессования в ЭМ остаются частицы жмыха и слизь, для его очистки используют отстаивание или центрифугирование. В жмыхе может содержаться остаток ЭМ, не выжатого с помощью пресса (до 30%, в зависимости от качества аппаратуры) [29]. Как правило, жмых подвергается вторичной обработке – дистилляции, для получения остатка масла [141]. Полученное в этом случае ЭМ хуже по качеству прессованного, но не обладает фототоксичностью [141, 82].

1.3.1.1 Сверхкритическая флюидная экстракция

Возросший интерес к сверхкритической экстракции связан с уникальными свойствами сверхкритического флюида (СФ), как растворителя, используемого при экстракции. СФ сочетает в себе свойства газов (низкая вязкость, высокий коэффициент диффузии) и жидкости (высокая растворяющая способность), что положительно влияет на растворимость и массоперенос веществ, нерастворимых в жидкой фазе [9, 35]. Растворяющая способность СФ чувствительна к изменению давления или температуры, т.е., при изменении этих параметров, возможна экстракция веществ с различными размерами и молекулярной массой [35, 109]. Быстрота разделения СФ и растворенных в них веществ при сбросе давления в сепараторе [35].

Широкое распространение для растительного сырья получил метод экстракции сжиженной углекислотой (CO_2 -экстракция) [5, 9, 37, 79, 109, 119]. Проведены исследования по получению экстрактов из шалфея [3], шишкоягод можжевельника продолговатого [5], расторопши пятнистой [128], эвкалипта прутовидного [38] и других растений.

Популярность CO_2 -экстракции обусловлена следующими преимуществами: сжиженный CO_2 - это бесцветная, легко подвижная жидкость, вязкость которой в 14 раз меньше вязкости воды, в 5 раз – этилового спирта, в 4 раза – фреона-142. Такие свойства CO_2 выделяют его

как экстрагент с наилучшими диффузионными свойствами. [23]. Маленький размер молекулы CO_2 позволяет вести процесс на клеточном и молекулярном уровне, извлекая БАВ в том составе и соотношении, в котором природа заложила их в растительном сырье [8, 37, 109]. В химическом отношении, сжиженный CO_2 – прочное и инертное вещество, проявляющее полную химическую индифферентность по отношению к перерабатываемому сырью, извлекаемым веществам, конструкционным материалам аппаратуры [37]. Он пожаро - и взрывобезопасен [13, 23, 55]. Сжиженный CO_2 обладает удобными критическими параметрами (давление: 72,8 атм., температура: 31,2 °С) [91], за счёт которых он обладает высокой селективностью и, вместе с тем, достаточной растворяющей способностью [104].

Температура кипения сжиженного CO_2 , в зависимости от давления насыщения паров, лежит в пределах от $-56,6$ до $+31^\circ\text{C}$, что создаёт широкий диапазон регулирования низкотемпературной отгонки CO_2 из экстрактов практически без остатка. Это свойство позволяет быстро удалять экстрагент из вытяжек уже при незначительном температурном воздействии, сохранять извлекаемые вещества в нативном состоянии [4, 23] и исключает необходимость контроля готового продукта на содержание растворителя [91]. В некоторых работах отмечается, что примесь CO_2 в готовых продуктах оказывает консервирующее действие на лабильные вещества, препятствует прогорканию жиров, повышает срок хранения готовых экстрактов [37, 128]. Варьирование основных параметров экстракции: температуры, давления, продолжительности процесса, характера и степени измельчения сырья, – позволяет вести экстракционный процесс так, чтобы получать продукт необходимого состава [38, 104].

Принимая во внимание рассмотренные возможности и преимущества технологии сверхкритических углекислотных экстрактов (СУЭ), представляется обоснованным и рациональным использование данной технологии для получения фармацевтических субстанций из эфиромасличного сырья.

1.3.2. Анализ ассортимента лекарственных препаратов, содержащих эфирное масло

С целью выявления возможности расширения номенклатуры лекарственных препаратов (ЛП), содержащих ЭМ нами проведён анализ ассортимента ЛП, содержащих ЭМ, который включал несколько этапов: изучение состава ЛП, фармакологического действия ЭМ в составе ЛП и лекарственных форм (ЛФ) ЭМ [95].

В результате анализа (см. Приложение 1) выявлено, что в состав ЛП наиболее часто входят ЭМ, относящиеся к классу моноциклических монотерпенов. Наиболее распространёнными в составе ЛП являются: масло мяты, эвкалипта и лаванды, содержащие в своём составе такие моноциклические монотерпены, как 1,8-цинеол, ментол, терпинеол, линалоол и др.

По основному проявляемому фармакологическому эффекту преобладают ЭМ противовоспалительного 25 % и антибактериального действия 21%, наиболее редко эфирные масла используются в качестве седативных средств 5% (рис. 5). Установлено, что ЭМ могут обладать желчегонным, противовоспалительным, гепатозащитным и спазмолитическим свойствами [127], что показывает возможность расширения номенклатуры ЛП, содержащих ЭМ.

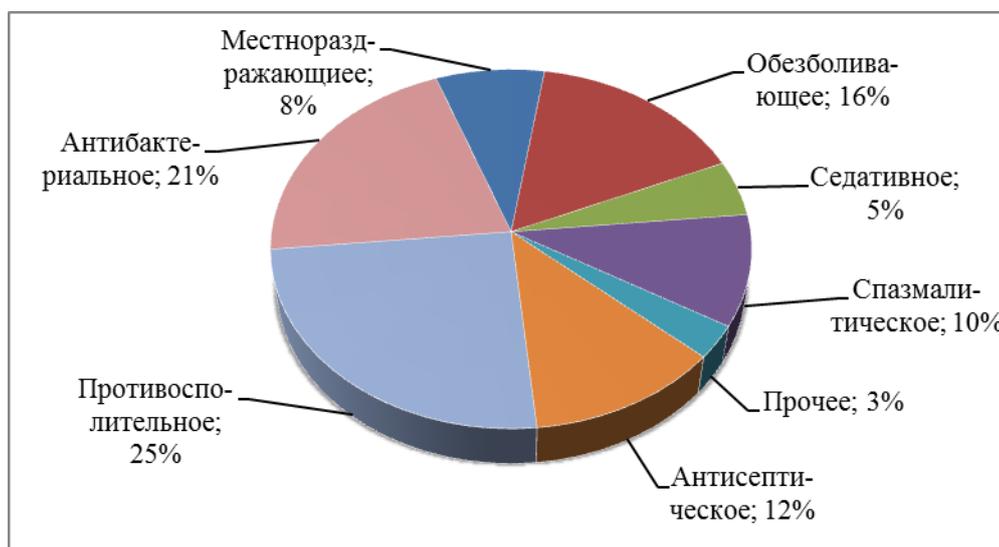


Рис. 5. Распределение эфирных масел по фармакологическому действию

На следующем этапе работы изучены ЛФ ЭМ, представленные на фармацевтическом рынке. Наиболее часто ЭМ используются в мазях и каплях (рис. 6). Для расширения номенклатуры пероральных лекарственных форм рационально использовать капсулы, в частности мягкие желатиновые капсулы (МЖК), так как мягкие капсулы остаются одной из немногих ЛФ, способных сохранять и доставлять липофильные вещества в легкодоступной для организма форме – растворе.

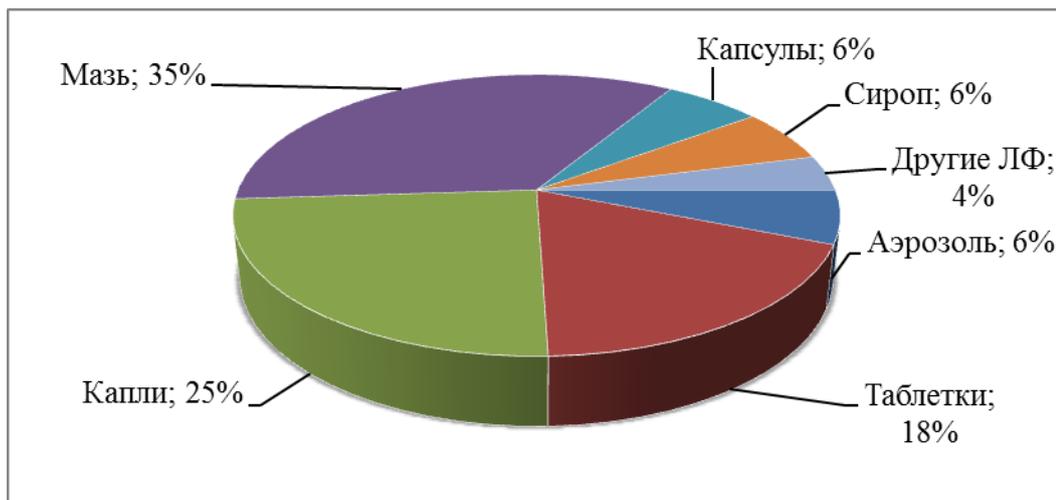


Рис. 6. Лекарственные формы, содержащие эфирное масло

Для внедрения новых субстанций ЭМ в медицинскую практику необходима стандартизация и разработка НД на субстанцию и ЛФ. До 1960-х гг. качество ЭМ оценивали по физическим свойствам (плотность, угол вращения поляризованного света, показатель преломления, температуры замерзания, плавления, кипения) и химическим показателям (эфирное и кислотное число, эфирное число после ацетилирования). Стремительное развитие хроматографического анализа органических соединений способствовало более детальному и точному анализу ЭМ [24, 86]. Это даёт возможность для более точной стандартизации ЭМ, содержащих в своём составе большое разнообразие соединений, обладающих биологической активностью и расширению номенклатуры ЛП на их основе.

1.3.3. Мягкие желатиновые капсулы как перспективная лекарственная форма

Растущий интерес и популярность желатиновых капсул у производителей, потребителей и врачей обусловлены целым рядом функциональных и коммерческих преимуществ перед другими ЛФ: быстро набухают и растворяются в желудочно-кишечном тракте, высвобождая БАВ, что способствует высокой биологической доступности [44, 191, 202]; обеспечивают однородность дозирования, за счёт получения растворов, что особенно важно при низких дозировках лекарственного средства (ЛС) [25, 43, 144]; гарантируют стабильность соединений, склонных к окислительной деструкции, в процессе хранения [43, 202, 205]; защищают от несанкционированного вскрытия без разрушения оболочки и вытекания состава, что является препятствием их фальсификации [43, 202]; маскируют неприятный вкус и запах БАВ [43, 191]; удобны в применении. Отмечено, что пациенты предпочитают принимать ЛП в виде мягких капсул, так как они имеют мягкую эластичную оболочку, которая облегчает глотание по сравнению с таблетками [25, 175].

В качестве наиболее рациональной ЛФ при разработке новых ЛП природного происхождения все чаще авторы предлагают - мягкие капсулы. Например, Демченко Д. В. и соавторы (2015) предлагает использовать мягкие капсулы для масляных экстрактов травы пустырника и печени рыб семейства тресковых [25]. В своём исследовании он впервые изучил структурно-механические и реологические свойства гидрогелей и плёнок на основе агара для капсулирования, а также показал, что мягкие агаровые капсулы являются кишечнорастворимыми [101, 171]. Петрова В. В. и соавторы (2015) на основании биофармацевтических, технологических и аналитических исследований разработала состав вагинальных капсул с масляным экстрактом прополиса [88]. Иванова Н. А. и соавторы (2013) разработала состав и технологию производства капсул с суспензией пелоидов (лечебных грязей), при этом установила закономерности миграции влаги из оболочки

МЖК в исследуемые гидрофильные наполнители и окружающую среду в зависимости от содержания и типа пластификаторов и пигментных красителей [43]. Запорожская Л. И. и соавторы (2013) в своей работе сравнивает ротационно-матричный и капельный метод при получении МЖК осетрового рыбьего жира [36] и др. Шиков А. Н. и соавторы (2008) показали возможность капсулирования в агаровые капсулы масляные экстракты различных растений, таких как ромашка, пустырник, куркума и другие [198]. Все выше сказанное показывает актуальность использования мягких капсул как рациональной пероральной ЛФ.

Анализ развития технологии капсулирования показал, что одним из наиболее распространённых способов получения МЖК является ротационно-матричный метод. Преимущества данного метода заключаются в более точном дозировании и большей производительности, по сравнению с капельным методом [16, 51], а также возможности капсулировать вещества различной консистенции, преимущественно жидких и пастообразных [43].

В производстве желатиновых капсул большое внимание уделяется качеству и технологии приготовления ЖМ – основы для получения капсул. Она должна обладать определёнными физико-химическими свойствами, которые зависят от качества желатина, соотношения компонентов и способа её приготовления. В литературе предлагается широкий интервал состава компонентов: желатина 41 – 47 %; воды очищенной 28 – 35 %; глицерина 17 – 30 % [191, 202]. В тоже время на фармацевтическом рынке представлено большое количество различных марок желатина, различающихся по физико-химическим свойствам [80, 144]. Поэтому при производстве МЖК важно правильно подобрать состав ЖМ с учётом физико-химических свойств желатина.

При ротационно-матричном методе получения капсул образуются значительные отходы ЖЛ, в общей сложности более 40%, поэтому вопрос о целесообразности использования регенерированной ЖЛ в производстве является актуальным.

Выводы по главе 1

1. К настоящему времени в природных источниках идентифицировано более 500 монотерпенов. Все они характеризуются разнообразной структурой и фармакологическим действием, что делает актуальным использование ЭМ, содержащих монотерпены, в качестве фармацевтических субстанций. Согласно литературным данным фармакологические эффекты эфирного масла герани душистой обеспечивают цитронеллол, гераниол и линалоол, а у эфирного масла лимона Мейера – *D*-лимонен. Широкий спектр фармакологического действия ЭМ лимона и герани душистой показывает актуальность разработки новых ЛП на их основе.

2. Результаты исследований ряда авторов показали, что имеются значительные различия в выходе эфирного масла и в содержании компонентов в нем, в зависимости от хемотипа растения и от аппаратного оснащения процесса дистилляции.

3. Принимая во внимание возможности и преимущества технологии сверхкритической углекислотной экстракции, представляется обоснованным и рациональным её использование для получения фармацевтической субстанции из эфиромасличного сырья.

4. Для расширения ассортимента перорального ЛП с эфирными маслами рациональна разработка технологии и оценка качества мягких желатиновых капсул. В процессе производства мягких капсул важно правильно подобрать состав желатиновой массы для капсулирования с учётом физико-химических свойств желатина.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

1. Герани душистой трава

Образцы для получения эфирного масла представлены, свежей зелёной надземной частью без одревеневших стеблей и веток герани душистой *Pelargonium graveolens L'Her*, семейства Гераниевых – *Geraniaceae*, 30-40 см в длину.

Таблица 3

Образцы герани душистой травы для получения эфирного масла

№ Образца	Место сбора	Дата сбора
1	РФ, Пермский край, г. Краснокамск	Сентябрь, 2014 г
2	РФ, Пермский край, г. Пермь	Сентябрь, 2014 г
3	РФ, Республика Башкортостан, г. Сибай	Сентябрь, 2014 г

Образцы для получения CO_2 - экстрактов представлены зелёной надземной частью без одревеневших 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.

Таблица 4

Образцы герани душистой травы для получения CO_2 - экстрактов

№ Образца	Место сбора	Дата сбора
1	Республика Таджикистан, г. Турсунзаде	Август, 2013 г
2	Республика Таджикистан, г. Турсунзаде	Август, 2014 г
3	Республика Таджикистан, г. Турсунзаде	Сентябрь, 2014 г

2. Лимона Мейера экзокарпий

Образцы представлены экзокарпием лимона Мейера – *Citrus meyeri Tan.*, семейства Рутовые – *Rutaceae*, отделённым вручную с помощью ножей от зрелых плодов лимона Мейера, высушенным на воздухе при температуре от 15 до 25 °С.

Образцы лимона Мейера экзокарпия

№ Образца	Место сбора	Дата сбора
1	Республика Таджикистан, г. Худжанд	Ноябрь, 2013 г
2	Республика Таджикистан, г. Худжанд	Ноябрь, 2014 г
3	Республика Таджикистан, г. Худжанд	Октябрь, 2014 г

3. Эфирное масло герани душистой травы для получения капсул «Липовитол»

Эфирное масло, полученное паровой дистилляцией свежих или слегка подсушенных надземных частей герани душистой – *Pelargonium graveolens L'Her*, семейства Гераниевых – *Geraniaceae*, собранных в Республике Таджикистан в фазу цветения в августе/сентябре 2012 г.

Таблица 6

Образцы эфирного масла герани душистой травы

№ Образца	Серия	Место производства
1	010812	Республика Таджикистан, г. Турсунзаде
2	010912	Республика Таджикистан, г. Турсунзаде
3	300912	Республика Таджикистан, г. Турсунзаде

4. Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия для получения капсул «Лимонеол»

Эфирное масло получено методом прямого прессования без нагрева из свежего экзокарпия лимона Мейера – *Citrus meyeri Tan.*, семейства Рутовые – *Rutaceae* от зрелых плодов, собранных в Республике Таджикистан в ноябре 2012 г.

Таблица 7

Показатели качества эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

№ Образца	Серия	Место производства
1	011112	Республика Таджикистан, г. Худжанд
2	101112	Республика Таджикистан, г. Худжанд
3	301112	Республика Таджикистан, г. Худжанд

2.2. Вспомогательные вещества

Для изготовления и реологических исследований желатиновой массы использовали **желатин** различных производителей (см. табл. 8).

Таблица 8

Характеристика образцов желатина

Образец №	Серия	Фирма производитель	Страна	Внешний вид, цвет	Запах	Размер частиц, мм
1	12061214	Foodchem	Китай	Крупинки светло-жёлтого цвета	Специфический, без гнилостного	0,85
2	A-091213	Brodnicke Zaklady Żelatyny Sp. z o.o.	Польша	Крупинки светло-жёлтого цвета	Специфический, без гнилостного	0,85
3	010211	Italgelatine s.p.a.	Италия	Крупинки светло-жёлтого цвета	Специфический, без гнилостного	0,85
4	T-0141006	Ewald-Gelatine GMBH	Германия	Крупинки светло-жёлтого цвета	Специфический, без гнилостного	0,85
5	081086087	Weishardt International	Франция	Крупинки светло-жёлтого цвета	Специфический, без гнилостного	0,85

2. Глицерин, марки ПК – 94, ГОСТ 6824-96 (ФС 2.2.0006.15)

Бесцветная, вязкая, очень гигроскопичная сиропобразная жидкость, сладкого вкуса, без запаха. Во всех соотношениях смешивается с водой, этанолом, метанолом, ацетоном, почти не растворим в эфире. Поглощает влагу из воздуха до 40 % по массе.

3. Вода очищенная (ФС 2.2.0020.15)

Бесцветная прозрачная жидкость без запаха, рН от 5,0 до 7,0.

Для производства экстрактов использовали:

СО₂ - растворитель ГОСТ 8050-85.

Бесцветная жидкость без запаха. Двуокись углерода нетоксична, невзрывоопасна.

Для количественного и качественного определения компонентов ЭМ и разрабатываемых из них ЛФ использовали **стандарты фирмы Alfa Aesar:**

1. Гераниол (A13736. Lot 10180072) – 97%;
2. Линалоол (A14424. Lot 1017400) – 97%;
3. Цитронеллол (A19016. Lot 10180517) – 97%;
4. 2-фенилэтанол (A15241.Lot 10179159) – 97%;
5. Лимонен (L04733.AP) – 97%

Для отдельных сравнительных исследований использовали ЭМ фирмы «Аспера»:

1. герани (ТУ 9151-001-99535663-07, номер партии М4-26/0514);
2. цитронеллы (ТУ 9151-005-23199493-14, номер партии 3480615);
3. лемонграсса (ТУ 9151-005-23199493-14, номер партии М1-41/0115);
4. лаванды (ТУ 9158-011-91753194-2012, номер партии 01052015);
5. шалфея (ТУ 9151-001-99535663-07, номер партии М9-25/1114).

Для проведения тонкослойной хроматографии использовали:

1. Реактивы (ОФС 1.3.0001.15):

- Сурьмы (Ш) хлорида раствор в хлороформе

- Ванилина раствор в серной кислоте
- Фосфорномолибденовая кислота
- Спирт этиловый 95%
- Йод кристаллический
- Конц. серная кислота

2. Растворители:

- н-Гексан (х.ч.) - ТУ 2631-158-44493179-13
- Хлороформ (х.ч.) - ГОСТ 20015-88
- Уксусная кислота (х.ч.) - ГОСТ 61-75
- Этилацетат (х.ч.) - ГОСТ 22300-76
- Бензол (х.ч.) - ГОСТ 5955-75
- Метанол (х.ч.) - ГОСТ 6995-77
- Вода очищенная- ФС 2.2.0020.15

2.3. Методы исследования

2.3.1. Получение эфирного масла герани душистой травы

Фракции ЭМ получали с помощью лабораторных установок (см. ниже). В каждом методе дистилляции использовали навеску измельчённой травы герани душистой массой около 100 г (точная навеска). Полученное ЭМ из приёмника сливали в ампулу и затем запаивали её. Ампулы вскрывали непосредственно перед проведением анализа.

Содержание ЭМ в сырье в объёмно – весовых процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100-w)}$$

где V – объём эфирного масла в мл; m – масса сырья в граммах; w – потеря в массе при высушивании сырья в %.

Метод гидродистилляции

В качестве приёмника использовали насадку Клевенджера (рис. 7) и градуированный приёмник (насадка Клевенджера, без сливной трубки (3)), которые соединяли с обратным холодильником (4). Навеску РС помещали в колбу вместимостью 2000 мл (1). В колбу с сырьём добавляли 1000 мл воды очищенной, нагревали на электрической плитке (6) и кипятили в течение 3 часов 30 мин. После окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры, измеряли объём масла в градуированной части приёмника.

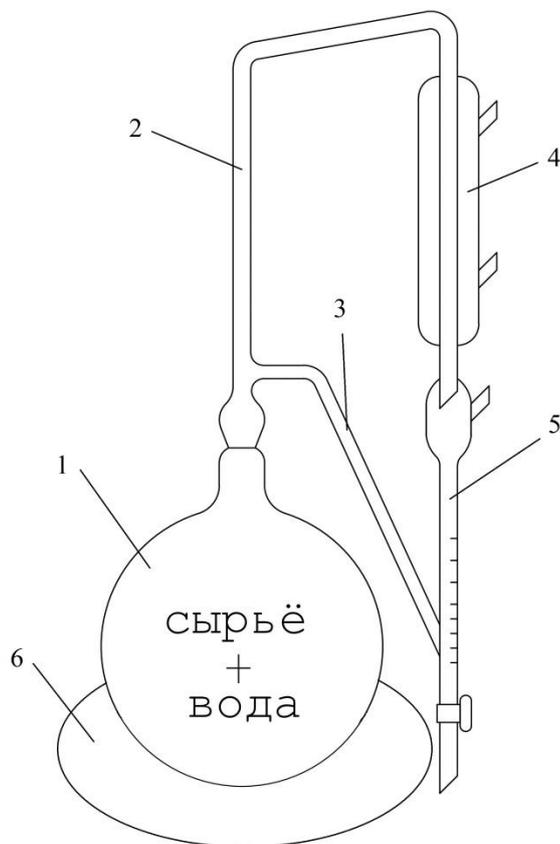


Рис. 7 – установка для метода гидродистилляции с насадкой Клевенджера;

Где: 1 – колба; 2 – паропроводная изогнутая трубка; 3 – сливная трубка; 4 – холодильник; 5 – градуированная трубка-приёмник; 6 – электрическая плитка.

Метод гидропародистилляции

В качестве приёмника использовали насадку Клевенджера (рис. 8) и градуированный приёмник (насадка Клевенджера, без сливной трубки (2)), которые соединяли с обратным холодильником (3). Навеску РС помещали в перфорированную колбу (1) вместимостью 1000 мл. В качестве парообразователя (5) использовали металлическую лабораторную водяную

баню, в которую наливали воду очищенную, так чтобы расстояние до колбы с РС было около 3 см. Водяную баню нагревали до кипения воды, которое поддерживали в течение 3 часов 30 мин. После окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры, измеряли объём масла в градуированной части приёмника.

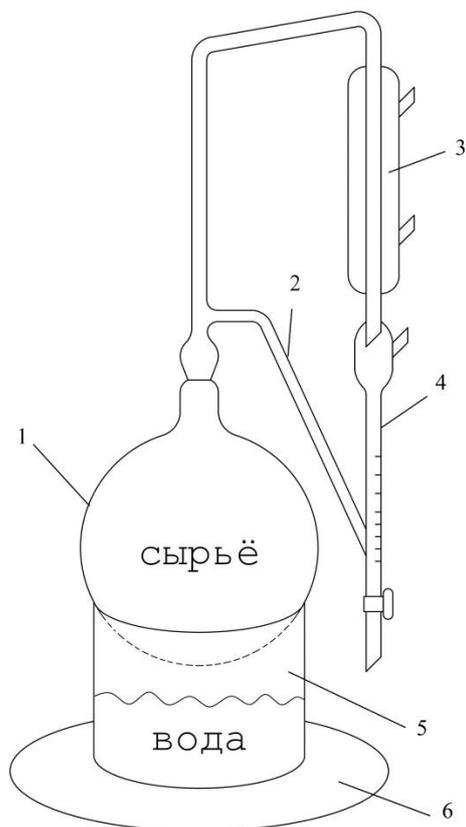


Рис. 8 – установка для метода гидропародистилляции с насадкой Клевенджера;

Где: 1 – колба с перфорированным дном; 2 – сливная трубка; 3 – холодильник; 4 – градуированный трубка-приёмник; 5 – металлическая лабораторная водяная баня; 6 – электрическая плитка;

Метод перегонки с паром

В качестве парообразователя (1) использовали двугорлую круглодонную колбу вместимостью 2000 мл, в которую наливают воду и одно горло закрывают делительной воронкой с водой очищенной (2), другое пробкой с двумя отверстиями (рис. 9). В одно отверстие вставляют предохранительную стеклянную трубку, доходящую почти до дна колбы, а во второе отверстие вставляют изогнутую под прямым углом стеклянную трубку для отвода пара из парообразователя в колбу для перегонки (3), нижний конец этой трубки должен выступать ниже пробки на 0,5—1 см. которая представляет собой двугорлую колбу. В двугорлую колбу (4) помещают РС. Одно горло закрывают пробкой с отверстием, в которое

вставляют стеклянную трубку для соединения с парообразователем. Эта трубка должна быть изогнута под прямым углом и доходить почти до дна колбы. Во второе горло вставляют паропроводную трубку с градуированным приёмником (7), который соединяется с холодильником (6). Одновременно нагревают колбу с РС на водяной бане и парообразователь на электрической плитке. Время дистилляции отсчитывали с момента начала поступления паров в холодильник и кипятили в течение 3 часов 30 мин. После охлаждения прибора до комнатной температуры, замеряли объём масла в градуированной части приёмника.

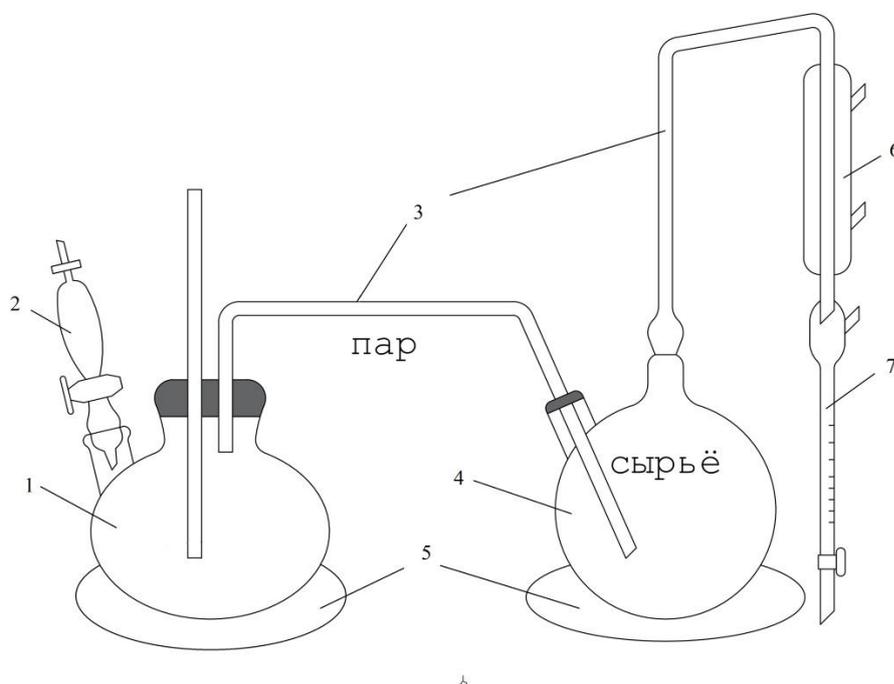


Рис. 9. Установка для перегонки эфирного масла с паром

Где 1 – парообразователь (двугорлая колба), 2 делительная воронка со шлифом, 3 - паропроводная изогнутая трубка, 4 – двугорлая колба с сырьём, 5 – электрическая плитка, 6 – холодильник, 7 – градуированный приёмник.

Когобация

Дистилляционная вода, собранная в круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, после паровой перегонки ЭМ подвергалась дистилляции в установке для метода гидродистилляции с насадкой

Клевенджера, в течение 2 часов. После окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры, измеряли объём ЭМ в градуированной части.

2.3.2. Получение CO₂-экстрактов

CO₂-экстракты получали в Научно-исследовательском центре экологических ресурсов «ГОРО» (г. Ростов-на-Дону) на установке КОЭРС1, состоящей из насоса высокого давления, нагревательного элемента, экстракционного сосуда, сепаратора и системы рециркуляции (рис. 10) [94].

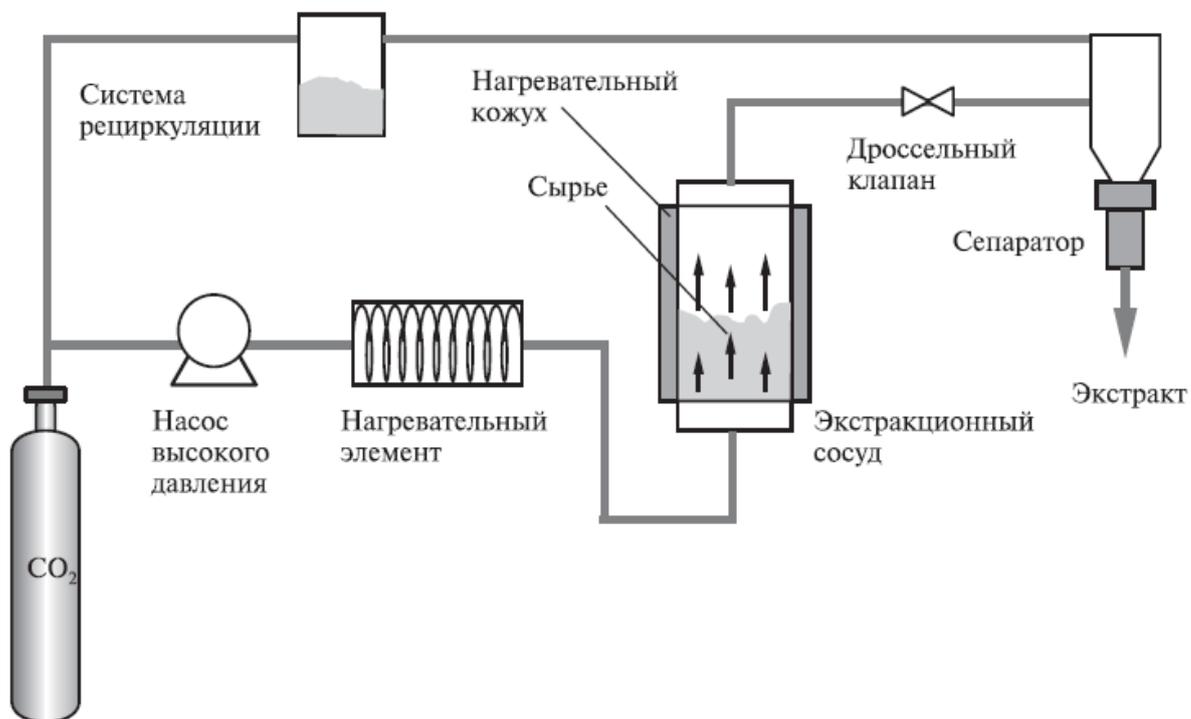


Рис. 10. Схема установки для сверхкритической углекислотной экстракции

Получение экстрактов проводили следующим образом: 500 г измельчённого РС помещали в контейнер, который опускали в термостатированную экстракционную камеру. После герметизации в реактор насосом высокого давления со скоростью 2 кг/ч подавали жидкий диоксид углерода до создания рабочего давления и фиксировали время начала опыта. По окончании процесса экстракции насос переключался на перекачку газа в рабочий баллон. По истечении времени опыта диоксид углерода с растворенным экстрактом выводили в сепаратор, где поддерживали

заданную температуру и давление 3 – 4 МПа, при котором диоксид углерода переходил в газообразное состояние, а экстракт осаждается в сепараторе.

СО₂-экстракты получали при следующих условиях:

1. давление изменяли от 8 до 24 МПа при длительности процесса 30 минут и температуре 40 °С;

2. температуру изменяли от 40 до 60 °С при длительности процесса 30 минут и давлении 16 МПа. Температурный диапазон в пределах 40 – 60 °С определялся выбором выхода различных по полярности групп БАВ. Ограничение температурного диапазона до 60 °С связано с термолабильными свойствами летучих компонентов герани душистой и лимона Мейера.

3. время изменяли от 15 до 60 минут при постоянном давлении 10 МПа и температуре 40 °С.

Выход извлечения рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{m_2 \cdot 100}{m_1}$$

где X – выход извлечения, %

m₁ – масса исходного сырья, г

m₂ – масса извлечения, г

2.3.3. Методы исследования эфирных масел

2.3.3.1. Общие методы

Внешний вид определяли визуально

Цвет определяли по методу ОФС.1.2.1.0006.15

Прозрачность определяли по методу ОФС.1.5.2.0001.15

2.3.3.2. Методы определения числовых показателей эфирного масла

Плотность определяли по методу 1 ОФС.1.2.1.0014.15

Показателя преломления при 20 °С определяли рефрактометрическим методом по ОФС. 1.2.1.0017.15

Угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С определяли поляриметрическим методом по ОФС.1.2.1.0018.15

Кислотное число определяли по методу ОФС.1.2.3.0004.15

Эфирное число определяли по методу 2 ОФС.1.2.3.0009.15

Массовую долю свободных спиртов (в расчёте на цитронеллол) определяли по методу ГФ XI, вып. 1, с. 290

Массовую долю карбонильных соединений (в перерасчёте на изоментон) и карбонильное число определяли по методике ГОСТ ISO 1271—2014.

Растворимость одного объёма масла определяли согласно методике ОФС.1.5.2.0001.15. Использовали 70 % этиловый спирт.

2.3.3.3. Методы определения примесей в эфирном масле

Массовую долю фенолов определяли по методу ГФ XI, вып. 1, с. 290

Определение жирных и минеральных масел проводили по методу ОФС.1.5.2.0001.15

Определение спирта этилового проводили по методу ОФС.1.5.2.0001.15

Определение воды проводили по методу ОФС.1.5.2.0001.15

2.3.3.4. Качественный анализ эфирного масла герани душистой травы методом тонкослойной хроматографии

Хроматографический анализ осуществляли по следующей методике: к 0,05 г ЭМ герани прибавляли 10 мл этанола 95%. Затем раствор гераниевого масла наносили на линию старта хроматографической пластинки марки Silufol размером 10 × 12 см. Объем наносимой пробы для растворов масел составлял 5 мкл. Пластинку сушили на воздухе, а затем помещали в хроматографическую камеру, насыщенную парами элюента. Хроматографирование осуществляли восходящим способом системе бензол/хлороформ (1:1). После достижения растворителем линии фронта, пластинку вынимали и высушивали на воздухе, а затем детектировали 5 % спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты. Хроматографические зоны проявлялись в виде темно-синих пятен на светло-жёлтом фоне после термостатирования при температуре 100 – 110 °С [93].

Элюенты готовили смешением компонентов в указанных соотношениях (см. табл. 21 в Главе 4.1.2.1) непосредственно перед использованием. Значение полярности (величину P) рассчитывали по формуле [104] используя значения полярностей отдельных растворителей, приведённые в литературе [112]:

$$P_{\text{смеси}} = \sum_{i=1}^n P_i V_i$$

где $P_{\text{смеси}}$ – полярность смеси растворителей; P_i – полярность i -го компонента смеси; V_i – объёмная доля i -го компонента смеси;

2.3.3.5. Качественный и количественный анализ эфирного масла хромато-масс-спектрометрическим методом

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводили на хроматографе Varian CP 3800 с квадрупольным масс-спектрометром 4000 MS в качестве детектора (США). Использовалась кварцевая колонка VF-5ms (5% фенил -, 95% диметилполисилоксан) длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм. Температура испарителя 280 °С, газ-носитель - гелий - 1 мл/мин. Температура колонки: 50 °С (2 мин), 50 - 270 °С (со скоростью 4 °С в мин), изотермический режим при 270 °С в течение 10 мин. Пробу масла растворяли в гексане до концентрации 0,5-1 мас.% и полученный раствор вводили в хроматограф в объёме 1 мкл при делении потока 1:50.

Идентификацию отдельных компонентов производили на основе сравнения времён удерживания, индексов Ковача и полных масс-спектров с соответствующими данными компонентов эталонных масел и чистых соединений, если они имелись. Для идентификации также использовались данные библиотеки масс-спектров входящей в программное обеспечение хромато-масс-спектрометра и данных масс-спектров и линейных индексов удерживания.

Для количественного определения суммарного содержания компонентов эфирного масла использовали метод нормирования, используя площади пиков.

При стандартизации ЭМ для количественного определения основных компонентов (цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта и лимонена) использовали метод калибровочной кривой, проводили градуировку зависимости площади пика от концентрации вещества.

Градуировочные графики приведены на рис.11-15.

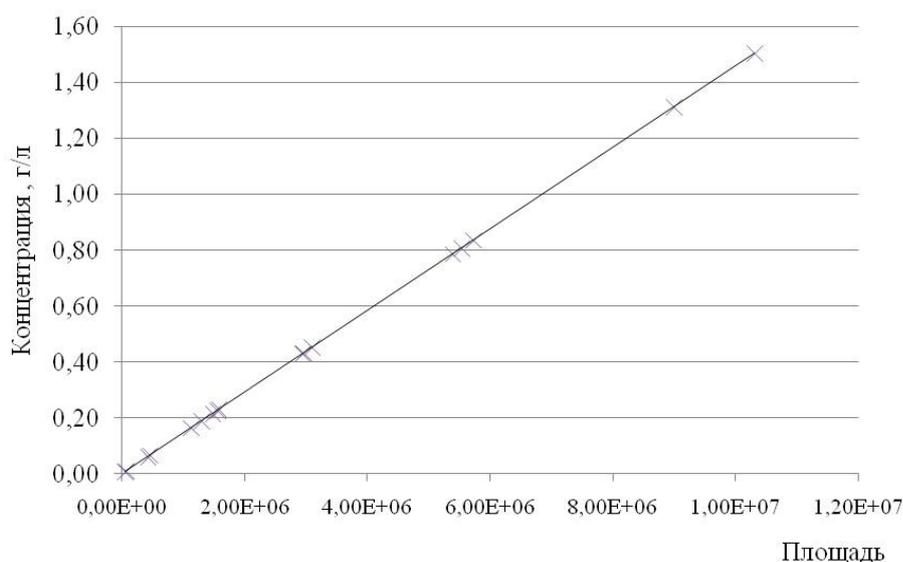


Рис. 11. Градуировочный график для лимонена

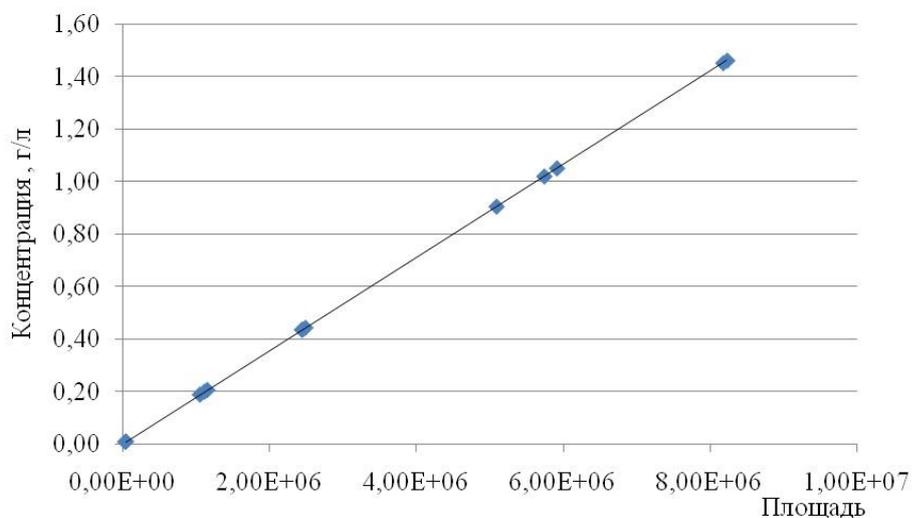


Рис.12. Градуировочный график для линалоола

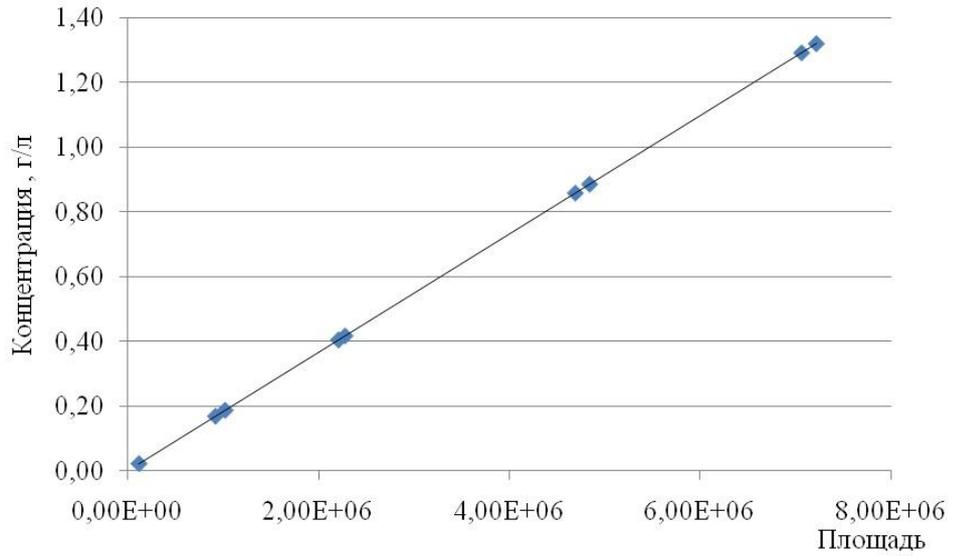


Рис.13. Градуировочный график для фенолэтилового спирта

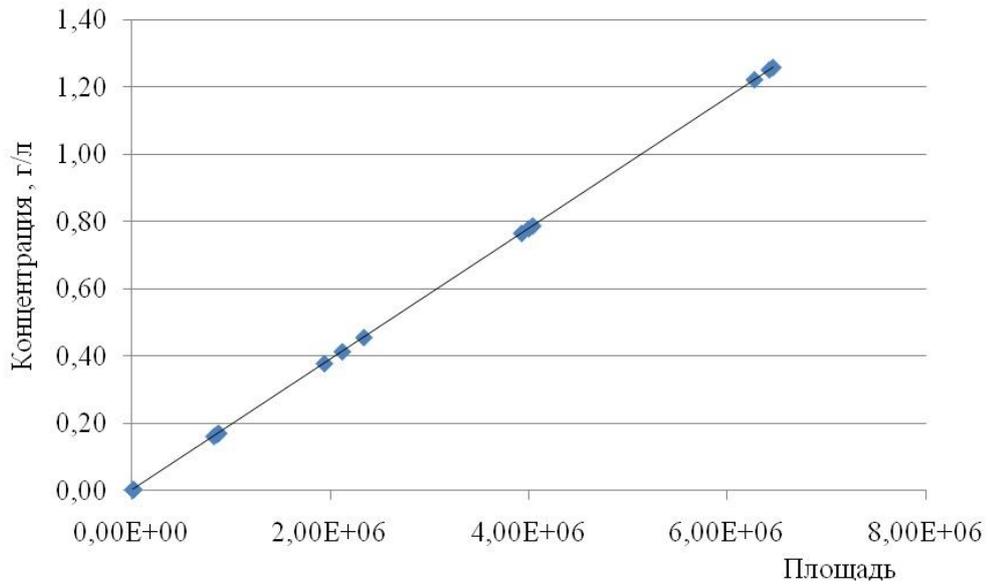


Рис.14. Градуировочный график для цитронеллола

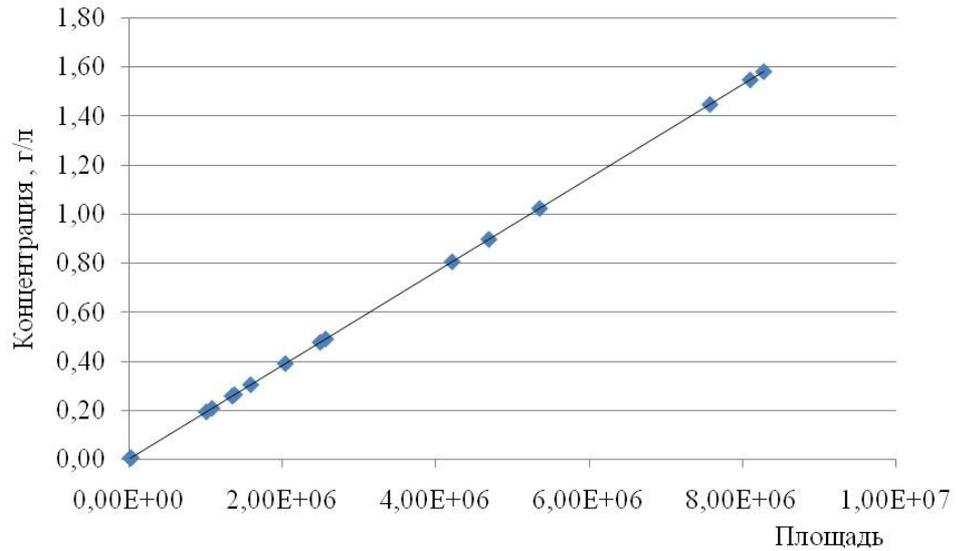


Рис.15. Градуировочный график для гераниола

Градуировочные графики обрабатывали по линейному уравнению вида:

$$C=k*S,$$

где, C – концентрация, г/л;

k – калибровочный коэффициент;

S – площадь пика.

Значения калибровочных коэффициентов приведены в табл.9.

Таблица 9

Значения калибровочных коэффициентов

Наименование компонента	Значение калибровочного коэффициента k
Лимонен	$1,46*10^{-7}$
Линалоол	$1,77*10^{-7}$
Фенилэтиловый спирт	$1,83*10^{-7}$
Цитронеллол	$1,95*10^{-7}$
Гераниол	$1,91*10^{-7}$

Содержание компонента в ЭМ рассчитывали по формуле:

$$C\% = (C_{\text{компонента}} / C_{\text{масла}}) * 100,$$

где $C_{\text{компонента}}$ – концентрация компонента, найденная по градуировочному графику, г/л

$C_{\text{масла}}$ – концентрация масла в пробе, г/л

Анализ компонентов ЭМ в CO_2 - экстрактах проводили после предварительного выделения летучей фракции гидродистилляцией в аппарате Клевенджера, методом описанным выше.

2.3.4. Получение мягких желатиновых капсул

Капсулы получали на автоматической линии для капсулирования RJWJ – 115 Soft Gelatin Encapsulator Machine (Китай), основными частями которой являются капсулятор, транспортёр, термостат и вращающаяся барабанная сушилка.

2.3.5. Приготовление желатиновой массы

ЖМ готовили по следующей технологии: в закрытый реактор, снабжённый водяной рубашкой, автоматическим регулятором температур и якорной мешалкой, вносили рассчитанный объем воды очищенной и нагревали до 70-75°C. В нагретой воде растворяли глицерин. При включённой мешалке в реактор добавляют необходимое количество желатина. Реактор герметично закрывали и после 15 минут перемешивания, смесь нагревалась до 70 – 75 °С. Желатин расплавлялся, при работающей мешалке, в течение 0,5 часа. После отключения мешалки и обогрева ЖМ оставляли в реакторе в течение 1,5-2 часов с подключением вакуума для удаления из массы пузырьков воздуха. Отсутствие пузырьков воздуха и растворение желатина в ЖМ оценивали визуально. Приготовленную ЖМ выдерживали при температуре 50 – 60 °С в течение 2,5 – 3 часов.

2.3.6. Получение желатиновых лент

Для получения ЖЛ использовали ЖМ состава: желатина 44 %, глицерина 22 %, остальное до 100% вода очищенная, которая использовалась для получения ЖЛ на автоматической линии для капсулирования RJWJ – 115 Soft Gelatin Encapsulator Machine. Одними из элементов конструкции данной линии являются распределительные бункеры с нагревательными элементами и затворами (заслонками). Высота зазора для выливания ЖМ на барабаны регулируется затворами и в зависимости от этого получают ЖЛ определённой толщины. В процессе формирования ЖЛ на охлаждающем барабане, часть её отрезалась с помощью ножниц для дальнейшего изучения механических свойств (см. раздел 2.3.7). Толщина ленты измерялась механическим микрометром.

2.3.7. Методы механических испытаний желатиновых лент

После высыхания ЖЛ при комнатной температуре и относительной влажности воздуха 20-28% в сушильном шкафу образцы для испытаний (тип IV по ГОСТ 270-75) вырубались из лент штанцевым ножом с помощью ручного пресса. Из каждой представленной ЖЛ для выявления признаков анизотропии механических свойств вырубалось 6 образцов в направлении её длинной стороны и 6 образцов – в перпендикулярном направлении. Измерение толщины проводилось цифровым микрометром на уширенных частях образцов, примыкающих к рабочей части, в качестве толщины образца задавалось среднее значение толщины по этим двум замерам.

Образцы испытывались согласно ГОСТ 11262-80 на растяжение при комнатной температуре $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$ в условиях одноосного напряжённого состояния при постоянной скорости перемещения подвижной traversы испытательной машины Zwick Z100/SN5A ($V = 10.0$ мм/мин) с использованием стандартной программы испытаний на простое растяжение образцов. Используются: датчик силы на 1 кН, цанговый захват в качестве верхнего захвата и клиновой захват с рифлёными плоскими губками в

качестве нижнего захвата. Для центрирования образца при его установке в захваты использовались упоры из картона, зафиксированные к захватам с помощью постоянных магнитов (см. рис.16).

Измерение продольной деформации (удлинения) проводилось приближённо по перемещению подвижной траверсы испытательной машины с использованием корректируемой приведённой длины параллельной части образца.



Рис.16. Образец желатина при установке в захваты

2.3.8. Реологические методы исследования желатиновой массы

Реологические методы исследования проводили с помощью ротационного вискозиметра «Reotest 2» типа RV (Германия). Анализируемый объект в количестве около 0,1 г помещали на плиту. Для каждого образца проводили три измерения при температуре 60 °С. Скорость вращения конуса изменяли последовательно от 0,333 до 145,8 об/с (по 12 скоростям вращения) и, после достижения максимального для данного прибора касательного напряжения сдвига последовательно уменьшали скорость вращения. Касательное напряжение сдвига рассчитывают по формуле:

$$\tau = \alpha * I \text{ const,}$$

где τ – касательное напряжение сдвига (н/м²);

α - показания вискозиметра;

$I \text{ const}$ – постоянная цилиндра.

Средние результаты при испытании ЖМ использовали для построения реограмм течения и расчёта величин вязкости. Значение эффективной вязкости рассчитывали по формуле:

$$\eta = \frac{\tau}{D}$$

где, η – эффективная вязкость (Па*с);

τ – касательное напряжение сдвига (н/м²);

D – скорость деформации (с⁻¹).

По результатам исследования, строили реограммы течения, отражающие зависимости скорости деформации от напряжения сдвига.

2.3.9. Методы испытаний мягких желатиновых капсул «Липовитол» и «Лимонеол»

2.3.9.1. Общие методы

Описание определяли по ОФС.1.4.1.0005.15

Однородность дозирования ЭМ определяли согласно методике ОФС.1.4.2.0008.15 метод 2.

Из отобранных единиц капсул выделяли эфирное масло на приборе Клевенджера как описано в разделе «Подлинность».

Содержание эфирного масла в одной капсуле, г (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V \cdot \rho}{a}$$

Где V – объем выделенной масляной фазы, мл

ρ – плотность эфирного масла герани душистой травы, которое использовалось при производстве капсул, г/см³

a – количество капсул взятых для анализа (10 или 30)

Однородность массы определяли по ОФС.1.4.2.0009.15. Для промывки оболочек мягких капсул использовали спирт этиловый 95%.

Распадаемость определяли по ОФС.1.4.2.0013.15 без использования дисков.

2.3.9.2. Методы определения подлинности действующих веществ мягких желатиновых капсул

α -токоферол ацетат

К 0,5 г содержимого капсулы липовитола прибавляли 1 мл концентрированной азотной кислоты и нагревали в течение 15 мин на водяной бане при температуре около 80°C, появлялось красно-оранжевое окрашивание.

Ретинола ацетат

0,5 г содержимого капсулы липовитола растворяли в 5 мл хлороформа и прибавляли 10 мл раствора хлорида сурьмы, появлялось нестойкое голубое окрашивание.

Компоненты эфирного масла

От испытуемой серии препарата отбирали случайным образом пробу в количестве 20 единиц. Затем из отобранных единиц выделяли ЭМ на приборе Клевенджера. В круглодонную колбу с нормальным шлифом 29 мм и объёмом 1 литр помещают отобранную пробу капсул, заливали их 400 мл дистиллированной воды температуры (20-25°). Колбу хорошо закупоривали шлифовой пробкой (нормальный шлиф 29 мм) и оставляли в течение часа, встряхивая каждые 10 мин, при этом нельзя мочить шлифовую пробку.

После истечения вышеуказанного времени в колбу добавляли несколько зёрен керамических кипелок и соединяли с аппаратом Клевенджера. Колбу подогревали (на электрической плитке) и проводилась гидродистилляция в течение 3 часов, время отсчитывали с момента начала кипения в колбе. За 5 минут до окончания дистилляции охлаждающая вода в холодильнике останавливалась, причём нижнюю часть холодильника нагревали до 30 – 40°C, чтобы прилипшее к стенкам холодильника

гераниевое масло могло бы полностью отделиться в приёмник. Допускали слабое отделение неконденсированных паров, но при первом их появлении холодную воду пускали в холодильник. После полного отделения масляной жидкости в приёмнике нагревание колбы прекращали, масляная жидкость переходила в градуированную часть аппарата. Нижний водный слой сливали и отбрасывали, масляную фазу собирали в приёмник и использовали в дальнейшем исследовании по методике хромато-масс-спектрометрического анализа, описанной в разделе 2.3.3.5.

2.3.9.3. Методы количественного определения действующих веществ мягких желатиновых капсул

Ретинола ацетат и α -токоферола ацетат

Количественное определение проводили по ОФС.1.2.3.0017.15 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Компоненты эфирного масла

От испытуемой серии препарата отбирают случайным образом пробу в количестве 20 единиц. Затем из отобранных единиц выделяют эфирное масло на приборе Клевенджера согласно методике, представленной в разделе «Подлинность». Выделенную масляную фазу высушивают над безводным натрием сульфатом и используют для количественного определения цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта и лимонена. Определение проводят хромато-масс-спектрометрическим методом, как описано в методе количественного определения компонентов в эфирном масле в разделе 2.3.3.5.

Содержание линалоола, фенилэтилового спирта, цитронеллола, гераниола и лимонена в одной капсуле, γ (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C\% \cdot V \cdot \rho}{20 \cdot 100}$$

Где C% – содержание компонента в эфирном масле, %;

V – объем выделенной масляной фазы, мл

ρ – плотность эфирного масла герани душистой травы или лимона Мейера экзокарпия, которое использовалось при производстве капсул, г/см³

20 – количество капсул, взятых для анализа

За результаты анализа принимали среднее арифметическое 3 – 5 повторных измерений.

Примечание: При проведении испытания следует использовать стандартные вещества (лимонена, линалоола, фенилэтилового спирта, цитронеллола и гераниола) достаточной чистоты не менее 97%

2.3.10. Фармакологические и токсикологические методы исследования

Экспериментальное изучение токсичности и биологической активности капсул «Липовитол» и «Лимонеол» осуществлялось в соответствии с требованиями Фармакологического комитета, изложенных в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (г. Москва, 2012 г) 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.

Животные содержались в виварии согласно правилам, принятым в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, диета – стандартная (ГОСТ Р 50258-92), в соответствии с правилами лабораторной практики проведения доклинических исследований в Российской Федерации.

В качестве препаратов сравнения использовали: капсулы «Жирозиталь» (страна производитель Республика Болгария), капсулы «Олиметин» (страна производитель Российская Федерация), драже «Карсил» (страна производитель Республика Болгария).

2.3.10. 1. Оценка острой токсичности

Экспериментальное изучение острой токсичности проводилось на беспородных белых мышах обоего пола массой 20-22 г. Животные были

разделены на опытные группы (по 10 мышей в каждой). Препараты вводили перорально и внутрибрюшинно в дозах от 0,06 до 2,5 г/кг. Перед введением исследуемых препаратов животных лишали пищи, но не воды, на ночь. По пришествию периода голодания животных взвешивали и на основании данных массы тела рассчитывали дозу, затем вводили тестируемые препараты однократно. За животными вели наблюдение в течение 14 суток, фиксируя поведение, интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координацию движений, тонус скелетной мускулатуры, реакцию на тактильные, звуковые, световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, ритм сердечных сокращений, состояние волосяного и кожного покровов, окраску видимых слизистых оболочек, потребление воды и пищи.

2.3.10.2. Оценка желчегонного эффекта

Эксперименты проведены на белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180-220 г. в осенне-зимний период. В каждую группу входило по 10 животных.

В первой серии экспериментов определяли желчегонную активность у интактных крыс: содержимое капсул вводили животным однократно внутрижелудочно в дозах 0,01 и 0,02 г/кг массы тела за 40 мин до операции.

В другой серии экспериментов оценивали влияние испытуемых препаратов на желчевыделительную функцию печени у крыс при токсическом гепатите, вызванном путём подкожного введения 50%-ного масляного раствора тетрахлорметана (CCl₄) в объёме 4 мл/кг 1 раз в сутки в течение 3 дней при острой или в дозе 2 мл/кг через день при подострой и хронической интоксикации в течение 1 и 3 месяцев соответственно. Параллельно с введением гепатотоксина животным опытных групп вводили ежедневно соответствующие изучаемые препараты внутрижелудочно в дозах 0,02 и 0,04 г/кг массы. Через 24 ч после введения последней дозы препарата и инъекции CCl₄ у животных контрольной и опытной групп изучали

желчевыделительную функцию печени и характер изменения химизма жёлчи.

Жёлчь у крыс после наркоза получали с помощью полиэтиленовой канюли, вставленной в общий желчный проток, через каждый час в течение 3 часов подряд. О степени желчегонной активности исследуемых препаратов судили по скорости секреции и общему количеству выделенной жёлчи (расчёт проводили в мл/мин/100 г массы), а также по содержанию в жёлчи основных её ингредиентов: холестерина, билирубина, фосфолипидов, суммарных жёлчных кислот (СЖК), холевой кислоты (ХК) и величину холатохолестеринового коэффициента (ХХК).

2.4. Приборы и оборудование

1. УФ облучатель ТИП 833 (РСФСР)
2. Лабораторный рефрактометр ИРФ-454Б2М (Россия)
3. ВЭЖХ-система на базе хроматографа UltiMate 3000 (США)
4. Универсальная испытательная машина Zwick Z100/SN5A (Германия)
5. Вискозиметр «Реотест-2.1» (Германия)

2.5. Метод обобщённой функции желательности

Для построения шкалы желательности использовали метод количественных оценок с интервалом значений от нуля до единицы. Желательность для отдельного свойства обозначали через d , а для набора свойств – через D . Значение $d = 0$ (или $D = 0$) соответствует абсолютно неприемлемому уровню данного свойства (очень плохое качество), а $d = 1$ (или $D = 1$) соответствует самому лучшему значению свойства (очень хорошее качество). Полученное значение $d(i)$ для i -го параметра пересчитывается вместе с другими в обобщённый коэффициент желательности – D [102]. Далее рассчитывали обобщённую функцию желательности, как среднее геометрическое желательности отдельных

свойств. При этом, если хотя бы одно из свойств полностью не удовлетворяет требованиям спецификации, обобщённая функция желательности D должна быть равна 0, независимо от уровня остальных откликов.

2.6. Математическое планирование эксперимента

Для оптимизации выделения ЭМ травы герани душистой выбран метод крутого восхождения (Бокса-Уилсона). Преимущества данной математической модели – возможность получения информации о степени влияния фактора, количественного определения значений функции отклика при заданном режиме ведения процесса и достижения оптимальных результатов [71, 142].

2.7. Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов химических и технологических исследований проводили по методикам согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента», фармакологических исследований проводили по методикам согласно ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности ЛС биологическими методами» Статистическую обработку всех данных осуществляли с применением пакета прикладных программ Excel 2010 с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата ($M \pm m$), критерий Фишера, t-критерия Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа, при этом различия считались достоверными при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И СО₂-ЭКСТРАКТОВ ГЕРАНИ ДУШИСТОЙ ТРАВЫ И ЛИМОНА МЕЙЕРА ЭКЗОКАРПИЯ

3.1. Выбор рационального способа получения эфирного масла герани душистой травы

Согласно литературным данным, содержание ЭМ в траве герани душистой, выращенной в Республике Таджикистан, варьируется от 0,19 до 0,34% [75]. Предварительные исследования сырья герани душистой показали, что содержание ЭМ в исследуемых образцах составляет $0,28 \pm 0,01\%$.

В Республике Таджикистан гераниевое ЭМ получают путём переработки травы в аппаратах периодического действия вместимостью не более 1,5 м³ методом перегонки водяным паром. Процесс длится около 2,2-2,5 ч, при скорости 75 л очищенной воды в час. В результате выход ЭМ герани душистой составляет 64-78% [1, 204].

Нами проведены исследования по выбору рационального метода получения ЭМ герани душистой травы с целью повышения выхода.

3.1.1. Сравнительная характеристика эфирного масла герани душистой травы полученного различными методами дистилляции

Наиболее распространёнными методами получения ЭМ являются: гидродистилляции, гидропародистилляция и паровая перегонка. В работе проведено сравнение этих трёх методов дистилляции при получении ЭМ герани душистой травы. Схемы лабораторных установок и принцип работы представлены в Главе 2.

Полученные средние результаты опыта с трёхкратными повторностями при различных методах дистилляции представлены в табл. 10.

Объем эфирного масла герани душистой травы полученного различными методами дистилляции

Метод дистилляции	Объем эфирного масла, в объёмно – весовых %	
	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 дистилляционной воды	0,20±0,01**	

Примечание: * достоверность отличий по сравнению с методом паровой перегонки, при $p=0,05$;

** достоверность отличий по сравнению с методом при использовании градуировочного приёмника, при $p=0,05$.

Гидродистилляция обеспечивала более высокий выход ЭМ (0,22 – 0,25%), затем гидропародистилляция (0,19 – 0,22%) и паровая перегонка с когобацией дистилляционной воды (0,17 – 0,20%). При всех трёх способах дистилляции наибольший выход ЭМ наблюдался при использовании в качестве приёмника сосуд типа насадки Клевенджера.

Химический состав полученных образцов ЭМ, определённый хромато-масс-спектрометрическим методом (см. Главу 2), представлен в табл. 11. Самое высокое содержание ациклических и моноциклических монотерпенов обнаружено в ЭМ, полученном методом гидродистилляции (84,83%), затем методом гидропародистилляцией (84,02%), самое низкое при паровой перегонке.

Таблица 11

Химический состав эфирного масла герани душистой травы, полученного различными методами дистилляции

№ п.п	Время удерживания	Индекс Ковача	Наименование компонента	% содержание в пробе				
				гидродистилляция	гидропародистилляция	паровая перегонка	когобация	паровая перегонка + когобация
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	7,621	934	α- пинен	0,69	0,71	0,67	-	0,68
2.	13,392	1102	Линалоол	5,34	4,16	3,46	5,47	3,79
3.	14,347	1129	транс-розеноксид	0,68	0,42	0,33	0,78	0,66
4.	15,46	1160	Ментон	2,01	2,14	2,26	2,45	2,15
5.	15,79	1170	Изоментон	2,31	2,44	2,11	3,13	2,03
6.	16,873	1200	α- терпинеол	0,69	0,59	0,64	0,67	0,73
7.	17,946	1231	Цитронеллол	46,71	45,47	42,61	45,71	45,76
8.	18,75	1254	Гераниол	12,46	11,44	10,29	10,85	10,15
9.	19,335	1271	Гераниаль	2,93	2,48	1,03	-	-
10.	19,483	1275	Цитронеллил формиат	4,54	5,01	6,74	6,65	6,87
11.	20,206	1296	Тимол	0,68	0,54	0,6	0,45	0,47
12.	20,333	1300	Геранил формиат	2,33	3,91	4,23	1,96	2,93

1	2	3	4	5	6	7	8	9
13.	22,016	1351	Цитронеллил ацетат	0,17	0,16	0,35	0,11	0,17
14.	22,907	1378	Геранил ацетат	0,41	0,48	0,59	0,15	0,53
15.	23,183	1387	α -копаен	0,98	0,45	0,84	0,56	0,68
16.	23,586	1399	β -бурбонен	0,51	1,27	1,99	0,65	1,84
17.	24,348	1423	Кариофиллен	1,85	2,76	3,85	1,22	1,99
18.	24,901	1441	Гуайа-6,9-диен	0,64	0,84	0,44	-	0,16
19.	24,931	1445	Пиперитон	-	-	0,1	-	0,10
20.	25,481	1460	α - гумулен	1,07	1,77	1,05	0,87	0,94
21.	25,647	1465	Аромандрен	0,85	0,88	0,87	0,98	0,94
22.	25,825	1471	Геранил пропионат	0,12	0,29	0,49	0,16	0,24
23.	26,266	1485	Гермакрен –D	1,32	0,83	0,73	0,38	0,36
24.	26,713	1500	Υ - кадинен	1,57	0,74	0,77	0,72	0,76
25.	27,374	1522	δ - кадинен	1,03	1,57	1,05	0,87	0,94
26.	27,505	1526	Цитронеллил бутират	0,23	0,42	1,93	1,13	1,56
27.	28,424	1557	Гераниол бутират	0,26	0,48	0,74	0,75	0,77
28.	29,293	1587	10-эпи- Υ -эудесмол	2,85	2,75	3,81	2,78	3,80
29.	29,674	1600	Фенилэтил тиглат	0,86	0,92	1,06	0,90	1,02

1	2	3	4	5	6	7	8	9
30.	30,282	1622	δ-селенен	0,40	0,64	0,38		0,11
31.	32,323	1695	α- бисаболол	0,87	0,45	0,81	0,56	0,68
32.	32,425	1698	Геранил тиглат	1,16	1,78	2,26	0,97	1,76
Ациклические монотерпены				77,34	76,50	75,05	74,69	75,19
углеводороды				5,34	4,16	3,46	5,47	3,79
спирты				59,17	56,91	52,9	56,56	55,91
сложные эфиры				9,90	12,95	17,66	12,66	15,49
альдегиды				2,93	2,48	1,03	-	-
Моноциклические монотерпены				6,35	6,43	6,57	7,4	6,4
спирты				1,37	1,13	1,24	1,12	1,2
сложные эфиры				0,66	0,72	0,86	0,7	0,92
кетоны				4,32	4,58	4,47	5,58	4,28
Бициклические монотерпены				0,59	0,61	0,57	-	0,58
Сесквитерпены				13,94	14,95	16,59	9,59	13,20

след* - содержание менее 0,1 %

- ** - не обнаружено

Содержание монотерпеновых спиртов больше при методе гидродистилляции (60,54%) и гидропародистилляцией (58,04%), чем при паровой перегонке (54,14%). Сложные эфиры монотерпенов больше всего содержатся в ЭМ, полученном паровой перегонкой (18,52%), затем гидропародистилляцией (13,67%) и гидродистилляцией (10,56%).

Как видно из табл. 11, во всех образцах ЭМ герани душистой травы обнаружены: цитронеллол, гераниол и линалоол.

Содержание цитронеллола (46,71%) и гераниола (12,46%) больше всего в образцах ЭМ герани душистой, полученных методом гидродистилляции, меньше всего в образцах полученных паровой перегонкой (цитронеллола (42,61%), а гераниола (10,29%)). После когобации дистилляционных вод во вторичном ЭМ обнаружено гераниола 10,85%, что показывает его низкую степень извлечения при первичной паровой перегонке. В большем количестве линалоол содержится в образце, полученном методом гидродистилляции (5,34%), примерно одинаковое содержание при методах гидропародистилляция (4,16%) и паровой перегонке + когобация (3,79%), при этом меньше всего при паровой перегонке (3,46%).

Следовательно, рациональным методом, который обеспечивает наибольшие содержание спиртов (цитронеллола, гераниола и линалоола) в эфирном масле герани душистой травы является гидродистилляция с насадкой Клевенджера. Оптимизация данного способа описана в главе 3.2.

3.2. Оптимизация метода получения эфирного масла герани душистой травы

Согласно результатам, полученных в главе 3.1., наиболее рациональный метод получения ЭМ травы герани душистой – дистилляция в аппарате Клевенджера.

Проведённые предварительные исследования позволили выделить уровни количественных факторов, а также интервалы их варьирования [31, 32, 45, 81, 139]. Кодированные значения, уровни и интервал варьирования используемых факторов оптимизации представлены в табл. 12.

Таблица 12

Уровни варьирования факторов

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

Для исследования зависимости выхода ЭМ от трёх технологических факторов и последующей оптимизации метода использовали трёхфакторный план эксперимента. За параметр оптимизации (Y) приняли выход ЭМ в %. Матрица планирования, а также значения выхода ЭМ (Y), измеренные в трёхкратной повторностях, представлена в табл. 13. Для каждого опыта использовалась точная навеска измельчённого сырья 100 г. Размер частиц определяли с помощью ситового анализа. Время дистилляции отсчитывали с момента начала кипения жидкости в колбе.

Матрица планирования 2^3 и результаты эксперимента

№	X_1	X_2	X_3	X_0	Y_1	Y_2	Y_3	Y_{cp}	$Y_{расч}$
1.	-	-	-	+	0,22	0,24	0,24	0,24	0,23
2.	+	-	-	+	0,20	0,22	0,20	0,20	0,20
3.	-	+	-	+	0,26	0,24	0,24	0,25	0,25
4.	+	+	-	+	0,20	0,18	0,22	0,20	0,21
5.	-	-	+	+	0,22	0,22	0,20	0,21	0,22
6.	+	-	+	+	0,18	0,20	0,18	0,18	0,19
7.	-	+	+	+	0,22	0,24	0,24	0,24	0,23
8.	+	+	+	+	0,18	0,22	0,20	0,20	0,20

Примечание: «+» - верхний уровень фактора, «-» - нижний уровень фактора, X_0 – фиктивная переменная.

При обработке данных в программе Excel с использованием модели полного факторного эксперимента с тремя переменными найдено 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 (А) = 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 X_2 (время экстракции) – является статистически значимым и оказывает наибольшее влияние на процесс получения ЭМ. Факторы X_1 (степень измельчения) и X_3 (гидромодуль) обеспечивают наибольший выход ЭМ, находясь на нижнем уровне.

В соответствии с полученным уравнением построена поверхность отклика (рис. 17)

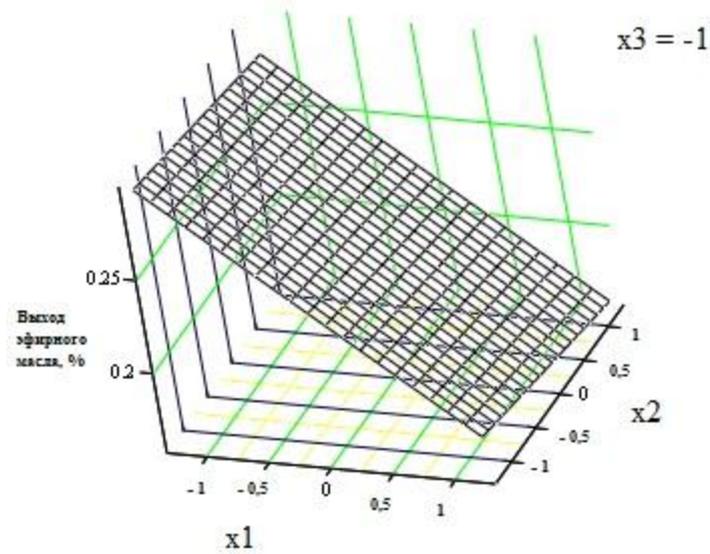


Рис. 17. Влияние гидромодуля и времени экстракции на выход эфирного масла

Проведено крутое восхождение для критерия оптимизации Y . Для этого выбран лучший опыт (№ 3, см. табл. 13), новый шаг движения для $X_2 = 0,25$ ч. Проведя движение шага к максимуму и закрепление уровня факторов X_1 и X_3 на нижнем уровне, рассчитывали необходимые теоретические опыты, из которых был реализован опыт 3 (см. табл. 14).

Таблица 14

Результаты крутого восхождения

новый шаг варьирования	X_1	X_2	X_3	Y
	-	0,25	-	
Теоретические опыты				
1	1:10	3,25	3	0,248
2	1:10	3,50	3	0,252
3	1:10	3,75	3	0,255
Реализованный опыт				
1	1:10	3,75	3	0,26

Результаты реализованного опыта подтвердили правильность расчётных данных. Таким образом, оптимальными условиями проведения процесса дистилляции ЭМ следующие: гидромодуль 1:10, продолжительность дистилляции 3 ч 45 мин, размер частиц сырья 3 мм, при этом выход составляет 93%.

На следующем этапе исследованы выходы основных компонентов (линалоола, цитронеллола и гераниола) в зависимости от времени дистилляции. Результаты представлены на рис. 18.

В результате проведённого исследования установлено, что максимальное содержание основных компонентов в ЭМ через 210 мин от начала процесса дистилляции, последующее увеличение времени приводит к снижению содержания гераниола.

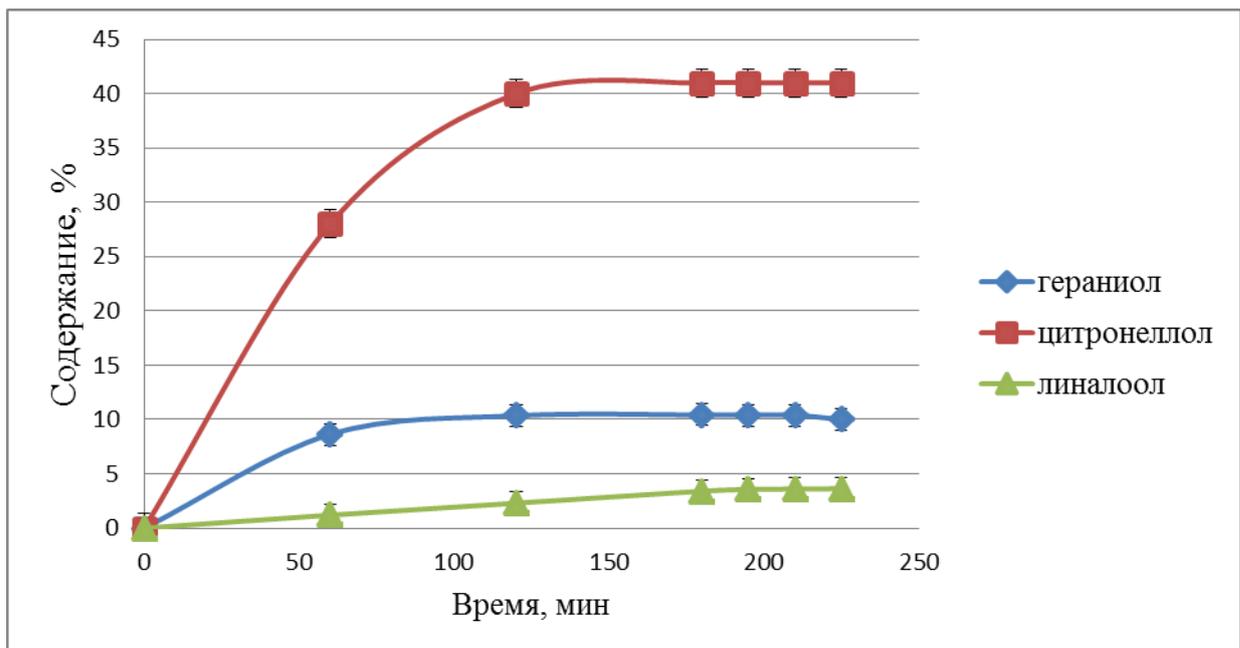


Рис. 18. Зависимость содержания основных компонентов эфирного масла герани душистой травы от продолжительности процесса дистилляции

В результате оптимизации процесса дистилляции в аппарате Клевенджера ЭМ герани душистой травы рекомендованы следующие условия: соотношение сырье: вода очищенная 1 : 10; время дистилляции 210 мин (3 ч. 30 мин); размер частиц сырья 3 мм

Предложенная технология получения эфирного масла травы герани душистой в аппарате Клевенджера с положительным результатом апробирована в лабораторных условиях естественно-математического факультета Сибайского института (филиал) ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» (акт апробации от 13 ноября 2017 г.)

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

Принимая во внимание рассмотренные в Главе 1 возможности и преимущества технологии СУЭ, представляется обоснованным изучение возможности использования данной технологии для получения фармацевтической субстанции из эфиромасличного сырья.

При выборе режима сверхкритической экстракции, учитывали выход основных компонентов ЭМ, которые обеспечивают фармакологическое действие.

Влияние технологических параметров СФЭ на выход основных компонентов герани душистой травы.

Исследована зависимость выхода CO₂-экстракта из герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия от давления в интервале от 8 до 24 МПа при длительности процесса 30 минут и температуре 40 °С. Согласно полученным результатам (рис. 19), при давлении 16 МПа наблюдалось увеличение выхода экстрактивных веществ травы герани душистой в 1,6 раза, а для экстракта лимона Мейера в 1,2 раза. Вероятно, это связано с возрастанием плотности флюидного потока растворителя, что повышает его растворяющую способность для неполярных веществ. Дальнейшее повышение давления с 16 до 24 МПа приводило к незначительному увеличению выхода растворимых веществ.

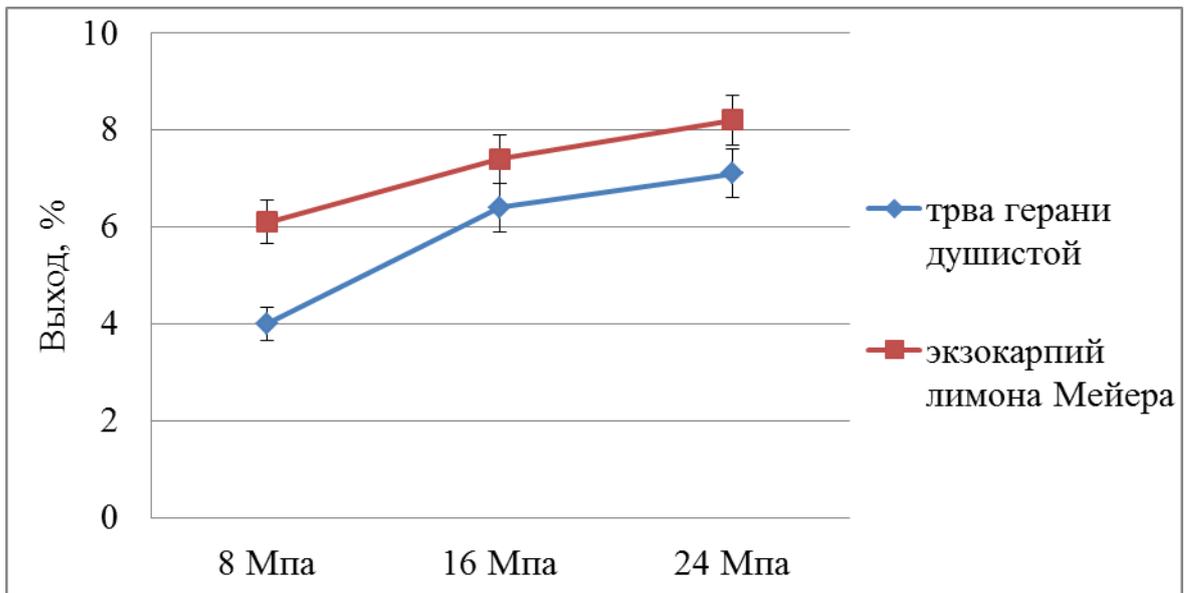


Рис. 19. Зависимость выхода экстрактивных веществ из герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия от давления (температура 40 °С, время экстракции 30 минут) с доверительными интервалами (при $\gamma = 0.95$)

При исследовании зависимости выхода CO_2 -экстрактов от температуры, установлено, что при 60 °С наблюдается увеличение общего выхода экстрактивных веществ, вследствие повышения растворяющей способности растворителя для липофильных веществ (рис. 20).

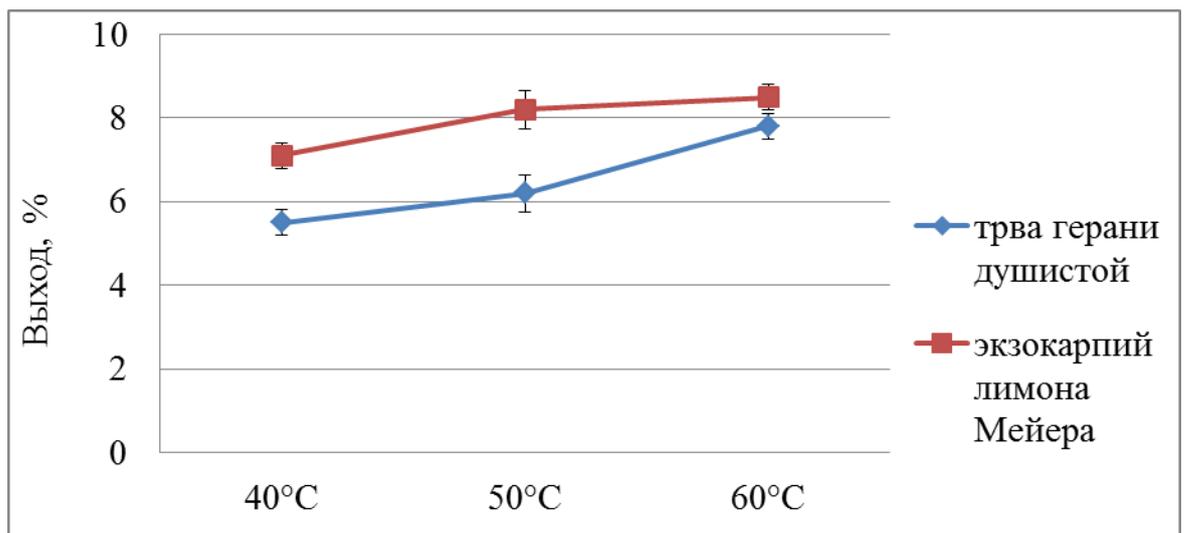


Рис. 20. Зависимость выхода экстрактивных веществ из герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия от температуры (давление 16 МПа, время экстракции 30 минут) с доверительными интервалами (при $\gamma = 0.95$)

Изучение влияния времени экстракции на выход извлечения, показало, что изменение времени CO_2 -экстрагирования с 15 до 30 мин приводит к увеличению выхода экстракта герани душистой травы в 3 раза, а для лимона Мейера в 2,1 раза, что указывает на более полное извлечение комплекса биологически активных веществ как низкополярного, так и неполярного характера (рис. 21). Увеличение длительности процесса экстракции до 60 мин не приводило к значительному повышению выходу экстрактивных веществ.

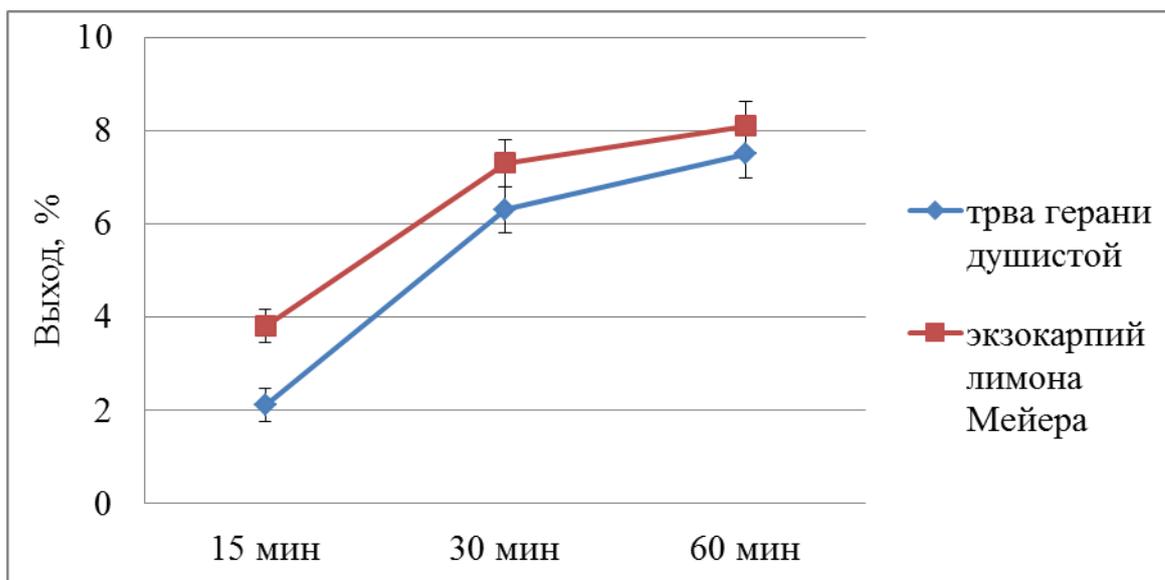


Рис. 21. Зависимость выхода экстрактивных веществ из герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия от времени экстракции (давление 16 МПа, температура 40 °С) с доверительными интервалами (при $\gamma = 0.95$)

При хромато-масс-спектрометрическом анализе экстрактов герани душистой травы установлено, что содержание двух основных компонентов увеличивалось при изменении давления с 8 до 24 МПа: цитронеллола на 4,5%, линалоол на 17%, при этих же условиях содержание гераниола уменьшилось на 18% (см. табл. 15). Из результатов, видно, что основные компоненты имели наибольшее количество при 40°C: цитронеллол - 41%, гераниол - 11,9 % и линалоол - 3,9%, Дальнейшее повышение температуры вызывает снижение содержания данных компонентов. Увеличение времени экстракции с 15 до 30 мин повышает количество цитронеллола на 2,61%,

линалоола 10% и снижает гераниол на 4,25%. Экстракция длительностью 60 мин приводила к снижению содержания цитронеллола и гераниол, но при этом количество линалоола становится выше на 16%.

Таблица 15

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

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

Результаты хромато-масс-спектрометрического анализа компонентов CO₂-экстрактов лимона Мейера экзокарпия, представленные в табл. 16.

Таблица 16

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

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

При изменении давления с 8 до 24 Мпа количество двух основных компонентов увеличивалось: лимонена на 6,1%, γ -терпинен на 12,9 %. Максимальное содержание в экстракте лимонена наблюдалось при температуре 50 °С. Увеличение времени экстракции с 15 до 30 мин повышает содержание лимонена на 8,3 %, γ -терпинена на 13,9%.

Исходя из вышесказанного, рациональными технологическими параметрами, которое обеспечивает высокое содержание основных компонентов в CO₂-экстракте герани душистой травы: время 30 мин, температура 40 °С, давление 16 Мпа; в CO₂ -экстракте лимона Мейера экзокарпия: время 30 мин, 50 °С и 16 МПа.

Предложенная технология получения CO₂ - экстракта герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия с положительным результатом апробирована в производственных условиях ООО «Биоцветика» (акт апробации от 25 декабря 2017 г.).

3.3.1. Сравнительная характеристика эфирных масел герани душистой травы, полученных сверхкритической углекислотной экстракцией и дистилляцией

Выбранные в главе 3.3. условия использованы при получении CO₂-экстракта герани душистой травы. Хроматограммы углекислотного экстракта и ЭМ, полученного методом гидродистилляции, представлены на рис. 22.

При сравнительном анализе компонентов ЭМ (табл. 17) установлено, что содержание основных компонентов при СУЭ больше, по сравнению с традиционной технологией. Количество цитронеллола увеличилось на 5,5%, гераниола на 26%, линалоола на 12,4%. Кроме того в углекислотном экстракте присутствуют дополнительные компоненты: камфен 0,10%, β -пинен 0,20% и сабинен 0,10%.

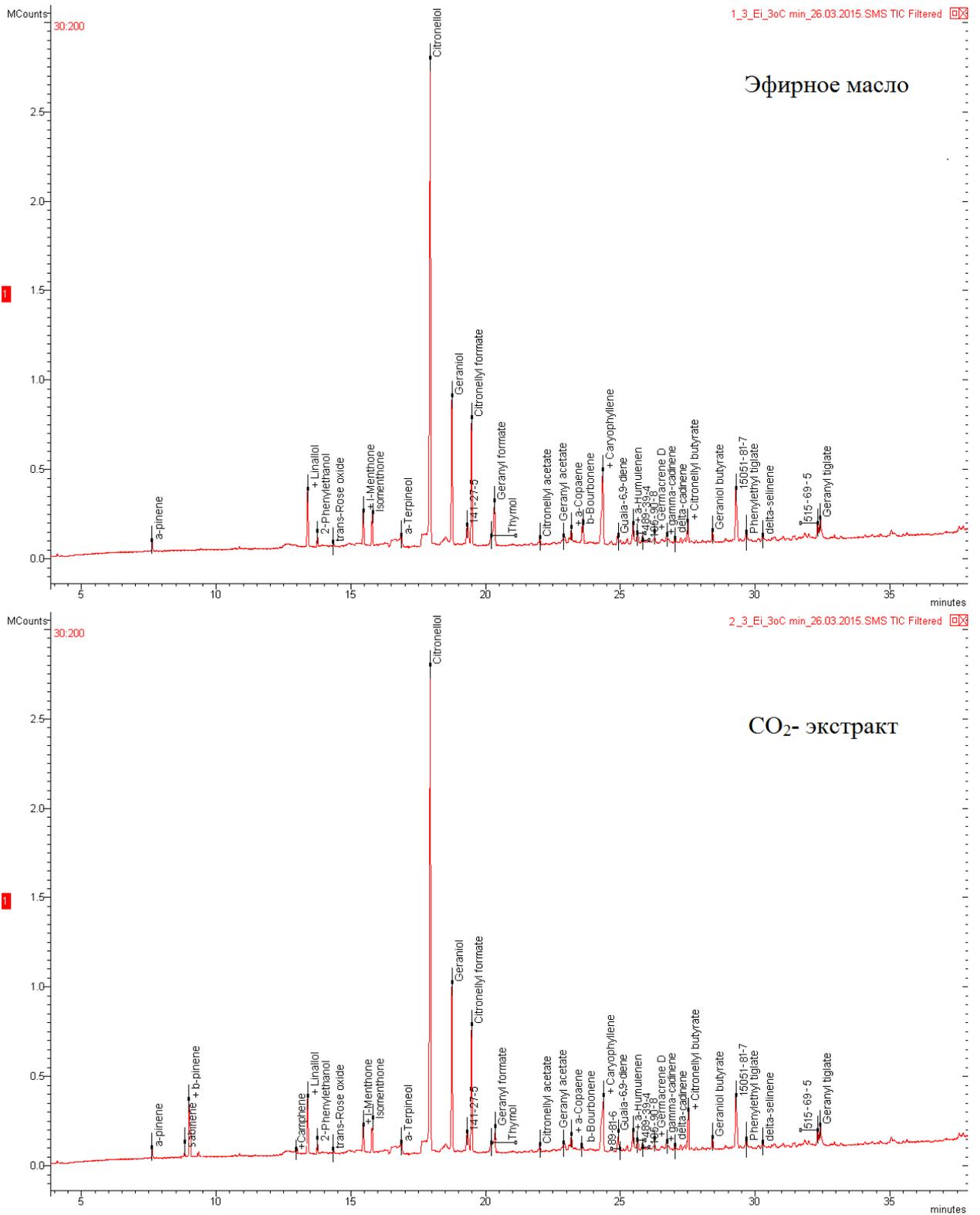


Рис. 22. Хроматограммы эфирных масел герани душистой травы, полученных дистилляцией и углекислотной экстракцией

Химический состав эфирного масла и CO₂-экстракта герани душистой травы

№ п.п.	Наименование компонента	Время удерживания, мин	Индекс Ковача	Содержание компонента, %	
				Эфирное масло	CO ₂ -экстракт
1	2	3	4	5	6
1.	α- пинен	7.621	934	0,59	0,80
2.	Сабинен	8,868	973	-*	0,10
3.	β- пинен	9,041	978	-	0,20
4.	Камфен	12.997	946	-	0,10
5.	Линалоол	13.392	1102	3,56	3,94
6.	Фенилэтанол	13.760	1113	0,80	0,60
7.	транс-розеноксид	14.347	1129	0,28	0,50
8.	Ментон	15.460	1160	2,22	1,30
9.	Изоментон	15.790	1170	2,11	2,50
10.	α- терпинеол	16,873	1200	0,59	0,76
11.	Цитронеллол	17.946	1231	42,81	43,20
12.	Гераниол	18.750	1254	10,36	13,90
13.	Гераниаль	19,335	1271	1,03	0,50
14.	Цитронеллил формиат	19.483	1275	6,54	6,05
15.	Тимол	20,206	1296	0,62	0,30
16.	Геранил формиат	20.333	1300	4,33	1,16
17.	Цитронеллил ацетат	22.016	1351	0,37	0,30
18.	Геранил ацетат	22,907	1378	0,61	0,31
19.	α-копаен	23.183	1387	0,90	1,50

1	2	3	4	5	6
20.	β-бурбонен	23.586	1399	1,31	0,47
21.	Кариофиллен	24.348	1423	3,65	1,80
22.	α- гумулен	25.481	1460	1,07	1,60
23.	Гуайа-6,9-диен	24.901	1441	0,44	1,39
24.	Пиперитон	24,931	1445	-	0,25
25.	Аромандрен	25,647	1465	0,85	0,55
26.	Геранил пропионат	25,825	1471	0,29	0,39
27.	Гермакрен –D	26.266	1485	0,77	0,90
28.	Υ- кадинен	26,713	1500	0,77	0,20
29.	δ- кадинен	27,374	1522	1,03	0,91
30.	Цитронеллил бутират	27.505	1526	1,70	3,10
31.	Гераниол бутират	28.424	1557	0,76	1,00
32.	10-эпи- Υ -эудесмол	29.293	1587	3,85	4,30
33.	Фенилэтил тиглат	29.674	1600	0,76	0,80
34.	δ-селенен	30,282	1622	0,40	0,10
35.	α- бисаболол	32.323	1695	0,87	1,20
36.	Геранил тиглат	32.425	1698	2,16	2,90

* - не обнаружено

3.3.2. Сравнительная характеристика эфирного масла лимона Мейера экзотарпия, полученного сверхкритической углекислотной экстракцией и методом прессования

Выбранные в главе 3.3. условия использованы при получении CO_2 -экстракта лимона Мейера экзотарпия. Хроматограммы углекислотного экстракта и ЭМ, полученного методом прессования, представлены на рис. 23.

При сравнительном анализе содержания компонентов извлечений (табл. 18) установлено, что основного компонента лимонена больше при сверхкритической экстракции по сравнению с традиционной технологией (на 7,5%). Содержание γ -терпинена выше в 1,5 раза в CO_2 -экстракте, чем в эфирном масле. Представляет особый интерес изучение CO_2 -экстракта с точки зрения фармакологического действия. Установлено, что γ -терпинен обладает высокой биологической активностью, в частности спазмолитическим действием [143]. Кроме того установлены существенные различия в качественном и количественном составе эфирного масла и CO_2 -экстракта лимона Мейера. В эфирном масле выше содержание: α и β -пинена, п-кумена, гераниала и др. В CO_2 -экстракте выше содержание: сабинена, α -гумулена, β -бисоболена и др. низколетучих соединений, при этом присутствуют дополнительные 9 компонентов: α -туен, терпенолен, геранил ацетат и др.

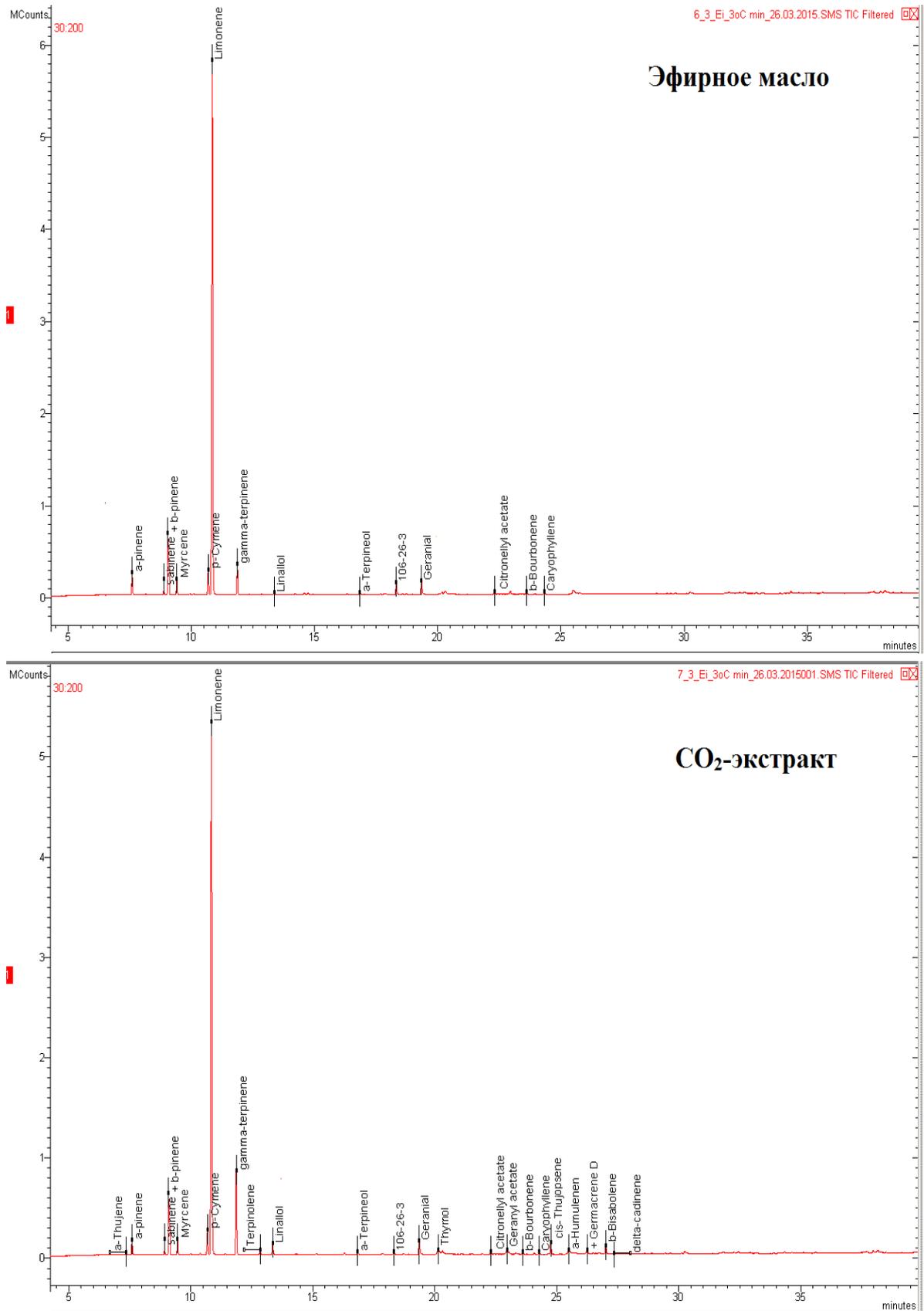


Рис. 23. Хроматограммы эфирных масел лимона Мейера экзокарпия, полученных прессованием и углекислотной экстракцией

Химический состав эфирного масла и СО₂-экстракта лимона Мейера
экзокарпия

№ п.п.	Наименование компонента	Время удерживания, мин	Индекс Ковача	Содержание компонента, %	
				Эфирное масло	СО ₂ -экстракт
1	α- туен	7,335	925	-	0,15
2	α- пинен	7,621	934	2,81	1,28
3	сабинен	8,868	973	0,34	0,95
4	β- пинен	9,041	978	7,89	5,27
5	мирцен	9,396	989	1,98	1,23
6	п-кумен	10,665	1026	3,44	1,21
7	лимонен	10,828	1030	71,86	77,31
8	γ- терпинен	11,852	1059	4,92	7,66
9	терпенолен	12,824	1086	-	0,23
10	линалоол	13,392	1102	0,41	0,32
11	α- терпинеол	16,873	1200	0,42	0,42
12	цис-п-Мента-1 (7), 8-диен-2-о	18,308	1241	1,99	0,31
13	гераниаль	19,335	1271	2,71	0,29
14	тимол	20,206	1296	-	0,23
15	цитронил ацетат	22,288	1359	0,51	0,35
16	геранил ацетат	22,907	1378	-	0,17
17	β- бурбунен	23,586	1399	0,32	0,32
18	кариофиллен	24,348	1423	0,40	0,43
19	цис-туопсен	24,695	1435	-	0,57
20	α- гумулен	25,481	1460	-	0,51
21	гермакрен-D	26,266	1485	-	0,31
22	β- бисоболен	26,995	1509	-	0,45
23	δ- кадинен	27,374	1522	-	0,03

Для принятия решения о целесообразности использование СО₂-экстрактов в качестве фармацевтической субстанции необходимо проведение доклинических исследований, в частности оценке хронической токсичности и испытаний специфической фармакологической активности.

Выводы по Главе 3

1. В результате оптимизации метода гидродистилляции с использованием насадки Клевенджера, определены оптимальные условия получения эфирного масла герани душистой травы, которые обеспечивают наибольшее содержание цитронеллола, гераниола и линалоола: соотношение сырье: вода очищенная 1:10; время дистилляции 210 мин (3 ч. 30 мин); размер частиц сырья 3 мм. В результате выход эфирного масла увеличился с 70% до 93%.

2. Определены параметры обеспечивающие наибольшее содержание в CO_2 -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.

3. В результате сравнительного исследования эфирных масел и CO_2 -экстрактов герани душистой травы и лимона Мейра экзокарпия установлено, что углекислотный экстракт обладает отличным содержанием БАВ по сравнению с эфирным маслом данных растений, что показывает необходимость проведение дополнительных доклинических исследований CO_2 -экстрактов.

ГЛАВА 4. ВЫБОР ПАРАМЕТРОВ КАЧЕСТВА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ГЕРАНИ ДУШИСТОЙ ТРАВЫ И ЛИМОНА МЕЙЕРА ЭКЗОКАРПИЯ

Показатели качества ЭМ для использования в фармации определяются согласно **ОФС.1.5.2.0001.15** «Эфирные масла» [17, 18]. Кроме того, показатели качества ЭМ герани душистой нормируются: **ГОСТ ISO 4731-2014** «Масло эфирное гераниевое (*Pelargonium x ssp.*)» [19] и **ГОСТ 31791-2012** «Продукция и сырье эфиромасличное травянистое и цветочное. Технические условия» [20].

4.1. Выбор параметров качества и стандартизации эфирного масла герани душистой травы

Определение показателей, регламентирующие качество ЭМ герани душистой травы, проводили на трёх опытных сериях ЭМ полученного из сырья, собранного в Республике Таджикистан (ЭМРТ) и ЭМ полученного по оптимизированному нами методу гидродистилляции (ЭМ Г). Для подтверждения сходимости результатов проводили по три независимых определения.

4.1.1. Определение показателя «Описание»

Результаты определения внешнего вида, цвета, прозрачности, запаха в сравнении с показателями НД приведены в табл. 19.

По результатам определения показателей внешнего вида, запаха, прозрачности и цвета ЭМ герани душистой травы, предложено внести в НД раздел «Описание»: прозрачная, подвижная жидкость от янтарно-жёлтого до зелено-жёлтого цвета, со специфическим запахом розы.

Таблица 19

Результаты определения показателя «Описание» ЭМ герани душистой травы в сравнении с показателями в НД

ГОСТ ISO 4731-2014	ГОСТ 31791- 2012	ОФС. 1.5.2.0001.15	Экспериментальное значение			
			Серия	ЭМ РТ	Серия	ЭМ Г
Внешний вид						
подвижная жидкость	не регламен- тируется	жидкость	010812	подвижная жидкость	101014	подвижная жидкость
			010912	подвижная жидкость	151014	подвижная жидкость
			300912	подвижная жидкость	300914	подвижная жидкость
Прозрачность						
прозрачная	не регламен- тируется	прозрачная	010812	прозрачная	101014	прозрачная
			010912	прозрачная	151014	прозрачная
			300912	прозрачная	300914	прозрачная
Запах						
Запах розы, с меняющейся нотой мяты	не регламен- тируется	специфи- ческий	010812	Специфический. Запах розы, с меняющейся нотой мяты	101014	Специфический. Запах розы
			010912	Специфический. Запах розы, с меняющейся нотой мяты	151014	Специфический. Запах розы
			300912	Специфический. Запах розы	300914	Специфический. Запах розы
Цвет						
от янтарно- жёлтого до зелено- жёлтого цвета	не регламен- тируется	в соответствии с НД	010812	жёлтый	101014	жёлтый
			010912	жёлто-зелёный	151014	жёлтый
			300912	жёлто-зелёный	300914	жёлтый

4.1.2. Определение подлинности эфирного масла герани душистой травы

Согласно ОФС 1.5.2.0001.15 методом выбора для определения подлинности ЭМ является хроматография, который включает в себя качественный и количественный анализ отдельных составляющих [17]. Кроме этого для предварительной экспресс идентификации ЭМ допустимо использовать метод ТСХ, который рационально использовать.

4.1.2.1. Разработка методики идентификации компонентов эфирного масла герани душистой методом тонкослойной хроматографии

На первом этапе работы осуществляли подбор детектирующего реагента. Для этой цели были исследованы различные проявители, рекомендуемые в литературе для идентификации ЭМ [131, 132, 134], а также подобранные в ходе эксперимента. Критерием отбора проявителей являлось образование устойчивого интенсивного окрашивания хроматографических зон, а также их контрастность по сравнению с фоном. Результаты представлены в табл. 20.

Для дальнейшей работы выбран 5 % спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты (ФМК), так как в результате обработки хроматографической пластины наблюдались чёткие зоны определяемых компонентов: цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта, и длительное время сохраняли свою интенсивность. К тому же, преимуществом этого детектирующего реагента является его безопасность и лёгкость приготовления [112, 132].

Детектирующие реагенты для определения ЭМ герани душистой травы
методом ТСХ

№ п/п	Детектирующий реагент	Эффект
1	Без проявителя	Нет
2	В УФ свете	светло-зелёные не чёткие пятна
3	Насыщенный раствор хлорида сурьмы (III) в хлороформе	светло-розовые не чёткие пятна
4	1 % раствор ванилина в серной кислоте	жёлтые и розовые чёткие пятна
5	5 % спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты	темно-синие чёткие пятна на светло-жёлтом фоне
6	Йод кристаллический	светло-жёлтые не чёткие пятна
7	Конц. серная кислота	обугливание пластинки

Установлено, что наибольшее влияние на разделение веществ в тонком слое сорбента оказывает растворитель, а именно, его значение полярности [15, 131, 132, 134]. На следующем этапе работы проведён подбор элюентов в зависимости от величины полярности. Экспериментально исследованы системы, предложенные в литературе [86, 131, 132], а также изучены новые хроматографические системы (табл. 21).

Хроматографирование осуществляли восходящим способом в изучаемых системах по методике 2.3.3.4. После достижения растворителем линии фронта, пластинку вынимали и высушивали на воздухе, а затем детектировали 5 % спиртовым раствором ФМК. Хроматографические зоны проявлялись в виде темно-синих пятен на светло-жёлтом фоне после термостатирования при $t^{\circ} = 100 - 110^{\circ}\text{C}$.

Значение полярности изученных элюирующих систем

№ п/п	Состав системы	Соотношение компонентов	Полярность	Количество пятен на хроматограмме
1	н-Гексан-хлороформ-уксусная кислота	6:2:2	2,02	3
2	н-Гексан-этилацетат-хлороформ	6:2:2	1,7	2
3	Бензол – н-гексан - этилацетат	50:10:1	1,94	2
4	н-Гексан-этилацетат	96:4	0,18	1
5	н-Гексан - бензол	9:1	0,3	1
6	н-Гексан-хлороформ	2:1	1,47	4
7	Бензол - хлороформ	1:1	3,19	7
8	Бензол-метанол	1:1	3,69	4
9	Бензол-этилацетат	5:1	2,63	3
10	Хлороформ - бензол	3:17	2,55	3
11	Метанол - вода	7:3	6,63	1

Установлено, что на разделение компонентов ЭМ влияет величина полярности элюента, так при значении полярности менее 1 и более 6 разделения хроматографических зон ЭМ не происходит. При значении полярности от 2 до 3 хроматографические зоны разделяются, но не достаточно хорошо, наблюдается 2-3 пятна. Наилучшее разделение компонентов гераниевого масла осуществляется в системе с полярностью 3,19 (бензол/хлороформ = 1:1), которую и использовали в дальнейшем.

Далее была определена оптимальная концентрация содержания ЭМ герани душистой травы в пробе для идентификации основных компонентов (табл. 22). Объем наносимой пробы для растворов масел с изучаемой

концентрацией составляет 5 мкл. Точную навеску масла растворяли в соответствующем объеме этанола 95%, для получения необходимой концентрации. Затем хроматографировали по методике 2.3.3.4. (рис. 24).

Таблица 22

Значения концентрации раствора эфирного масла герани душистой травы для определения методом ТСХ

№ п/п	Концентрация гераниевого масла, г/мл	Количество пятен на хроматограмме
1	0,001	5
2	0,003	6
3	0,005	7

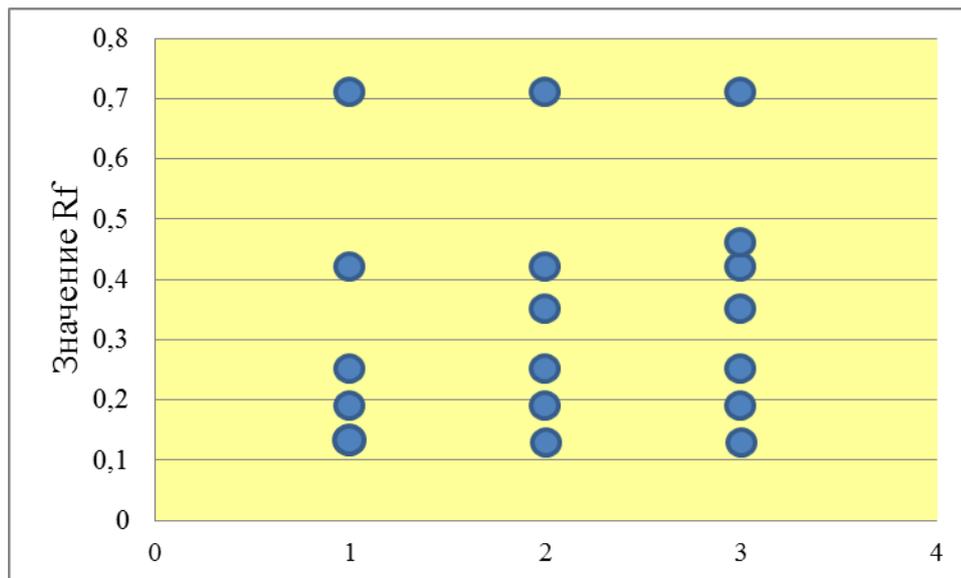


Рис. 24. Хроматографический профиль ЭМ герани душистой травы.
Концентрация гераниевого масла, г/мл: 1 - 0.001, 2 - 0.003, 3 - 0.005.

Для идентификации полученных пятен готовили растворы стандартных образцов веществ свидетелей (СОВС): цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта. 0,01 г СОВС помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола 95% и доводили объем до метки. Затем на линию старта хроматографической пластинки наносили

растворы СОВС и раствор гераниевого масла. Далее хроматографировали по методике 2.3.3.4. Типичный вид хроматограммы представлен на рис. 25.

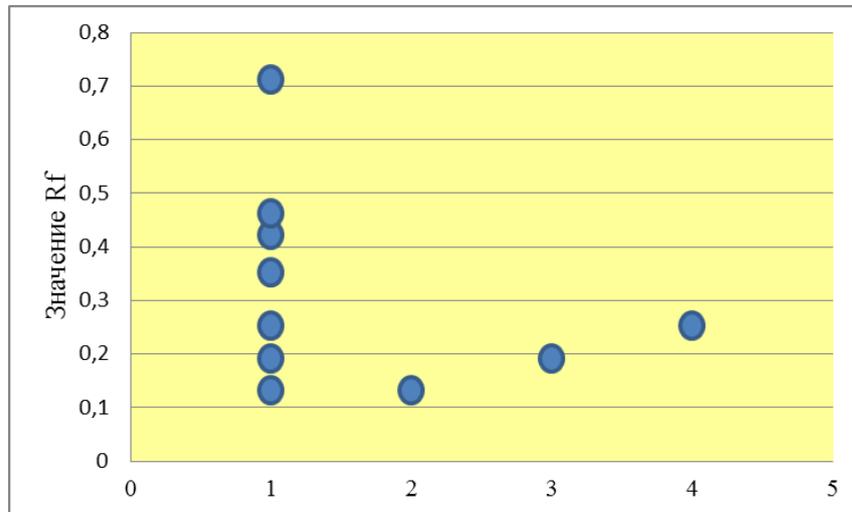


Рис. 25. Хроматографический профиль ЭМ герани душистой травы и СОВС: 1 – гераниевое масло, 2 – СОВС гераниола, 3 – СОВС цитронеллола, 4 – СОВС линалоола.

Для всех обнаруженных зон рассчитаны хроматографические параметры (табл. 23) [104]. Для СОВС установили величину R_f : гераниола - $0,13 \pm 0,04$, цитронеллола - $0,19 \pm 0,01$, линалоола - $0,25 \pm 0,02$.

Как видно из рис. 25 на хроматограммах при нанесении 5 мкл в концентрации 0,05 г/мл гераниевого масла наблюдали 7 пятен, 3 из которых по величине R_f и положению пятен СОВС идентифицированы, как: гераниол, цитронеллол, линалоол. Полученный хроматографический профиль гераниевого масла можно использовать для идентификации эфирного масла герани душистой из сырья, собранного в Республике Таджикистан, по количеству зон с определёнными значениями величин относительной подвижности компонентов (R_f).

Хроматографические параметры эфирного масла герани душистой травы в элюирующей системе № 7

Номер зоны на хроматограмме	R_f	K	L
1	0,13±0,02	6,69	1,56
2	0,19±0,01	4,26	
3	0,25±0,02	3	1,42
4	0,35±0,02	1,85	1,61
5	0,42±0,02	1,38	1,34
6	0,46±0,01	1,17	1,17
7	0,71±0,03	0,40	2,87

Значение селективности сорбции (L) в системе бензол/хлороформ (1:1), определяли как отношение коэффициентов распределения (K) двух веществ (см. табл. 23). Чем больше величина L, тем лучше будет разделение, так как зоны компонентов располагаются друг от друга на большом расстоянии [132].

Для определения специфичности предложенной методики проведён сравнительный анализ ЭМ герани душистой травы из различных стран производства: Республика Таджикистан и Россия (фирма «Аспера»), в качестве сравнения. Полученные хроматографические профили приведены на рис. 26.

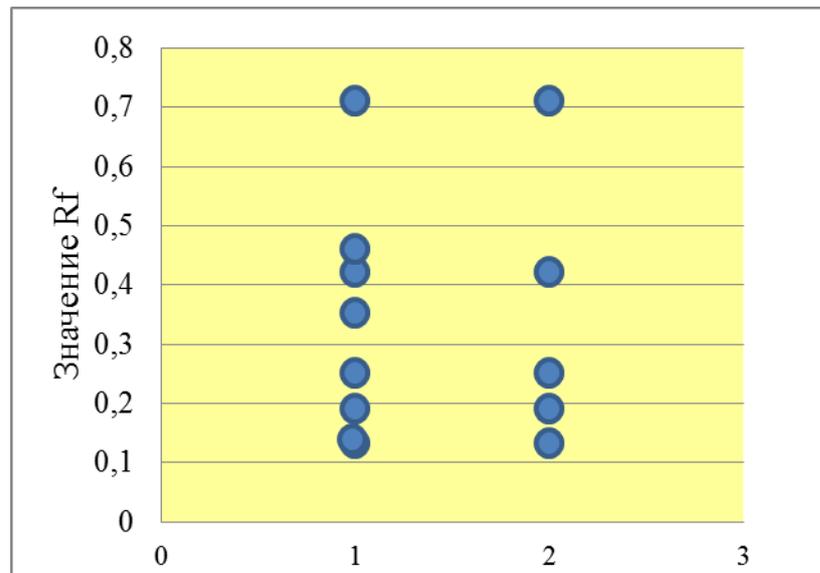


Рис. 26. Хроматографические профили ЭМ герани душистой травы из различных стран: 1- Республика Таджикистан, 2 – Россия

Результаты показали, что хроматографический профиль ЭМ герани душистой травы из Республики Таджикистан, отличается от ЭМ другой страны по количеству пятен (в первом 7, во втором 5), что объясняется различным составом в зависимости от хемотипа.

Для установления отличий ЭМ герани душистой от других ЭМ со схожим составом (цитронелловое и лемонграссовое) и распространённых (лаванды и шалфея) проведено сравнение их хроматографических профилей. Полученный вид хроматограммы представлен на рис. 27.

При сравнении хроматографических профилей установлено, что идентифицированные компоненты (гераниол, цитронеллол, линалоол) имеют одинаковое значение Rf, во всех образцах. При этом хроматографические профили различаются по наличию дополнительных пятен, отличных между собой по количеству, размеру и расположению.

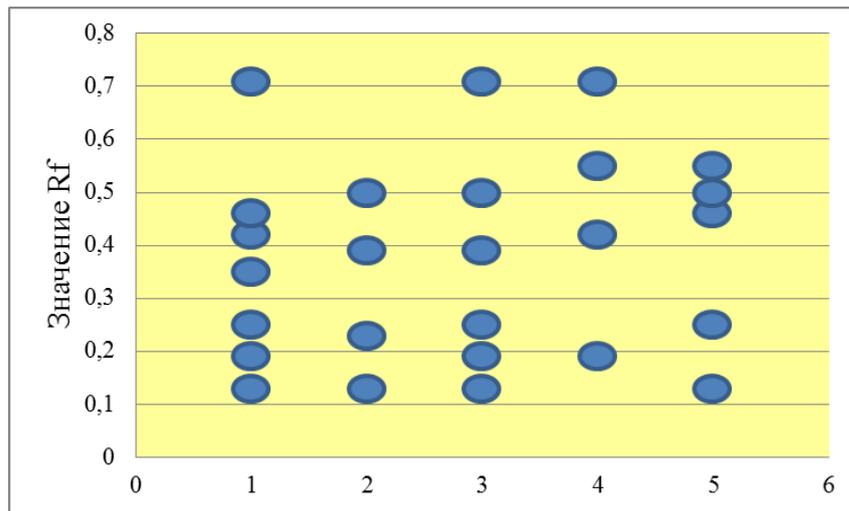


Рис. 27. Хроматографические профили различных ЭМ: 1- герани душистой, 2 – шалфея, 3 – лемонграсса, 4 – цитронеллы, 5 – лаванды

Для идентификации компонентов эфирного масла *Pelargonium graveolens L'Her* травы методом ТСХ 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 данные убедительно свидетельствует о возможности проведения метода ТСХ в качестве экспресс-метода идентификации ЭМ герани душистой травы. Данный метод может использоваться в стандартизации ЭМ герани душистой травы, и предложен для включения в НД.

4.1.2.2 Качественный анализ эфирного масла герани душистой травы хромато-масс-спектрометрическим методом

В ходе качественного анализа ЭМ РТ, было идентифицирована 32 компонента, что составляет 98,4 % от цельного ЭМ (см. табл. 24).

Химический состав эфирного масла герани душистой травы

№ п.п	Время удерживания	Индекс Ковача	Наименование компонента	% содержание в пробе
1	2	3	4	5
1.	7,621	934	α - пинен	0,59
2.	13.392	1102	Линалоол	3,56
3.	13.760	1113	Фенилэтанол	0,80
4.	14.347	1129	транс-розеноксид	0,28
5.	15.460	1160	Ментон	2,22
6.	15.790	1170	Изоментон	2,11
7.	16,873	1200	α - терпинеол	0,59
8.	17.946	1231	Цитронеллол	42,81
9.	18.750	1254	Гераниол	10,36
10.	19,335	1271	Гераниаль	1,03
11.	19.483	1275	Цитронеллил формиат	6,54
12.	20,206	1296	Тимол	0,62
13.	20.333	1300	Геранил формиат	4,33
14.	22.016	1351	Цитронеллил ацетат	0,37
15.	22,907	1378	Геранил ацетат	0,61
16.	23.183	1387	α -копаен	0,90
17.	23.586	1399	β -бурбонен	1,31
18.	24.348	1423	Кариофиллен	3,65
19.	25.481	1460	α - гумулен	1,07
20.	24.901	1441	Гуайа-6,9-диен	0,44
21.	25,647	1465	Аромандрен	0,85
22.	25,825	1471	Геранил пропионат	0,29
23.	26.266	1485	Гермакрен –D	0,77

1	2	3	4	5
24.	26,713	1500	γ- кадинен	0,77
25.	27,374	1522	δ- кадинен	1,03
26.	27.505	1526	Цитронеллил бутират	1,70
27.	28.424	1557	Гераниол бутират	0,76
28.	29.293	1587	10-эпи- γ -эудесмол	3,85
29.	29.674	1600	Фенилэтил тиглат	0,76
30.	30,282	1622	δ-селенен	0,40
31.	32.323	1695	α- бисаболол	0,87
32.	32.425	1698	Геранил тиглат	2,16
Итого				98,40

На основании ГОСТ ISO 4731-2014 рекомендуется определять 15 компонентов. Сравнительная характеристика хроматографических профилей приведена в Главе 1. Основные компоненты: гераниол (10,36%), цитронеллол (42,81%) и линалоол (3,56%). В качестве реперных компонентов нами 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 [149, 153, 160, 174]. Хроматограмма ЭМ РТ, имеет вид, представленный на рис. 28.

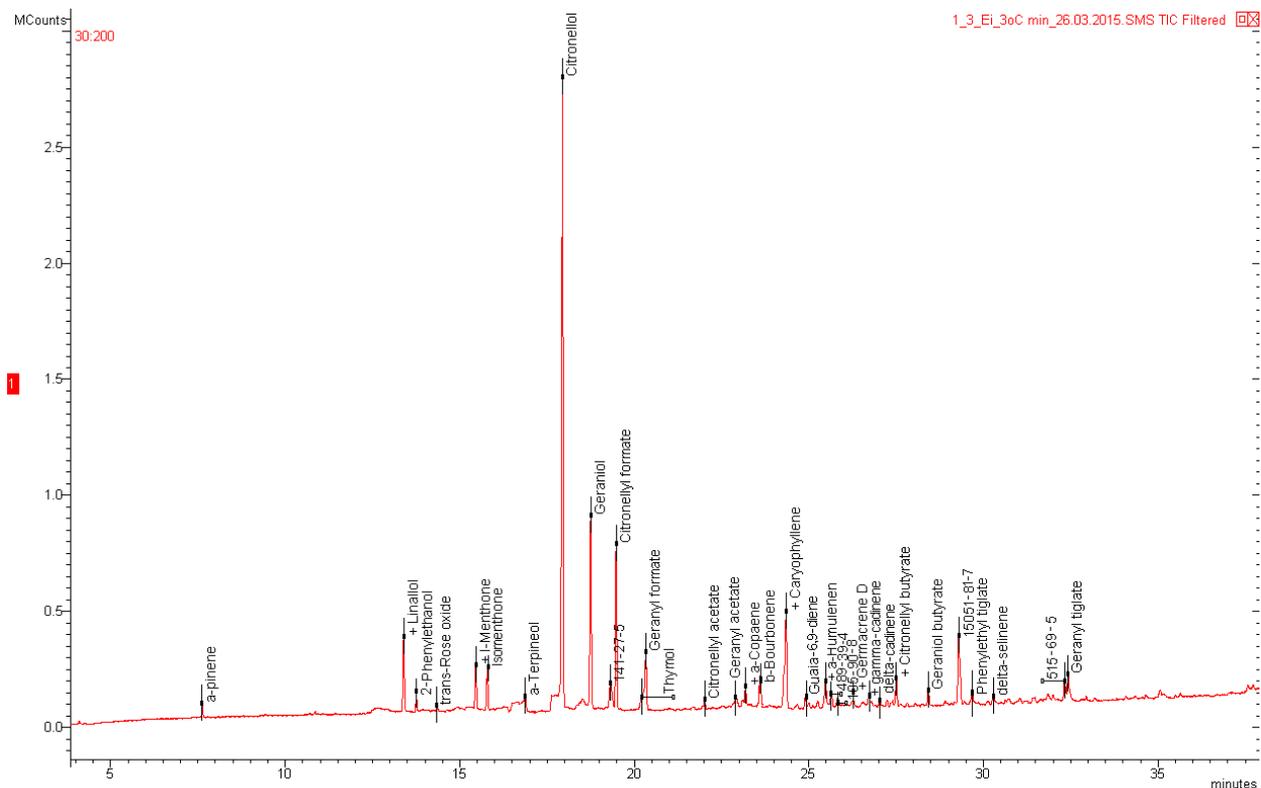


Рис. 28. Хроматограмма эфирного масла герани душистой травы

4.1.3. Определение числовых показателей эфирного масла герани душистой травы

Средние значения результатов определения числовых показателей в сравнении с показателями НД представлены в табл. 25.

По результатам определения, предложено внести в НД раздел «Числовые показатели»: плотность 0,883-0,900, показатель преломления при 20 °С 1,460 - 1,475, угол вращения плоскости поляризации света при 20°С от минус 17° до минус 7°, кислотное число не более 10, эфирное число 80-85, массовая доля свободных спиртов (в расчёте на citronellol) 40 – 46 %, массовая доля карбонильных соединений (в расчёте на isomenthon) не более 15 %, эфирное масло растворимо не более чем в трёх объёмах этилового спирта 70%.

Таблица 25

Результаты определения числовых показателей ЭМ герани душистой травы в сравнении с показателями в НД

ГОСТ ISO 4731-2014	ГОСТ 31791- 2012	ОФС. 1.5.2.0001.15	Экспериментальное значение			
			Серия	ЭМРТ	Серия	ЭМГ
1	2	3	4	5	6	7
Плотность г/см ³						
0,882- 0,905	0,884– 0,900	не регламен- тируется	010812	0,885±0,001	101014	0,883±0,001
			010912	0,889±0,002	151014	0,887±0,002
			300912	0,884±0,001	300914	0,884±0,001
Показатель преломления при 20 °С						
1,460 -1,475	1,460 –1,469	должно соответст- вовать ФС	010812	1,475±0,001	101014	1,462±0,001
			010912	1,465±0,001	151014	1,467±0,001
			300912	1,470±0,001	300914	1,469±0,001
Угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С						
от минус 17° до минус 7°	не регламен- тируется	должно соответст- вовать ФС	010812	минус 9,3°±0,3	101014	.*
			010912	минус 11,2°±0,2	151014	-
			300912	минус 15,1°±0,2	300914	-
Кислотное число, мг КОН						
не более 10	не более 4	должно соответст- вовать ФС	010812	6±0,5	101014	-
			010912	5±0,5	151014	-
			300912	8±0,5	300914	-

1	2	3	4	5	6	7
Эфирное число, мг КОН						
не регламен- тируется	80-85	не регламен- тируется	010812	81±0,5	101014	-
			010912	83±0,5	151014	-
			300912	81±0,3	300914	-
Массовая доля свободных спиртов (в расчёте на цитронеллол), %						
не регламен- тируется	38-46	не регламен- тируется	010812	45±0,5	101014	-
			010912	43±0,5	151014	-
			300912	43±0,5	300914	-
Массовая доля карбонильных соединений (в расчёте на изоментон), %						
не регламен- тируется	не более 15	не регламен- тируется	010812	10±0,4	101014	-
			010912	11±0,3	151014	-
			300912	9±0,5	300914	-
Растворимость в 70% этиловом спирте						
не более чем в трёх объёмах	не более чем в трёх объёмах	должно соответствов ать ФС	010812	2,3±0,3	101014	2,0±0,3
			010912	2,1±0,2	151014	2,2±0,2
			300912	2,2±0,2	300914	2,0±0,2

Примечание: * - Для ЭМ Г определена часть показателей ввиду полученного ограниченного объёма образцов.

4.1.4. Количественное определение основных компонентов эфирного масла герани душистой травы

Количественное определение основных и реперного компонентов ЭМ РТ, проводили согласно методике описанной в Главе 2. Валидацию разработанной методики осуществляли под руководством доцента ФГБОУ ВО ПНИПУ А.В. Кудинова, согласно ОФС.1.1.0012.15 по показателям специфичность, линейность, правильность, прецизионность (на уровне intra-day и inter-day [10]) и аналитическая область (Приложение 2).

Результаты количественного определения компонентов ЭМ герани душистой травы представлены в табл. 26.

Таблица 26

Результаты количественного определения цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта в ЭМ герани душистой травы

Серия	Содержание, %			
	Цитронеллол	Гераниол	Линалоол	Фенилэтиловый спирт
ЭМ РТ				
010812	42,50±0,02	10,75±0,03	3,73±0,04	0,75±0,01
010912	43,01±0,04	11,25±0,03	3,75±0,03	0,76±0,01
300912	42,54±0,03	10,74±0,02	3,70±0,04	0,88±0,02
ЭМ Г				
101014	46,71±0,02	12,46±0,03	5,34±0,04	-
151014	46,63±0,04	12,52±0,03	5,30±0,03	-
300914	46,45±0,03	12,71±0,02	5,41±0,04	-

По результатам определения предложено внести в НД раздел «Количественное определение»: цитронеллола не менее 41,00 %, гераниола не менее 9,50%, линалоола не менее 2,50%, фенилэтилового спирта не менее 0,70%.

4.1.5. Определение посторонних примесей в эфирном масле герани душистой травы

Результаты определения посторонних примесей в сравнении с показателями НД приведены в табл. 27.

Таблица 27

Результаты определения примесей в ЭМ герани душистой травы в сравнении с показателями в НД

Серия	ГОСТ ISO 4731-2014	ГОСТ 31791- 2012	ОФС. 1.5.2.0001.15	Экспериментальное значение
Массовая доля фенолов, %				
010812	не регламен- тируется	не допустимо	не регламен- тируется	отсутствует
010912				отсутствует
300912				отсутствует
Жирные и минеральные масла				
010812	не регламен- тируется	не регламен- тируется	не допустимо	отсутствует
010912				отсутствует
300912				отсутствует
Спирт этиловый				
010812	не регламен- тируется	не регламен- тируется	не допустимо	отсутствует
010912				отсутствует
300912				отсутствует
Вода				
010812	не регламен- тируется	не регламен- тируется	не допустимо	отсутствует
010912				отсутствует
300912				отсутствует

По результатам определения посторонних примесей в ЭМ герани душистой травы, предложено внести в НД раздел «Примеси»: не допускается содержание фенолов, жирных и минеральных масел, спирта этилового, воды.

4.2. Выбор параметров качества и стандартизации эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

Определение показателей, регламентирующих качество ЭМ лимона Мейера экзокарпия, проводили на трёх опытных сериях ЭМ полученного из сырья, собранного в Республике Таджикистан. Для подтверждения сходимости результатов проводили по три независимых определения.

4.2.1. Определение показателя «Описание»

Результаты определения внешнего вида, цвета, прозрачности, запаха приведены в табл. 28

Таблица 28

Результаты определения показателя «Описание» эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

Серия	ОФС. 1.5.2.0001.15	Экспериментальное значение
Внешний вид		
011112	жидкость	подвижная жидкость
101112		подвижная жидкость
301112		подвижная жидкость
Прозрачность		
011112	прозрачная	прозрачная
101112		прозрачная
301112		прозрачная
Запах		
011112	специфический	Специфический. Запах свежего лимона
101112		Специфический. Запах свежего лимона
301112		Специфический. Запах свежего лимона
Цвет		
011112	в соответствии с НД	бледно-жёлтого цвета
101112		бледно-зеленовато-жёлтого цвета
301112		бледно-жёлтого цвета

По результатам определения показателей внешнего вида, запаха, прозрачности и цвета ЭМ лимона Мейера экзокарпия, предложено внести в НД раздел «Описание»: прозрачная, подвижная жидкость от бледно-жёлтого до бледно-зеленовато-жёлтого цвета, со специфическим запахом свежего лимона.

4.2.2. Определение подлинности эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

В результате хромато-масс-спектрометрического анализа было идентифицировано 14 компонентов ЭМ лимона Мейера экзокарпия (табл. 29). При анализе содержания компонентов ЭМ установлено, что основной компонент - лимонен (71,86%), придающий эфирному маслу специфический аромат. 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 %.

Таблица 29

Химический состав ЭМ лимона Мейера экзокарпия

№ п.п.	Наименование компонента	Время удерживания, мин	Индекс Ковача	Содержание компонента, %
1	2	3	4	5
1.	α - пинен	7,621	934	2,81
2.	сабинен	8,868	973	0,34
3.	β - пинен	9,041	978	7,89
4.	мирцен	9,396	989	1,98
5.	п-кумен	10,665	1026	3,44
6.	лимонен	10,828	1030	71,86
7.	γ - терпинен	11,852	1059	4,92
8.	линалоол	13,392	1102	0,41

1	2	3	4	5
9.	α - терпинеол	16,873	1200	0,42
10.	цис-п-Мента-1 (7), 8-диен-2-о	18,308	1241	1,99
11.	гераниаль	19,335	1271	2,71
12.	цитронил ацетат	22,288	1359	0,51
13.	β - бурбунен	23,586	1399	0,32
14.	кариофиллен	24,348	1423	0,40

Хроматограмма ЭМ лимона Мейера экзокарпия, должна иметь вид, как представлено на рис. 29.

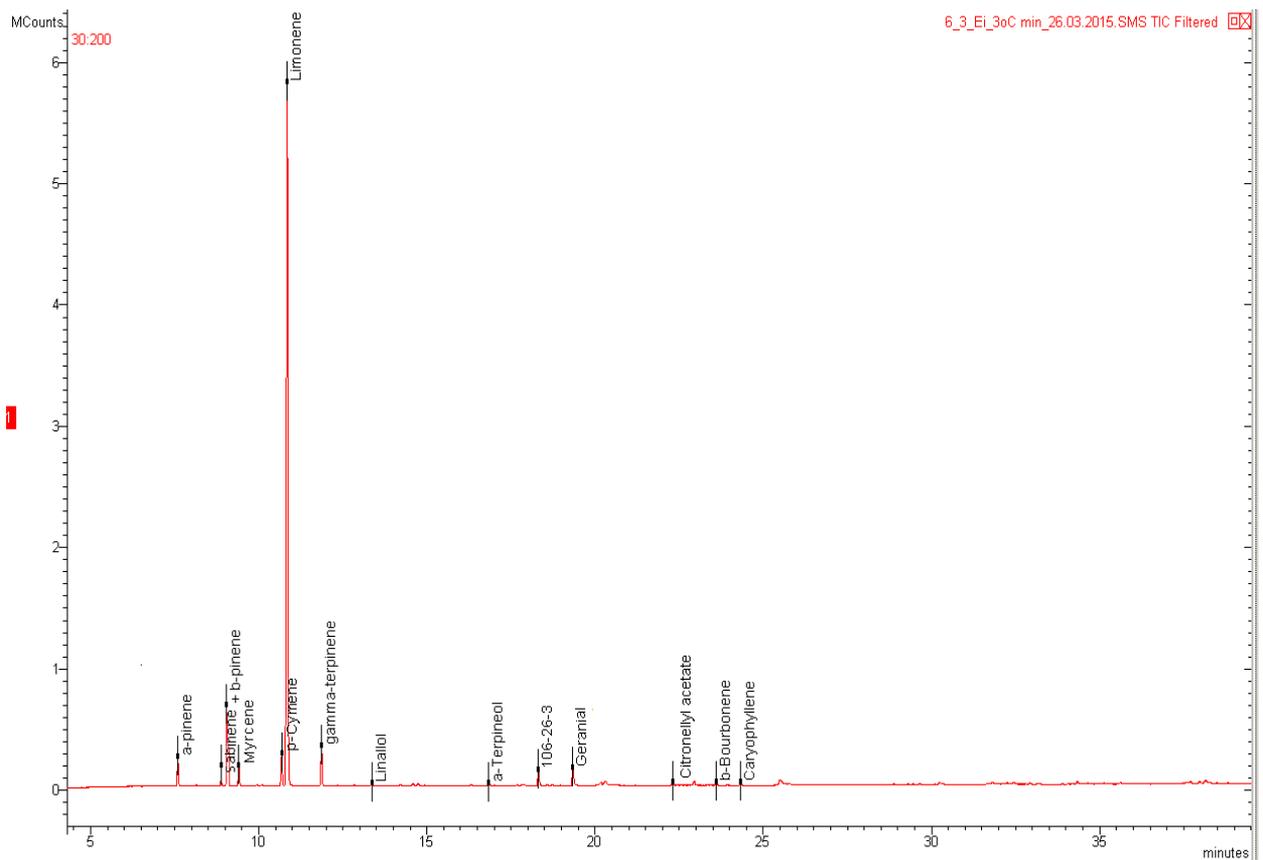


Рис. 29. Хроматограмма эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

4.2.3. Определение числовых показателей качества эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

Средние значения результатов определения числовых показателей эфирного масла лимона Мейера экзокарпия в сравнении с показателями НД представлены в табл. 30.

Таблица 30

Результаты определения числовых показателей ЭМ лимона Мейера экзокарпия

Серия	ОФС. 1.5.2.0001.15	Экспериментальное значение
Плотность г/см ³		
011112	не регламентируется	0,850±0,001
101112		0,855±0,001
301112		0,858±0,001
Показатель преломления при 20 °С		
011112	должно соответствовать ФС	1,475±0,001
101112		1,476±0,001
301112		1,475±0,001
Угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С		
011112	должно соответствовать ФС + 57 до + 65	плюс 57,7°±0,2
101112		плюс 62,2°±0,1
301112		плюс 64,3°±0,2
Кислотное число, мг КОН		
011112	должно соответствовать ФС	3±0,5
101112		2±0,5
301112		2±0,5
Карбонильное число		
011112	не регламентируется	15±0,5
101112		12±0,5
301112		16±0,5

По результатам определения числовых показателей ЭМ лимона Мейера экзокарпия, предложено внести в НД раздел «Числовые показатели»: плотность 0,849 – 0,858, показатель преломления при 20 °С 1,474 – 1,477,

угол вращения плоскости поляризации света при 20°C от + 57° до + 65°, кислотное число не более 3, карбонильное число 11 – 17.

4.2.4. Количественное определение основного компонента эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

Количественное определение основного компонента ЭМ лимона Мейера - лимонена, проводили согласно методике описанной в Главе 2. Валидацию разработанной методики осуществляли под руководством доцента ФГБОУ ВО ПНИПУ А.В. Кудинова, согласно ОФС.1.1.0012.15 по показателям специфичность, линейность, правильность, прецизионность (на уровне intra-day и inter-day [10]) и аналитическая область (Приложение 3).

Средние значения результатов количественного определения лимонена в ЭМ лимона Мейера экзокарпия представлены в табл. 31.

Таблица 31

Результаты количественного определения лимонена в ЭМ лимона Мейера экзокарпия

Серия	Содержание лимонена, %
011112	71,06±0,03
101112	72,03±0,02
301112	72,57±0,03

По результатам определения количественного содержания лимонена в ЭМ лимона Мейера экзокарпия, предложено внести в НД раздел «Количественное определение»: лимонена не менее 70%.

4.2.5. Определение посторонних примесей в эфирном масле лимона Мейера экзокарпия

Результаты определения посторонних примесей приведены в табл. 32.

Результаты определения примесей в ЭМ лимона Мейера экзокарпия

Серия	ОФС. 1.5.2.0001.15	Экспериментальное значение
Жирные и минеральные масла		
011112	не допустимо	отсутствует
101112		отсутствует
301112		отсутствует
Спирт этиловый		
011112	не допустимо	отсутствует
101112		отсутствует
301112		отсутствует
Вода		
011112	не допустимо	отсутствует
101112		отсутствует
301112		отсутствует

По результатам определения посторонних примесей в ЭМ лимона Мейера экзокарпия, предложено внести в НД раздел «Примеси»: не допускается содержание жирных и минеральных масел, спирта этилового, воды.

4.3. Спецификации на эфирные масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия

На основании выбранных параметров качества для стандартизации эфирных масел герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия разработана спецификация для проекта НД (Приложение 9).

На основании результатов стабильности составлен раздел «Срок годности». 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 травы и лимона Мейера экзокарпия в течение 3-х лет. В процессе хранения проводили стандартизацию ЭМ по следующим показателям: «Описание», «Запах», «Подлинность»,

«Количественное определение» основных компонентов, «Числовые показатели» и «Микробиологическая чистота», установленные показатели свидетельствуют об удовлетворительном качестве исследуемых образцов в течение всего изучаемого срока хранения (Приложение 4 и 5).

Выводы по главе 4

1. Проведена стандартизация эфирного масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия по показателям: «Описание», «Подлинность»; «Числовые показатели»: плотность, показатель преломления при 20 °С, угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С, кислотное число, эфирное число, для эфирного масла герани душистой дополнительно: массовая доля свободных спиртов (в расчёте на цитронеллол), массовая доля карбонильных соединений (в расчёте на изоментон); «Количественное определение основных компонентов»; «Посторонние примеси»: массовая доля фенолов, жирные и минеральные масла, спирт этиловый, вода; «Микробиологическая чистота».

2. На основании выбранных параметров качества для стандартизации эфирного масла герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия разработаны спецификации для проекта НД: «Эфирное масло герани душистой травы» и «Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия».

3. Методом долгосрочных испытаний стабильности при хранении в стеклянных банках из тёмного стекла и температуре от 15 до 25 °С определён срок годности эфирных масел герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия в течение 3-х лет.

**ГЛАВА 5. 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 обоснован составы капсул «Липовитол», содержащие ЭМ герани душистой травы и «Лимонеол», содержащие лимона Мейера экзocarпия.

Состав на одну капсулу «Липовитол»

Действующее вещество:

Эфирное масло герани душистой травы	0,04 г
α-токоферола ацетата	0,009 г
ретинола ацетата	0,0069 г

Вспомогательное вещество: подсолнечное масло до 0,50 г

Оболочка капсулы: желатин, глицерин, вода очищенная

Состав на одну капсулу «Лимонеол»

Действующее вещество:

Эфирное масло лимона Мейера экзocarпия	0,04 г
--	--------

Вспомогательное вещество: подсолнечное масло до 0,50 г

Оболочка капсулы: желатин, глицерин, вода очищенная

5.1. Исследование по определению рационального состава желатиновой массы для получения оболочки мягких капсул

Для выбора оптимального состава ЖМ для получения МЖК с ЭМ ротационно-матричным методом с использованием обобщённой функции желательности составлены базовые отметки шкалы желательности по исследуемым свойствам, которые представлены в табл. 33. Для исследования приготовлены 24 образца ЖМ, с различной концентрацией желатина от 40 до 50 % и глицерина от 20 до 26%, представленные в табл. 34.

Таблица 33

Базовые отметки шкалы желательности

Количественная отметка по шкале желательности	Желательность значения отклика	Поведение желатиновой ленты на этапе запайки капсул	Формирование капсул на этапе запайке	Время распадаемости капсул, мин
		d1	d2	d3
0,75-1,0	Отлично	ЖЛ выдерживала любую температуру инъекционного сегмента, капсулы вырезались из ленты	формировались качественные капсулы, склеенные со всех сторон	0-10
0,5-0,75	Хорошо	ЖЛ не плавилась, капсулы частично не вырезались	формировались капсулы, шов был тонкий	11-21
0,25-0,5	Удовлетворительно	ЖЛ начинала быстро плавиться, часть капсулы вырезалось	шов капсул склеивался с одной стороны	22-30
0-0,25	Неудовлетворительно	ЖЛ плавилась при любых температурах, капсулы не вырезались	не формировались, капсулы не склеивались	более 30

Составы желатиновых масс и результаты их исследований по шкале желательности

Состав № желатин: глицерин (%) + вода до 100%	Поведение желатиновой ленты на этапе запайки капсул	Образование капсул на этапе запайке	Распадаемость, мин	D
1	2	3	4	5
1. 40:20	ЖЛ плавилась при любых температурах, капсулы не вырезались	не формировались, не склеивались	-	0
2. 40:22				
3. 40:24				
4. 40:26				
5. 42:20				
6. 42:22				
7. 42:24				
8. 42:26				
9. 44:20	ЖЛ начинала быстро плавиться, капсулы частично вырезались	шов склеивался с одной стороны	-	0
10. 44:22	ЖЛ выдерживала любую температуру инъекционного сегмента	качественные капсулы	10	0,7841
11. 44:24	ЖЛ быстро плавилась, капсулы частично не вырезались	качественные капсулы	10	0,6852
12. 44:26	ЖЛ начинала быстро плавиться, некоторые капсулы вырезались	шов капсул был тонкий	10	0,5477 0
13. 46:20	ЖЛ начинала быстро плавиться, некоторые капсулы вырезались	шов склеивался с одной стороны	13	0,5477
14. 46:22	ЖЛ плавилась при высоких температурах, некоторые капсулы вырезались	шов склеивался с одной стороны	13	0,5477
15. 46:24	ЖЛ выдерживала любую температуру инъекционного сегмента	качественные капсулы	13	0,6700
16. 46:26	ЖЛ не плавилась, капсулы частично не вырезались	шов склеивался с одной стороны	15	0

1	2	3	4	5
17. 48:20	Желатиновая лента выдерживала любую температуру инъекционного сегмента, капсулы вырезались из ленты	шов склеивался с одной стороны	25-33	0
18. 48:22				
19. 48:24				
20. 48:26				
21. 50:20				
22. 50:22				
23. 50:24				
24. 50:26				

Исследования показали, что из массы с содержанием желатина менее 44%, капсулы не формировались - не склеивались вне зависимости от температуры инъекционного сегмента. При содержании желатина более 46% выход качественных капсул зависит от соотношения количества желатина и глицерина. Капсулы с содержанием желатина более 48% не проходили по показателю «Распадаемость».

В ходе экспериментальных работ исследована методика, позволяющая оценить качество ЖМ на первых этапах производства, без применения специального оборудования. Методика заключается в следующем: свежеприготовленную ЖМ, нагретую до 60°C, растягивают между большим и указательным пальцем, при этом оценивается возможность образования единой плёнки, не растягивающуюся на нити и волокна (рис. 30).



А

Б

Рис. 30. Образование плёнки по методике

где А – ЖМ образует единую плёнку, Б – ЖМ образует волокна и нити

Выбранные составы ЖМ: №10 (выбранный с помощью обобщённой функции желательности), №2 (с заниженным содержанием желатина) и №24 (с завышенным содержанием желатина), оценивали визуально по методике описанной выше. По способности ЖМ к формированию капсул. Полученные капсулы, проверяли на соответствие по показателю «Распадаемость». Полученные значения представлены в табл. 35.

Таблица 35

Результаты определения состава ЖМ по экспресс методике

Состав	Образование единой плёнки из ЖМ	Ощущения липкости и клейкости ЖМ	Формирование капсул на этапе запайке	Время распадаемости капсул, мин
10	образовывала единую плёнку, не растягивающуюся на нити и волокна	нет, ЖМ легко отстает от пальцев рук	формировались качественные капсулы, склеенные со всех сторон	10
2	плёнка не образовывалась, делилась на несколько волокон	есть, ЖМ остаётся на пальцах	часть капсул не формировались, шов склеивался с одной стороны	14
24	образовывала единую плёнку, не растягивающуюся на нити и волокна	нет, следы ЖМ незначительны но остаются на пальцах рук	часть капсул не формировались, шов склеивался не по всей длине	15

Результаты показали, что если ЖМ образовывала единую плёнку, не растягивающуюся на нити и волокна, не было ощущения липкости и клейкости, после отлипания от пальцев рук, то, при дальнейшем использовании такой ЖМ образуются качественные капсулы.

Таким образом, по выбранным критериям, оценки ЖМ для капсулирования ротационно-матричным методом оптимальный состав № 10.

5.2. Сравнительная реологическая характеристика желатиновых масс

В работе исследованы реологические свойства ЖМ, имеющих в своём составе желатин разной прочности (см. табл. 36). Реологические параметры ЖМ измеряли при температуре 60,0 °С. Выбор температурного режима обоснован условиями критической стадии: температурой ЖМ при подаче на барабаны для образования ЖЛ, после термостатирования.

Таблица 36

Образцы желатина

Образец №	Фирма производитель	Страна	Прочность студня с массовой долей желатина 10%, Н
1	Foodchem	Китай	11,60
2	Brodnicke Zaklady Żelatyny Sp. z o.o.	Польша	13,00
3	Italgelatine s.p.a.	Италия	14,25
4	Ewald-Gelatine GMBH	Германия	15,50
5	Weishardt International	Франция	16,80

По полученным экспериментальным данным рассчитывали значение касательного напряжения сдвига (τ , Па), динамическую вязкость (η , Па·с) и строили реологические кривые.

Графические зависимости вязкости от скорости сдвига в логарифмических координатах, представленных на рис. 31. 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.

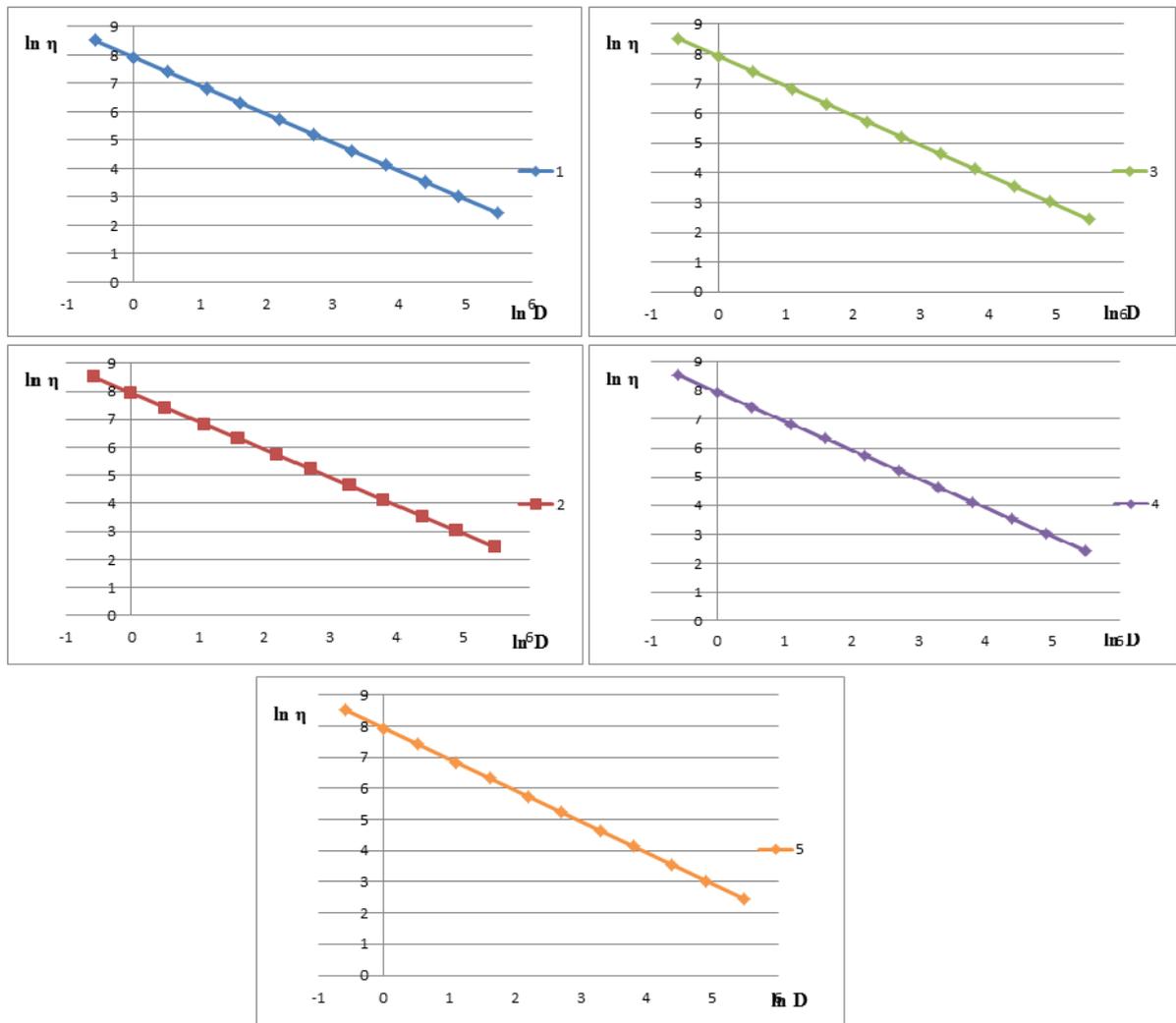


Рис. 31. График зависимости логарифмов эффективной вязкости образцов ЖМ от логарифма скорости при температуре 60,0 °С

Для более углублённого реологического исследования образцов ЖМ строили кривые кинетики деформации в координатах скорость сдвига от напряжения сдвига в области изменения от малых к большим и от больших к малым, представленных на рис. 32. Наличие восходящих и нисходящих кривых указывают на то, что исследуемые образцы обладают тиксотропными свойствами.

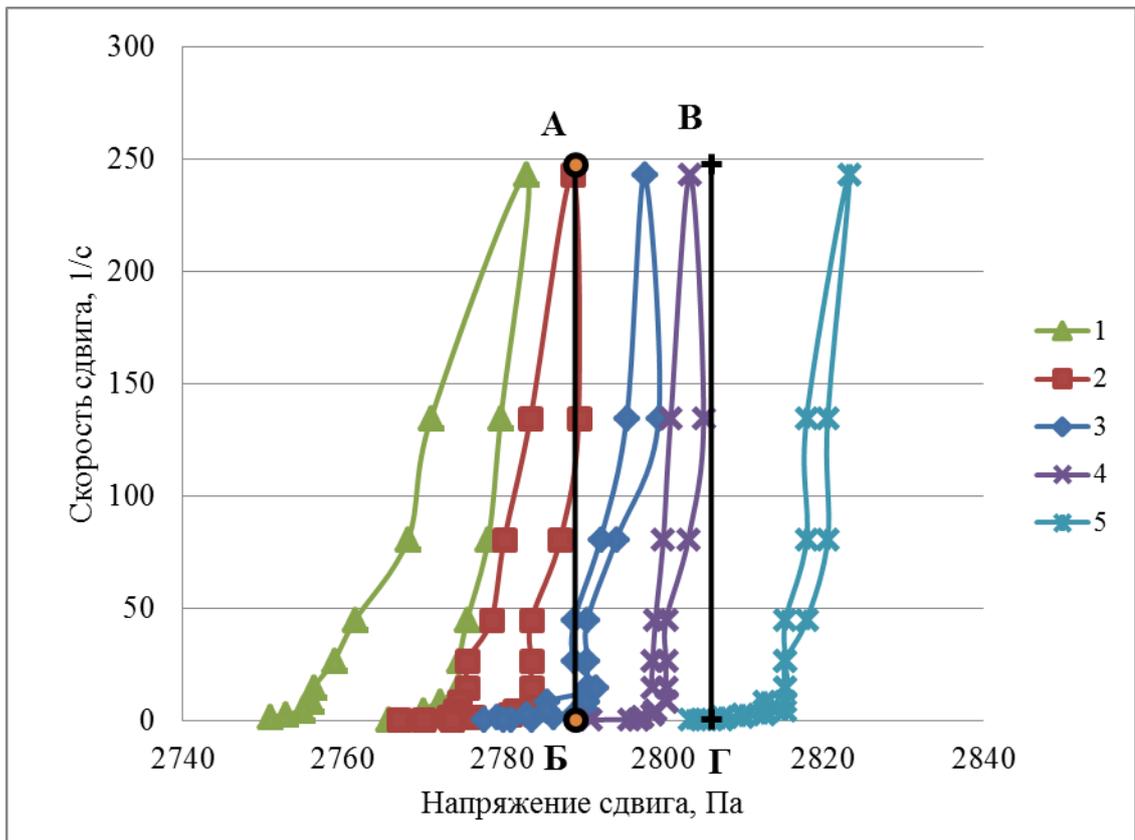


Рис.32. Реограммы течения образцов ЖМ при температуре 60,0 °С.

Где, АБ и ВГ – реологический оптимум ЖМ пригодной для капсулирования ротационно-матричным методом

Ширина петли гистерезиса может служить относительной оценкой степени структурообразовательных процессов в дисперсных системах [27, 48, 74, 105, 137]. Чем больше разрастается сетка коагуляционных структур, тем меньше их прочность и разрушение структуры начинает преобладать над восстановлением, такую систему можно охарактеризовать, как тиксолабильную. И, наоборот, чем меньше выражена петля гистерезиса, тем быстрее происходит восстановление сопротивления деформации, а система приближается к тиксостабильности [100].

Как видно из представленных графиков, образец 1 и 2 имеют более широкие петли гистерезиса. При снижении скорости сдвига системы не возвращаются к своему первоначальному состоянию при низкой скорости сдвига, что приближает их к тиксолабильным структурам. В результате производственного процесса из ЖМ этих образцов, получались ЖЛ

недостаточной прочности, разрывались во время движения между валиками, смоченными вазелином и капсулы с низким качеством спайки.

Образцы 3 – 5 имеют более узкие петли гистерезиса, при этом у 5 образца самая узкая. Как видно из графика на рис. 32, восстановление структуры у данных образцов происходит быстро. Следовательно, образцы 3 – 5 можно охарактеризовать как тиксостабильные структуры. 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 получаются жёсткими и хрупкими.

В результате работы определён реологический оптимум ЖМ пригодной для получения капсул ротационно-матричным методом (АБ и ВГ) (рис. 32), 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 напряжения сдвига $2788 - 2808 \text{ Па}$.

5.3. Оценка целесообразности использования регенерированной желатиновой массы

В производстве МЖК большое внимание уделяется качеству и технологии получения ЖМ – основы для получения капсул. В процессе производства желатиновая лента подвергается различным загрязнениям. После получения МЖК остаётся ЖЛ следующего состава: ЖЛ + вазелиновое масло (образуется после настройки капсульной машины) и ЖЛ + вазелиновое масло + масляный раствор лекарственного препарата (формируется после завершения процесса вырезания капсул из ЖЛ).

Для оценки целесообразности использования методов регенерации, проведён анализ реологических параметров ЖМ из регенерированных ЖЛ.

Отобранные составы образцов ЖЛ для исследования и методы регенерации представлены в табл. 37.

Составы образцов ЖЛ и метод регенерации

Состав ЖЛ	Регенерация путём расплавления	Регенерация центрифугированием
	№ образца	
ЖЛ + вазелиновое масло	1	2
ЖЛ + вазелиновое масло + раствор ЛП	3	4

Реологические параметры измеряли при температуре 60 °С и сравнивали с показателями динамической вязкости и напряжением сдвига ЖМ состава 10: желатина 44%, глицерина 22%, воды очищенной 34%.

Для реологического исследования образцов ЖМ строили кривые кинетики деформации в координатах скорость сдвига от напряжения сдвига в области изменения от малых к большим и от больших к малым, представленных на рис. 33. Образец 1 обладает наилучшими реологическими свойствами, так как имеет схожую с исходной ЖМ петлю гистерезиса. ЖЛ после расплавления была пригодна для капсулирования. Капсулы получались с ровным швом и хорошо склеивались на этапе запайки. Образец 2 имел высокую вязкость, и узкие петли гистерезиса. При использовании данной ЖМ в работе капсулы не склеивались. Образцы 3 и 4 имели низкую вязкость по сравнению с исходной ЖМ и широкие петли гистерезиса. При снижении скорости сдвига системы не возвращались к своему первоначальному состоянию, что приближает их к тиксолабильным структурам. При использовании данной ЖМ в работе капсулы не склеивались.

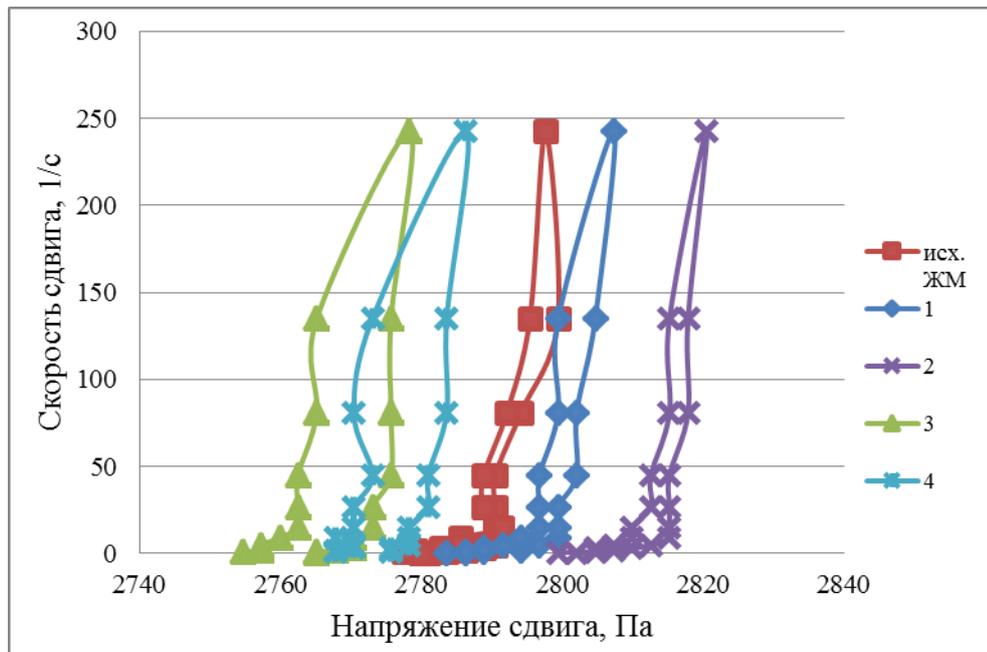


Рис. 33. Реограммы течения образцов ЖМ исходного состава и из регенерированной ЖЛ при температуре 60,0 °С

Из полученных результатов видно, что использование регенерированной ЖМ ограничено, при этом регенерация путём расплавления целесообразна для ЖЛ с вазелиновым маслом, а для ЖЛ, смешанной с масляным раствором лекарственного препарата и вазелиновым маслом, регенерация не целесообразна.

5.4. Механические свойства оболочки мягких желатиновых капсул

В процессе активной сушки и шлифовки во вращающемся барабане, а также при хранении капсулы испытывают механические воздействия, которые могут приводить к потере формы, разрыву оболочки и вытеканию наполнителя [43]. Физико-технологические свойства ЖЛ являются одними из основных параметров, которые влияют на эластичность, прочность и хрупкость МЖК. В связи с этим представляет интерес изучение механических свойств ЖЛ разной толщины, в первую очередь, модуль Юнга и предел прочности [44], для прогнозирования возможности дальнейшего использования ЖЛ в производстве МЖК, а также оценки целесообразности использования ЖЛ из регенерированной ЖМ [73].

Результаты измерения толщины ЖЛ представлены в табл. 38. Исходная влажность образцов ЖЛ составляла 34 - 36 %, в конце процесса сушки –7-10 %, что объясняет уменьшение толщины образцов после высыхания.

Таблица 38

Результаты измерения толщины желатиновых лент

Образец	Толщина, мм	
	ЖЛ в момент формирования	ЖЛ после высыхания
лента 1	$0,50 \pm 0,10$	$0,47 \pm 0,02$
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	$0,50 \pm 0,10$	$0,45 \pm 0,03$

Диаграммы растяжения образцов приведены на рис. 34. ЖЛ находятся в упругом состоянии при деформации до 6-10%. Мягкая желатиновая оболочка при нагружении ведёт себя как материал с упруго-пластическими свойствами. Предел текучести для ЖЛ 1-4 составляет 1,8 – 2,3 МПа, для ЖЛ 5 - от 3,8 до 4,3 МПа. После достижения предела текучести ЖЛ, испытывает близкое к линейному упрочнение и разрушается при деформации порядка 195 - 247% для ЖЛ 1-4 и 155% для регенерированной ЖЛ.

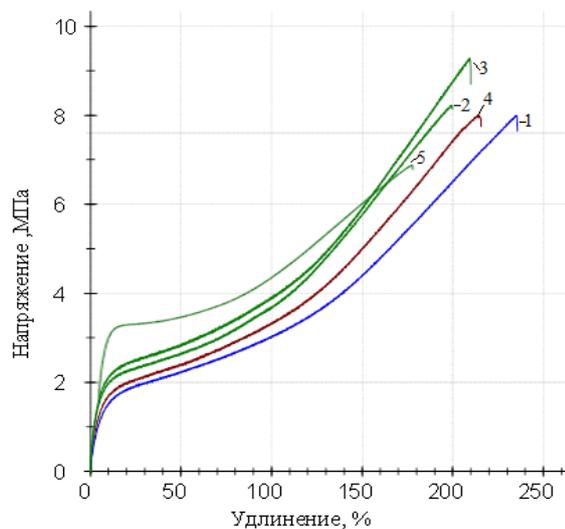


Рис. 34. Диаграммы растяжения образцов из ЖЛ 1-5 до разрыва

Значения модуля Юнга для желатиновых лент 1-4 находятся в интервале 35-45 МПа, тогда как лента 5, полученная из регенерированной желатиновой массы обладает более высокой жёсткостью (среднее значение модуля Юнга 115 МПа) (рис. 35). Более высокое сопротивление деформации ленты 5 при внешнем воздействии можно объяснить тем, что в процессе регенерации желатиновая масса подвергается воздействию различных факторов, например высокой температуре, которые приводят к выделению из структуры ЖМ некоторой части жидкости, вследствие чего ЖЛ становится жёсткой.

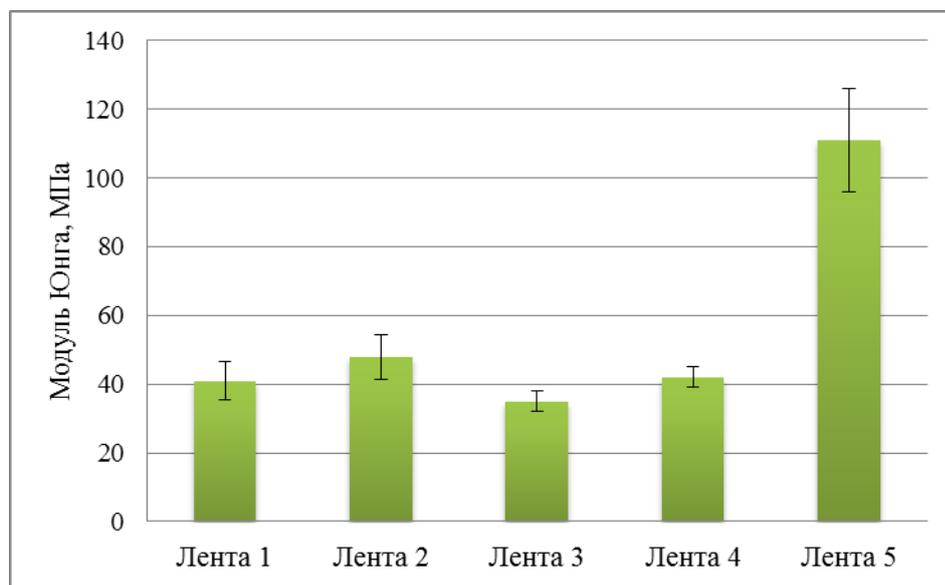


Рис. 35. Модуль Юнга желатиновых лент после высыхания с доверительными интервалами (групповые средние значения в целом различаются значимо при $p < 0,05$)

По результатам исследования структурно-механических свойств построены диаграммы размаха (рис 36 - 37).

Наибольшее значение удлинения при разрыве демонстрируют образцы ЖЛ 1 и 2 от 216 до 247% (рис. 36). У образца 5 наименьшее удлинение при разрыве, которое не превышает 155 %. Для образцов 3-4 удлинение при разрыве находится в интервале 195-218 %. Таким образом, оболочки капсул из образцов 1 и 2 должны обладать наибольшим сопротивлением к механическим воздействиям, а регенерированная желатиновая лента

характеризуется большей хрупкостью по сравнению с остальными образцами.

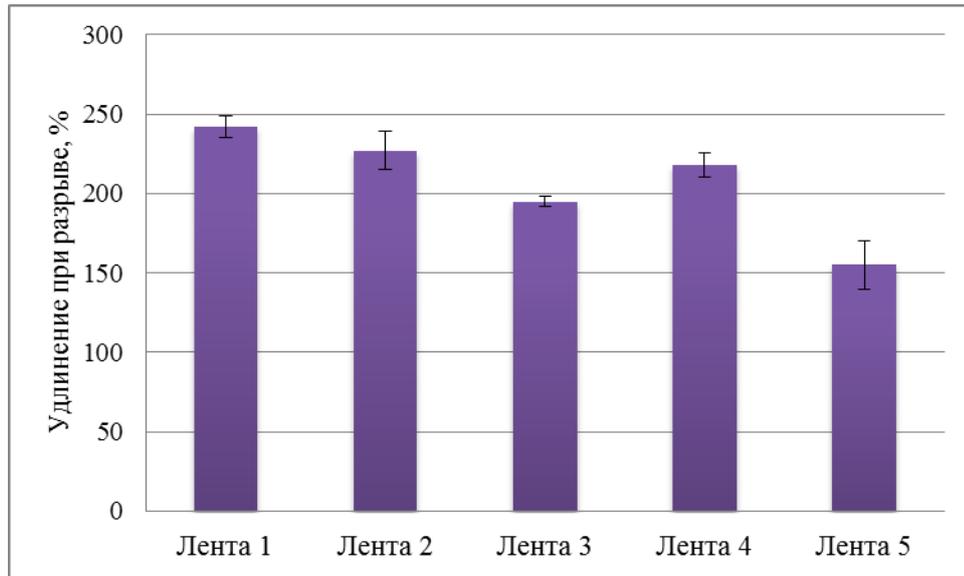


Рис. 36. Удлинения при разрыве желатиновых лент после высыхания, % с доверительными интервалами

(групповые средние значения в целом различаются значимо при $p < 0,05$)

Наибольшее среднее значение сопротивления к деформации характерно для образцов из ленты 4 10,1 МПа (рис. 37), для лент 1-3 предел прочности лежит в интервале 8,3 – 10,1 МПа. Регенерированная желатиновая лента теряет свои прочностные характеристики в процессе переработки и обладает наименьшей прочностью 6,1 МПа.

Можно предположить, что разная толщина образцов по их рабочей части является одной из основных причин большого статистического разброса результатов. Другой возможной причиной статистических различий является наличие пор внутри рабочей части образцов. Улучшить однородность желатина в ЖЛ можно за счёт увеличения продолжительности вакуумирования ЖМ.

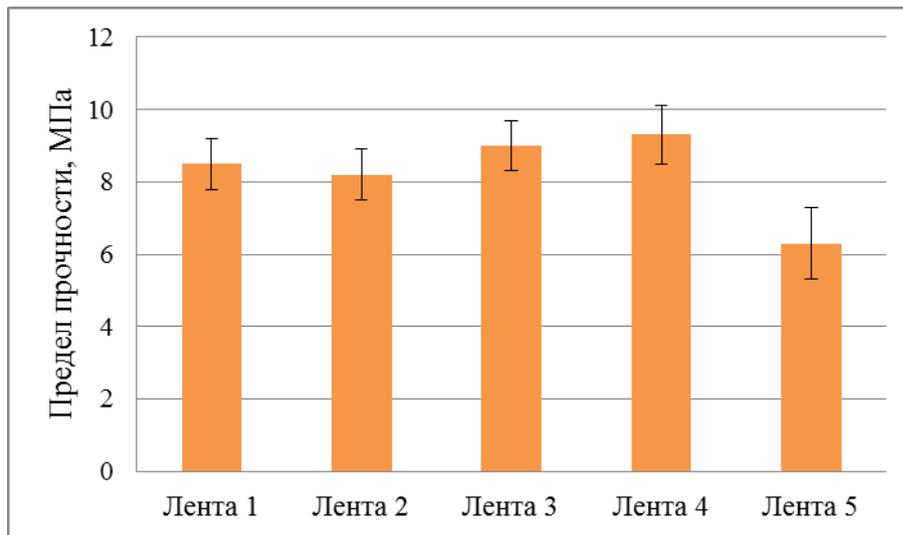


Рис. 37. Предел прочности желатиновых лент после высыхания с доверительными интервалами

(групповые средние значения в целом различаются значимо при $p < 0,05$)

Полученные значения предела прочности, модуля Юнга и удлинения при разрыве образцов 1 -4 статистически незначимы. Это говорит о том, что ЖЛ толщиной от 0,40 до 0,70 мм имеет одинаковые механические свойства и может использоваться в производстве МЖК. Но для уменьшения затрат ЖМ, целесообразней использовать более тонкую ЖЛ – 0,40 – 0,50 мм.

Полученные результаты показывают, что для сохранения прочности и эластичности оболочки капсулы во время производственного процесса и хранения, желатиновые ленты должны иметь следующие механические и физико-технологические характеристики: модуль Юнга 35-50 МПа, удлинение при разрыве 210-240 %, предел прочности 8-9 МПа. Регенерированная желатиновая масса имеет ограниченное применение для изготовления мягких желатиновых капсул, поскольку при переработке теряет необходимые структурно-механические свойства, такие как прочность и пластичность.

5.5. Технологическая схема производства мягких желатиновых капсул с эфирным маслом

Технологическая схема производства МЖК с эфирным маслом представлена на рис. 38.

Производство МЖК с ЭМ включает следующие этапы:

1. Санитарная подготовка производства и персонала (ВР 1)
2. Подготовка сырья и упаковки (ВР 2)
3. Приготовление субстанции для капсулирования (ТП 3)
 - субстанция «Липовитол»
 - субстанция «Лимонен»
4. Приготовление желатиновой массы (ТП 4)
5. Получение мягких желатиновых капсул (ТП 5)
6. Фасовка и упаковка капсул (УМО 6)

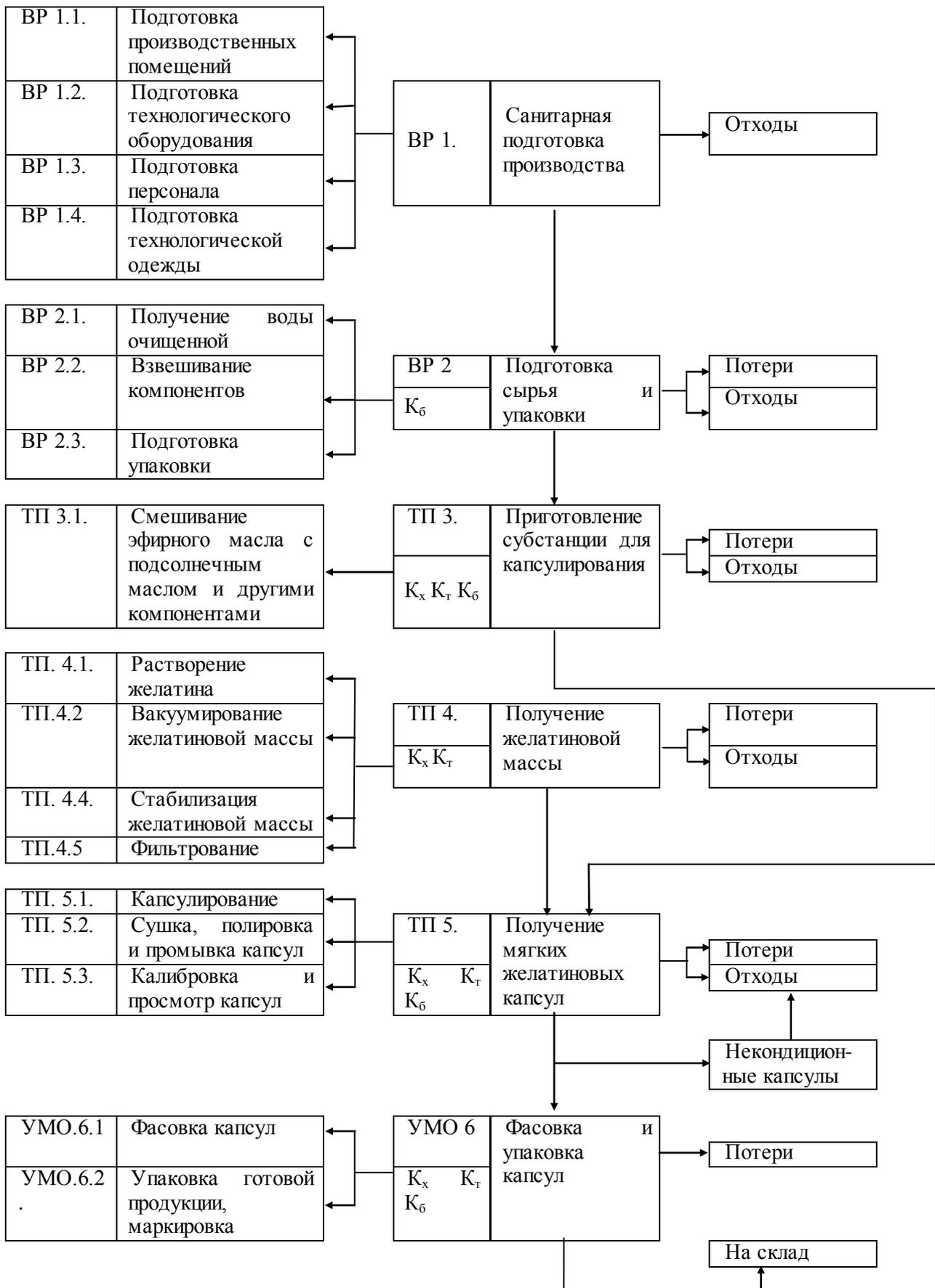


Рис. 38. Технологическая схема получения мягких желатиновых капсул с эфирным маслом травы герани душистой (Кт – контроль технологический, Кх – контроль химический, Кб - контроль микробиологический)

*Описание технологического процесса***Этап ВР 1. Санитарная подготовка производства и персонала****ВР 1.1. Подготовка производственных помещений**

Для предупреждения микробной обсеменённости ведение технологического процесса проводится в условиях максимально ограничивающих возможность загрязнения продукции микрофлорой. Обработку производственных помещений проводят дезинфицирующими растворами с применением моющих средств в соответствии с правилами санитарного режима. Перед проведением технологического процесса все технологические помещения должны быть подготовлены к работе и вымыты с использованием дезрастворов.

ВР 1.2. Подготовка технологического оборудования

Перед началом работы проверяют чистоту и исправность оборудования, согласно инструкциям по эксплуатации. Под подготовкой оборудования к производству ЛП подразумевается обработка внутренних и наружных поверхностей (частей) моющими и дезинфицирующими средствами. Контроль микробной обсеменённости оборудования проводится непосредственно перед его использованием в производственном процессе, а так же выборочно после его обработки.

ВР 1.3. Подготовка персонала

Персонал, задействованный в технологическом процессе, вспомогательных работах, упаковке и хранении, должен соблюдать инструкции предприятия, в которых отражены производственные задачи и области их ответственности, а также регламентирующие охрану здоровья и требования гигиены. Персонал должен быть одет в специализированную технологическую одежду.

Этап ВР 2. Подготовка сырья и упаковки**ВР 2.1. Получение воды очищенной**

В производственном процессе используют воду очищенную

ВР 2.2. Взвешивание компонентов

Взвешивание компонентов (желатина, глицерина, эфирного масла, подсолнечного масла, витамина А и Е) осуществляют на весоизмерительном приборе. Воду очищенную отмеряют с помощью мерника.

ВР 2.1. Подготовка упаковки.

Оборудование моют и дезинфицируют с последующей промывкой водой. Для упаковки капсул используют полимерные банки с плотно закрываемыми пробками или натягиваемыми крышками из полиэтилена.

Этап ТП 3. Приготовление субстанции для капсулирования

ТП 3.1. Смешивание эфирного масла с подсолнечным маслом и другими компонентами.

В закрытый реактор, снабжённый водяной рубашкой, автоматическим регулятором температур и лопастной мешалкой, вносят рассчитанное количество масла подсолнечного и нагревают до 70-75°C. Затем вносят рассчитанное количество витамина А и Е. После растворения витаминов, субстанция охлаждается до температуры 25-30 °С и добавляется рассчитанное количество эфирного масла.

Этап ТП 4. Приготовление желатиновой массы

ТП 4.1. Растворение желатина

В закрытый реактор, снабжённый водяной рубашкой, автоматическим регулятором температур и лопастной мешалкой, вносят рассчитанный объем воды очищенной и нагревают до 70-75 °С (Для ускорения технологии приготовления, можно сразу вносить горячую воду). В нагретой воде растворяют глицерин. Смесь воды и глицерина должна быть нагретой, иначе при добавлении желатина будет образовываться сгусток, который затруднит дальнейшее приготовление ЖМ. При включённой мешалке в реактор добавляют необходимое количество желатина. Все герметично закрывают и начинают перемешивать.

ТП 4.2. Ваккумирование желатиновой массы

После 15 минут перемешивания нагреваем до 80 – 85 °С и параллельно откачивают воздух вакуумом.

При этом наблюдается поднятие пены, если она не начала подниматься через 20 минут, при температуре не менее 80 °С то вакуум не достаточной величины, следовательно, необходимо повысить герметичность. С помощью включения и выключения вакуума поднимаем и опускаем пену – идёт процесс удаления воздуха (пузырьков) из ЖМ. Если при нужной температуре, около 80 °С, и остаточном давлении не менее 0,05 МПа, пена не поднимается, то на 10 кг ЖМ нужно последовательно добавить сначала 200 г глицерина, если через 15 минут нет изменений, то ещё 200 г воды очищенной.

Ваккумирование ЖМ осуществляют в течение 1 – 1,5 часа. Проверяют отсутствие пузырьков воздуха и растворение желатина в ЖМ визуально (масса должна быть прозрачная, жёлто-коричневого цвета)

ТП 4.3. Стабилизация желатиновой массы

Выключают мешалку и медленно остужают ЖМ до 60 °С. Приготовленную ЖМ выдерживали при температуре 50 – 60 °С в течение 2,5 – 3 часов. По окончании времени выдержки отбирают пробу ЖМ для определения вязкости.

ТП 4.4. Фильтрование

Готовая ЖМ фильтруется, через сетку проволочную тканую фильтровую и подаётся по двум обогреваемым трубопроводам в распределительные бункеры с нагревательными элементами и затворами (заслонками). Высота зазора для выливания ЖМ на барабаны регулируется затворами и в зависимости от этого получают ЖЛ определённой толщины.

Этап ТП 5. Получение мягких желатиновых капсул

ТП 5.1. Капсулирование

Фильтрованная ЖМ подаётся на охлаждённые барабаны для получения ЖЛ. Через систему валиков смоченных вазелиновым маслом, лента подаётся

на два вращающихся друг на друга штамповочных вала. Вакуумом через специальные отверстия втягивается желатин, образуя половинки капсулы, в это же время через подогретое клиновидное устройство с помощью дозатора под давлением подаётся субстанция для капсулирования в образующие полусферы капсулы и подплавляются края полусфер капсул. Валы с формами соприкасаются, и полусферы капсулы соединяются и склеиваются между собой. Готовые капсулы сбрасываются вращающимися щётками в вибрлотки.

В процессе капсулирования, для контроля дозировки каждые 10 – 15 минут дозировщик взвешивает капсулы на электронных весах.

ТП 5.2. Сушка, полировка и промывка капсул

После капсулирования капсулы сушат в течение 2-х часов во вращающемся барабане. От остатков масла на поверхности капсулы промывают изопропиловым спиртом на центрифуге с частотой вращения ротора 500 или 700 об/мин, далее досушивают при комнатной температуре и относительной влажности воздуха 20-28% в сушильных шкафах на поддонах

ТП 5.3. Калибровка и просмотр капсул

Через сито просеивают капсулы, первым используют сито с меньшим, чем требуется диаметром окна, отсеивая мелкий брак, далее используют сито с более крупными окнами. Калибровка капсул объёмом до 2 000 000 штук в месяц делается в ручном режиме. Все капсулы ещё могут проходить визуальный контроль оператором. Каждую капсулу просматривают на специальном стеклянном столике с подсветкой. Просмотр выявит бракованные, не заполненные субстанцией капсулы.

Готовые капсулы, соответствующие НД, передают на участок упаковки, маркировки.

Некондиционные капсулы собирают в специальную ёмкость и отправляют в отходы.

Этап УМО 6. Фасовка и упаковка капсул

УМО 6.1. Фасовка капсул

Фасовка капсул осуществляется в банки с крышками из полимерных материалов по 60 шт.

УМО 6.2. Упаковка готовой продукции, маркировка

Размещение банок во вторичную тару, групповую тару, маркировка. Банки помещают в коробки, которые оклеивают полосой бумаги.

На коробки наклеивают этикетки и товарный знак предприятия-производителя.

Контрольные точки технологического процесса представлены в табл. 39.

Таблица 39

Контрольные точки технологического процесса

Этап производства	Контролируемые параметры	Значение
1	2	3
ТП 3. Приготовление субстанции для капсулирования	Температура смеси подсолнечного масла и витаминов при добавлении к ним ЭМ	не более 40 °С
ТП 4.1. Растворение желатина	Температура воды очищенной в начале этапа	70-75°С
	Скорость вращения мешалки	до 50 об/мин
ТП 4.2. Вакуумирование желатиновой массы	Отсутствие пузырьков воздуха и растворение желатина в ЖМ	масса должна быть прозрачная, без пузырьков воздуха, жёлто-коричневого цвета

1	2	3
ТП 4.3. Стабилизация желатиновой массы	Температура ЖМ во время стабилизации	60±5°С
	Динамическая вязкость ЖМ после стабилизации	реопараметры в пределах оптимума, границы: скорость сдвига 0,556 – 243 с ⁻¹ и напряжение сдвига 2788–2808 Па.
ТП 5.1. Капсулирование	Толщина ЖЛ	0,40 – 0,50 мм
	Масса содержимого капсулы (каждые 10-15 мин)	0,46 - 0,54 г
УМО 6. Фасовка и упаковка капсул	Внешний вид упаковки	В соответствии со спецификацией

5.6. Нормирование качества мягких желатиновых капсул и определение срока их хранения

5.6.1. Стандартизация капсул «Липовитол» и «Лимонеол»

Капсулы «Липовитол» и «Лимонеол» подвергали анализу в соответствии с ГФ XIII, ОФС.1.4.1.0005.15.

По результатам проведённых исследований разработан проект НД на лекарственное средство «Липовитол» и «Лимонеол» в МЖК (Приложение 9).

Показатель «Однородность дозирования» определяют как среднее содержание эфирного масла в одной капсуле.

В качестве параметров подлинности выбраны: соответствие хроматографическому профилю по положению пиков основных компонентов для капсул: «Липовитол» цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта, для капсул «Лимонеол» - лимонен.

По показателю количественное определение капсулы «Липовитол» стандартизируются по следующим показателям: содержание 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; капсулы «Лимонеол» по содержанию в одной капсуле лимонена не менее 0,0280 г.

Для проверки специфичности условий, разработанного хромато-масс-спектрометрического метода количественного определения компонентов ЭМ в «Липовитол» и «Лимонеол», проанализирован холостой отгон из капсул содержащих подсолнечное масло, используемого в составе в качестве вспомогательного вещества. Установлено, что в предложенных условиях проведения анализа (см. Главу 2) из капсул, содержащих подсолнечное масло, не извлекаются сопутствующие компоненты со временами удерживания соответствующими временам удерживания основных компонентов ЭМ (рис. 39).

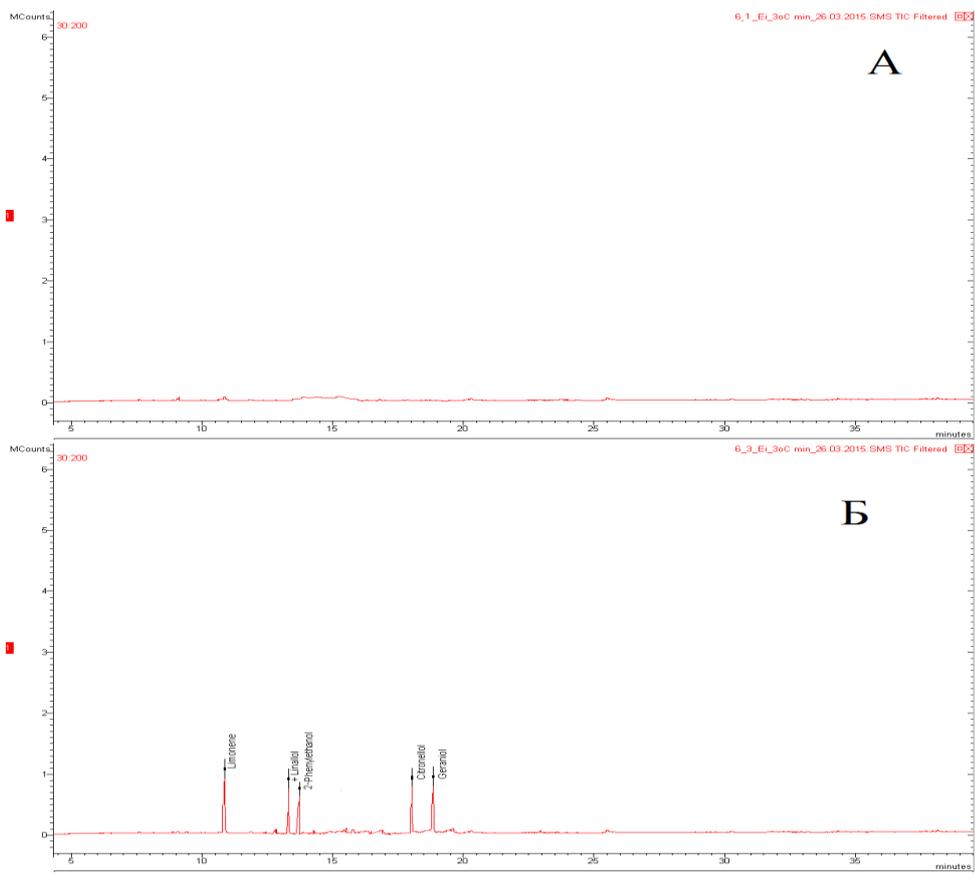


Рис. 39. Хроматограммы: А - отгона содержимого из капсул с подсолнечным маслом, Б - стандартов основных компонентов ЭМ

5.6.2. Исследования стабильности капсул «Липовитол» и «Лимонеол» при хранении

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

Из полученных серии капсул «Липовитол»: 080313, 090313 и 100313, и «Лимонеол»: 080313, 090313 и 100313, отобранные образцы капсул упаковали в стеклянные банки из тёмного стекла и полимерные банки, и заложили на экспериментальное хранение 12.03.2013 г, в 9 часов. Температура опыта от 15 до 25 °С и от 2 до 8 °С.

Результаты экспериментального хранения серий представлены в таблицах в Приложении 6 и 7.

Экспериментально установлено, что в течение всего срока хранения капсулы сохраняют форму; средняя масса содержимого и время растворения капсул меняется незначительно и остаётся в пределах нормы отклонений.

Исследования показали, что содержание действующих веществ в начале процесса хранения и в его конце принципиальных различий не имеют, соответственно, изучение динамики процесса деструкции не требуется и можно утверждать, что препарат стабилен в течение срока хранения. Данные результаты подтверждают правильность выбранной технологии производства препарата «Липовитол».

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 от 15 до 25 °С составляет 3 года.

5.6.2.1. Изучение миграции эфирного масла через желатиновую оболочку в процессе хранения капсул

Основной ингредиент ЖМ – желатин, главное свойство которого – возможность образования сетчатый пространственный каркас в водных растворах за счёт асимметрией высокополимерных частиц [83]. В процессе сушки и хранения капсул происходит миграция влаги из каркаса, следовательно, оболочка становится проницаема для легколетучих веществ – ЭМ [44]. В работе исследована проницаемость в процессе хранения ЭМ через желатиновую оболочку капсул. Процесс миграции изучали по изменению количества основных компонентов ЭМ в капсуле (см. табл. 40 и 41).

Таблица 40

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

Срок хранения, дней	Количество ЭМ в капсуле, г	Содержание действующих веществ, г		
		цитронеллола	гераниола	линалоола
0	0,0410 ±0,0020	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0003
3 мес	0,0410 ±0,0020	0,0170± 0,0004	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0001
6 мес	0,0410±0,0020	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0004	0,0015± 0,0002
1 год	0,0410±0,0010	0,0170± 0,0002	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0003
1 год 6 мес	0,0410±0,0020	0,0170± 0,0003	0,0041± 0,0003	0,0012± 0,0001
2 года	0,0410±0,0010	0,0169 ±0,003	0,0041± 0,0003	0,0012± 0,0002
2 года 6 мес	0,0390±0,0010	0,0169± 0,0004	0,0040± 0,0002	0,0012± 0,0002
3 года	0,0390±0,0020	0,0169± 0,0004	0,0040± 0,0003	0,0012± 0,0002

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

Срок хранения	Количество ЭМ в капсуле, г	Содержание лимонена, г
0	0,0400±0,0020	0,0290±0,0003
3 мес	0,0400±0,0020	0,0290±0,0003
6 мес	0,0400±0,0010	0,0290±0,0004
1 год	0,0400±0,0020	0,0290±0,0002
1 год 6 мес	0,0400±0,0030	0,0286±0,0003
2 года	0,0380±0,0010	0,0286±0,0003
2 года 6 мес	0,0380±0,0020	0,0285±0,0003
3 года	0,0380±0,0010	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 ($\pm 10\%$). 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 (см. табл. 42 и 43).

Динамика процесса миграции ЭМ и его компонентов через оболочку капсулы
«Липовитол» после вскрытия упаковки в течение 10 дней

Срок хранения, дней	Количество ЭМ в капсуле, г	Содержание действующих веществ, г		
		цитронеллола	гераниола	линалоола
1.	0,0410 ±0,0030	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0001	0,0015± 0,0002
2.	0,0410 ±0,0020	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0002
3.	0,0410 ±0,0030	0,0170± 0,0004	0,0043± 0,0001	0,0015± 0,0002
4.	0,0410 ±0,0010	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0001
5.	0,0410 ±0,0030	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0002	0,0015± 0,0002
6.	0,0410 ±0,0020	0,0170± 0,0002	0,0043± 0,0002	0,0015± 0,0003
7.	0,0410 ±0,0020	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0002	0,0015± 0,0003
8.	0,0410 ±0,0030	0,0170± 0,0002	0,0043± 0,0001	0,0015± 0,0003
9.	0,0410 ±0,0020	0,0170± 0,0003	0,0043± 0,0001	0,0015± 0,0002
10.	0,0410 ±0,0030	0,0170± 0,0002	0,0043± 0,0003	0,0015± 0,0001

Динамика процесса миграции ЭМ и его компонентов через оболочку капсулы
«Липовитол» после вскрытия упаковки в течение 10 дней

Срок хранения	Количество ЭМ в капсуле, г	Содержание лимонена, г
0	0,0400±0,0020	0,0290±0,0003
3 мес	0,0400±0,0020	0,0290±0,0004
6 мес	0,0400±0,0020	0,0290±0,0003
1 год	0,0400±0,0030	0,0290±0,0003
1 год 6 мес	0,0400±0,0020	0,0290±0,0003
2 года	0,0400±0,0030	0,0290±0,0002
2 года 6 мес	0,0400±0,0030	0,0290±0,0003
3 года	0,0400±0,0030	0,0290±0,0003

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.

5.7. Доклинические 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.

5.7.1. Исследования острой токсичности капсул «Липовитол» и «Лимонеол»

При внутрибрюшинном и пероральном введении препаратов ЭМ в дозах 0,06 – 0,4 г/кг массы тела каких-либо заметных изменений в общем состоянии и поведении животных в течение первых и последующих суток

не наблюдалось. При увеличении доз до 0,5 г/кг через 35 – 40 мин от начала введения отмечались усиление двигательной активности, учащение дыхания и повышение чувствительности к внешним механическим, световым и звуковым раздражителям. Через 1 ч период возбуждения сменился угнетением: наблюдалось снижение двигательной активности, урежение дыхания; животные становились подавленными, отказывались от пищи, меньше реагировали на внешние раздражители. Через 4 – 5 ч указанные реакции исчезали, и опытные животные ничем не отличались от интактных. После введения токсических доз испытуемых препаратов гибель животных наступала от остановки дыхания (табл. 44).

Таблица 44

Результаты изучения токсичности капсул «Липовитол» и «Лимонеол» на белых мышах

№ группы животных	Путь введения	ЛД ₀	ЛД ₅₀	ЛД ₁₀₀
Липовитол				
1	Перорально	0,9	1,4	2,3
2	Внутрибрюшинно	0,8	0,8	1,7
Лимонеол				
3	Перорально	0,8	1,3	2,3
4	Внутрибрюшинно	0,9	0,9	1,8

Таким образом, на основе полученных результатов при внутрибрюшинном введении «Липовитола» ЛД₅₀ для белых мышей составила 0,8 г/кг, «Лимонеола» 0,9 г/кг, при пероральном 1,4 г/кг для «Липовитола» и 1,3 г/кг для «Лимонеола». Все испытуемые препараты следует отнести к четвёртому классу (малотоксичные вещества) по классификации К.К. Сидорова, Ходжа и Стерна [6].

5.7.2. Исследование желчегонных свойств капсул «Липовитол» и «Лимонеол»

Анализ результатов экспериментов показал, что у контрольных крыс

за каждый час количество секретируемой желчи составило в среднем $3,10 \pm 0,01$ мг/мин/100 г массы тела (рис. 40). Установлено, что наибольшую стимулирующую активность все препараты проявляют в дозе 0,02 г/кг массы, увеличивая объем секретируемой желчи. За 3 ч от начала фистулирования общего желчного протока объем желчи у крыс, получавших «Липовитол» и «Лимонеол», повышается на 49%, «Олиметина» на 44%, при получении «Карсила» цифры не отличались от контроля (рис. 40).

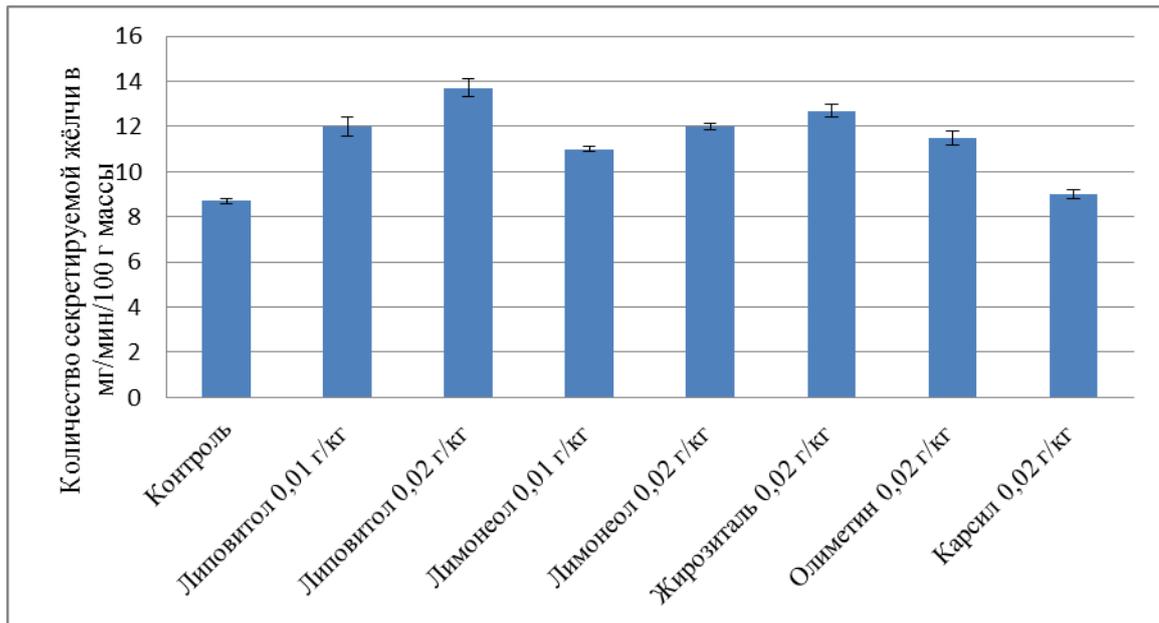


Рис. 40. Желчегонное действие (за 3 ч) на белых крысах с доверительными интервалами (при $\gamma = 0.95$)

Под действием испытуемых препаратов в дозе 0,02 г/кг массы тела животного изменяется химический состав желчи. Отмечено повышение в желчи концентрации суммарных желчных кислот (СЖК), фосфолипидов и величины холатохолестеринового коэффициента (ХХК) (табл. 45). Содержание холевой кислоты под действием «Лимонеол» снизилось почти на 10%, то есть имело тенденцию к снижению, а после применения других испытуемых веществ осталось почти без изменений.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследуемые препараты на основе эфирных масел обладают выраженными желчегонными и холеретическими свойствами.

Влияние капсул «Липовитол» и «Лимонеол» (0,01 и 0,02 г/кг массы) на химический состав желчи у белых крыс (n=10)

№ группы	Препарат	Доза г/кг	Показатели химического состава жёлчи				
			ХС, ммоль/л	СЖК, ммоль/л	Холевая кислота, ммоль/л	Фосфолипиды, г/л	ХХК
1	Контроль		2,00±0,68	27,50±0,91	10,80±0,44	4,2±0,4	13,3±0,6
2	Липовитол	0,01	1,70±0,2 P<0,05	36,20±0,86 P<0,05	10,10±0,44	6,2±0,4 P<0,05	25,8±1,6 P<0,001
3	Липовитол	0,02	1,65±0,01 P<0,01	41,70±0,56 P<0,05	10,80±1,15	6,3±0,7 P<0,001	33,1±0,1 P<0,001
4	Лимонеол	0,01	1,70±0,68 P<0,05	32,70±1,14 P<0,05	12,30±0,33 P<0,05	5,3±0,7 P<0,05	20,7±0,4 P<0,05
5	Лимонеол	0,02	1,74±0,71 P<0,05	38,50±0,97 P<0,05	10,00±0,19	6,3±0,4 P<0,001	26,7±0,7 P<0,001

Примечание: Значение P для опытных животных – по отношению к контрольным данным

5.7.3. Исследование желчегонных свойств капсул «Липовитол» и «Лимонеол» при токсическом гепатите

В связи с тем, что желчевыделительная функция печени является наиболее чувствительной к воздействию токсических веществ, в том числе к CCl_4 , доклиническое испытание капсул «Липовитол» и «Лимонеол» проводили на белых крысах с подострой и хронической формами интоксикации CCl_4 . Результаты исследования желчегонного действия капсул «Липовитол» и «Лимонеол» при остром токсическом гепатите представлены в табл. 46.

Таблица 46

Желчегонное действие капсул «Липовитол» и «Лимонеол» при остром токсическом гепатите

№ группы	Препарат	Доза г/кг	Объем секретируемой желчи, мг/мин/100 г массы		
			1 ч	2 ч	3 ч
1	Контроль		3,20±0,01	2,90±0,01	2,70±0,01
2	Интоксикация CCl_4		2,20±0,05	1,85±0,03	1,80±0,04
3	Липовитол	0,02	3,60±0,01 P<0,001	3,30±0,04 P<0,001	3,10±0,09 P<0,001
4	Липовитол	0,04	3,50±0,01 P<0,001	3,20±0,06 P<0,001	2,95±0,01 P<0,001
5	Лимонеол	0,02	3,45±0,01 P<0,001	3,15±0,01 P<0,001	3,00±0,01 P<0,001
6	Лимонеол	0,04	3,35±0,01 P<0,001	3,05±0,01 P<0,001	3,00±0,01 P<0,001
7	Жирозиталь	0,04	3,68±0,02 P<0,001	3,25±0,03 P<0,001	3,05±0,01 P<0,001
8	Олиметин	0,04	3,33±0,04 P<0,001	3,10±0,04 P<0,001	3,00±0,05 P<0,001

Примечание: Значение P для опытных животных – по отношению к контрольным данным

При остром токсическом гепатите наблюдается резкое уменьшение количества секретируемой желчи. Объем секретируемой желчи под влиянием CCl_4 по сравнению с интактными животными уменьшается в среднем на 35%, в то же время у животных, получавших исследуемые средства в дозе 0,02 г/кг объем желчи в среднем за 3 ч увеличивается на 70 и 63 % соответственно. У животных, получавших исследуемые средства в дозе 0,04 г/кг массы показатели желчегонного эффекта почти не отличались от результатов вышеуказанной группы. В связи с тем, что испытываемые препараты оказали наиболее выраженный эффект в дозе 0,02 г/кг массы, дальнейшие исследования эффективности при токсическом поражении печени проводились на данной дозе.

При интоксикации крыс CCl_4 (рис. 41) в течение месяца объем секретируемой желчи за 3 ч на фоне лечения капсулами «Липовитол» и «Лимонеол» по сравнению с контролем ($P < 0,001$) увеличивался.

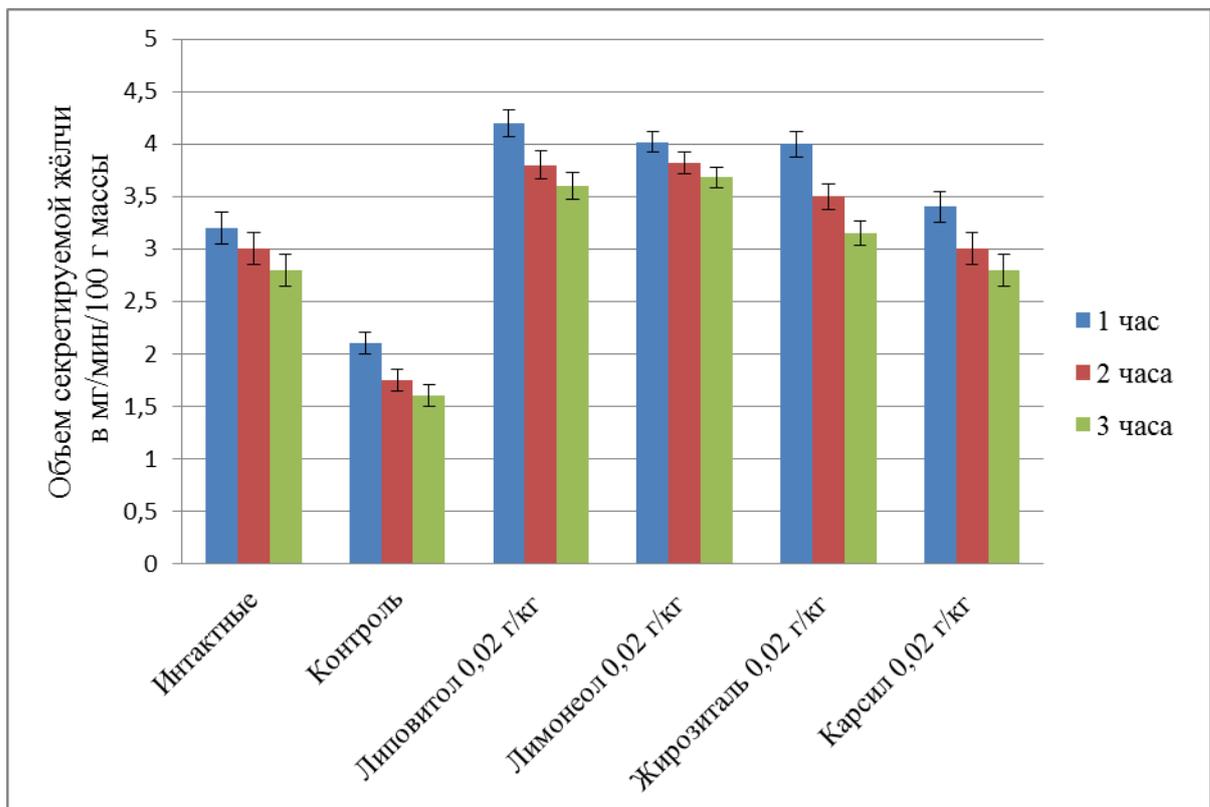


Рис. 41. Желчегонное действие исследуемых препаратов при подостром токсическом гепатите с доверительными интервалами (при $\gamma = 0.95$)

При 3-месячной интоксикации CCl_4 (рис. 42) у крыс, леченных капсулами «Липовитол» и «Лимонеол», наблюдалось ($P < 0,05-0,001$) повышение объёма секретируемой жёлчи, что свидетельствует о положительном влиянии испытуемых веществ на секреторную функцию печени. «Жирозиталь», введённый в дозе 0,02 г/кг массы, по эффективности приближался к испытуемым средствам.

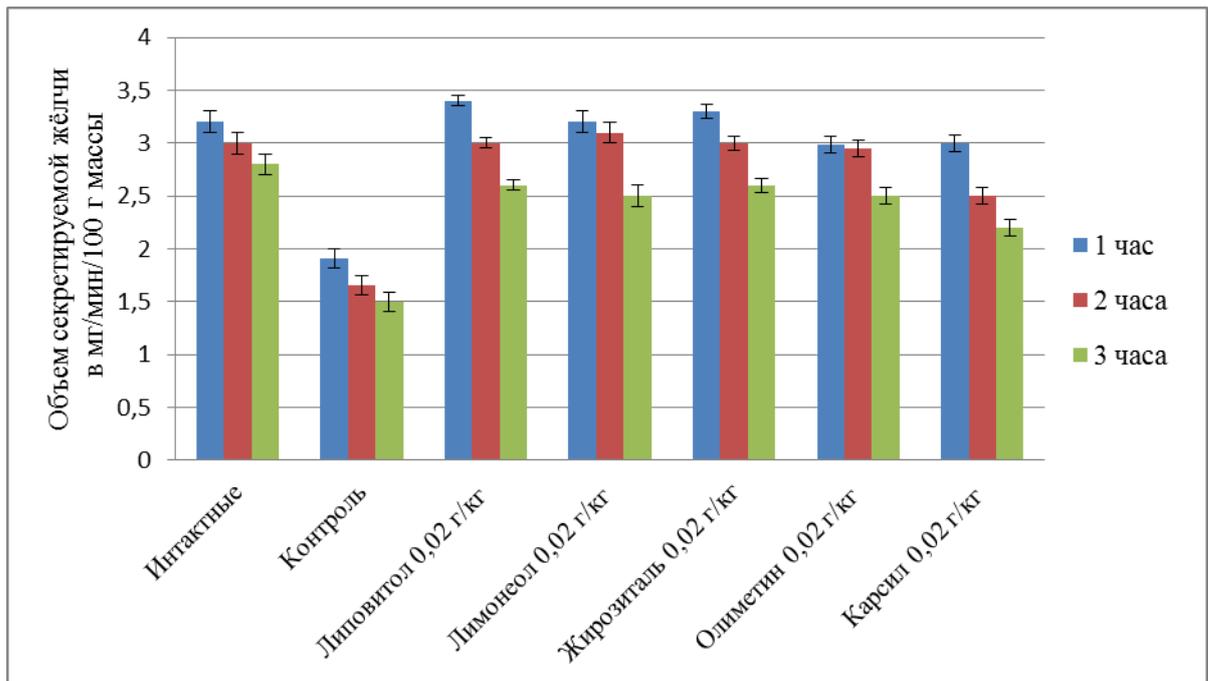


Рис. 42. Желчегонное действие испытуемых препаратов при хроническом токсическом поражении печени CCl_4 с доверительными интервалами (при $\gamma = 0.95$)

При интоксикации CCl_4 изменялся химический состав жёлчи (табл. 47). Наиболее заметное изменение возникло в обмене суммарных жёлчных кислот, холевой кислоты и фосфолипидов. В результате 3-месячной интоксикации содержание СЖК уменьшалось на 45% по сравнению с уровнем у интактных животных. Концентрация холевой кислоты при 3-месячной интоксикации повышалась на 40%, что, по всей вероятности, связано с нарушением холатообразующей функции печени. Концентрация фосфолипидов в составе жёлчи контрольных крыс при хроническом поражении в среднем уменьшалась в 2,2 раза.

Влияние капсул «Липовитол» и «Лимонеол» (0,02 г/кг массы) на химический состав жёлчи при 3-месячном токсическом поражении печени CCl_4 (n=10)

№ группы	Препарат	Доза г/кг	Показатели химического состава желчи				
			ХС, ммоль/л	СЖК, ммоль/л	Холевая кислота, ммоль/л	Фосфолипиды, г/л	ХХК
1	Интактные		2,67± 0,18	29,90±0,80	7,05±0,98	3,9±0,8	11,2±0,9
2	Контрольные		2,00±0,05	18,80±0,24	10, 7±0,13	1,6±0,03	9,4±0,6
3	Липовитол	0,02	2,65±0,01 P<0,05	38,50±0,24 P<0,001	7,20±0,19 P<0,05	4,4±0,1 P<0,001	14,5±0,9 P<0,001
4	Лимонеол	0,02	2,65±0,13 P<0,05	36,62±1,10 P<0,001	7,90±0,40 P<0,05	3,9±0,4 P<0,05	13,7±1,2 P<0,05
5	Жирозиталь	0,02	2,65±0,13 P<0,05	37,85±0,30 P<0,001	7,00±0,44 P<0,05	4,0±0,4 P<0,001	14,3±0,6 P<0,05
6	Олиметин	0,02	2,58±0,11 P<0,05	34,6±2,28 P<0,05	9,02±0,12 P<0,001	3,6±0,1 P<0,001	13,4±0,9 P<0,05
7	Карсил	0,02	2,73±0,03 P<0,05	29,6±0,36 P<0,05	8,47±0,16 P<0,001	4,0±0,04 P<0,001	10,8±0,6 P<0,05

Примечание: Значение P для опытных животных – по отношению к контрольным данным

Выраженное изменение химического состава желчи свидетельствует о тяжёлых поражениях функции гепатоцитов на фоне отравления гепатотоксином. «Липовитол» и «Лимонеол», вводимые в дозе 0,02 г/кг массы в течение 3 мес., заметно предотвращали отрицательное влияние $CC1_4$ на гепатоциты и способствовали нормализации химического состава жёлчи у подопытных крыс. Концентрация холестерина у животных, получавших испытываемые средства, нормализовалась почти до исходного уровня. У крыс, леченных капсулами «Липовитол» и «Лимонеол», концентрация суммарных желчных кислот по сравнению с контрольными повышалась на 104 и 95 % соответственно. В то же время данный показатель по отношению к интактным крысам повышался на 29 и 22 % соответственно. У животных, получавших «Карсил», концентрация суммарных желчных кислот повышалась до уровня интактных животных, а у животных, получавших «Жирозиталь» и «Олиметин», концентрация СЖК была на уровне показателей «Липовитола».

Уровень холевой кислоты при хронической интоксикации на фоне лечения испытываемыми препаратами значительно уменьшался, особенно в случае «Липовитола» и «Жирозиталья». Концентрация фосфолипидов желчи повышалась у всех опытных животных, особенно у получавших «Липовитол» и «Жирозиталь» ($P < 0.001$). Величина ХХК у животных, получавших «Липовитол», «Лимонеол» и «Жирозиталь», восстанавливалась до уровня интактных крыс. «Жирозиталь», «Олиметин» и «Карсил», вводимые в дозе 0,02 г\кг внутрижелудочно в течение 3 мес. белым крысам, вызывали аналогичные по направленности изменения химического состава жёлчи, при этом действие «Карсила» было менее выраженным.

Анализ полученных результатов с позиции патогенеза гепатотоксического эффекта $CC1_4$ показывает, что под влиянием капсул «Липовитол» и «Лимонеол» нормализуется процесс желчеобразования и экскреции жёлчи в двенадцатиперстную кишку. Наряду с этим, испытываемые средства восстанавливают химический состав жёлчи

Выводы по главе 5

1. Используя обобщённую функцию желательности, произведён выбор оптимального состава желатиновой массы для получения МЖК ротационно-матричным методом.

2. В ходе работы определён реологический оптимум ЖМ пригодной для получения капсул ротационно-матричным методом, который имеет границы в диапазонах скоростей сдвига $0,556 - 243 \text{ с}^{-1}$ и напряжениями сдвига в диапазоне 2788–2808 Па.

3. Для обеспечения прочности и эластичности оболочки капсулы во время производственного процесса и хранения, желатиновые ленты должны иметь следующие механические и физико-технологические характеристики: модуль Юнга 35 – 50 МПа, удлинение при разрыве 210 – 240 %, предел прочности 8 – 9 МПа.

4. Регенерированная желатиновая масса имеет ограниченное применение для изготовления МЖК, поскольку при переработке теряет необходимые структурно-механические свойства, такие как прочность и пластичность.

5. Разработана технологическая схема получения МЖК «Липовитол» и «Лимонеол» с эфирным маслом герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия.

6. Проведена стандартизация МЖК «Липовитол» и «Лимонеол» по показателям: «Описание», «Подлинность», «Количественное определение» действующих веществ, «Однородность массы», «Распадаемость» и «Микробиологическая чистота», установленные показатели свидетельствуют об удовлетворительном качестве исследуемых МЖК и могут являться критериями оценки их доброкачественности.

7. Методом долгосрочных испытаний стабильности при хранении в стеклянных банках из тёмного стекла и полимерных банках МЖК «Липовитол» и «Лимонеол», при температуре от 15 до 25 °С и от 2 до 8 °С

установлены сроки годности в течение 3 лет. В качестве упаковочного материала выбраны полимерные банки, температура хранения от 15 до 25 °С.

8. На основе полученных результатов при внутрибрюшинном введении капсул «Липовитол» ЛД50 для белых мышей составила 0,8 г/кг, капсул «Лимонеол» 0,9 г/кг. Согласно классификации по К.К. Сидорову, все испытуемые препараты следует отнести к четвёртому классу (малотоксичные вещества).

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 испытуемых веществ на секреторную функцию печени. Наряду с этим, «Липовитол» и «Лимонеол», введённые в дозе 0,02 г/кг массы в течение 3 месяцев способствовали нормализации химического состава жёлчи у подопытных крыс.

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 количественного определения основных компонентов 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 °С – 3 года.

3. На основании комплексных исследований структурно-механических свойств желатиновой массы обоснован оптимальный состав оболочки для получения мягких желатиновых 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 разработана спецификация 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 2017 г. 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 CCl_4) 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 фармако-технологических исследований, разработке методов стандартизации и фармакологической оценке углекислотных экстрактов герани душистой травы и лимона Мейера экзокарпия.

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

1. БАВ - биологически активные вещества
2. ЖМ - желатиновая масса
3. ЖЛ - желатиновая лента
4. ЛП - лекарственный препарат
5. ЛС - лекарственное средство
6. ЛФ – лекарственная форма
7. МЖК - мягкие желатиновые капсулы
8. СОВС - стандартные образцы вещества свидетеля
9. СФ - сверхкритический флюид
10. СУЭ - сверхкритический углекислотный экстракт
11. ТСХ - тонкослойная хроматография
12. ФМК - фосфорномолибденовая кислота
13. ЭМ – эфирное масло
14. ЭМ Г - эфирное масло герани душистой травы, полученное методом гидродистилляции
15. ЭМ РТ – эфирное масло герани душистой травы, полученное из сырья, собранного в Республике Таджикистан

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азонов, Д. А. Лечебные свойства гераноретинола и эфирных масел: (эксперим. исслед.) / Д. А. Азонов, А. К. Холов, Г. В. Разыкова. – Душанбе: Матбуот, 2011. – 127 с.
2. Акобиршоева, А. Химический состав эфирного масла *Ziziphora ramiroalaica* Lam. (*Lamiaceae*), произрастающей в Таджикистане / А. Акобиршоева, Д. Н. Оленников // Химия растительного сырья. – 2017. – № 1. – С. 51 – 58.
3. Алиев, А. М. Компонентный состав экстракта шишкоягод можжевельника продолговатого, полученного экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода / А. М. Алиев, Г. К. Раджабов, Г. В. Степанов // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2012. – № 3. – С. 20 – 29.
4. Алиев, А. М. Сверхкритическая CO₂-экстракция из растительного сырья / А. М. Алиев, Г. К. Раджабов, Г. В. Степанов // Фазовые переходы, критические и нелинейные явления в конденсированных средах. Материалы международной конференции. – 2010. – С. 353 – 356.
5. Анализ экстрактов шалфея, полученных сверхкритической углекислотной экстракцией / А. М. Алиев, И. Н. Зилфикаров, Г. В. Степанов, З. А. Гусейнова // Химия растительного сырья. – 2009. – № 1. – С. 97 – 102.
6. Березовская И. В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И. В. Березовская // Химико – фармацевтический журнал. – 2003 – Т.37. № 3 – С. 32 – 34.
7. Биологически активные вещества пряно-ароматических и лекарственных растений коллекции Никитского ботанического сада / А. Е. Палий, О. А. Гребенникова, В. Д. Работягов, И. Н. Палий // Сборник научных трудов ГНБС. – 2014. – Т. 139. – С. 107 – 115.

8. Боголицын, К. Г. Перспективы применения сверхкритических флюидных технологий в химии растительного сырья / К. Г. Боголицын // Сверхкритические Флюиды. Теория и Практика. – 2007. – № 1. – С.16 – 27.

9. Букеева, А. Б. Обзор современных методов выделения биоактивных веществ из растений / А. Б. Букеева, С. Ж. Кудайбергенова // Вестн. ЕНУ им. Л. Н. Гумилева. – 2012. – № 2. – С. 192 – 197.

10. Валидация в производстве лекарственных средств / В. В. Береговых, Н. В. Пятигорская, В. В. Беляев [и др.]. – Москва : Русский врач, 2010. – 286 с.

11. Вичканова, С. А. Изучение противотуберкулезной активности эфирных масел / С. А. Вичканова, Л. В. Макарова // Материалы Всесоюз. конф. по исследованиям лекарственных растений и перспективам их использования в производстве лекарственных препаратов, Москва. – 1972. – С. 231 – 233.

12. Влияние состава эфирных масел лимона на их антиоксидантные свойства и стабильность компонентов / Т. А. Мишарина, М. Б. Теренина, Н. И. Крикунова, М. А. Калинин // Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С. 87 – 92.

13. Водяник, А. Р. Сверхкритическая флюидная экстракция природного сырья: мировой опыт и ситуация в России / А. Р. Водяник, А. Ю. Шадрин, М. Ю. Синев // Сверхкритические Флюиды. Теория и Практика. – 2008. – № 2. – С. 58 – 69.

14. Войткевич, С. А. Целебные растения и эфирные масла / С. А. Войткевич. – Москва : Пищевая промышленность, 2002. – 172 с.

15. Выбор оптимальных параметров разделения фосфолипидов в тонком слое сорбента / Е. Ф. Сафонова, А. А. Назарова, В. Ф. Селеменев [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36, № 4. – С.41 – 43.

16. Гаммель, И. В. Сравнительное изучение возможности промышленного капсулирования осетрового жира Витойл капельным и

ротационно-матричным методами / И. В. Гаммель, Л. И. Запорожская, П. Т. Петров // Медицинский альманах. – 2013. – № 1 (25). – С. 188 – 191.

17. Государственная Фармакопея РФ: XIII издание. Том 1.– 2015. – 1470 с. - Режим доступа : <http://www.femb.ru/feml>

18. Государственная Фармакопея РФ: XIII издание. Том 2.– 2015. – 1004 с. - Режим доступа : <http://www.femb.ru/feml>

19. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>

20. ГОСТ 31791-2012. Продукция и сырье эфиромасличное травянистое и цветочное. Технические условия. – Москва: Стандартинформ, 2014. – 16 с.

21. ГОСТ ISO 4731-2014. Масло эфирное гераниевое (*Pelargonium * ssp.*). – Москва: Стандартинформ, 2015. – 15 с.

22. ГОСТ Р 53043-2008. Продукция и сырье эфирномасличное, травянистое и цветочное. Термины и определения. – Москва: Стандартинформ, 2009. – 12 с.

23. Гумеров, Ф. Сверхкритические флюиды и СКФ-технологии / Ф. Гумеров, Р. Яруллин // *The Chemical Journal*. – 2008. – № 10. – С.26 – 30.

24. Гуринович, Л. К. Эфирные масла: химия, технология, анализ и применения / Л. К. Гуринович, Т. В. Пучкова – Москва: Школа Косметических Химиков, 2005. – 192 с.

25. Демченко, Д. В. Разработка технологии мягких агаровых капсул с масляными экстрактами: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.01 / Демченко Д. В. – Санкт-Петербург, 2015. – 226 с.

26. Динамика накопления и компонентный состав эфирного масла *Agastache rugosa L.* / Н. А. Коваленко, Г. Н. Супиченко, В. Н. Леонтьев, А. Г. Шутова // Труды БГТУ. Серия 4: Химия и технология органических веществ. – 2008. – №4. – С.30 – 33.

27. Дьячкова, Л. В. Изучение структурно-механических свойств мазевых основ / Л. В. Дьячкова, Т. В. Трухачева, А. И. Жебентяев // Вестник фармации. – 2012. – № 3 (57). – С. 23 – 28.

28. Егорова, А. М. Особенности производства эфирных масел / А. М. Егорова, О. В. Решетникова // II Лужские научные чтения. Современное научное знание: теория и практика: материалы междунар. науч.-практ. конференции. отв. ред. Т. В. Седлецкая. – 2014. – С. 42 – 49.

29. Егорова, А. М. Биотехнологические методы производства эфирных масел / А. М. Егорова, О. В. Решетникова // Материалы международной науч.-практ. конф. III Лужские научные чтения «Современное научное знание: теория и практика». – 2015. – С. 67 – 74.

30. Ефремов, А. А. Метод исчерпывающей гидропародистилляции при получении эфирных масел дикорастущих растений / А. А. Ефремов // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 7. – С. 88 – 94. – Режим доступа: <http://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=32596> (дата обращения: 27.07.2018).

31. Ефремов, А. А. Изменения компонентного состава и физико-химических показателей эфирного масла корневищ *Acorus calamus* (*Araceae*) в зависимости от продолжительности его выделения / А. А. Ефремов, И. Д. Зыкова, М. В. Дрожжина // Растительные ресурсы. – 2011. – Т.47, Вып.1. – С. 118 - 124.

32. Ефремов, А. А. Компонентный состав эфирного масла Мелиссы Лекарственной окрестностей Красноярска по данным хромато-масс-спектрометрии / А. А. Ефремов, И. Д. Зыкова, А. Е. Горбачев // Химия растительного сырья. – 2015. – № 1. – С. 77 – 81.

33. Жогова, А. А. Определение аукубина в сырье и препаратах подорожника большого / А. А. Жогова, И. А. Самылина, К. И. Эллер // Фармация. – 2015. – № 2. – С. 15 – 18.

34. Жогова, А. А. Изучение иридоидов в листьях вахты трехлистной / А. А. Жогова, И. А. Самылина, К. И. Эллер // Фармация. – 2013. – № 5. – С. 17 – 20.
35. Залепугин, Д.Ю. Развитие технологий, основанных на использовании сверхкритических флюидов / Д. Ю. Залепугин, Н. А. Тилькунова, И. В. Чернышова, В. С. Поляков // Сверхкритические Флюиды. Теория и Практика. – 2006. – № 1. – С. 27 – 51.
36. Запорожская, Л. И. Разработка технологии рыбьего жира «Витойл» в мягких желатиновых капсулах: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.01 / Запорожская Л. И. – Пермь, 2013. – 23 с.
37. Зилфикаров, И. Н. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами: монография / И. Н. Зилфикаров, В. А. Челомбитько, А. М. Алиев; под ред. В. А. Челомбитько. – Пятигорск, 2007. – 244 с.
38. Зилфикаров, И. Н. Сравнительное фитохимическое исследование эфирного масла и сверхкритического флюидного CO₂-экстракта из листьев эвкалипта прутовидного / И. Н. Зилфикаров, А. М. Алиев // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. – 2008. – Т.3, № 2. – С. 43 – 51.
39. Зорин, Е. Б. Изучение эфирного масла конголезской citronеллы / Е. Б. Зорин, А. А. Сорокина // Фармация. – 2009. - № 8. – С. 19 – 22.
40. Зыкова, И. Д. Компонентный состав эфирного масла из соцветий *Filipendula ulmaria (l) Maxim* в фазах цветения и плодоношения / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. - 2011. - № 1. - С. 133 – 136.
41. Зыкова, И. Д. Сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел *Pinus pithyusa Steven* и *Pinus silvestris* / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. - 2012. - № 2. - С. 105 – 109.
42. Зыкова, И. Д. Компонентный состав эфирного масла плодов *Coriandrum sativum*, произрастающего в сибирском регионе / И. Д. Зыкова,

А. А. Путницева, А. А. Ефремов // Сиб. мед. журн. (Иркутск). – 2014. – № 7. – С. 117 – 119.

43. Иванова, Н. А. Разработка технологии производства мягких желатиновых капсул с гидрофильными наполнителями ротационно-матричным методом: дис ... канд. фарм. наук: 14.04.01. – Пермь, 2013. – 247 с.

44. Иванова, Н. А. Влажность оболочки и прочностные характеристики мягких желатиновых капсул с гидрофильными наполнителями / Н. А. Иванова, А. А. Селянинов, Е. В. Вихарева, А. А. Баранов // Фармация. – 2013. – № 2. – С. 36 – 38.

45. Игнатов, А. С. Влияние технологических факторов на начальной стадии выделения корового пихтового масла / А. С. Игнатов, С. В. Хижняк, Р. А. Степень // Вестник СибГУ им. М. Ф. Решетнева. – 2006. – № 5 (12). – С.120 – 122.

46. Изменение состава эфирного масла при разных сроках хранения сырья / А. В. Ткачева, Е. А. Королюка, М. С. Юсубов, А. М. Гурьев // Химия растительного сырья. – 2002. – № 1. – С. 19 – 30.

47. Изучение компонентного состава валерианового эфирного масла полученного паровой дистилляцией / Н. С. Фурса, П. Ю. Шкроботько, Д. Л. Макарова [и др.] // Вестник ВГУ, Серия: химия, биология, фармация. – 2011. – № 2. – С. 233 – 239.

48. Изучение структурно-механических свойств противоаллергического геля с фексофенадином / З. Д. Хаджиева, В. А. Чумакова, Л. Б. Губанова, А. А. Смирных // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2015. – №22 (219). – С. 164 – 168.

49. Изучение химического состава эфирного масла *Aegopodium podagraria* L. флоры Сибири / В. А. Агеев, Д. Л. Макарова, Д. В. Домрачев [и др.] // Химия растительного сырья. – 2011. – №1. – С. 129 – 132.

50. Изучение эфирного масла свежих и высушенных корневищ с корнями валерианы лекарственной / Н. С. Фурса, П. Ю. Шкроботько, Е. Н. Караванова [и др.] // Фармация. – 2013. – № 8. – С. 7 – 9.

51. История развития производства капсул / Д. В. Демченко, О. Н. Пожарицкая, А. Н. Шиков, В. Г. Макаров // Фармация. – 2015. № 8. С. 47 – 51.

52. Караматов, И. Дж. Чернушка посевная как лечебное средство в древней, современной, народной и научной медицине (обзор литературы) / И. Дж. Караматов, И. У. Абдулхаков // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2013. – № 4. – С. 406 – 413.

53. Карасавиди, А. О. Оценка качества лекарственного растительного сырья, эфирных масел и фитопрепаратов лаванды лекарственной, розмарина лекарственного, шалфея лекарственного: дис. канд. фарм. наук: 15.00.02 / А. О. Карасавиди. - Санкт-Петербург, 2006. – 275 с.

54. Карасавиди, А. О. Некоторые виды эфирномасличного сырья – в медицинской практике. / А. О. Карасавиди // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2005. – № 1. – С. 205 – 211.

55. Касьянов, Г. И. Техника и технология использования диоксида углерода в суб и сверхкритическом состоянии / Г. И. Касьянов // Вестник ВГУИТ. - 2014. – № 1 (59). – С. 130 – 135.

56. Клинические исследования иммуностимулирующих свойств чернушки посевной, *Nigella sativa* L. / М. И. Гаджиев, А. Д. Хабибов, А. М. Алиев, А. М. Мусаев // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы» материалы I Международной научной конференции. – 2013. – С. 375 – 377.

57. Компонентный состав эфирного масла корневищ с корнями *Valeriana officinalis* L. S. STR. в окрестностях г. Ярославля и *Valeriana collina* WALLR. в окрестностях г. Запорожье / П. Ю. Шкроботько, А. В. Ткачев,

М. С. Юсубов [и др.] // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – № 2. – С. 190–197.

58. Компонентный состав эфирного масла *Artemisia Sericeae Weber ex Stechm.*, произрастающей в Восточной Сибири / С. В. Жигжитжапова, А. С. Пушкарева, Т. Э. Рандалова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2015. – № 4. – С. 151 – 154.

59. Компонентный состав эфирного масла *Coriandrum sativum L.* в условиях Дагестана / Г. К. Раджабов, Ф. А. Вагабова, А. М. Алиев [и др.] // Ботанический вестник Северного Кавказа. – 2017. - № 1. – С. 70 - 78.

60. Компонентный состав эфирного масла *Santolina chamaecyparissus L.* и *Santolina rosmarinifolia L.* на южном берегу Крыма / А. М. Ярош, Ф. М. Меликов, О. М. Шевчук, С. А. Феськов // Бюллетень ГНБС. – 2017. – Вып. 124. – С. 71 – 77.

61. Компонентный состав эфирного масла *Thuja plicata Donn ex D. Don* в условиях интродукции на Черноморском побережье Кавказа / Ю. В. Плугатарь, О. М. Шевчук, В. Д. Лейба, С. А. Феськов // Материалы юбил. междунар. науч. конф., посвящ. 175-летию Сухумского ботанического сада, 120-летию Сухумского субтропического дендропарка, 85-летию профессора Г. Г. Айба и 110-летию профессора А. А. Колаковского. – 2016. – С. 369 – 376.

62. Кондратюк, Т. А. Эфирные масла пряно-вкусовых растений / Т. А. Кондратюк, И. Д. Зыкова // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 9. – С. 135 - 139. – Режим доступа: <https://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=32898> (дата обращения: 27.07.2018).

63. Королюк, Е. А. Состав эфирного масла зизифоры пахучковидной (*Ziziphora clinopodioides Lam.*) из Алтайского края и Республики Алтай / Е. А. Королюк, В. Кёниг, А. В. Ткачева // Химия растительного сырья. – 2002. – № 1. – С. 49 – 52.

64. Кротова, И. В. Возможности рационального использования эфиромасличных растений / И. В. Кротова, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. – 2002. – № 3. – С. 29 – 33.

65. Куликов, Ю. А. Фармацевтический энциклопедический словарь / Ю. А. Куликов, А. И. Сливкин, Т. Г. Афанасьева; под. ред. Г. Л. Вышковского, Ю. А. Куликова. - Москва: ВЕДАНТА, 2015. – 352 с.

66. Куркин, В. А. Современные аспекты химической классификации биологически активных соединений лекарственных растений / В. А. Куркин // Фармация. – 2002. – № 50(2). – С. 8 – 16.

67. Ладыгин, В. В. Способы получения, состав и свойства эфирных масел / В. В. Ладыгин // Вестник Всероссийского исследовательского института жиров. – 2011. – № 1. – С. 5 – 15.

68. Лебединский, П. В. Применение эфирных масел для лечения инфицированных ран. Сообщ. 2: Действие некоторых эфирных масел на течение экспериментальных местных гнойных процессов на животных / П. В. Лебединский // Хирургия. – 1944. – № 4. – С. 7 – 11.

69. Лоулесс, Д. Энциклопедия ароматических масел / Д. Лоулесс, – Москва: КРОН-ПРЕСС, 2000. – 288 с

70. Марчук, Н. Ю. Биологически активные вещества кипариса гималайского / Н. Ю. Марчук, А. Е. Палий // Бюллетень ГНБС. – 2015. – Вып. 114. – С. 25 – 31.

71. Минина, С. А. Химия и технология фитопрепаратов / С. А. Минина, И. Е. Каухова. – Москва: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 560 с.

72. Мозуль, В. И. Исследование эфирного масла *Myrtus communis L.* / В. И. Мозуль, В. С. Доля, Л. И. Слобожан // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – Т.24, № 2. – 2011. – С. 30 – 32.

73. Молохова, Е. И. Механические и физико-технологические свойства желатиновых лент при производстве мягких желатиновых капсул /

Е. И. Молохова, Е. И. Пономарева, А. А. Адамов, А. К. Холов // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т.52, № 7. – С. 46 – 49.

74. Мустафин, Р. А. Исследование реологических свойств лекарственных форм мелоксикама для наружного применения / Р. А. Мустафин, Н. М. Насыбуллина, Л. А. Поцелуева // Успехи современного естествознания. – 2010. – № 1. – С. 11-14. – Режим доступа: <https://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=7561> (дата обращения: 27.07.2018).

75. Нажбудинов, С. Влияние минеральных удобрений на компонентный состав эфирного масла герани (*Pelargonium roseum Willd.*) / С. Нажбудинов, Н. А. Юсупова, Д. Э. Ибрагимов // ДАН РТ. – 2011. – № 8. – С. 673 – 677.

76. Немерешина, О. Н. Изучение биологически активных веществ в растениях *Veronica chamaedrys L.* и *Veronica officinalis L.* / О. Н. Немерешина, Н. Ф. Гусев, Г. В. Петрова // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 8. – С. 113 – 118.

77. Новые данные по химическому составу эфирного масла *Artemisia absinthium L.* сибирской флоры / М. А. Ханина, Е. А. Серых, Л. М. Покровский, А. В. Ткачев // Химия растительного сырья. – 2000. – № 3. – С. 33 – 40.

78. Оленников, Д. Н. Химический состав и антирадикальная активность эфирного масла российских образцов *Mentha piperita L.* / Д. Н. Оленников, Л. В. Дударева // Химия растительного сырья. – 2011. – № 4. – С. 109 – 114.

79. Орлова, С. Е. Сравнительное фитохимическое исследование спиртового и углекислотного экстрактов пальмы Сабаля / С. Е. Орлова, И. Н. Зилфикаров, А. М. Алиев // Химия растительного сырья. – 2012. – №4. – С. 137 – 142.

80. Органолептические свойства и гигиенические нормативы компонентов для получения растительных аналогов желатина / А. Ю. Просеков, Е. В. Ульрих, О. О. Бабич, Т. М. Дроздова // Фундаментальные исследования. –

2013. – № 8-4. – С. 858 – 861. – Режим доступа: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=32010> (дата обращения: 27.07.2018).

81. Осмоловская, Н. А. Влияние биоценологических и технологических факторов на выход и состав кедрового эфирного масла / Н. А. Осмоловская, В. Н. Паршикова, Р. А. Степень // Химия растительного сырья. – 2001. – № 4. – С. 97 – 102.

82. Паршикова, В. Н. Формирование качества гидродистилляционных цитрусовых эфирных масел / В. Н. Паршикова // Известия ВУЗов. Пищевая технология. – 2006. – № 2-3. – С. 33 – 36.

83. Пасичный, В. Н. Производство и применение желатина в пищевой промышленности / В. Н. Пасичный // Продукты и ингредиенты. – 2005. – № 5. – Ч. 1. – С. 10 – 14.

84. Петрова, В. В. Экспериментально-теоретическое обоснование технологии получения мази и капсул с экстрактом прополиса для акушерско-гинекологической практики: дис ... канд. фарм. наук: 14.04.01 / В. В. Петрова. Уфа, 2015. – 248 с.

85. Писарев, Д. И. Состав эфирных масел хвои и плодов можжевельника длиннохвойного / Д. И. Писарев, О. Н. Денисенко // Фармация. – 2005. – № 1. – С. 12 – 14.

86. Писарев, Д. И. Методы выделения и анализа эфирных масел / Д. И. Писарев, О. О. Новиков // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – № 10 (129). – С. 25 – 30.

87. Племенков, В. В. Введение в химию природных соединений / В. В. Племенков. – Казань, 2001. – 378 с.

88. Племенков, В. В. Химия изопреноидов. Глава 5. Монотерпены / В. В. Племенков // Химия растительного сырья. – 2006. – № 2. – С. 63 – 87.

89. Племенков, В. В. Медико-биологические свойства и перспективы терпеноидов (изопреноидов) / В. В. Племенков, О. А. Тевс // Химия растительного сырья. – 2014. – № 4. – С. 5 – 20.

90. Позднякова, Т. А. Исследование эфирного масла герани сибирской (*Geranium sibiricum* L.) / Т. А. Позднякова, Р. А. Бубенчиков // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 3-3. – С. 539 – 542.

91. Покровский, О. И. Сверхкритическая флюидная экстракция в масложировой промышленности / О. И. Покровский, О. О. Паренаго, С. А. Глазунова // Масла и Жиры. – 2010. – № 5-6. – С. 32 – 35.

92. Получение и исследование эфирного масла лемонграсса (*Cymbopogon citratus*), выращенного в условиях Центрально-Черноземного региона / К. Ю. Вяльцева, А. А. Колобаева, А. В. Фалалеев [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 5-2. – С. 265 – 268.

93. 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. – № 5. – С. 527 – 532.

94. 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.

95. 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 (дата обращения 15.09.2018)

96. Попова, Н. В. Вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья – мелиссы листьев / Н. В. Попова, В. И. Литвиненко // Фармаком. – 2009. – № 2. – С. 45 – 50.

97. Рабжаева, А. Н. Компонентный состав эфирного масла *Thymus baicalensis* Serg. (семейство *Lamiaceae*), произрастающего на территории Восточной Сибири и Монголии / А. Н. Рабжаева, С. В. Жигжитжапова, Л. Д. Раднаева // Химия растительного сырья. – 2015. – № 2. – С. 119 – 126.

98. Работягов, В. Д. Исследование компонентного состава эфирного масла *Hyssopus officinalis* L. / В. Д. Работягов, А. Н. Шибко // Сборник научных трудов ГНБС. – 2014. – Т. 139. – С. 94 – 106.

99. Разыкова, Г. В. Влияние гераноретинола и эфирных масел на химический состав желчи при экспериментальной гиперхолестеринемии / Г. В. Разыкова, Д. А. Азонов // Здоровоохранение Таджикистана. – 2011. - № 3. – С. 65 – 69.

100. Ребиндер П. А. Проблемы физико-химической механики волокнистых и пористых дисперсных структур и материалов / Ребиндер П. А. – Москва, 1967. – 624 с.

101. Реологические исследования агаровых гидрогелей для создания оболочки мягких капсул / Д. В. Демченко, О. Н. Пожарицкая, А. Н. Шиков, [и др.] // Химико-Фармацевтический журнал. – 2013. - Т. 47(10). – С. 40 – 42.

102. Романова, Е. И. Разработка состава желатиновой массы для получения мягких желатиновых капсул / Е. И. Романова, Е. И. Молохова, А. К. Холов, М. В. Мысов // Медицинский альманах. – 2014. – № 2 (32). – С. 135 – 138.

103. Рудь, Н. К. Основные результаты фитохимического и фармакологического исследования чернушки посевной / Н. К. Рудь, А. М. Сампиев, Н. А. Давитавян // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2013. – № 25(168). – С. 207 - 212.

104. Рудь, Н. К. Разработка технологии получения сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной / Н. К. Рудь, А. М. Сампиев // Научное обозрение. – 2015. – № 5. – С. 66 – 73.

105. Семкина, О. А. Обоснование состава геля Эвкалимина на основе сравнительного изучения реологических параметров редкосшитых акриловых полимеров / О. А. Семкина, С. Н. Суслина, И. И. Краснюк // Вестник РУДН. Серия: Медицина. – 2004. – № 4. – С. 216 – 222.

106. Содержание и особенности компонентного состава эфирного масла базилика *Ocimum L.* / Т. В. Сачивко, Н. А. Коваленко, Г. Н. Супиченко, В. Н. Босак // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 2. – С. 79 – 82.

107. Состав эфирного масла полыни метельчатой (*Artemisia scoparia Waldst. Et Kit.*), произрастающей в Таджикистане / Ф. С. Шаропов, В. А. Сулаймонова, И. С. Гулмуродов [и др.] // ДАН РТ. – 2011. – № 10. – С. 841 – 844.

108. Состав эфирного масла полыни тархун (*Artemisia dracunculus L.*) сибирской флоры / И. Б. Руцких, М. А. Ханина, Е. А. Серых [и др.] // Химия растительного сырья. – 2000. – № 3. – С. 65 – 76.

109. Сравнительный анализ состава пихтового масла, полученного водно-паровой дистилляцией и эфиромасличной фракции CO₂-экстракта лапки пихты сибирской / В. Н. Сидельников, Ю. В. Патрушев, Н. В. Сизова, Т. В. Петренко // Химия растительного сырья. – 2003. – № 1. – С. 79 – 85.

110. Сравнительный анализ состава эфирных масел, полученных гидродистилляцией, и эфирномасличной фракции CO₂-экстракта *Artemisia sieversiana Willd.* и *Artemisia annua L.* / Т. Э. Рандалова, Г. Л. Рыжова, К. А. Дычко [и др.] // Химия растительного сырья. – 2013. – № 4. – С. 61 - 64.

111. Сравнительный фармакогностический анализ травы чабреца / А. Г. Бузук, Р. А. Юрченко, В. А. Винарский, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. – 2011. – № 3-53. – С. 19 – 24.

112. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии / О. Б. Рудаков, И. А. Востров, С. В. Федоров [и др.]. – Воронеж: Водолей, 2004. – 528 с.

113. Тигунцева, Н. П. Сравнительное исследование состава эфирного масла, гексанового и сверхкритического CO₂-экстрактов из корней одуванчика лекарственного / Н. П. Тигунцева, С. Н. Евстафьев // Химия растительного сырья. – 2013. – № 3. – С. 129 - 136.

114. Ткаченко, К. Г. Эфирномасличные растения и эфирные масла: достижения и перспективы, современные тенденции изучения и применения / К. Г. Ткаченко // Вестник УдмГУ. – 2011. – № 6-1. – С. 88 – 100.

115. Физико-химические свойства диоксида углерода как растворителя / Д. Г. Филенко, К. А. Щеколдин, М. Н. Дадашев, В. А. Винокуров // Оборонный комплекс - научно-техническому прогрессу России. – 2012. - № 2. – С. 44 – 48.

116. Флавоноиды и терпеноиды цветков лаванды колосовой / М. Ламрини, В. А. Куркин, П. Г. Мизина [и др.] // Химия растительного сырья. – 2008. – № 1. – С. 77 – 80.

117. Фракционный состав эфирного масла душицы обыкновенной Красноярского края / А. А. Алякин, А. А. Ефремов, С. В. Качин, О. О. Данилова // Химия растительного сырья. – 2010. – №1. – С.99 – 104.

118. Химический состав и антиоксидантная активность биологически активных веществ очанки коротковолосистой / В. М. Петриченко, Т. В. Сухинина, Л. К. Бабиян, Н. И. Шрамм // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т.40, вып. 6. – С. 66 – 67.

119. Химический состав СК CO₂-экстракта травы *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Из природной популяции флоры Дагестана / Ф. А. Вагабова, А. М. Алиев, М. М. Мамалиева [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2015. – № 9. – С. 35 – 38.

120. Химический состав эфирного масла *Hyssopus officinalis* L., культивируемого в Астраханской области / А. В. Великородов, В. Б. Ковалев, Ф. Х. Курбанова, Е. В. Щепетова // Химия растительного сырья. – 2015. – № 3. – С. 71 – 76.

121. Химический состав эфирного масла полыни холодной (*Artemisia frigida* Willd.), произрастающей в Забайкалье / Н. В. Бодоев, С. В. Базарова, Л. М. Покровский [и др.] // Химия растительного сырья. – 2000. – № 3. – С. 41 – 44.

122. Хишова, О. М. Технология получения и оценка качества жидкого экстракта корневищ с корнями валерианы / О. М. Хишова, Н. В. Дубашинская, Я. Ю. Адаменко // Вестник ВГМУ. – 2016. – № 1. – С. 99 – 105.

123. Холов, А. К. Антиоксидантные свойства липовитола при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном / А. К. Холов, Д. А. Азонов, Е. И. Молохова // Вестник Педагогического университета. - 2012. – № 6.(49). – С. 141 – 144.

124. Холов, А. К. Гиполипидемические свойства Липовитола и Лимонеола при экспериментальной гиперхолестеринемии / А. К. Холов, Д. А. Азонов, Е. И. Молохова // Вестник таджикского национального университета. Серия Естественных Наук. – 2014. – № 1-2(130). – С. 213 – 217.

125. Холов, А. К. Дислипидемические свойства лимонеола при экспериментальной гиперхолестеринемии / А. К. Холов, Д. А. Азонов // Ветеринария и кормление. – 2015. – № 3. – С. 34 - 36.

126. Холов, А. К. Токсикологическая оценка лимонеола и ферусинола на фоне хронического эксперимента у интактных животных / А. К. Холов // Журнал научных публикаций аспирантов и докторантов. – 2013. – № 8(86). – С. 146 – 151.

127. Холов, А. К. Эфиромасличные растения и эфирные масла - источники биологически активных веществ (обзор литературы) / А. К. Холов,

Д. А. Азонов // Вестник Таджикского Национального Университета. Серия Естественных Наук. – 2014. – № 1-3. – С.153 – 160.

128. Цихмейстр, Е. В. Применение суб- и сверхкритических флюидов в экстракционных процессах / Е. В. Цихмейстр, Ф. М. Гумеров // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – № 10. – С. 98 – 99.

129. Чекушкина, Н. В. Состав эфирного масла лиственницы сибирской / Н. В. Чекушкина, Н. В. Шаталина, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. – 2008. – № 3. – С.103 – 106.

130. Черкашина, Е. В. Проблемы развития эфиромасличного производства в России / Е. В. Черкашина // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. – 2014. – № 2. – С. 77 – 79.

131. Чечета, О. В. Идентификация растительных масел и масляных экстрактов методом ТСХ / О. В. Чечета, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, вып.4. – С. 646 – 653.

132. Чечета, О. В. Методика определения каротиноидов методом хроматографии в тонком слое сорбента / О. В. Чечета, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, вып.2. – С. 320 – 326.

133. Шарипов, З. Состояние и перспектива развития цитрусоводства в Таджикистане / З. Шарипов, И. А. Бобоев // Кишоварз. – 2014. – № 3. – С. 16 – 18.

134. Шаршунова, М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – Москва: Мир, 1980. – 296 с.

135. Шишкин, О. И. Применение эфирных масел при лечении инфицированных ран / О. И. Шишкин // Хирургия. – 1974. – Вып. 4. – С. 3 – 7.

136. Шорейт, Б. Выращивание лимонов в малых и средних дехканских хозяйствах в Таджикистане. Лимоны Мейера [Электронный ресурс] / Б. Шорейт, А. Ёрматов // АгроИнформ.Т. - Режим доступа: http://www.agroinform.tj/project1/publications/asti_files/apricots_lemons/RUS%20Lemon_Brochure_Basic.pdf (дата обращения 27.07.2018).

137. Шрамм, Г. Основы практической реологии и реометрии: пер. с англ. / Г. Шрамм. – Москва: Колос, 2003 – 312 с.

138. Щипицына, О.С. Особенности накопления эфирного масла в корнях *Angelica decurrens (Ledeb.) B. Fedtsch* в сравнении с *Angelica archangelica L* / О. С. Щипицына, А. А. Ефремов // Журнал Сибирского федерального университета. Серия «Химия». – 2014. – Том 7, № 4. – С. 590 – 596.

139. Экспериментальное изучение изменчивости компонентного состава эфирных масел / А. М. Мусаев, А. М. Алиев, Ф. А. Вагабова [и др.] // Вестник Дагестанского научного центра РАН. – 2014. – № 53. – С.39 – 52.

140. Экспериментальное изучение изменчивости компонентного состава эфирных масел *Anethum graveolens L.* и *Petroselinum crispum (MILL.) Nyman exa. W. HILL.* в горном Дагестане / Г. К. Раджабов, А. М. Алиев, Ф. А. Вагабова, А. М. Мусаев // Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки. – 2016. – Т.10, № 3. – С. 78 – 84.

141. Эфирные масла из отходов реализации и потребления плодов цитрусовых / В. В. Забусова, Е. А. Демакова, В. Н. Паршикова, Р. А. Степень // Химия растительного сырья. – 1999. – № 4. – С.105 – 111.

142. Яницкая, А. В. Методика математического моделирования процесса экстрагирования некоторых видов девясила / А. В. Яницкая, В. В. Гукасова, А. С. Рабичева // Вестник ВолГМУ. – 2014. – № 4 (52). – С. 109 – 111.

143. A review and synthesis of monoterpene speciation from forests in the United States / C. Geron, R. Rasmussen, R. R. Arnts, A. Guenther // Atmospheric Environment. – 2000. – №34. – P. 1761 – 1781.

144. A review on recent innovations in capsule dosage form / R. D. Doshi, P. L. Patel , M. R. Patel [et al] // IJDFR. – 2011. – Vol. 2, Iss.3. – P. 77 – 92.

145. Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus* / M. G. Peixoto, L. M. Costa-Júnior, A. F. Blank [et al] // Veterinary Parasitology. – 2015. –Vol.210, Iss.1–2. – P. 118 – 122.

146. Activity of *Thymus caespitosus* essential oil and α -terpineol against yeasts and filamentous fungi / E. Pinto, M. J. Gonçalves, P. Oliveira [et al]// Industrial Crops and Products. –2014. – Vol. 62. – P. 107 – 112.

147. Al-Qudah, M. A. Investigating the chemical composition and the antimicrobial activity of the essential oil and crude extracts of *Sedum Microcarpum (Sm.) schönl* Growing Wild in Jordan / M. A. Al-Qudah, R. Muhaidat, A. A. Alomary, E. H. Malkawi // Pharmacognosy Journal. –2012. – Vol.4, Iss.33. – P. 1 – 6.

148. Antioxidant and antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata L.*) affected by the potassium levels / A. Chrysargyris, P. Xylia, G. Botsaris, N. Tzortzakis // Industrial Crops and Products. – 2017. – Vol. 103. – P. 202 – 212.

149. Babu, K. G. Characterization of Portuguese-Grown Geranium Oil (*Pelargonium sp.*) / K. G. Babu, V. K. Kaul // Flavour and Fragrance Journal. – 2005. – Vol. 20, №2. – P. 222 – 231.

150. Babu, K. G. Variation in essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium sp.*) distilled by different distillation techniques / K. G. Babu, V. K. Kaul // Flavour and Fragrance Journal. – 2005. – № 20. – P. 222 – 231.

151. Babu, K.G. Portable mini essential oil distillation apparatus / K. G. Babu, V. K. Kaul, P. S. Ahuja // Journal of scientific and industrial research. – 2002. – №61(11). – P. 952 - 960.

152. Bacanl, M. The antioxidant and antigenotoxic properties of citrus phenolics limonene and naringin / M. Bacanl, A. A. Başaran, N. Başaran // Food and Chemical Toxicology. – 2015. – Vol.81. – P. 160 – 170.

153. Boukhatem, M. N. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens / M. N. Boukhatem, A. Kameli, F. Saidi // Food Control. – 2013. – V.34, Iss.1. – P. 208 – 213.

154. Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects / K. Yang, C. F. Wang, C. X. You [et al] // Journal of Asia-Pacific Entomology. – 2014. – № 17. – P. 459 – 466.

155. Biological activity of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil / G. M. Hashim, S. B. Almasaudi, E. Azhar, S. Harakeh // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2017. – Vol.24, Iss.7. – P. 1458 – 1464.

156. Biological effects of essential oils – A review / F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar // Food and Chemical Toxicology. – 2008. – № 46. – P. 446 – 475.

157. Cavar, S. Antioxidant activity of essential oil and aqueous extract of *Pelargonium graveolens* L'Her. / S. Cavar, M. Maksimovi // Food Control. – 2012. – № 23. – P. 263 – 267.

158. Changes in the essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L' Herit. Ex. Ait) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand / R. S. Verma, R. K. Verma, A. K. Yadav, A. Chauhan // Indian Journal of Natural Products and Resources. – 2010. – №1. – P. 367 – 370.

159. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Tarhonanthus camphoratus* / J. C. Matasyoh, J. J. Kiplimo, N. M. Karubiu, T. P. Hailstorks // Food Chemistry. – 2007. – Vol.101, Iss.3. – P. 1183 – 1187.

160. Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens* / M. Boukhris,

M. S. J. Simmonds, S. Sayadi, M. Bouaziz // *Phytotherapy Research*. – 2012. – Vol.27. Iss.8. – P. 1206 – 1213.

161. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. strains / H. Hajlaoui, H. Mighri, E. Noumi [et al] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2010. – Vol.48, Iss.8–9. – P. 2186 – 2192.

162. Chemical composition and larvicidal activity of Algerian *Foeniculum vulgare* seed essential oil / S. Zoubiri, A. Baaliouamer, N. Seba, N. Chamouni // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2014. – Vol. 7, Iss.4. – P. 480 – 485.

163. Chemical composition, cytotoxic and antioxidant activity of the leaf essential oil of *Photinia serrulata* / H. Jie, S. Tao, H. Jun [et al] // *Food Chemistry*. – 2007. – Vol. 103. – P. 355 – 358.

164. Chemical characterization, antioxidant, genotoxic and in vitro cytotoxic activity assessment of *Juniperus communis* var. *saxatilis* / B. Vasiljević, J. Knežević-Vukčević, D. Mitić-Ćulafić, [et al] // *Food and Chemical Toxicology*. 2018 – Vol.112. – P. 118 – 125.

165. Chemical composition, fumigant and anti-acetylcholinesterase activity of the Tunisian *Citrus aurantium* L. essential oils / K. Zarrad, A.B. Hamouda, I. Chaieb [et al] // *Industrial Crops and Products*. – 2015. – Vol.76. – P. 121 – 127.

166. Classification of essential oil composition in *Rosa damascena* Mill. genotypes using an electronic nose / A. Gorji-Chakespari, A. M. Nikbakht, F. Sefidkon [et al] // *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. – 2017. – Vol. 4. – P. 27 – 34.

167. Comparative evaluation of 12 immature citrus fruit extracts for the inhibition of cytochrome P450 isoform activities / T. Fujita, A. Kawase, T. Niwa [et al] // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 2008. – №31(5). – P. 925 – 930.

168. Cytotoxic and antibacterial activities of iridoids and sesquiterpenoids from *Valeriana jatamansi* / Y. H. Liu, P. Wu, Q. Hu [et al] // *Fitoterapia*. – 2017. – Vol. 123. – P. 73 – 78.

169. D-limonene ameliorates diabetes and its complications in streptozotocin-induced diabetic rats / M. Bacanlı, H. G. Anlar, S. Aydın [et al] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2017. – Vol. 110. – P. 434 – 442.

170. Deterpenation of *Origanum majorana* L. essential oil by reduced pressure steam distillation / G. B. Salha, R. H. Díaz, J. Labidi, M. Abderrabba // *Industrial Crops and Products*. – 2017. – Vol.109. – P. 116 – 122.

171. Effect of plasticizers on moisture absorption and mechanical properties of agar films / O. N. Pozharitskaya, A. N. Shikov, D. V. Demchenko [et al] // *Фармация*. – 2017. – Т .66(8). – С. 18 – 23.

172. Essential oil of *Xylopia aethiopica* from Cameroon: Chemical composition, antiradical and *in vitro* antifungal activity against some mycotoxigenic fungi. [Electronic resource] / A. S. Tegang, T. M. N. Beumo, P. M. J. Dongmo, L.T. Ngoune // *Journal of King Saud University – Science*. – 2017. – URL: https://ac.els-cdn.com/S1018364717300332/1-s2.0-S1018364717300332-main.pdf?_tid=463f9e4a-e437-11e7-97b9-00000aab0f02&acdnat=1513631351_6df86c630beef6097634c825007b545c (дата обращения 27.07.2018).

173. Evaluation of anti-*Candida* potential of geranium oil constituents against clinical isolates of *Candida albicans* differentially sensitive to fluconazole: Inhibition of growth, dimorphism and sensitization / G. B. Zore, A. D. Thakre, V. Rathod, S. M. Karuppayil // *Mycoses*. – 2011. – № 54. – P. 99 – 109.

174. Fayed, S. A. Antioxidant and anticancer activities of *Citrus reticulata* (*Petitgrain mandarin*) and *Pelargonium graveolens* (*Geranium*) essential oils / S. A. Fayed // *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. – 2009. – № 5(5). – P. 740 – 747.

175. Ghosh, T.K. Theory and practice of contemporary pharmaceutics / T. K. Ghosh, B. R. Jasti. – Boca Raton: CRC Press, 2004. – 564 p.

176. Gilles, M. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species / M. Gilles, J. Zhao, M. An, S. Agboola // Food Chemistry. – 2010. – Vol. 119, Iss.2. – P. 731 – 737.

177. Harkat-Madouri, L. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria / L. Harkat-Madouri, B. Asma, K. Madani // Industrial Crops and Products. – 2015. – Vol.78. – P. 148-153.

178. Hodaei, M. Variation in morphological characters, chemical composition, and anthocyanin content of different *Chrysanthemum morifolium* cultivars from Iran / M. Hodaei, M. Rahimmalek, A. Arzani // Biochemical Systematics and Ecology. – 2017. – Vol. 74. – P. 1 – 10.

179. Hsouna, A.B. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia / A. B. Hsouna, N. Hamdi // Lipids in Health and Disease. – 2012. – №11. – P. 167 – 174.

180. Hypoglycemic and antioxidant effects of leaf essential oil of *Pelargonium graveolens* L'Hér. in alloxan induced diabetic rats / M. Boukhris, M. Bouaziz, I. Feki [et al] // Lipids in Health and Disease. – 2012. – № 11:81. – P. 1 – 10.

181. Improved technology for distillation of geranium oil / A. P. Kahol, J. Ahmad, K. P. Sastry, S. Kumars // Pafai Journa. – 2001. №3(1). – P.33 – 39.

182. In situ rose oxide enrichment led valorization of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil / U. Singh, P. Dwivedi, R. S. Sangwan, B. B. Mishra // Industrial Crops and Products. – 2017. – Vol. 97. – P. 567 – 573.

183. Inhibition of the TetK efflux-pump by the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. and α -terpinene against *Staphylococcus aureus* IS-58 /

P. W. Limaverde, F. F. Campina, F. D. Crispim, F. G. Figueredo [et al] // Food and Chemical Toxicology. – 2017. – Vol.109, Part 2. – P.957 – 961.

184. Kazemi, M. Chemical composition and antimicrobial, antioxidant activities and anti-inflammatory potential of *Achillea millefolium L.*, *Anethum graveolens L.*, and *Carum copticum L.* essential oils / M. Kazemi // Journal of Herbal Medicine. – 2015. – Vol.5, Iss.4. – P. 217 – 222.

185. Kesterson, W. Evaluation of cold pressed Florida Lemon oil and Lemon bioflavonoids / W. Kesterson, R. Hendrickson // Florida State Horticultural Society. – 1985. – №71. – P. 132 –140.

186. Koskinen, J. Lemon. Citrus × limon and its relatives [Electronic resource] / J. Koskinen // Citrus Pages. – Режим доступа: <http://citruspages.free.fr/lemons.html#meyerii> (дата обращения 27.07.2018)

187. Lalli J. Y. Essential oils and extracts of selected indigenous Pelargonium (geraniaceae). dissertation submitted to the Faculty of Health Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg, in fulfilment of the requirements for the degree of Master of Pharmacy. – 382 p.

188. *Lavandula stoechas* essential oil from Morocco as novel source of antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities / A. Bouyahya, A. Et-Touys, J. Abrini [et al] // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. – 2017. – Vol.12. – P. 179 – 184.

189. Lim, T. K. Chapter Citrus «Meyer» / T. K. Lim. // Edible medicinal and non-medicinal plants. - Vol. 4, Fruits. – 2012. – P. 619 – 622

190. Lis-Balchin M. Geranium and Pelargonium. The genera Geranium and Pelargonium / M. Lis-Balchin. - London: Taylor & Francis. – 2002. – 307 p.

191. Liquid filled gelatin capsules / M. R. C. Marques, E. Cole, D. Kruep [et al] // Pharmacopeial Forum. – 2009. – Vol. 35 (4) – P. 1029 – 1041.

192. Miyake, Y. A novel trans-4-hydroxycinnamic acid derivative from Meyer lemon (*Citrus meyeri*) / Y. Miyake, C. Ito, M. Itoigawa // Food Chemistry. – 2012. – №135. – P. 2235 – 2237.

193. Molecular cloning and characterization of the trichome specific chrysanthemyl diphosphate/chrysanthemol synthase promoter from *Tanacetum cinerariifolium* / S. Sultana, H. Hu, L. Gao [et al] // Scientia Horticulturae. – 2015. – Vol. 185. – P. 193 – 199.

194. Morton, J. Lemon. / J. F. Morton // Fruits of warm climates. 1987. – P. 160 – 168.

195. Moshonas, M. G. Analysis of volatile constituents from Meyer Lemon oil / M. G. Moshonas, P. E. Shaw, M. K. Veldhuis // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 1972. – Vol. 20, № 4. – P. 751 – 752.

196. Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health / E. González-Molina, R. Domínguez-Perles, D. A. Moreno, C. García-Viguera // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2010. – Vol. 51, Iss. 2. – P. 327 – 345.

197. Nejada, A. R. Changes in growth, essential oil yield and composition of geranium (*Pelargonium graveolens* L.) as affected by growing media / A. R. Nejada, A. Ismaili // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2014. – №94. – P. 905 – 910.

198. New technology for preparation of herbal extracts and soft halal capsules on its base / A. N. Shikov, O. N. Pozharitskaya, V. G. Makarov, M. N. Makarova // American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture. – 2009. – Vol.3. – P. 130 – 134.

199. Noshad, M. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection / M. Noshad, M. Hojjati, B. A. Behbahani // Microbial Pathogenesis. – 2018. – Vol.116. – P. 153 – 157.

200. Park, S.N. Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria / S. N. Park, Y. K. Lim, M. O. Freire // *Anaerobe*. – 2012. – Vol.18, Iss.3. – P. 369 – 372.

201. Pittler, M. H. Temporary relief of postherpetic neuralgia pain with topical geranium oil / M. H. Pittler, E. Ernst // *The American Journal of Medicine*. – 2003. – Vol.115, Iss.7. – P. 586 – 587.

202. Reich, G. Formulation and physical properties of soft capsules. Chapter 11 [Electronic resource] // *Pharmaceutical Capsules* / ed. Podczeck Fridrun, Jones Brian. – 2 ed. – 2004. – P. 201 – 212. – URL: <http://www.pharmpress.com/files/docs/Chap%2011.pdf> (дата обращения 27.07.2018).

203. Senatore, F. Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis Vahl. var. simplicifolia Boiss.* growing wild in Lebanon / F. Senatore, N. A. Arnold, F. Piozzic // *Journal of Chromatography A*. –2004. – Vol. 1052, Iss.1–2. – P. 237-240.

204. Sharopov, F. S. Hanjing Zhang and William N. Setzer Composition of geranium (*Pelargonium graveolens*) essential oil from Tajikistan / F. S. Sharopov, H. Zhang, W. N. Setzer // *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. – 2014. – №2(2). – P. 13 – 16.

205. Shpychak, O. S. Elaboration of the method of the terpenoid composition determination for essential oils of active pharmaceutical ingredients of «Apised» capsules by gas chromatography / O. S. Shpychak, O. I. Tikhonov, V. A. Khanin. // *News of Pharmacy*. – 2013. №4(76). – P. 23 – 27.

206. Telci, I. Environmental variation on aroma components of pulegone/piperitone rich spearmint (*Mentha spicata L.*) / I. Telci, I. Demirtas, E. Bayram [et al] // *Industrial Crops and Products*. – 2010. – Vol. 32, Iss.3. – P. 588 – 592.

207. The inhibitory effect of essential oils on Herpes Simplex Virus Type-1 replication *in vitro* / M. Minami, M. Kita, T. Nakaya [et al] // Microbiol. Immunol. – 2003. – № 47(9). – P.681–684.

208. *Thymus vulgaris* L. essential oil and its main component thymol: Anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep / L. E. Ferreira, B. I. Benincasa, A. L. Fachin, S. C. França // Veterinary Parasitology. – 2016. – Vol. 228. – P. 70 – 76.

209. Uckoo, R. M. Phytochemical analysis of organic and conventionally cultivated Meyer lemons (*Citrus meyeri* Tan.) during refrigerated storage / R. M. Uckoo, G. K. Jayaprakasha, B. S. Patil // Journal of Food Composition and Analysis. – 2015. – № 42. – P. 63 – 70.

210. Ultrasound induced intensification and selective extraction of essential oil from *Carum carvi* L. seeds / K. Assamia, D. Pingret, S. Chemat [et al] // Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. – 2012. – Vol.62. – P. 99 – 105.

211. Use of Florida Lemons in frozen concentrate for lemonade / F. W. Wenzel, R. W. Olsen, R. W. Barron [et al] // Florida State Horticultural Society. – 1985. – № 71. – P. 129 – 132.

212. Volatile constituents of three cultivars of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp.) as influenced by method of distillation / P. N. Kaul, B. R. Rajeswara Rao, A. K. Bhattacharya [et al]// Pafai Journa. – 1995. – № 17(4). – P. 21 – 26.

ПРИЛОЖЕНИЯ

**Приложение 1. Ассортимент лекарственных препаратов, содержащих
эфирное масло**

Таблица

№	Эфирное масло	ЛП [19]	ЛФ [19]	Страна производи- тель [19]
1.	Аниса	Доктор Тайсс Анисовое масло	капсулы	Германия
		Бромгексин 8	капли	Германия
		Бронхосан	капли	Словацкая Республика
		Грудной эликсир	раствор	Россия
		Стопангин	спрей и раствор	Чешская Республика
		Стрепсилс	таблетки для рассасывания	Великобри- тания
		Омнитус	сироп	Сербия
		Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
		Нашатырно-анисовые капли	капли	Россия
2.	Апельсина	ГелоМиртол	капсулы	Германия
3.	Ажгона	Тамиз	капсулы	Индия
4.	Гвоздики	Эфкамон	мазь	Россия
		Паронтал	раствор	Германия
		Золотая звезда	бальзам, мазь, карандаш для ингаляций	Вьетнам
		Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
		Эфилипт	капли	Республика Хорватия
5.	Душицы	Валосердин	капли	Россия
		Бронхосан	капли	Словацкая Республика
6.	Коричника китайского	Золотая звезда	бальзам, мазь, карандаш	Вьетнам
		Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
7.	Лаванды	Эспол	мазь	Россия
		Амелотекс	гель	Россия
		Долгит	мазь, крем	Германия
		Кетопрофен Врамед	гель	Болгария
		Матарен плюс	крем	Россия
		Хранитель	бальзам	Россия
		Виброцил	капли, спрей, гель	Швейцария
		Судокрем	крем	Ирландия
		Фарматекс	крем	Франция
Лаванда	капсулы	Россия		

		Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
		Индометацин Софарма	мазь	Болгария
8.	Лимона	Лимонные пастилки от кашля Доктор- МOM	таблетки для рассасывания	Индия
		Гепатромбин	гель	Сербия
		ГелоМиртол	капсулы	Германия
		Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
		Стрепсилс, медово- лимонные	таблетки для рассасывания	Великобри- тания
9.	Мяты перечной	Ингалипт	аэрозоль, спрей	Россия
		Бромгексин 8	капли	Германия
		Бронхосан	капли	Словацкая Республика
		Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
		Аспектон	спрей	Германия
		Мятные таблетки	таблетки	Россия
		Доктор Тайсс Анги Септ	таблетки для рассасывания	Германия
		Валосердин	капли	Россия
		Валокордин	капли	Германия
		Геделикс	капли, сироп	Германия
		Корвалдин	капли	Украина
		Гэвкамен	мазь	Республика Беларусь
		Золотая звезда	бальзам, мазь, карандаш	Вьетнам
		Фитолизин	паста	Польша
		Гексорал	аэрозоль, раствор	Франция
		Гексорал ТАБС	таблетки	Германия
		Стрепсилс	таблетки для рассасывания	Великобри- тания
		Стрепсилс, медово- лимонные	таблетки для рассасывания	Великобри- тания
		Септолете	таблетки	Словения
		Пиносол	капли, крем, мазь, спрей	Словацкая Республика
		Никоретте	ТТС, таблетки, раствор	Швеция
		Бом-Бенге	мазь	Россия
		Уролесан	капли, капсулы	Украина
		Эвкасепт	капли	Россия
		Эргокальциферол	драже	Россия
		Олиметин	капсулы	Россия
10.	Пихты	Уролесан	капли, капсулы	Украина
		Эвкасепт	капли	Россия
		Уролесан Н	капсулы	Украина

		Мукофитин	крем	Россия
11.	Розы	Бронхикум С	сироп	Германия
		Розанол	капсулы	Болгария
12.	Розмарина	Долобене	гель	Германия
		ТераФлю Бро	мазь	Швейцария
		Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
		Пульмекс	мазь	Швейцария
13.	Сосны	Долобене	гель	Германия
		Фитолизин	паста	Польша
		Эвкабал Бальзам С	эмульсия	Германия
		Гепатромбин	гель	Сербия
		Туссамаг бальзам от простуды	гель	Германия
		Пиносол	капли, крем, мазь, спрей	Словацкая Республика
14.	Тимьяна	Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
		Бромгексин 8	капли	Германия
		Бронхикум ингалят	эмульсия	Франция
		Релиф	мазь	США
15.	Шалфея	Фитолизин	паста	Польша
		Кармолис	гель, капли, таблетки	Швейцария
		Бронхолин Шалфей	сироп	Республика Казахстан
16.	Фенхеля	Бромгексин 8	капли	Германия
		Бронхосан	капли	Словацкая Республика
		Плантекс	гранулы	Словения
		Гризеофульвин-Фаркос	линимент	Россия
17.	Эвкалипта	Ингалипт	аэрозоль	Россия
		ГелоМиртол	капсулы	Германия
		Каметон	аэрозоль, спрей	Россия
		Бронхикум бальзам с эвкалиптовым маслом	гель	Франция
		Бронхикум ингалят	эмульсия	Франция
		Стрепсилс с ментолом и эвкалиптом	таблетки для рассасывания	Великобритания
		Септолете	таблетки	Словения
		Пектусин	таблетки	Россия
		Пиносол	капли, крем, мазь, спрей	Словацкая Республика
		Золотая звезда	бальзам, мазь, карандаш	Вьетнам
		Санорин с маслом эвкалипта	капли	Чешская Республика
		Пиносол	капли, крем, мазь, спрей	Словацкая Республика

	Бромгексин 8	капли	Германия
	Бронхосан	капли	Словацкая Республика
	Эфкамон	мазь	Россия
	Доктор МОМ® Колд Раб	мазь	Индия
	Доктор МОМ® Рабон	раствор	Индия
	Эвкалипт-М	таблетки	Нидерланды
	Фитолизин	паста	Польша
	Пульмекс	мазь	Швейцария
	Эвкабал Бальзам С	эмульсия	Германия
	ТераФлю Бро	мазь	Швейцария
	Туссамаг бальзам от простуды	гель	Германия
	Суприма-плюс	мазь	Индия

**Приложение 2. Отчёт о валидации аналитических методик «Подлинность»
и «Количественное определение» основных компонентов в эфирном масле
герани душистой травы**

Утверждено

Ректор ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России

А.Ю. Турышев

« »

2018 г

ОТЧЕТ О ВАЛИДАЦИИ

**Аналитические методики «Подлинность» и
«Количественное определение» цитронеллола, гераниола, линалоола,
фенилэтилового спирта
в эфирном масле герани душистой травы
хромато-масс-спектрометрическим методом**

1. Цель.

Целью валидации является подтверждение того, что методики «Подлинность» и «Количественное определение» цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта в эфирном масле герани душистой травы хромато-масс-спектрометрическим методом, гарантируют получение воспроизводимых и достоверных результатов и рекомендуются для включения в проект НД.

2. Идентификация объекта валидации

Аналитические методики «Подлинность» и «Количественное определение» хромато-масс-спектрометрическим методом изложены в проекте НД.

Место проведения валидационных работ – лаборатория физико-химического анализа ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет».

3. Описание объекта.

Методика «Подлинность» относится к **Категории 4**. Основным критерием определения является:

1. Специфичность

Методика «Количественное определение» относится к **Категории 1**. Основными критериями определения являются:

1. Специфичность
2. Правильность
3. Линейность.
4. Прецизионность

4. Средства измерений используемые при валидационных испытаниях

Оборудование / средства измерения	Модель	Зав. номер	Оценка	
			Дата поверки	Годен
Весы лабораторные электронные	MB210-A	31625154	25.11.2017	25.11.2018
Хроматограф	Varian CP 3800 с квадрупольным масс-спектрометром 4000 MS в качестве детектора	A 11635171288 US	26.11.2017	26.11.2018

Примечание: Паспорта (свидетельства) с отметкой о поверке средств измерений и аттестаты на испытательное оборудование находятся в ОГЭ.

Перечень используемых реактивов и стандартных образцов при валидационных испытаниях:

Наименование	Партия	Срок годности
<i>n</i> -Гексан (х.ч.) ТУ 2631-158-44493179-13	175	06.2018
Гераниол (A13736. Lot 10180072)	22111	04.2018
Линалоол (A14424. Lot 1017400)	1237	09.2018
Цитронеллол (A19016. Lot 10180517)	6789	11.2018
2-фенилэтанол (A15241.Lot 10179159)	4633	07.2018

5. Сроки проведения валидационных работ

Начало работ	
Окончание работ	

6. Результаты оценок и испытаний.

ТЕСТ 6.1.1: Определение параметра «Специфичность» для методики «Подлинность»

Дата	24.12.2017 г
Контроль выполнил	Кудинов А.В.
Процедура и метод:	<p>Специфичность аналитического метода определяется путем совпадения времён миграции пика цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта на хроматограмме стандартных образцов и эфирного масла герани душистой.</p> <p>Подтверждающим фактом специфичности выбранной хроматографической методики послужило также использование добавки стандартных образцов к эфирному маслу герани душистой.</p> <p><i>Раствор 1</i> – эфирное масло герани душистой</p> <p><i>Раствор 2</i> - смесь стандартных образцов цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта</p>
Критерий приемлемости:	<p>1. совпадения времён миграции пика цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта на хроматограмме стандартных образцов и эфирного масла герани душистой.</p> <p>2. Для положительной оценки данного параметра необходимо, чтобы после добавления раствора стандартных образцов к эфирному маслу герани душистой пики определяемых веществ оставались однородным, а их площадь возрастала пропорционально количеству добавленного стандарта</p>

Результаты:

1.

Соединение	Абсолютное время удерживания, мин (n=3)	
	Раствор стандартных образцов	Эфирное масло
цитронеллол	17.946 ± 0,002	17.945 ± 0,002
гераниол	18.750 ± 0,003	18.752 ± 0,002
линалоол	13.392 ± 0,002	13.391 ± 0,002
фенилэтиловый спирт	13.760 ± 0,004	13.762 ± 0,003

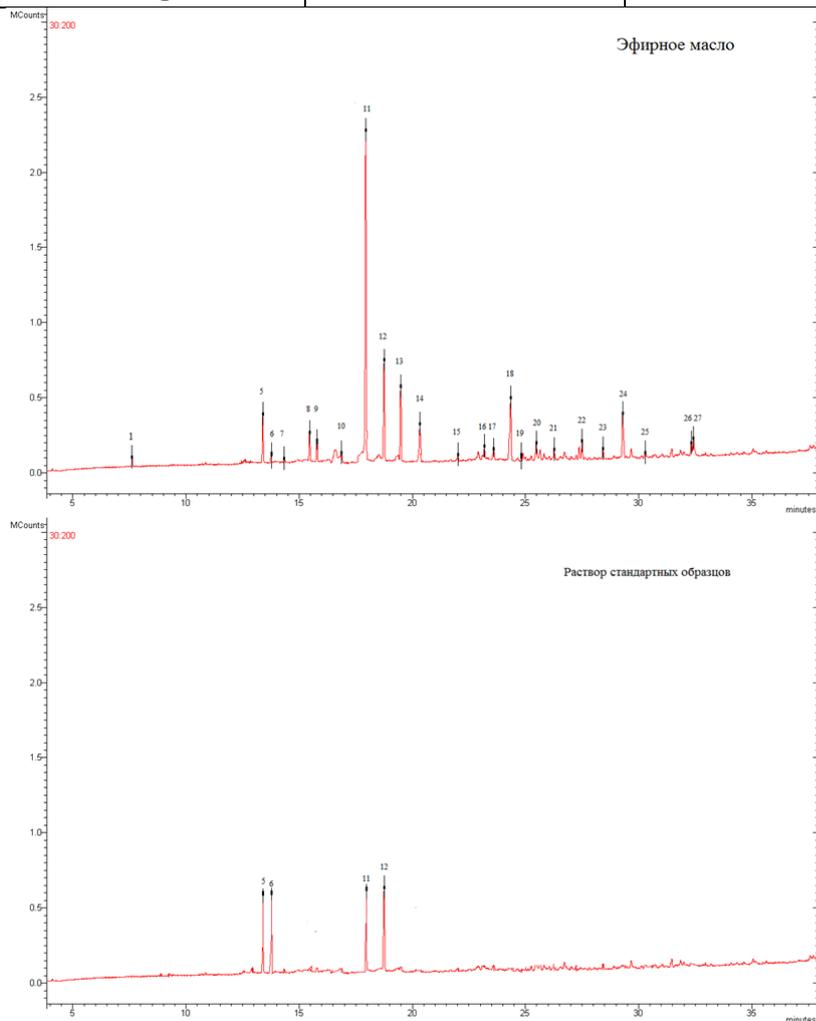


Рис. Хроматограммы эфирного масла герани душистой и раствора стандартных образцов

2. После добавления раствора стандартных образцов к эфирному маслу герани душистой пики определяемых веществ оставались однородным, а их площадь возрастала пропорционально количеству добавленного стандарта

Соответствие критерию приемлемости:

ДА[+] НЕТ[]

Проверил: _____.

ТЕСТ 6.1.2: Определение параметра «Специфичность» для методики**«Количественное определение»**

Дата	24.08.2015 г																																							
Контроль выполнил	Кудинов А.В.																																							
Процедура и метод:	<p>Для хроматографических методик показывают параметры, позволяющие оценить качество хроматографического разделения.</p> <p>Для оценки методики по параметру «специфичность» используются:</p> <p><i>Раствор 1</i> – эфирное масло герани душистой</p>																																							
Критерий приемлемости:	Для положительной оценки данного параметра необходимо, чтобы коэффициента асимметрии пика был в пределах от 0,8 до 1,5, эффективность порядка 14700 теоретических тарелок, коэффициенты разрешения соседних хроматографических пиков составили более 1,5																																							
Результаты:	<p>Хроматографические параметры исследуемых веществ</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Соединение</th> <th>Абсолютное время удерживания, мин (n=3)</th> <th>Эффективность хроматографической колонки, теоретические тарелки/м</th> <th>Коэффициент асимметрии</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>цитронеллол</td> <td>17.946 ± 0,002</td> <td>26400</td> <td>1,04</td> </tr> <tr> <td>гераниол</td> <td>18.750 ± 0,003</td> <td>28800</td> <td>1,05</td> </tr> <tr> <td>линалоол</td> <td>13.392 ± 0,002</td> <td>14700</td> <td>1,07</td> </tr> <tr> <td>фенилэтиловый спирт</td> <td>13.760 ± 0,004</td> <td>15500</td> <td>0,95</td> </tr> </tbody> </table> <p>Коэффициенты разрешения соседних хроматографических пиков</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Соединение</th> <th colspan="2">Коэффициент разрешения</th> </tr> <tr> <th>пик до</th> <th>пик после</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>цитронеллол</td> <td>4,99</td> <td>3,74</td> </tr> <tr> <td>гераниол</td> <td>3,74</td> <td>3,41</td> </tr> <tr> <td>линалоол</td> <td>1,84</td> <td>1,71</td> </tr> <tr> <td>фенилэтиловый спирт</td> <td>1,71</td> <td>2,73</td> </tr> </tbody> </table>			Соединение	Абсолютное время удерживания, мин (n=3)	Эффективность хроматографической колонки, теоретические тарелки/м	Коэффициент асимметрии	цитронеллол	17.946 ± 0,002	26400	1,04	гераниол	18.750 ± 0,003	28800	1,05	линалоол	13.392 ± 0,002	14700	1,07	фенилэтиловый спирт	13.760 ± 0,004	15500	0,95	Соединение	Коэффициент разрешения		пик до	пик после	цитронеллол	4,99	3,74	гераниол	3,74	3,41	линалоол	1,84	1,71	фенилэтиловый спирт	1,71	2,73
Соединение	Абсолютное время удерживания, мин (n=3)	Эффективность хроматографической колонки, теоретические тарелки/м	Коэффициент асимметрии																																					
цитронеллол	17.946 ± 0,002	26400	1,04																																					
гераниол	18.750 ± 0,003	28800	1,05																																					
линалоол	13.392 ± 0,002	14700	1,07																																					
фенилэтиловый спирт	13.760 ± 0,004	15500	0,95																																					
Соединение	Коэффициент разрешения																																							
	пик до	пик после																																						
цитронеллол	4,99	3,74																																						
гераниол	3,74	3,41																																						
линалоол	1,84	1,71																																						
фенилэтиловый спирт	1,71	2,73																																						
Соответствие критерию приемлемости:	ДА[+] НЕТ[]																																							

Проверил: _____

ТЕСТ 6.2: Определение параметра «Правильность»

Дата	24.08.2015
Контроль выполнил	Кудинов А.В.
Процедура и метод:	Для оценки методики по параметру «правильность» используются растворы СО, моделирующие состав исследуемых компонентов эфирного масла герани душистой в интервале концентраций от 70 до 130 % от декларируемого состава, каждый уровень повторяется 3 раза.
Критерий приемлемости:	Для положительной оценки данного параметра необходимо, чтобы степень извлечения цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта составляла от 98 до 102 %

Результаты:

Результаты количественного определения **цитронеллола** в модельных смесях

Концентрация введенного раствора СО, %	Ожидаемое содержание СО в модельной смеси, %	Найдено (%)	Найдено (%), среднее значение	Открываемость (R), %	Среднее значение открываемости (R), %
29,40	29,40	29,36	29,38	99,85	99,92
29,40	29,40	29,15		99,15	
29,40	29,40	29,63		100,77	
33,60	33,60	34,01	33,73	101,21	100,38
33,60	33,60	33,62		100,05	
33,60	33,60	33,56		99,89	
37,80	37,80	37,41	37,63	98,97	99,54
37,80	37,80	37,75		99,87	
37,80	37,80	37,72		99,78	
42,00	42,00	42,23	42,21	100,56	100,49
42,00	42,00	42,67		101,6	
42,00	42,00	41,71		99,32	
46,20	46,20	46,95	46,39	101,62	100,40
46,20	46,20	46,07		99,72	
46,20	46,20	46,14		99,87	
50,40	50,40	50,75	50,84	100,7	100,88
50,40	50,40	50,86		100,91	
50,40	50,40	50,92		101,03	
54,60	54,60	54,77	54,71	100,32	100,20
54,60	54,60	54,85		100,46	
54,60	54,60	54,50		99,82	

Результаты проведенных исследований демонстрируют, что показатель открываемости (R) в определении содержания цитронеллола в модельных смесях

варьировал от 99,54 до 100,88 %. Отклонение среднего значения R от 100% не превышает доверительный интервал $|100,26-100,00| \leq 0,42$, систематическая погрешность статистически неотличима от нуля, что показывают удовлетворительную правильность методики.

Результаты количественного определения **гераниола** в модельных смесях

Концентрация введенного раствора СО, %	Ожидаемое содержание СО в модельной смеси, %	Найдено (%)	Найдено (%), среднее значение	Открываемость (R), %	Среднее значение открываемости (R), %
7	7	7,07	7,03	101,02	100,41
7	7	6,97		99,55	
7	7	7,05		100,67	
8	8	8,01	8,00	100,11	99,97
8	8	8,00		100,02	
8	8	7,98		99,79	
9	9	9,09	9,02	100,97	100,21
9	9	8,98		99,77	
9	9	8,99		99,88	
10	10	10,16	9,99	101,56	99,94
10	10	9,86		98,61	
10	10	9,97		99,65	
11	11	10,96	10,98	99,62	99,81
11	11	10,99		99,89	
11	11	10,99		99,93	
12	12	12,20	12,11	101,7	100,89
12	12	12,11		100,91	
12	12	12,01		100,05	
13	13	13,17	13,07	101,32	100,50
13	13	13,03		100,26	
13	13	12,99		99,92	

Результаты проведенных исследований (таблица 4) демонстрируют, что показатель открываемости (R) в определении содержания гераниола в модельных смесях варьировал от 99,81 до 100,89 %. Отклонение среднего значения R от 100% не превышает доверительный интервал $|100,25-100,00| \leq 0,37$, систематическая погрешность статистически неотличима от нуля, что показывают удовлетворительную правильность методики.

Результаты количественного определения линалаола в модельных смесях					
Концентрация введенного раствора СО, %	Ожидаемое содержание СО в модельной смеси, %	Найдено (%)	Найдено (%), среднее значение	Открываемость (R), %	Среднее значение открываемости (R), %
2,10	2,10	2,10	2,10	100,05	100,06
2,10	2,10	2,09		99,75	
2,10	2,10	2,11		100,37	
2,40	2,40	2,39	2,40	99,41	99,81
2,40	2,40	2,40		100,12	
2,40	2,40	2,40		99,89	
2,70	2,70	2,70	2,70	100,17	99,94
2,70	2,70	2,69		99,67	
2,70	2,70	2,70		99,98	
3,00	3,00	3,01	3,00	100,26	99,95
3,00	3,00	3,00		99,95	
3,00	3,00	2,99		99,63	
3,30	3,30	3,32	3,29	100,72	99,81
3,30	3,30	3,28		99,49	
3,30	3,30	3,27		99,21	
3,60	3,60	3,66	3,60	101,71	99,88
3,60	3,60	3,56		98,91	
3,60	3,60	3,56		99,01	
3,90	3,90	3,91	3,90	100,15	100,12
3,90	3,90	3,92		100,46	
3,90	3,90	3,89		99,75	

Результаты проведенных исследований (таблица 5) демонстрируют, что показатель открываемости (R) в определении содержания линалаола в модельных смесях варьировал от 99,81 до 100,12 %. Отклонение среднего значения R от 100% не превышает доверительный интервал $|99,94-100,00| \leq 0,12$, систематическая погрешность статистически неотличима от нуля, что показывают удовлетворительную правильность методики.

Результаты количественного определения фенилэтилового спирта в модельных смесях					
Концентрация введенного раствора СО, %	Ожидаемое содержание СО в модельной смеси, %	Найдено (%)	Найдено (%), среднее значение	Открываемость (R), %	Среднее значение открываемости (R), %
0,53	0,53	0,54	0,54	101,01	101,01
0,53	0,53	0,53		100,65	
0,53	0,53	0,54		101,37	
0,60	0,60	0,59	0,59	98,41	99,14
0,60	0,60	0,60		99,32	
0,60	0,60	0,60		99,69	
0,68	0,68	0,69	0,69	101,12	100,84
0,68	0,68	0,68		100,37	
0,68	0,68	0,69		101,02	
0,75	0,75	0,75	0,75	100,46	100,08
0,75	0,75	0,75		99,85	
0,75	0,75	0,75		99,93	
0,83	0,83	0,83	0,83	100,34	99,68
0,83	0,83	0,82		99,19	
0,83	0,83	0,83		99,51	
0,90	0,90	0,91	0,90	100,79	100,15
0,90	0,90	0,90		99,94	
0,90	0,90	0,90		99,71	
0,98	0,98	0,98	0,98	100,29	100,07
0,98	0,98	0,98		100,06	
0,98	0,98	0,98		99,85	

Результаты проведенных исследований (таблица 5) демонстрируют, что показатель открываемости (R) в определении содержания фенилэтилового спирта в модельных смесях варьировал от 99,14 до 101,01 %. Отклонение среднего значения R от 100% не превышает доверительный интервал $|100,14-100,00| \leq 0,62$, систематическая погрешность статистически неотличима от нуля, что показывают удовлетворительную правильность методики.

Соответствие критерию приемлемости:	ДА[+] НЕГ[]
--	---------------------

Проверил: _____

ТЕСТ 6.3: Определение параметра «Линейность»

Дата	25.08.2015
Контроль выполнил	Кудинов А.В.
Процедура и метод:	Линейность методики исследовалась на модельных смесях в интервале от 70% до 130% от заявленного содержания активных компонентов (цитронеллола 42%, гераниола 10%, линалоола 3%, фенилэтилового спирта 0,75%). Растворы хроматографировали в разработанных условиях, измеряли площади хроматографических пиков и строили калибровочный график (n = 7). Опыт проводили не менее 3 раз.
Критерий приемлемости:	Коэффициент корреляции (r) должен быть не менее 0,999

Результаты:

Полученные данные обрабатываем методом наименьших квадратов:

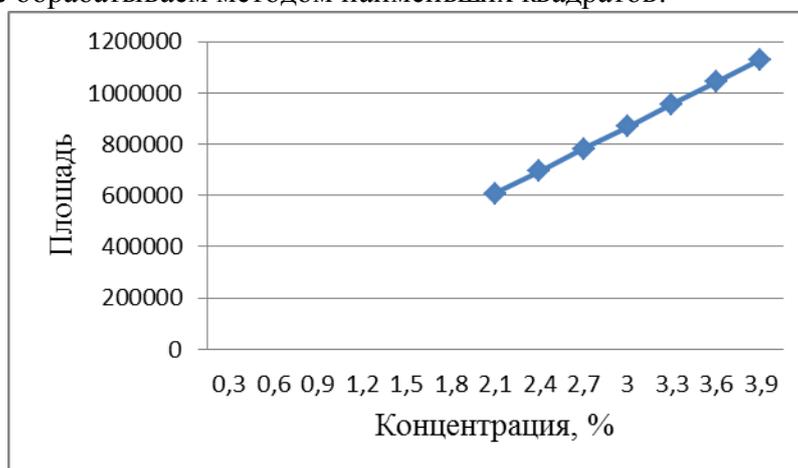


График зависимости площади пика от концентрации линалоола

$$(Y=289461,12X, r=0,999)$$



График зависимости площади пика от концентрации фенилэтилового спирта

$$(Y=280114,75X, r=0,999)$$

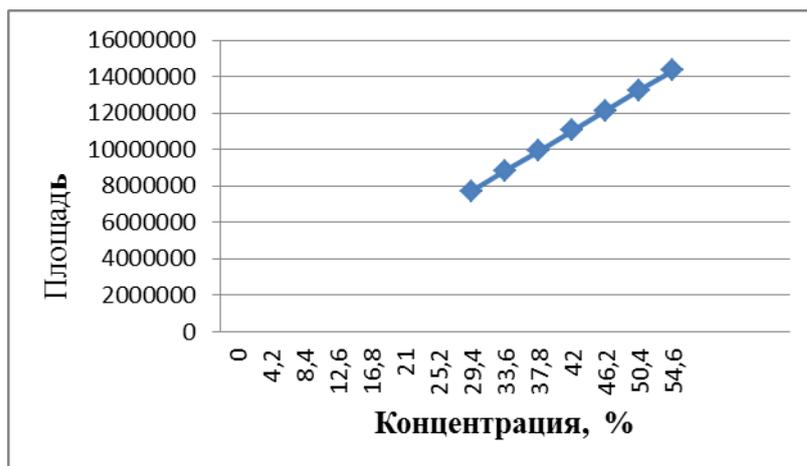


График зависимости площади пика от концентрации цитронеллола

$$(Y = 262953,85X, r = 0,999)$$

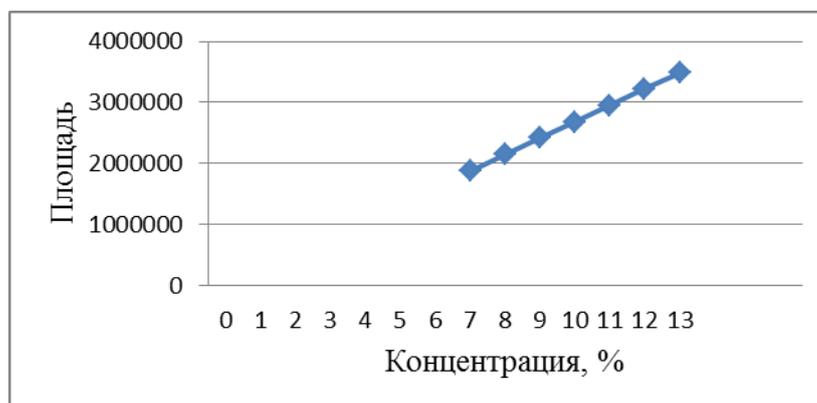


График зависимости площади пика от концентрации гераниола

$$(Y = 268460,73X, r = 0,999)$$

Соответствие критерию приемлемости:	ДА[+] НЕТ[]
-------------------------------------	---------------------

Проверил: _____.

ТЕСТ 6.4: Определение параметра «Прецизионность»

Дата	25.08.2015
Контроль выполнил	Кудинов А.В..
Процедура и метод:	Прецизионность предложенной методики оценивали на одном серийном образце эфирного масла герани душистой в двух вариантах: 1. «повторяемость (сходимость)» в пределах короткого промежутка времени, с применением одинакового набора реактивов и с участием одного и того же оператора. 2. внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность в условиях одной химической лаборатории в разные дни.
Критерий приемлемости:	Относительное стандартное отклонение среднего результата (RSD) должно быть не более 3,0 %.

Результаты:

Результаты валидации методики количественного определения компонентов в эфирном масле герани душистой по параметру «Прецизионность»

Intra-day				
Номер образца	Содержание цитронеллола, %	Метрологические характеристики	Содержание гераниола, %	Метрологические характеристики
1	42,76	$X_{cp}=42,81$ $S=0,027$ $SD=0,011$ $RSD=0,064\%$ $\Delta x_{cp}=0,03$ $\bar{\varepsilon}=0,067\%$	10,35	$X_{cp}=10,35$ $S=0,034$ $SD=0,014$ $RSD=0,333\%$ $\Delta x_{cp}=0,03$ $\bar{\varepsilon}=0,349\%$
2	42,54		10,30	
3	43,09		10,40	
4	42,81		10,38	
5	42,73		10,36	
6	42,95		10,34	
Номер образца	Содержание линалоола, %	Метрологические характеристики	Содержание фенилэтилового спирта, %	Метрологические характеристики
1	3,48	$X_{cp}=3,54$ $S=0,037$ $SD=0,015$ $RSD=1,06\%$ $\Delta x_{cp}=0,04$ $\bar{\varepsilon}=1,118\%$	0,83	$X_{cp}=0,82$ $S=0,014$ $SD=0,006$ $RSD=1,72\%$ $\Delta x_{cp}=0,01$ $\bar{\varepsilon}=1,809\%$
2	3,55		0,84	
3	3,59		0,81	
4	3,57		0,82	
5	3,53		0,80	
6	3,54		0,82	

		Inter-day			
Номер образца	Содержание цитронеллола, %	Метрологические характеристики	Содержание гераниола, %	Метрологические характеристики	
1	42,82	$X_{cp}=42,81$ $S=0,015$ $SD=0,006$ $RSD=0,034\%$ $\Delta x_{cp}=0,015$ $\bar{\varepsilon}=0,036\%$	10,36	$X_{cp}=10,37$ $S=0,033$ $SD=0,013$ $RSD=0,315\%$ $\Delta x_{cp}=0,03$ $\bar{\varepsilon}=0,330\%$	
2	42,83		10,41		
3	42,81		10,4		
4	42,79		10,37		
5	42,82		10,39		
6	42,80		10,32		
Номер образца	Содержание линалоола, %	Метрологические характеристики	Содержание фенилэтилового спирта, %	Метрологические характеристики	
1	3,58	$X_{cp}= 3,56$ $S=0,037$ $SD=0,015$ $RSD =1,06\%$ $\Delta x_{cp}=0,04$ $\bar{\varepsilon}=1,109\%$	0,81	$X_{cp}= 0,81$ $S=0,010$ $SD=0,004$ $RSD =1,27\%$ $\Delta x_{cp}=0,01$ $\bar{\varepsilon}=1,332\%$	
2	3,52		0,82		
3	3,51		0,83		
4	3,59		0,81		
5	3,6		0,8		
6	3,55		0,81		
Соответствие критерию приемлемости:		ДА[+] НЕТ[]			

Проверил: _____

7. Выводы по результатам валидации

При проведении валидации аналитических методик «Подлинность» и «Количественное определение» цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта в эфирном масле травы герани душистой хромато-масс-спектрометрическим методом были выполнены все тесты.

Предложенные методики являются годными для контроля качества данного препарата, гарантируют получение воспроизводимых и достоверных результатов и рекомендуются для включения в проект НД.

8. Сроки проведения повторной аттестации.

Методики «Подлинность» и «Количественное определение» цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта в эфирном масле герани душистой хромато-масс-спектрометрическим методом должны пересматриваться по решению комиссии при возникновении изменений, влияющих на процесс определения содержания действующего вещества.

**Приложение 3. Отчет о валидации аналитических методик «Подлинность»
и «Количественное определение» основных компонентов в эфирном масле
лимона Мейера экзокарпия**

Утверждено

Ректор ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России

А.Ю. Турышев

« »

2018 г

ОТЧЕТ О ВАЛИДАЦИИ

**Аналитические методики «Подлинность» и «Количественное определение»
лимонена в эфирном масле лимона Мейера экзокарпия хромато-масс-
спектрометрическим методом**

1. Цель.

Целью валидации является подтверждение того, что методики «Подлинность» и «Количественное определение» лимонена в эфирном масле лимона Мейера экзокарпия хромато-масс-спектрометрическим методом, гарантируют получение воспроизводимых и достоверных результатов и рекомендуются для включения в проект НД.

2. Идентификация объекта валидации

Аналитические методики «Подлинность» и «Количественное определение» хромато-масс-спектрометрическим методом изложены в проекте НД.

Место проведения валидационных работ – лаборатория физико-химического анализа ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет».

3. Описание объекта.

Методика «Подлинность» относится к **Категории 4**. Основным критерием определения является:

2. Специфичность

Методика «Количественное определение» относится к **Категории 1**. Основными критериями определения являются:

5. Специфичность
6. Правильность
7. Линейность.
8. Прецизионность

4. Средства измерений используемые при валидационных испытаниях

Оборудование / средства измерения	Модель	Зав. номер	Оценка	
			Дата поверки	Годен
Весы лабораторные электронные	MB210-A	31625154	25.11.2017	25.11.2018
Хроматограф	Varian CP 3800 с квадрупольным масс-спектрометром 4000 MS в качестве детектора	A 11635171288 US	26.11.2017	26.11.2018

Примечание: Паспорта (свидетельства) с отметкой о поверке средств измерений и аттестаты на испытательное оборудование находятся в ОГЭ.

Перечень используемых реактивов и стандартных образцов при валидационных испытаниях:

Наименование	Партия	Срок годности
<i>n</i> -Гексан (х.ч.) ТУ 2631-158-44493179-13	175	06.2018
Лимонен (L04733.AP) – 97%	22121	04.2018

5. Сроки проведения валидационных работ

Начало работ	
Окончание работ	

6. Результаты оценок и испытаний.

ТЕСТ 6.1.1: Определение параметра «Специфичность» для методики «Подлинность»

Дата	24.12.2017 г									
Контроль выполнил	Кудинов А.В.									
Процедура и метод:	<p>Специфичность аналитического метода определяется путем совпадения времен миграции пика лимонена на хроматограмме стандартных образцов и эфирного масла лимона Мейера.</p> <p>Подтверждающим фактом специфичности выбранной хроматографической методики послужило также использование добавки стандартных образцов к эфирному маслу лимона Мейера.</p> <p><i>Раствор 1</i> – эфирное масло лимона Мейера <i>Раствор 2</i> - стандартный образец лимонена</p>									
Критерий приемлемости:	<p>1. совпадения времен миграции пика лимонена на хроматограмме стандартных образцов и эфирного масла лимона Мейера.</p> <p>2. Для положительной оценки данного параметра необходимо, чтобы после добавления раствора стандартных образцов к эфирному маслу лимона Мейера пики определяемых веществ оставались однородным, а их площадь возрастала пропорционально количеству добавленного стандарта</p>									
Результаты:	<p>1.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Соединение</th> <th colspan="2">Абсолютное время удерживания, мин (n=3)</th> </tr> <tr> <th>Раствор стандартного образца</th> <th>Эфирное масло</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>лимонен</td> <td>10,828± 0,002</td> <td>10,829± 0,002</td> </tr> </tbody> </table>		Соединение	Абсолютное время удерживания, мин (n=3)		Раствор стандартного образца	Эфирное масло	лимонен	10,828± 0,002	10,829± 0,002
Соединение	Абсолютное время удерживания, мин (n=3)									
	Раствор стандартного образца	Эфирное масло								
лимонен	10,828± 0,002	10,829± 0,002								

	<p>Рис. Хроматограммы эфирного масла лимона Мейера и раствора стандартного образца лимонена</p> <p>2. После добавления раствора стандартных образцов к эфирному маслу лимона Мейера пики определяемых веществ оставались однородным, а их площадь возростала пропорционально количеству добавленного стандарта</p>
<p>Соответствие критерию приемлемости:</p>	<p>ДА[+] НЕТ[]</p>

Проверил: _____.

**ТЕСТ 6.1.2: Определение параметра «Специфичность» для методики
«Количественное определение»**

Дата	24.08.2015 г																		
Контроль выполнил	Кудинов А.В.																		
Процедура и метод:	<p>Для хроматографических методик показывают параметры, позволяющие оценить качество хроматографического разделения. Для оценки методики по параметру «специфичность» используются: <i>Раствор 1</i> – эфирное масло лимона Мейера</p>																		
Критерий приемлемости:	Для положительной оценки данного параметра необходимо, чтобы коэффициента асимметрии пика был в пределах от 0,8 до 1,5, эффективность порядка 13000 теоретических тарелок, коэффициенты разрешения соседних хроматографических пиков составили более 1,5																		
Результаты:	<p>Хроматографические параметры исследуемых веществ</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Соединение</th> <th>Абсолютное время удерживания, мин (n=3)</th> <th>Эффективность хроматографической колонки, теоретические тарелки/м</th> <th>Коэффициент асимметрии</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>лимонен</td> <td>10,828± 0,002</td> <td>13400</td> <td>1,05</td> </tr> </tbody> </table> <p>Коэффициенты разрешения соседних хроматографических пиков</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Соединение</th> <th colspan="2">Коэффициент разрешения</th> </tr> <tr> <th>пик до</th> <th>пик после</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>лимонен</td> <td>1,63</td> <td>4,76</td> </tr> </tbody> </table>			Соединение	Абсолютное время удерживания, мин (n=3)	Эффективность хроматографической колонки, теоретические тарелки/м	Коэффициент асимметрии	лимонен	10,828± 0,002	13400	1,05	Соединение	Коэффициент разрешения		пик до	пик после	лимонен	1,63	4,76
Соединение	Абсолютное время удерживания, мин (n=3)	Эффективность хроматографической колонки, теоретические тарелки/м	Коэффициент асимметрии																
лимонен	10,828± 0,002	13400	1,05																
Соединение	Коэффициент разрешения																		
	пик до	пик после																	
лимонен	1,63	4,76																	
Соответствие критерию приемлемости:	ДА[+] НЕТ[]																		

Проверил: _____

ТЕСТ 6.2: Определение параметра «Правильность»

Дата	24.08.2015
Контроль выполнил	Кудинов А.В.
Процедура и метод:	Для оценки методики по параметру «правильность» используются раствор СО лимонена, моделирующие состав исследуемых компонентов эфирного масла лимона Мейера в интервале концентраций от 70 до 130 % от декларируемого состава, каждый уровень повторяется 3 раза.
Критерий приемлемости:	Для положительной оценки данного параметра необходимо, чтобы степень извлечения лимонена составляла от 98 до 102 %

Результаты количественного определения лимонена в модельных смесях

Концентрация введенного раствора СО, %	Ожидаемое содержание СО в модельной смеси, %	Найдено (%)	Найдено (%), среднее значение	Открываемость (R), %	Среднее значение открываемости (R), %
49,00	49,00	49,06	49,04	100,12	100,08
49,00	49,00	48,88		99,75	
49,00	49,00	49,18		100,37	
56,00	56,00	56,12	55,99	100,21	99,97
56,00	56,00	55,90		99,82	
56,00	56,00	55,94		99,89	
63,00	63,00	63,09	63,30	100,14	100,48
63,00	63,00	63,26		100,41	
63,00	63,00	63,55		100,88	
70,00	70,00	70,39	70,38	100,56	100,54
70,00	70,00	70,43		100,61	
70,00	70,00	70,32		100,45	
77,00	77,00	76,79	76,88	99,73	99,85
77,00	77,00	76,92		99,89	
77,00	77,00	76,95		99,93	
84,00	84,00	84,23	84,18	100,27	100,21
84,00	84,00	84,18		100,21	
84,00	84,00	84,13		100,15	
91,00	91,00	91,38	91,18	100,42	100,20
91,00	91,00	91,24		100,26	
91,00	91,00	90,93		99,92	

Результаты проведенных исследований демонстрируют, что показатель открываемости (R) в определении содержания лимонена в модельных смесях варьировал от 99,85 до 100,54 %. Отклонение среднего значения R от 100% не превышает доверительный интервал $|100,19-100,00| \leq 0,25$, систематическая погрешность статистически неотличима

от нуля, что показывают удовлетворительную правильность методики.

Соответствие критерию приемлемости:	ДА[+] НЕТ[]
--	---------------------

Проверил: _____

ТЕСТ 6.3: Определение параметра «Линейность»

Дата	25.08.2015
Контроль выполнил	Кудинов А.В.
Процедура и метод:	Линейность методики исследовалась на модельных смесях в интервале от 70% до 130% от заявленного содержания лимонена. Растворы хроматографировали в разработанных условиях, измеряли площади хроматографических пиков и строили калибровочный график (n = 7). Опыт проводили не менее 3 раз.
Критерий приемлемости:	Коэффициент корреляции (r) должен быть не менее 0,999

Результаты:

Полученные данные обрабатываем методом наименьших квадратов:

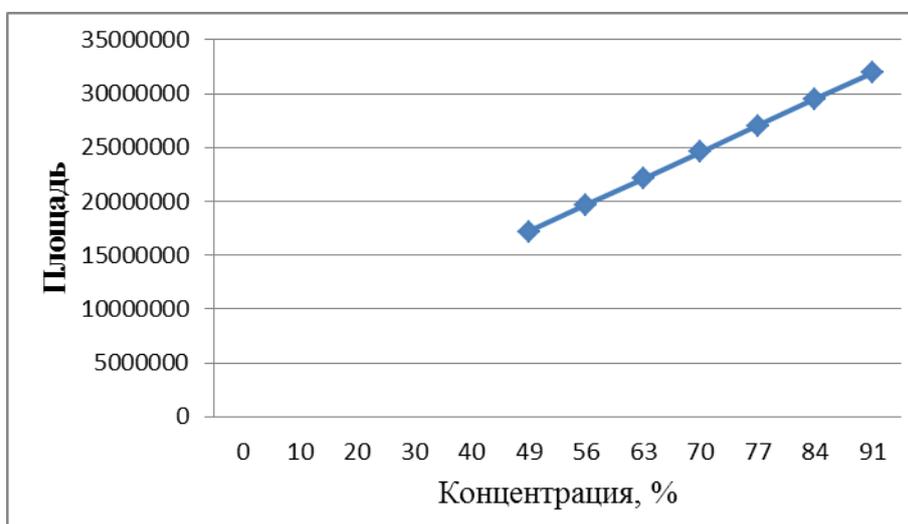


График зависимости площади пика от концентрации лимонена
($Y=351205,48X$, $r=0,999$)

Соответствие критерию приемлемости:	ДА[+] НЕТ[]
--	---------------------

Проверил: _____.

ТЕСТ 6.4: Определение параметра «Прецизионность»

Дата	25.08.2015	
Контроль выполнил	Кудинов А.В..	
Процедура и метод:	<p>Прецизионность предложенной методики оценивали на одном серийном образце эфирного масла лимона Мейера в двух вариантах:</p> <p>1. «повторяемость (сходимость)» в пределах короткого промежутка времени, с применением одинакового набора реактивов и с участием одного и того же оператора.</p> <p>2. внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность в условиях одной химической лаборатории в разные дни.</p>	
Критерий приемлемости:	Относительное стандартное отклонение среднего результата (RSD) должно быть не более 3,0 %.	
Результаты:		
Результаты валидации методики количественного определения лимонена в эфирном масле лимона Мейера по параметру «Прецизионность»		
Intra-day		
Содержание лимонена, %	Метрологические характеристики	
71,77	$X_{cp} = 71,86$ $S = 0,057$ $SD = 0,023$ $RSD = 0,080\%$ $\Delta x_{cp} = 0,06$ $\bar{\varepsilon} = 0,084\%$	
71,89		
71,8		
71,91		
71,86		
71,9		
Inter-day		
Содержание лимонена, %	Метрологические характеристики	
71,88	$X_{cp} = 71,87$ $S = 0,046$ $SD = 0,019$ $RSD = 0,064\%$ $\Delta x_{cp} = 0,05$ $\bar{\varepsilon} = 0,084\%$	
71,81		
71,84		
71,92		
71,86		
71,93		
Соответствие критерию приемлемости:	ДА[+] НЕТ[]	

Проверил: ____

7. Выводы по результатам валидации

При проведении валидации аналитических методик «Подлинность» и «Количественное определение» лимонена в эфирном масле лимона Мейера хромато-масс-спектрометрическим методом были выполнены все тесты.

Предложенные методики являются годными для контроля качества данного препарата, гарантируют получение воспроизводимых и достоверных результатов и рекомендуются для включения в проект НД.

**Приложение 4. Результаты исследования стабильности эфирного масла
герани душистой травы при хранении**

Таблица 1

Результаты исследования стабильности эфирного масла герани душистой травы при хранении в стеклянной банке и температуре от 15 до 25 °С

№ серии	Срок хранения	Описание	Запах	Подлинность	Числовые показатели								Количественное определение				Микробиологическая чистота
					Компоненты эфирного масла	Плотность	Показатель преломления	Угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С	Кислотное число	Эфирное число	ω свободных спиртов (цитронеллол)	ω карбонильных соединений (изоментон)	Растворимость в 70% этаноле	цитронеллола	гераниола,	линалоола	
		прозрачная, подвижная жидкость от янтарно-желтого до зелено-желтого	Специфический. Запах розы, с меняющейся нотой мяты	1.Хроматог-рамма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов 2. Не менее 4 пятен, совпадающих по значению Rf с пятнами СОВС	0,883-0,900 г/см ³	1,460-1,467	От - 17 ⁰ до -- 7 ⁰	≤10	80-85	40-46 %	≤15%	Не более чем в 3 объемах	41,00 %, \wedge	9,50% \wedge	2,50 % \wedge	≥0,75% \wedge	Категория 4б
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
010812	0	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,885 ±0,001	1,475±0,001	минус 9,3°±0,2	6±0,5	81±0,5	45±0,5	10±0,5	2,3 ±0,3	42,55 ±0,02	10,56 ±0,02	3,18 ±0,02	0,78 ±0,02	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
010812	3 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,885 ±0,001	1,475± 0,001	минус 9,3°±0,2	6± 0,5	81± 0,5	45±0,5	10±0,5	2,3 ±0,3	42,55 ±0,02	10,56 ±0,02	3,18 ± 0,02	0,78 ±0,02	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,885± 0,001	1,475± 0,001	минус 9,3°±0,2	6± 0,5	81± 0,5	45±0,5	10±0,5	2,3 ±0,3	42,55 ±0,02	10,56 ±0,02	3,18 ± 0,02	0,78 ±0,02	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,885± 0,001	1,475± 0,001	минус 9,3°±0,2	7± 0,5	81± 0,5	45±0,5	10±0,5	2,3 ±0,3	42,55 ±0,02	10,56 ±0,02	3,18 ± 0,02	0,78 ±0,02	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,885± 0,001	1,475± 0,001	минус 9,3°±0,2	7± 0,5	83± 0,5	45±0,5	10±0,5	2,3 ±0,3	42,21 ±0,02	10,50 ±0,02	3,15 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,885± 0,001	1,475± 0,001	минус 9,3°±0,2	7± 0,5	83± 0,5	45±0,5	12±0,5	2,3 ±0,3	42,15 ±0,02	10,36 ±0,02	3,05 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,883± 0,001	1,472± 0,001	минус 9°±0,2	8± 0,5	84± 0,5	44±0,5	12±0,5	2,3 ±0,3	42,15 ±0,02	10,36 ±0,02	3,05 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,883± 0,001	1,472± 0,001	минус 9°±0,2	8± 0,5	84± 0,5	44±0,5	12±0,5	2,3 ±0,3	42,10 ±0,02	10,20 ±0,02	3,00 ± 0,02	0,75± 0,02	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
010912	0	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,889± 0,001	1,465± 0,001	минус 11,2°±0,2	5± 0,5	83± 0,5	43±0,5	11±0,5	2,1 ±0,3	42,71 ±0,02	10,72 ±0,02	3,20 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,889± 0,001	1,465± 0,001	минус 11,2°±0,2	5± 0,5	83± 0,5	43±0,5	11±0,5	2,1 ±0,3	42,71 ±0,02	10,72 ±0,02	3,20 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,889± 0,001	1,465± 0,001	минус 11,2°±0,2	5± 0,5	83± 0,5	43±0,5	11±0,5	2,1 ±0,3	42,71 ±0,02	10,72 ±0,02	3,20 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,889± 0,001	1,465± 0,001	минус 11,2°±0,2	7± 0,5	83± 0,5	44±0,5	11±0,5	2,1 ±0,3	42,71 ±0,02	10,72 ±0,02	3,20 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,889± 0,001	1,465± 0,001	минус 11,2°±0,2	7± 0,5	83± 0,5	44±0,5	11±0,5	2,1 ±0,3	42,71 ±0,02	10,72 ±0,02	3,20 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,887± 0,001	1,464± 0,001	минус 9,9°±0,2	7± 0,5	85± 0,5	44±0,5	14±0,5	2,1 ±0,3	42,71 ±0,02	10,72 ±0,02	3,20 ± 0,02	0,76± 0,02	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,887± 0,001	1,464± 0,001	минус 9,9°±0,2	8± 0,5	85± 0,5	46±0,5	14±0,5	2,1 ±0,3	42,51 ±0,02	10,52 ±0,02	3,15 ± 0,02	0,75± 0,02	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,887± 0,001	1,464± 0,001	минус 9,9°±0,2	8± 0,5	85± 0,5	46±0,5	14±0,5	2,1 ±0,3	42,51 ±0,02	10,52 ±0,02	3,15 ± 0,02	0,75± 0,02	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
300912	0	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,884± 0,001	1,470± 0,001	минус 15,1°±0,2	8± 0,5	81± 0,5	43±0,5	9±0,5	2,2 ±0,3	42,79 ±0,02	10,61 ±0,02	3,17 ± 0,02	0,80± 0,02	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,884± 0,001	1,470± 0,001	минус 15,1°±0,2	8± 0,5	81± 0,5	43±0,5	9±0,5	2,2 ±0,3	42,79 ±0,02	10,61 ±0,02	3,17 ± 0,02	0,80± 0,02	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,884± 0,001	1,470± 0,001	минус 15,1°±0,2	8± 0,5	81± 0,5	43±0,5	9±0,5	2,2± 0,5	42,79 ±0,02	10,61 ±0,02	3,17 ± 0,02	0,80± 0,02	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,884± 0,001	1,470± 0,001	минус 15,1°±0,2	9± 0,5	83± 0,5	45±0,5	9±0,5	2,2 ±0,5	42,79 ±0,02	10,61 ±0,02	3,17 ± 0,02	0,80± 0,02	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,884± 0,001	1,470± 0,001	минус 15,1°±0,2	9± 0,5	83± 0,5	45±0,5	9±0,5	2,2 ±0,5	42,79 ±0,02	10,61 ±0,02	3,17 ± 0,02	0,80± 0,02	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,884± 0,001	1,470± 0,001	минус 15,1°±0,2	9± 0,5	83± 0,5	45±0,5	9±0,5	2,2 ±0,5	42,59 ±0,02	10,36 ±0,02	3,12 ± 0,02	0,80± 0,02	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,884± 0,001	1,470± 0,001	минус 14,9°±0,2	9± 0,5	84± 0,5	45±0,5	9±0,5	2,2 ±0,5	42,59 ±0,02	10,36 ±0,02	3,12 ± 0,02	0,80± 0,02	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,883± 0,001	1,467± 0,001	минус 14,9°±0,2	10± 0,5	84	45±0,5	11±0,5	2,2 ±0,5	42,59 ±0,02	10,36 ±0,02	3,10 ± 0,02	0,78± 0,02	выдерживает испытание

**Приложение 5. Результаты исследования стабильности эфирного масла
лимона Мейера экзокарпия при хранении**

Таблица 1

Результаты исследования стабильности эфирного масла лимона Мейера при хранении в стеклянной банке и температуре от 15 до 25 °С

№ серии	Срок хранения	Описание	Запах	Подлинность	Числовые показатели					Количественное определение	Микробиологическая чистота
				Компоненты эфирного масла	Плотность	Показатель преломления	Угол вращения плоскости поляризации	Кислотное число	Карбонильное число	лимонена	
		от бледно-желтого до бледно-зеленовато-желтого цвета, прозрачная, подвижная жидкость	Специфический. Запах свежего лимона	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	0,849 - 0,858 г/см ³	1,474 - 1,477	От + 57° до + 65°	≤ 3	11-17	≥ 70%,	Категория 4б
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	18
011112	0	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,850 ± 0,001	1,475 ± 0,001	плюс 57,7° ± 0,2	3± 0,5	15± 0,5	71,86±0,02	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,850 ± 0,001	1,475 ± 0,001	плюс 57,7° ± 0,2	3± 0,5	15± 0,5	71,86±0,02	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,850 ± 0,001	1,475 ± 0,001	плюс 57,7° ± 0,2	3± 0,5	15± 0,5	71,86±0,02	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,850 ± 0,001	1,475 ± 0,001	плюс 57,7° ± 0,2	3± 0,5	15± 0,5	71,86±0,02	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	18
011112	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,850 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 57,7° ±0,2	3± 0,5	15± 0,5	71,86±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	2 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,850 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 57,4° ±0,2	3± 0,5	15± 0,5	71,16±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,849 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 57,4° ±0,2	3± 0,5	15± 0,5	71,16±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	3 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,849 ±0,001	1,474 ±0,001	плюс 57,2° ±0,2	3± 0,5	16± 0,5	70,97±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
101112	0	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,855 ±0,001	1,476 ±0,001	плюс 62,2° ±0,2	2± 0,5	12± 0,5	72,03±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	3 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,855 ±0,001	1,476 ±0,001	плюс 62,2° ±0,2°	2± 0,5	12± 0,5	72,03±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,855 ±0,001	1,476 ±0,001	плюс 62,2° ±0,2	2± 0,5	12± 0,5	72,03±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	1 год	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,855 ±0,001	1,476 ±0,001	плюс 62,2° ±0,2	2± 0,5	12± 0,5	72,03±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,855 ±0,001	1,476 ±0,001	плюс 62,2° ±0,2	2± 0,5	12± 0,5	72,03±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	2 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,855 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 62,2° ±0,2	2± 0,5	12± 0,5	71,95±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,855 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 61,9° ±0,2	3± 0,5	12± 0,5	71,95±0,02	выдер- живает ИСПЫТАНИЕ

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	18
101112	3 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,855 ±0,001	1,474 ±0,001	плюс 61,9° ±0,2	3± 0,5	14± 0,5	71,75±0,02	выдерживает испытание
301112	0	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,858 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 64,3° ±0,2	2± 0,5	16± 0,5	71,57±0,02	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,858 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 64,3° ±0,2	2± 0,5	16± 0,5	71,57±0,02	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,858 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 64,3° ±0,2	2± 0,5	16± 0,5	71,57±0,02	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,858 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 64,3° ±0,2	2± 0,5	16± 0,5	71,57±0,02	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,858 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 64,3°	2± 0,5	16± 0,5	71,37±0,02	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,858 ±0,001	1,475 ±0,001	плюс 64,3° ±0,2	2± 0,5	15± 0,5	71,37±0,02	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,856 ±0,001	1,474 ±0,001	плюс 64,1° ±0,2	2± 0,5	15± 0,5	71,03±0,02	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	1. Соответствует 2. Соответствует	0,856 ±0,001	1,474 ±0,001	плюс 64,1° ±0,2	3± 0,5	14± 0,5	70,95±0,02	выдерживает испытание

**Приложение 6. Результаты исследования стабильности препарата
«Липовитол» при хранении в различных условиях**

Таблица 1

Результаты исследования стабильности препарата «Липовитол» при хранении в стеклянной банке и температуре 25 ± 2 °С

№ серии	Срок хранения	Описание	Подлинность			Однородность массы	Распадаемость	Количественное определение					Микробиологическая чистота
			Компоненты эфирного масла	α -токоферола ацетата	ретинола ацетат			Однородность дозирования эфирного масла	цитронеллола	гераниола	линалоола	фенилэтилового спирта	
		Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным для герани душистой запахом	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	Качественная реакция	Качественная реакция	0,45-0,55	не более 30 мин	0,0400 $\pm 0,0040$ г	не менее 0,0164 г	не менее 0,0038 г	не менее 0,0010 г	не менее 0,0002 г	категория 4б
1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
080313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 $\pm 0,01$	15 \pm 1	0,0410 $\pm 0,001$	0,0170 $\pm 0,0002$	0,0043 $\pm 0,0003$	0,0015 $\pm 0,0002$	0,0003 $\pm 0,0001$	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 $\pm 0,01$	15 \pm 1	0,0410 $\pm 0,0010$	0,0170 $\pm 0,0002$	0,0043 $\pm 0,0002$	0,0015 $\pm 0,0003$	0,0003 $\pm 0,0001$	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 $\pm 0,01$	15 \pm 1	0,0410 $\pm 0,0010$	0,0170 $\pm 0,0003$	0,0043 $\pm 0,0002$	0,0015 $\pm 0,0001$	0,0003 $\pm 0,0001$	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
080313	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,46 ±0,01	18±1	0.0410 ±0,0010	0,0170 ± 0,0002	0,0041 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,46 ±0,01	18±1	0.0410 ±0,0010	0,0169 ±0,003	0,0041 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,45 ±0,01	18±1	0.0390 ±0,0010	0,0169 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,45 ±0,01	18±1	0.0390 ±0,0010	0,0169 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,44 ±0,01	18±1	0.0380 ±0,0010	0,0169 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0002	выдерживает испытание
090313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	15±1	0.0390 ±0,0010	0,0172 ± 0,0002	0,0045 ± 0,0002	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	15±1	0.0390 ±0,0010	0,0172 ± 0,0002	0,0045 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	18±1	0.0390 ±0,0010	0,0172 ± 0,0002	0,0045 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	18±1	0.0390 ±0,0010	0,0172 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0.0390 ±0,0010	0,0170 ± 0,0004	0,0043 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0.0390 ±0,0010	0,0170 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
090313	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0010	0,0170 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0010	0,0170 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
100313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0010	0,0170 ± 0,0004	0,0043 ± 0,0002	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0002	выдерж- ивает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0002	0,0015 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0002	выдерж- ивает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0010	0,0170 ± 0,0002	0,0043 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0003	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0010	0,0170 ± 0,0002	0,0041 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0010	0,0169 ± 0,0003	0,0041 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0010	0,0169 ± 0,0004	0,0040 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,0400 ±0,0010	0,0169 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,040 ±0,001	0,0169 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0003	0,0003 ± 0,0002	выдерж- ивает испытание

Таблица 2

Результаты исследования стабильности препарата «Липовитол» при хранении в стеклянной банке и температуре 2-8 °С

№ серии	Срок хранения	Описание	Подлинность			Однородность массы	Расподаемость	Количественное определение					Микробиологическая чистота
			Компоненты эфирного масла	α -токоферола ацетата	ретинола ацетат			Однородность дозирования эфирного масла	цитронеллола	гераниола	линалоола	фенилэтилового спирта	
		Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным для герани душистой запахом	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	Качественная реакция	Качественная реакция	0,45-0,55	не более 30 мин	0,0400 \pm 0,0040 г	не менее 0,0164 г	не менее 0,0038 г	не менее 0,0010 г	не менее 0,0002 г	категория 4б
1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
080313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 \pm 0,01	15 \pm 1	0.041 \pm 0,001	0,0170 \pm 0,0002	0,0043 \pm 0,0003	0,0015 \pm 0,0002	0,0003 \pm 0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 \pm 0,01	15 \pm 1	0.041 \pm 0,001	0,0170 \pm 0,0003	0,0043 \pm 0,0002	0,0015 \pm 0,0002	0,0003 \pm 0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 \pm 0,01	15 \pm 1	0.041 \pm 0,001	0,0170 \pm 0,0004	0,0043 \pm 0,0002	0,0015 \pm 0,0001	0,0003 \pm 0,0001	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
080313	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,46 ±0,01	18±1	0,041 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0041 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,46 ±0,01	18±1	0,041 ±0,001	0,0169 ± 0,0002	0,0041 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,45 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0169 ± 0,0004	0,0040 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,45 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,44 ±0,01	18±1	0,038 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0004	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
090313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	15±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0003	0,0045 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0003	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	15±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0003	0,0045 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0003	0,0045 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0003	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0001	0,0043 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0004	0,0012 ± 0,0003	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0170 ± 0,0005	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0002	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
090313	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,038 ±0,001	0,0170 ± 0,0004	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,038 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
100313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	15±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0043 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	15±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0001	0,0043 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0003	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0043 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0001	0,0041 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0041 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0169 ± 0,0001	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,011	18±1	0,040 ±0,001	0,0169 ± 0,0004	0,0040 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,040 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание

Таблица 3

Результаты исследования стабильности препарата «Липовитол» при хранении в полимерной банке и температуре 25±2°C

№ серии	Срок хранения	Описание	Подлинность			Однородность массы	Распадаемость	Количественное определение					Микробиологическая чистота
			Компоненты эфирного масла	α-токоферола ацетата	ретинола ацетат			Однородность дозирования эфирного масла	цитронеллола	гераниола	линалоола	фенилэтилового спирта	
		Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным для герани душистой запахом	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	Качественная реакция	Качественная реакция	0,45-0,55	не более 30 мин	0,0400 ±0,0040 г	не менее 0,0164 г	не менее 0,0038 г	не менее 0,0010 г	не менее 0,0002 г	категория 4б
1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
080313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	15±1	0.041 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	15±1	0.041 ±0,001	0,0170 ± 0,0001	0,0043 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0003	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	15±1	0.041 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0004	0,0015 ± 0,0003	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
080313	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,46 ±0,01	18±1	0.041 ±0,001	0,0170 ± 0,0001	0,0041 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,46 ±0,01	18±1	0.041 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0041 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,45 ±0,01	18±1	0.039 ±0,001	0,0169 ± 0,0001	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,45 ±0,01	18±1	0.039 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,44 ±0,01	18±1	0.038 ±0,001	0,0169 ± 0,0004	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
090313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	15±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0002	0,0045 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	15±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0001	0,0045 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0002	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0003	0,0045 ± 0,0002	0,0015 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0001	0,0043 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0002	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0004	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
090313	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,038 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,038 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
100313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	15±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0004	0,0043 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	15±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0004	0,0043 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0004	0,0043 ± 0,0004	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0041 ± 0,0005	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0041 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0169 ± 0,0001	0,0040 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,040 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,040 ±0,001	0,0169 ± 0,0001	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание

Таблица 4

Результаты исследования стабильности препарата «Липовитол» при хранении в полимерной банке и температуре 2-8 °С

№ серии	Срок хранения	Описание	Подлинность			Однородность массы	Распадаемость	Количественное определение					Микробиологическая чистота
			Компоненты эфирного масла	α -токоферола ацетата	ретинола ацетат			Однородность дозирования эфирного масла	цитронеллола	гераниола	линалоола	фенилэтилового спирта	
		Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным для герани душистой запахом	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	Качественная реакция	Качественная реакция	0,45-0,55	не более 30 мин	0,0400 \pm 0,0040 г	не менее 0,0164 г	не менее 0,0038 г	не менее 0,0010 г	не менее 0,0002 г	категория 4б
1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
080313	0	Соответствует	1.Соответствует 2. 4 пятна, совпадающих по значению Rf с пятнами СОВС	+	+	0,48 \pm 0,01	15 \pm 1	0.041 \pm 0,001	0,0170 \pm 0,0005	0,0043 \pm 0,0002	0,0015 \pm 0,0002	0,0003 \pm 0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 \pm 0,01	15 \pm 1	0.041 \pm 0,001	0,0170 \pm 0,0004	0,0043 \pm 0,0003	0,0015 \pm 0,0001	0,0003 \pm 0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 \pm 0,01	15 \pm 1	0.041 \pm 0,001	0,0170 \pm 0,0006	0,0043 \pm 0,0003	0,0015 \pm 0,0003	0,0003 \pm 0,0001	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
080313	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,46 ±0,01	18±1	0.041 ±0,001	0,0170 ± 0,0005	0,0041 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,46 ±0,01	18±1	0.041 ±0,001	0,0169 ± 0,0002	0,0041 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,45 ±0,01	18±1	0.039 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,45 ±0,01	18±1	0.039 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,44 ±0,01	18±1	0.038 ±0,001	0,0169 ± 0,0004	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерживает испытание
090313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	15±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0001	0,0045 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	15±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0004	0,0045 ± 0,0002	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0003	0,0045 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,51 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0172 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0043 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,039 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерживает испытание

1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15
090313	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,038 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0002	0,0003 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,48 ±0,01	18±1	0,038 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0003	0,0003 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
100313	0	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	15±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0002	0,0043 ± 0,0002	0,0015 ± 0,0003	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	15±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0003	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0043 ± 0,0001	0,0015 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0170 ± 0,0003	0,0041 ± 0,0001	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,53 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0169 ± 0,0001	0,0041 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0001	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,042 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,040 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0002	0,0012 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	+	+	0,50 ±0,01	18±1	0,040 ±0,001	0,0169 ± 0,0003	0,0040 ± 0,0003	0,0012 ± 0,0003	0,0003 ± 0,0001	выдерж- ивает испытание

**Приложение 7. Результаты исследования стабильности препарата
«Лимонеол» при хранении в различных условиях**

Таблица 1

Результаты исследования стабильности препарата «Лимонеол» при хранении в стеклянной банке и температуре 25 ± 2 °С

№ серии	Срок хранения	Описание	Подлинность	Однородность массы	Распадаемость	Количественное определение		Микробиологическая чистота
			Компоненты эфирного масла			Однородность дозирования эфирного масла	лимонена	
		Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным запахом	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	0,45-0,55	не более 30 мин	0,0400 $\pm 0,0040$ г	не менее 0,0280 г	категория 4б
1	2	3	4	8	9	10	11	15
011112	0	Соответствует	Соответствует	0,48 $\pm 0,01$	15 \pm 1	0,0420 $\pm 0,0010$	0,0288 $\pm 0,0003$	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 $\pm 0,01$	15 \pm 1	0,0420 $\pm 0,0010$	0,0288 $\pm 0,0002$	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 $\pm 0,01$	15 \pm 1	0,0420 $\pm 0,0010$	0,0288 $\pm 0,0002$	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,46 $\pm 0,01$	18 \pm 1	0,0420 $\pm 0,0010$	0,0288 $\pm 0,0002$	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,46 $\pm 0,01$	18 \pm 1	0,0420 $\pm 0,0010$	0,0288 $\pm 0,0002$	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,45 $\pm 0,01$	19 \pm 1	0,0400 $\pm 0,0010$	0,0284 $\pm 0,0002$	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,45 $\pm 0,01$	19 \pm 1	0,0400 $\pm 0,0010$	0,0284 $\pm 0,0003$	выдерживает испытание

1	2	3	4	8	9	10	11	15
011112	3 года	Соответствует	Соответствует	0,45 ±0,01	19±1	0,0390 ±0,0030	0,0282 ±0,0001	выдерживает испытание
101112	0	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,030	0,0290 ±0,0003	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0020	0,0290 ±0,0002	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0020	0,0290 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0020	0,0290 ±0,0002	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0400 ±0,0020	0,0286 ±0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0380 ±0,0020	0,0286 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0030	0,0285 ±0,0004	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0030	0,0285 ±0,0003	выдерживает испытание
01112	0	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0010	0,0284 ±0,0002	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0020	0,0284 ±0,0001	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	16±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0420 ±0,0010	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0410 ±0,0020	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0400 ±0,0030	0,0282 ±0,0004	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0390 ±0,0020	0,0280 ±0,0003	выдерживает испытание

Таблица 2

Результаты исследования стабильности препарата «Лимонеол» при хранении в стеклянной банке и температуре 2-8 °С

№ серии	Срок хранения	Описание	Подлинность	Однородность массы	Распадаемость	Количественное определение		Микробиологическая чистота
			Компоненты эфирного масла			Однородность дозирования эфирного масла	лимонена	
		Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным запахом	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	0,45-0,55	не более 30 мин	0,0400 ±0,0040 г	не менее 0,0280 г	категория 4б
1	2	3	4	8	9	10	11	15
011112	0	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0010	0,0288 ±0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0003	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0010	0,0288 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0010	0,0288 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	19±1	0,0400 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	19±1	0,0400 ±0,0030	0,0284 ±0,0001	выдерживает испытание

1	2	3	4	8	9	10	11	15
011112	3 года	Соответствует	Соответствует	0,45 ±0,01	19±1	0,0390 ±0,0010	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание
101112	0	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0030	0,0290 ±0,0001	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0010	0,0290 ±0,0003	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0030	0,0290 ±0,0004	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0010	0,0290 ±0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0400 ±0,0020	0,0286 ±0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0380 ±0,0030	0,0286 ±0,0002	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0010	0,0285 ±0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0010	0,0285 ±0,0002	выдерживает испытание
01112	0	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0020	0,0284 ±0,0002	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0010	0,0284 ±0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0002	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	16±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0410 ±0,0030	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0400 ±0,0030	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0390 ±0,0030	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание

Таблица 3

Результаты исследования стабильности препарата «Лимонеол» при хранении в полимерной банке и температуре 25±2°С

№ серии	Срок хранения	Описание	Подлинность	Однородность массы	Распадаемость	Количественное определение		Микробиологическая чистота
			Компоненты эфирного масла			Однородность дозирования эфирного масла	лимонена	
		Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным запахом	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	0,45-0,55	не более 30 мин	0,0400 ±0,0040 г	не менее 0,0280 г	категория 4б
1	2	3	4	8	9	10	11	15
011112	0	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0002	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	19±1	0,0400 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	19±1	0,0400 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание

1	2	3	4	8	9	10	11	15
011112	3 года	Соответствует	Соответствует	0,45 ±0,01	19±1	0,0390 ±0,0030	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание
0101112	0	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0030	0,0290 ±0,0003	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0030	0,0290 ±0,0003	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0030	0,0290 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0010	0,0290 ±0,0002	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0400 ±0,0030	0,0286 ±0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0380 ±0,0010	0,0286 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0020	0,0285 ±0,0002	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0020	0,0285 ±0,0002	выдерживает испытание
301112	0	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0010	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	16	0,0420 ±0,0020	0,0284 ±0,0002	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0410 ±0,0030	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0400 ±0,0030	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0390 ±0,0030	0,0281 ±0,0003	выдерживает испытание

Таблица 4

Результаты исследования стабильности препарата «Лимонеол» при хранении в полимерной банке и температуре 2-8 °С

№ серии	Срок хранения	Описание	Подлинность	Однородность массы	Распадаемость	Количественное определение		Микробиологическая чистота
			Компоненты эфирного масла			Однородность дозирования эфирного масла	лимонена	
		Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным для запахом	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов	0,45-0,55	не более 30 мин	0,0400 ±0,0040 г	не менее 0,0280 г	категория 4б
1	2	3	4	8	9	10	11	15
011112	0	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0020	0,0288 ±0,0003	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0020	0,0288 ±0,0001	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0420 ±0,0030	0,0288 ±0,0002	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0410 ±0,0030	0,0285 ±0,0002	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0410 ±0,0030	0,0285 ±0,0003	выдерживает испытание

1	2	3	4	8	9	10	11	15
011112	3 года	Соответствует	Соответствует	0,46 ±0,01	18±1	0,0410 ±0,0030	0,0285 ±0,0002	выдерживает испытание
0101112	0	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0030	0,0290 ±0,0003	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0020	0,0290 ±0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0010	0,0290 ±0,0002	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,51 ±0,01	15±1	0,0400 ±0,0030	0,0290 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0400 ±0,0030	0,0287 ±0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0380 ±0,0010	0,0287 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0020	0,0287 ±0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0380 ±0,0010	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
301112	0	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	3 мес	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0040	0,0284 ±0,0001	выдерживает испытание
	6 мес	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	15±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год	Соответствует	Соответствует	0,49 ±0,01	16±1	0,0420 ±0,0030	0,0284 ±0,0003	выдерживает испытание
	1 год 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0420 ±0,0010	0,0284 ±0,0001	выдерживает испытание
	2 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	17±1	0,0410 ±0,0010	0,0282 ±0,0003	выдерживает испытание
	2 года 6 мес	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0410 ±0,0030	0,0282 ±0,0001	выдерживает испытание
	3 года	Соответствует	Соответствует	0,48 ±0,01	18±1	0,0400 ±0,0040	0,0280 ±0,0002	выдерживает испытание

Приложение 8. Акты внедрения

УТВЕРЖДАЮ
и.о. директора Сибайского института
(филиала) ФГБОУ ВО «Башкирский
государственный университет»,
доктор педагогических наук,
доцент А.С. Валеев



«13» ноября 2017 г.

АКТ
апробации результатов диссертационной работы

В лабораторных условиях естественно-математического факультета Сибайского института (филиала) ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» наработаны опытные партии эфирного масла герани душистой с использованием технологии, предложенной сотрудниками кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации: профессором д.фарм.н. Е.И. Молоховой, аспирантом Е.И. Пономаревой и главным научным сотрудником Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистана к.биол.н. А.К. Холовым.

Технология получения эфирного масла герани душистой воспроизводима и не вызывает затруднений. Полученные результаты могут быть использованы для внедрения в производство с использованием стандартного оборудования.

Профессор кафедры ботаники,
доктор биол. наук

Г.Р. Байрамгулова

декан естественно-
математического факультета,
доктор биол. наук

И.В. Суюндуков



«УТВЕРЖДАЮ»
 Генеральный директор ООО «Биоцевтика»
 Голубев Александр Олегович

«25» декабря 2017 г.

АКТ
апробации результатов диссертационной работы

В промышленных условиях ООО «Биоцевтика» наработаны опытные партии CO₂-экстрактов травы герани душистой и кожуры лимона Мейера с использованием технологии, предложенной сотрудниками кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации: профессором д.фарм.н. Е.И. Молоховой, аспирантом Е.И. Пономаревой и главным научным сотрудником Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистана к.биол.н. А.К. Холовым.

Технология получения CO₂-экстрактов воспроизводима и не вызывает затруднений. Полученные результаты могут быть использованы для внедрения в производство с использованием стандартного оборудования.

Начальник производства
 ООО «Биоцевтика»

Технолог

Трубников А.И.
 Минофьев А.С.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор АО «РеалКапс»

Бычков В.М.

«26» декабря 2017 г.

АКТ АПРОБАЦИИ**результатов научно-исследовательской работы
в производстве АО «РеалКапс»,**

141140, Московская область, Щелковский р-н,

р.п. Свердловский, ул. Центральная, стр. 1, корп.3. Тел/факс: (495) 369-30-70.

Коммерческий директор АО «РеалКапс» Мажаренко А.Б., начальник производства Плоцкий А.П., технолог Кавшаров А.Н., составили настоящий акт о том, что результаты научно-исследовательской работы сотрудников кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации: профессора д.фарм.н. Е.И. Молоховой, аспиранта Е.И. Пономаревой и главного научного сотрудника Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан к.биол.н. А.К. Холова апробированы в производственном процессе АО «РеалКапс» при изготовлении опытных партий мягких желатиновых капсул содержащие, эфирные масла *Pelargonium graveolens L'Her* и *Citrus meyeri Tan*.

При изготовлении опытных партий капсул с эфирные масла *Pelargonium graveolens L'Her* и *Citrus meyeri Tan* с массой наполнителя 0,5 г в производственных условиях использованы экспериментальные данные по выбору оптимального состава оболочки капсул и подготовке субстанции для капсулирования.

Капсулы, полученные в процессе опытного производства, соответствуют по органолептическим показателям, однородности массы и распадаемости требованиям ГФ XIII.

Коммерческий директор АО «РеалКапс»



Мажаренко А.Б.

Начальник производства АО «РеалКапс»



Плоцкий А.П.

Технолог АО «РеалКапс»



Кавшаров А.Н.





«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебно-воспитательной работе
ФГБОУ ВО «Пермская государственная
фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
д.ф.н Курбатов Е. Р.

» марта 2018 г.**АКТ**

**внедрения результатов диссертационной работы
в учебный процесс академии**

Наименование предложения для внедрения: материалы диссертационной работы «Экспериментальное обоснование разработки технологии и стандартизация мягких желатиновых капсул, содержащие эфирные масла *Pelargonium graveolens L'Her.* и *Citrus meyeri Tan.*»

Разработчики: профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России д.фарм.н. Е.И. Молохова, аспирант кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Е.И. Пономарева, главный научный сотрудник Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан к.биол.н. А.К. Холов.

Место использования: практическое занятие «Капсулированные препараты» по дисциплине промышленная технология лекарств на кафедре промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России.

Пользователи: студенты 4 курса очного обучения ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России

Когда внедрено: март 2018 года

Эффективность внедрения: предложенный состав и технология мягких желатиновых капсул с эфирными маслами герани душистой и лимона Мейера использованы на практическом занятии «Капсулированные лекарственных препараты» для приобретения теоретических и практических навыков по технологии и стандартизации дозированных лекарственных форм.

Зав. кафедрой промышленной технологии
лекарств с курсом биотехнологии
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России,
профессор, д.ф.н.

Е.В. Орлова

Методист курса промышленной технологии
кафедры промышленной технологии лекарств
с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА
Минздрава России, доцент, к.ф.н.

Н.А. Ковязина

Утверждено
Ректор ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России
А.Ю. Турьшев
«6» _____ 2017 г.



Акт апробации

Предмет апробации: Методики контроля качества эфирного масла лимона Мейера (*Citrus meyeri Tan*) по показателям «Подлинность» и «Количественное определение».

Разработчики, адрес исполнителя: профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России д.фарм.н. Е.И. Молохова, аспирант кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Е.И. Пономарева, главный научный сотрудник Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан к.биол.н. А.К. Холов. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2, тел. +7 (342) 233-55-01.

Место апробации: РИЦ Фарматест ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46/1, тел.+7 (342)282-58-65.

Цель апробации: воспроизведение предлагаемых методик в условиях лаборатории с целью включения их в НД «Лимона Мейера кожуры эфирное масло».

Результат апробации: установлено, что методики являются специфичными для определения содержания активного компонента эфирного масла - лимонена, характеризуются удовлетворительной прецизионностью. аналитическая область применения от 70 до 130 % подтверждена линейной зависимостью количественных характеристик.

Заключение: представленные материалы имеют практическую значимость для контроля качества эфирного масла лимона Мейера (*Citrus meyeri Tan*), рекомендуемого в качестве лекарственного средства. Методики могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию.

Руководитель РИЦ «Фарматест»
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России

Т.Л. Малкова

Утверждено
Ректор ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России
А.Ю. Турьшев
«29» 10/2017 2017 г.



Акт апробации

Предмет апробации: Методики контроля качества мягких капсул «Лимонеол» по показателям «Подлинность» и «Количественное определение».

Разработчики, адрес исполнителя: профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России д.фарм.н. Е.И. Молохова, аспирант кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Е.И. Пономарева, главный научный сотрудник Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан к.биол.н. А.К. Холов. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, 2, тел.+7 (342) 233-55-01.

Место апробации: РИЦ Фарматест ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46/1, тел.+7 (342)282-58-65.

Цель апробации: воспроизведение предлагаемых методик в условиях лаборатории с целью включения их в НД «Лимонеол, мягкие капсулы 0,04 г».

Результат апробации: установлено, что методики являются специфичными для определения содержания активного компонента капсул - лимонена, характеризуются удовлетворительной прецизионностью. Аналитическая область применения от 70 до 130 % подтверждена линейной зависимостью количественных характеристик.

Заключение: представленные материалы имеют практическую значимость для контроля качества мягких капсул «Лимонеол», рекомендуемых в качестве лекарственного средства. Методики могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию.

Руководитель РИЦ «Фарматест»
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России

Т.Л. Малкова

Утверждено
Ректор ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России
А.Ю. Турьшев
«15» ~~ноября~~ 2017 г.



Акт апробации

Предмет апробации: Разработка методик контроля качества мягких капсул «Липовитол» по показателям «Подлинность» и «Количественное определение».

Разработчики, адрес исполнителя: профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России д.фарм.н. Е.И. Молохова, аспирант кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Е.И. Пономарева, главный научный сотрудник Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан к.биол.н. А.К. Холов. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2, тел. +7 (342) 233-55-01.

Место апробации: РИЦ Фарматест ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46/1, тел.+7 (342)282-58-65.

Цель апробации: воспроизведение предлагаемых методик в условиях лаборатории с целью включения их в НД «Липовитол, мягкие капсулы 0,04 г».

Результат апробации: установлено, что методики являются специфичными для определения содержания активных компонентов (цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта) капсул, характеризуются удовлетворительной прецизионностью. Аналитическая область применения от 70 до 130 % подтверждена линейной зависимостью количественных характеристик.

Заключение: представленные материалы имеют практическую значимость для контроля качества мягких капсул «Липовитол», рекомендуемых в качестве лекарственного средства. Методики могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию.

Руководитель РИЦ «Фарматест»
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России

Т.Л. Малкова

Утверждено
Ректор ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России
А.Ю. Турьшев
«20» декабря 2017 г.



Акт апробации

Предмет апробации: Методики контроля качества эфирного масла герани душистой (*Pelargonium graveolens L'Her*) по показателям «Подлинность» и «Количественное определение».

Разработчики, адрес исполнителя: профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России д.фарм.н. Е.И. Молохова, аспирант кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Е.И. Пономарева, главный научный сотрудник Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан к.биол.н. А.К. Холов. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2, тел. +7 (342) 233-55-01.

Место апробации: РИЦ Фарматест ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46/1, тел.+7 (342)282-58-65.

Цель апробации: воспроизведение предлагаемых методик в условиях лаборатории с целью включения их в НД «Герани душистой травы эфирное масло».

Результат апробации: установлено, что методики являются специфичными для определения содержания активных компонентов (цитронеллола, гераниола, линалоола, фенилэтилового спирта) эфирного масла, характеризуются удовлетворительной прецизионностью. Аналитическая область применения от 70 до 130 % подтверждена линейной зависимостью количественных характеристик.

Заключение: представленные материалы имеют практическую значимость для контроля качества эфирного масла герани душистой (*Pelargonium graveolens L'Her*), рекомендуемого в качестве лекарственного средства. Методики могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию.

Руководитель РИЦ «Фарматест»
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России

Т.Л. Малкова

Приложение 9. Проекты нормативной документации

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Регистрационное удостоверение №

Дата регистрации

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

НОРМАТИВНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ

№ _____.

Эфирное масло герани душистой травы

(торговое наименование лекарственного препарата)

Pelargonii graveolentis herbae oleum essentiale

(международное непатентованное или химическое наименование)

(лекарственная форма, дозировка)

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

ФАСОВЩИК (ПЕРВИЧНАЯ УПАКОВКА)

УПАКОВЩИК (ВТОРИЧНАЯ/ТРЕТИЧНАЯ УПАКОВКА)

ВЫПУСКАЮЩИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Эфирное масло, полученное паровой дистилляцией свежих или слегка подсушенных надземных частей герани душистой – *Pelargonium graveolens L'Her*, семейства Гераниевых – *Geraniaceae*, используемое в качестве лекарственного средства

СПЕЦИФИКАЦИЯ

«Эфирное масло герани душистой травы»

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	ОФС.1.5.2.0001.15	От янтарно-желтого до зелено-желтого цвета, прозрачная, подвижная жидкость
Запах	ОФС.1.5.2.0001.15	Специфический. Запах розы
Подлинность Компоненты эфирного масла	1. хромато-масс-спектрометрический метод 2. ТСХ	1. Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов, как представлено на рис 1. 2. Не менее 4 пятен, совпадающих по значению Rf с пятнами СОВС
Числовые показатели		
Плотность	по методу 1 ОФС.1.2.1.0014.15	0,883-0,900 г/см ³
Показатель преломления при 20 °С	ОФС. 1.2.1.0017.15	1,460 – 1,475
Угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С	ОФС.1.2.1.0018.15	От минус 17 ⁰ до минус 7 ⁰
Кислотное число	ОФС.1.2.3.0004.15	Не более 5
Эфирное число	по методу 2 ОФС.1.2.3.0009.15	80-85
Массовая доля свободных спиртов (в расчете на цитронеллол)	ГФ XI, вып 1, с. 290	40-46 %
Массовая доля карбонильных соединений (в перерасчете на изоментон)	ГОСТ ISO 1271—2014.	Не более 15
Растворимость	ОФС.1.5.2.0001.15	Не более чем в 3 объемах спирта этилового 70%

1	2	3
Содержание в эфирном масле основных компонентов	хромато-масс-спектрометрический метод	Цитронеллола не менее 41,00%, Гераниола не менее 9,50%, Линалоола не менее 2,50%, Фенилэтилового спирта не менее 0,70%
Посторонние примеси		
Массовая доля фенолов	ГФ XI, вып 1, с. 290	Не допускается
Жирные и минеральные масла	ОФС.1.5.2.0001.15	Не допускается
Спирт этиловый	ОФС.1.5.2.0001.15	Не допускается
Вода	ОФС.1.5.2.0001.15	Не допускается
Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0002.15	Категория 4б
Упаковка	ГОСТ 9069-73	Банка из темного стекла с крышкой под закатку по действующей НТД Горловины банок должны быть сверху покрыты пергаментной бумагой по ТУ 13—0248643—825 или подпергаментной бумагой по ГОСТ 1760, затем оберточной бумагой по ГОСТ 8273. При упаковке жидких продуктов каждая единица тары должна иметь воздушное пространство от 3 до 5 % емкости тары
Маркировка	ГОСТ 31791-2012	
Транспортирование	ГОСТ 31791-2012, ГОСТ 9069-73	Транспортируют транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на транспорте данного вида. Транспортирование пакетами производят по ГОСТ 24597, ГОСТ 21650.

1	2	3
Хранение	ГОСТ 9069-73	Упакованные эфирные масла хранят в помещениях, защищенных от атмосферных осадков и солнечных лучей, при температуре от 15 до 25 °С
Срок годности		3 года

Описание (ОФС.1.5.2.0001.15). Прозрачная, подвижная жидкость. Цвет от янтарно-желтого до зелено-желтого. Запах специфический (запах розы, с меняющейся нотой мяты).

Цвет и прозрачность определяют, поместив 10 мл масла в цилиндр из прозрачного бесцветного стекла диаметром 2-3 см, наблюдая в проходящем свете. Запах определяют, нанося около 0,1 мл (2 капли) масла на полоску фильтровальной бумаги длиной 12 см и шириной 5 см так, чтобы масло не смачивало края бумаги, и сравнивают запах испытуемого образца через каждые 15 минут с запахом контрольного образца, нанесенного таким же образом на фильтровальную бумагу. В течение 1 часа запах должен быть одинаков с запахом контрольного образца.

Подлинность компонентов эфирного масла

1. Хроматограмма эфирного масла, полученная при количественном определении должна иметь вид, как представлено на рис. 1. Идентификация отдельных компонентов производится на основе сравнения времен удерживания, индексов Ковача (табл. 1) и полных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки. Определяют в хроматограмме полученные репрезентативные и характерные компоненты, представленные в табл. 1

Хроматографический профиль гераниевого масла

Время удерживания, мин	Индекс Ковача	Наименование компонента
13.392	1102	Linalool
13.760	1113	Phenylethanol
14.347	1129	trans-Rose oxide
15.460	1160	Menthone
15.790	1170	Isomenthone
16,873	1200	α -Terpineol
17.946	1231	Citronellol
18.750	1254	Geraniol
19.483	1275	Citronellyl formate
20.333	1300	Geranyl formate
24.348	1423	Caryophyllene
27.505	1526	Citronellyl butyrate
28.424	1557	Geraniol butyrate
29.293	1587	<u>10-epi-γ-eudesmol</u>
29.674	1600	Phenylethyl tiglate
32.425	1698	Geranyl tiglate

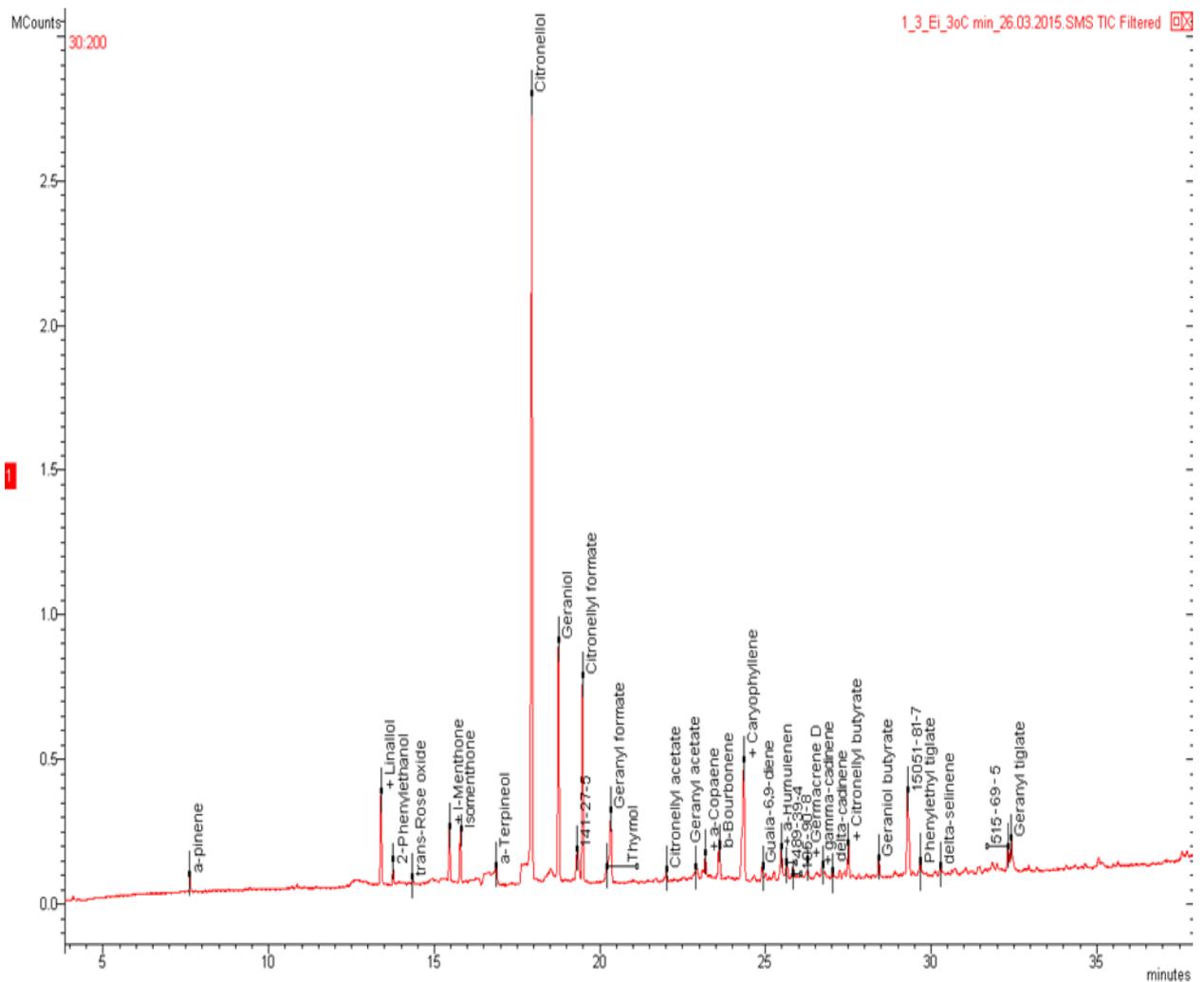


Рис. 1. Хроматограмма эфирного масла герани душистой травы

2. К 0,05 г эфирного масла герани прибавляли 10 мл этанола (раствор А).

На линию старта хроматографической пластинки марки «Silufo», размером 10×12 см, с помощью микрошприца наносят: в первую точку - 5 мкл раствор А, во вторую – 5 мкл раствора СОВС цитронеллола, в третью - 5 мкл раствора СОВС гераниола, в четвертую - 5 мкл раствора СОВС линалоола и в пятую - 5 мкл раствора СОВС фенилэтилового спирта. Пластинку сушили на воздухе в течение 5 минут и хроматографируют восходящим способом в смеси растворителей бензол:хлороформ (1:1). После достижения растворителем линии фронта – 10 см, пластинку вынимают и высушивают на воздухе в течение 10 минут, а затем детектируют 5 % спиртовым раствором фосфорномолебденовой кислоты и нагревают в сушильном шкафу при $t^{\circ} = 105 - 110$ °С в течение 5 – 10 минут. При этом

хроматографические зоны проявлялись в виде темно-синих пятен на светло-желтом фоне совпадающие по значению R_f с пятнами СОВС (R_f ~ гераниола – $0,13 \pm 0,04$, цитронеллола – $0,19 \pm 0,005$, линалоола – $0,25 \pm 0,02$, фенилэтилового спирта – $0,35 \pm 0,01$).

- Примечание:**
1. Приготовление раствора СОВС цитронеллола: 0,01 г цитронеллола - стандарта («Alfa Aesar», A19016, Lot 10180517) помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Срок годности раствора – 10 дней.
 2. Приготовление раствора СОВС гераниола: 0,01 г гераниола - стандарта («Alfa Aesar», A13736, Lot 10180072) помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Срок годности раствора – 10 дней.
 3. Приготовление раствора СОВС линалоола: 0,01 г линалоола - стандарта («Alfa Aesar», A14424, Lot 1017400) помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Срок годности раствора – 10 дней.
 4. Приготовление раствора СОВС 2-фенилэтанола: 0,01 г 2-фенилэтанола - стандарта («Alfa Aesar», A15241, Lot 10179159) помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Срок годности раствора – 10 дней.
 5. Приготовление 5 % раствора фосфорномолибденовой кислоты. 0,50 г фосфорномолибденовой кислоты растворяют в 10 мл этанола. Раствор используют свежеприготовленным.

Числовые показатели

1. Плотность по методу 1 ОФС.1.2.1.0014.15: 0,883-0,900 г/см³
2. Показатель преломления при 20 °С (ОФС. 1.2.1.0017.15) 1,460 – 1,467
3. Угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С (ОФС.1.2.1.0018.15) От минус 17° до минус 9°
4. Кислотное число (ОФС.1.2.3.0004.15) не более 5
5. Эфирное число (по методу 2 ОФС.1.2.3.0009.15) 80-85
6. Массовая доля свободных спиртов (ГФ XI, вып 1, с. 290) в расчете на цитронеллол 38-46 %

7. Массовая доля карбонильных соединений (ГОСТ ISO 1271—2014) в расчете на изоментон не более 15.

8. Растворимость одного объема масла не более чем в трех объемах 70 % этилового спирта (ОФС.1.5.2.0001.15).

8. Количественное определение.

Определение содержания в эфирном масле цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта. Определение проводят хромато-масс-спектрометрическим методом.

Анализ проводят на хроматографе Varian CP 3800 с квадрупольным масс-спектрометром 4000 MS в качестве детектора. Используется кварцевая колонка VF-5 MS (5% фенил -, 95% диметилполисилоксан) длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм. Температура испарителя 280 °С, газ-носитель - гелий - 1 мл/мин. Температура колонки: 50 °С (2 мин), 50-270 °С (со скоростью 4 °С в мин), изотермический режим при 270 °С в течение 10 мин. Точную навеску масла (около 0,10 г) растворяют в 10 мл гексана и полученный раствор вводят в хроматограф в объеме 1 мкл при делении потока 1:50.

На хроматограммах определяют площади пиков, соответствующих цитронеллолу, гераниолу, линалоолу и фенилэтиловому спирту.

Для индивидуальных веществ (стандартов цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта) проводят градуировку зависимости площади пика от концентрации вещества и для каждого компонента рассчитывают калибровочный коэффициент (табл. 2).

Значения калибровочных коэффициентов

Наименование компонента	Значение калибровочного коэффициента k
Linalool	$1,77 \cdot 10^{-7}$
Phenyletanol	$1,83 \cdot 10^{-7}$
Citronellol	$1,95 \cdot 10^{-7}$
Geraniol	$1,91 \cdot 10^{-7}$

Содержание линалоола, фенилэтилового спирта, цитронеллола и гераниола в эфирном масле в % (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_i \cdot k_i \cdot (m_{p-p} - a)}{a \cdot \rho \cdot 10}$$

Где S_i – площадь пика i -го компонента в растворе эфирного масла, условные единицы;

k_i – калибровочный коэффициент

m_{p-p} – масса раствора эфирного масла приготовленный для анализа, г

a – навеска эфирного масла, г

ρ – плотность растворителя для приготовления раствора эфирного масла, г/мл

За результаты анализа принимают среднее арифметическое 3 – 5 повторных измерений.

Содержание должно быть:

Цитронеллола не менее 42%,

Гераниола не менее 10%,

Линалоола не менее 3%,

Фенилэтилового спирта не менее 0,75%

Примечание: При проведении испытания следует использовать стандартные вещества (линалоола, фенилэтилового спирта, изоментона, цитронеллола и гераниола) достаточной чистоты не менее 97%

Посторонние примеси

Фенолы (ГФ XI, вып 1, с. 290) не допускается

Жирные и минеральные масла (ОФС.1.5.2.0001.15) не допускается

Спирт этиловый (ОФС.1.5.2.0001.15) не допускается

Вода (ОФС.1.5.2.0001.15) не допускается

Микробиологическая чистота (ОФС.1.2.4.0002.15) категория 4б

Упаковка. В соответствии с ГОСТ 9069-73. Эфирное масло упаковывают в металлические тары:

1. банки металлические для химических продуктов по ГОСТ 6128 до 10 л
2. банки металлические цилиндрической или прямоугольной формы со съемной крышкой, или цельноспаянные, или с крышкой под закатку по действующей НТД до 40 л

Горловины бутылок и банок (за исключением банок и бутылок, закатанных металлической крышкой) должны быть сверху покрыты пергаментной бумагой по ТУ 13—0248643—825 или подпергаментной бумагой по ГОСТ 1760, затем оберточной бумагой по ГОСТ 8273, а для высших и дорогостоящих продуктов двумя слоями пергаментной бумаги, обвязаны капроновой нитью по ГОСТ 15897 или шелковым шнуром.

Тара, применяемая для упаковывания продукции, должна быть чистой, сухой, без течи, ржавчины и постороннего запаха.

При упаковке жидких продуктов каждая единица тары должна иметь воздушное пространство от 3 до 5 % емкости тары.

Маркировка. По ГОСТ 31791-2012

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 31791-2012 и ГОСТ 9069-73.

1. Транспортируют транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на транспорте данного вида. Транспортирование пакетами производят по ГОСТ 24597, ГОСТ 21650.

2. Транспортируют в чистых, сухих, без постороннего запаха транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки скоропортящихся грузов, действующими на транспорте конкретных видов.

Хранение. По ГОСТ 9069-73.

Упакованные эфирные масла хранят в помещениях, защищенных от атмосферных осадков и солнечных лучей, при температуре от 15 до 25 °С.

Срок годности. 3 года.

Применение. Желчегонное, противовоспалительное и спазмолитическое средство.

Примечание: Реактивы, приведённые в настоящей Фармакопейной статье предприятия, описаны в соответствующих разделах Государственной фармакопеи Российской Федерации ГФ XIII издания.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Регистрационное удостоверение №

Дата регистрации

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

НОРМАТИВНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ

№ _____.

Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия

(торговое наименование лекарственного препарата)

Citri meyeri exocarpii oleum essentiale

(международное непатентованное или химическое наименование)

(лекарственная форма, дозировка)

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

ФАСОВЩИК (ПЕРВИЧНАЯ УПАКОВКА)

УПАКОВЩИК (ВТОРИЧНАЯ/ТРЕТИЧНАЯ УПАКОВКА)

ВЫПУСКАЮЩИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Эфирное масло, полученное механическим методом (прессованием), без помощи тепла и с предварительным разделением мякоти и кожуры, из свежих плодов цитрусовых лимонов Мейера *Citrus meyeri Tan.*, семейства *Rutaceae*, произрастающего в Республики Таджикистан, используемое в качестве лекарственного средства

СПЕЦИФИКАЦИЯ

«Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия»
 ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»
 Министерства здравоохранения Российской Федерации

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	ОФС.1.5.2.0001.15	от бледно-желтого до бледно-зеленовато-желтого цвета, прозрачная, подвижная жидкость
Запах	ОФС.1.5.2.0001.15	Специфический. Запах свежего лимона
Подлинность Компоненты эфирного масла	хромато-масс-спектрометрический метод	Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов, как представлено на рис 1.
Числовые показатели		
Плотность	по методу 1 ОФС.1.2.1.0014.15	0,849 - 0,858 г/см ³
Показатель преломления при 20 °С	ОФС. 1.2.1.0017.15	1,474 - 1,477
Угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С	ОФС.1.2.1.0018.15	От + 57 ⁰ до + 65 ⁰
Кислотное число	ОФС.1.2.3.0004.15	Не более 3
Карбонильное число	ГОСТ ISO 1271—2014.	11-17
Количественное определение. Содержание в эфирном масле лимонена	хромато-масс-спектрометрический метод	Лимонена не менее 70%
Примеси		
Жирные и минеральные масла	ОФС.1.5.2.0001.15	Не допускается
Спирт этиловый	ОФС.1.5.2.0001.15	Не допускается
Вода	ОФС.1.5.2.0001.15	Не допускается
Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0002.15	Категория 4б

1	2	3
Упаковка	ГОСТ 9069-73	Стеклянные банки из темного стекла с крышкой под закатку по действующей НТД 4. Горловины банок должны быть сверху покрыты пергаментной бумагой по ТУ 13—0248643—825 или подпергаментной бумагой по ГОСТ 1760, затем оберточной бумагой по ГОСТ 8273. При упаковке жидких продуктов каждая единица тары должна иметь воздушное пространство от 3 до 5 % емкости тары.
Маркировка	ГОСТ 31791-2012	
Транспортирование	ГОСТ 31791-2012, ГОСТ 9069-73	Транспортируют транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на транспорте данного вида.
Хранение	ГОСТ 9069-73	Упакованные эфирные масла хранят в помещениях, защищенных от атмосферных осадков и солнечных лучей, при температуре от 15 до 25 °С
Срок годности		3 года

Описание (ОФС.1.5.2.0001.15). Прозрачная, подвижная жидкость. Цвет от бледно-желтого до бледно-зеленовато-желтого цвета. Запах специфический (запах свежего лимона).

Цвет и прозрачность определяют, поместив 10 мл масла в цилиндр из прозрачного бесцветного стекла диаметром 2-3 см, наблюдая в проходящем свете. Запах определяют, нанося около 0,1 мл (2 капли) масла на полоску

фильтровальной бумаги длиной 12 см и шириной 5 см так, чтобы масло не смачивало края бумаги, и сравнивают запах испытуемого образца через каждые 15 минут с запахом контрольного образца, нанесенного таким же образом на фильтровальную бумагу. В течение 1 часа запах должен быть одинаков с запахом контрольного образца.

Подлинность

1. Хроматограмма эфирного масла, полученная при количественном определении должна иметь вид, как представлено на рис. 1. Идентификация отдельных компонентов производится на основе сравнения времен удерживания, индексов Ковача (табл. 1) и полных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки. Определяют в хроматограмме полученные репрезентативные и характерные компоненты, представленные в табл. 1

Таблица 1

Хроматографический профиль эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

№ п.п.	Наименование компонента	Время удерживания, мин	Индекс Ковача	Содержание компонента, %
				Эфирное масло
1	α -pinene	7,621	934	2,81
2	Sabinene	8,868	973	0,34
3	β -Pinene	9,041	978	7,89
4	Myrcene	9,396	989	1,98
5	p-Cymene	10,665	1026	3,44
6	Limonene	10,828	1030	71,86
7	γ -Terpinene	11,852	1059	4,92
8	Linalool	13,392	1102	0,41
9	α -Terpineol	16,873	1200	0,42
10	cis-p-Mentha-1(7),8-dien-2-o	18,308	1241	1,99
11	Geranial	19,335	1271	2,71
12	Citronellyl acetate	22,288	1359	0,51
13	β -Bourbonene	23,586	1399	0,32
14	Caryophyllene	24,348	1423	0,40

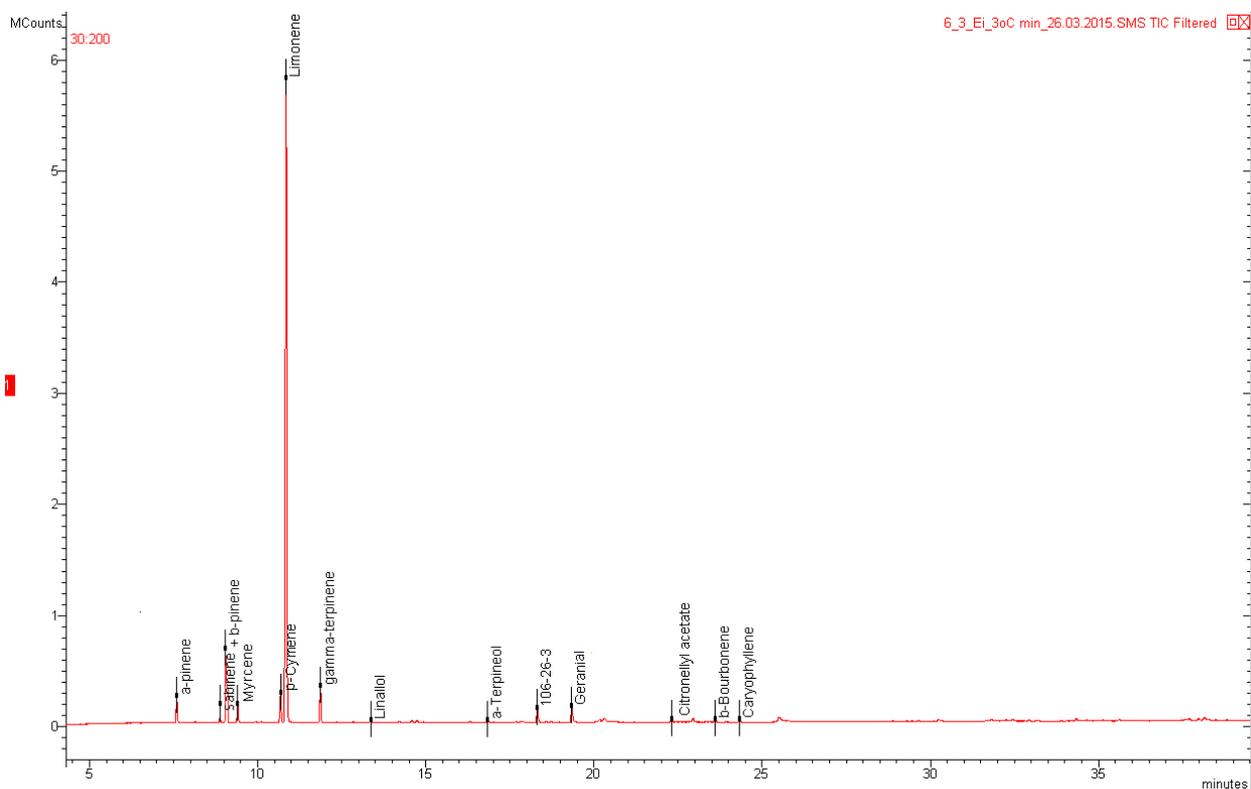


Рис. 1. Хроматограмма эфирного масла лимона Мейера экзокарпия

Числовые показатели

- 1 Плотность (по методу 1 ОФС.1.2.1.0014.15) 0,849 - 0,858 г/см³
2. Показатель преломления при 20 °С (ОФС. 1.2.1.0017.15) 1,474 - 1,476
3. Угол вращения плоскости поляризации света при 20 °С (ОФС.1.2.1.0018.15) От + 57⁰ до + 65⁰
4. Кислотное число (ОФС.1.2.3.0004.15) не более 3
5. Карбонильное число (ГОСТ ISO 1271—2014) 11-17

Количественное определение содержания в эфирном масле лимонена.

Определение проводят методом хромато-масс-спектрометрический методом.

Анализ проводят на хроматографе Varian CP 3800 с квадрупольным масс-спектрометром 4000 MS в качестве детектора. Используется кварцевая колонка VF-5 MS (5% фенил -, 95% диметилполисилоксан) длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм. Температура испарителя 280 °С, газ-носитель - гелий - 1 мл/мин. Температура колонки: 50 °С (2 мин), 50-270 °С (со скоростью 4 °С в мин), изотермический режим при 270 °С в течение 10

мин. Точную навеску масла (около 0,10 г) растворяют в 10 мл гексана и полученный раствор вводят в хроматограф в объеме 1 мкл при делении потока 1:50.

На хроматограммах определяют площадь пика, соответствующего лимонену.

Для индивидуального вещества - лимонена проводят градуировку зависимости площади пика от концентрации вещества и рассчитывают калибровочный коэффициент по уравнению вида:

$$C=k \cdot S,$$

где, k – калибровочный коэффициент; C – концентрация компонента, г/л; S – площадь пика

Значение калибровочного коэффициента $k=1,46 \cdot 10^{-7}$.

Содержание компонента в эфирном масле рассчитывали по формуле:

$$C\% = (C_{\text{компонента}} / C_{\text{масла}}) \cdot 100,$$

где $C_{\text{компонента}}$ – концентрация компонента, найденная по градуировочному графику, г/л

$C_{\text{масла}}$ - концентрация масла в пробе, г/л

За результаты анализа принимают среднее арифметическое 3 – 5 повторных измерений.

Содержание должно быть:

Лимонена не менее 70%,

Посторонние примеси

Жирные и минеральные масла (ОФС.1.5.2.0001.15) не допускается

Спирт этиловый (ОФС.1.5.2.0001.15) не допускается

Микробиологическая чистота (ОФС.1.5.2.0001.15)

Упаковка. В соответствии с ГОСТ 9069-73. Эфирное масло упаковывают в металлические тары:

1. банки металлические для химических продуктов по ГОСТ 6128 до 10 л
2. банки металлические цилиндрической или прямоугольной формы со съемной крышкой, или цельноспаянные, или с крышкой под закатку по действующей НТД до 40 л

Горловины бутылок и банок (за исключением банок и бутылок, закатанных металлической крышкой) должны быть сверху покрыты пергаментной бумагой по ТУ 13—0248643—825 или подпергаментной бумагой по ГОСТ 1760, затем оберточной бумагой по ГОСТ 8273, а для высших и дорогостоящих продуктов двумя слоями пергаментной бумаги, обвязаны капроновой нитью по ГОСТ 15897 или шелковым шнуром.

Тара, применяемая для упаковывания продукции, должна быть чистой, сухой, без течи, ржавчины и постороннего запаха.

При упаковке жидких продуктов каждая единица тары должна иметь воздушное пространство от 3 до 5 % емкости тары.

Маркировка. По ГОСТ 31791-2012

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 31791-2012 и ГОСТ 9069-73.

1. Транспортируют транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на транспорте данного вида. Транспортирование пакетами производят по ГОСТ 24597, ГОСТ 21650.

2. Транспортируют в чистых, сухих, без постороннего запаха транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки скоропортящихся грузов, действующими на транспорте конкретных видов.

Хранение. По ГОСТ 9069-73.

Упакованные эфирные масла хранят в помещениях, защищённых от атмосферных осадков и солнечных лучей, при температуре не выше 25 °С.

Срок годности. 3 года.

Применение. Желчегонное, противовоспалительное и спазмолитическое средство.

Примечание: Реактивы, приведённые в настоящей Фармакопейной статье предприятия, описаны в соответствующих разделах Государственной фармакопеи Российской Федерации ГФ XIII издания.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**Регистрационное удостоверение №****Дата регистрации**ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации**НОРМАТИВНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ**

№ _____.

ЛИПОВИТОЛ

(торговое наименование лекарственного препарата)

(международное непатентованное или химическое наименование)

Мягкие желатиновые капсулы, 0,04 г

(лекарственная форма, дозировка)

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

ФАСОВЩИК (ПЕРВИЧНАЯ УПАКОВКА)

УПАКОВЩИК (ВТОРИЧНАЯ/ТРЕТИЧНАЯ УПАКОВКА)

ВЫПУСКАЮЩИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

СПЕЦИФИКАЦИЯ**Липовитол****Мягкие желатиновые капсулы 0,04 г**

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	ОФС.1.4.1.0005.15 Визуально	Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью жёлто-зелёного цвета с характерным для герани душистой запахом
Подлинность 1. Компоненты эфирного масла 2. α -токоферола ацетата 3. ретинола ацетат	1а хромато-масс-спектрометрический метод 2. качественные реакции 3. качественные реакции	1а. Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов, как представлено на рис 1. 2. положительная 3. положительная
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 20 минут
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 0,0164 г Гераниола не менее 0,0038 г, Линалоола не менее 0,0010 г, Фенилэтилового спирта не менее 0,0002 г 2. α -токоферола ацетата от 0,0081 до 0,0099 г ретинола ацетат 0,0062 до 0,0076 г.

1	2	3
Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0002.15	категория 4б
Упаковка		Полимерная банка
Маркировка		
Транспортирование		
Хранение		от 15 до 25 °С
Срок годности		3 года (срок наблюдения)

Состав на одну капсулу

Действующие вещества:

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

Вспомогательное вещество: подсолнечное масло до 0,50 г

Оболочка капсулы: желатин, глицерин, вода очищенная

Описание Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желто-зеленого цвета с характерным для герани душистой запахом.

Подлинность

α -токоферол ацетат

К 0,5 г содержимого капсулы липовитола прибавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты и нагревают в течение 15 мин на водяной бане при температуре около 80⁰С, появляется красно-оранжевое окрашивание.

Ретинола ацетат

0,5г содержимого капсулы липовитола растворяют в 5 мл хлороформа и прибавляют 10 мл раствора хлорида сурмы, появляется нестойкое голубое окрашивание.

Компоненты эфирного масла

От испытуемой серии препарата отбирают случайным образом пробу в количестве 20 единиц. Затем из отобранных единиц выделяют эфирное масло

на приборе Клевенджера. В круглодонную колбу с нормальным шлифом 29 мм и объёмом 1 литр отобранную пробу капсул, заливают их 400 мл дистиллированной воды температуры (20-25⁰). Колбу хорошо закупоривают шлифовой пробкой (нормальный шлиф 29 мм) и оставляют в течение часа, встряхивая каждые 10 мин, при этом нельзя мочить шлифовую пробку.

После истечения вышеуказанного времени колбу добавляются несколько зерен керамических кипелок и соединяют с аппаратом Клевенджера. Колба подогревается (на электрической плитке) и проводится водяная дистилляция в течение 3 часов, время отсчитывается с момента начала кипения в колбе. За 5 минут до окончания дистилляции охлаждающая вода в холодильнике останавливается, причём нижняя часть холодильника нагревается до 30-40⁰С, чтобы прилипшее к стенкам холодильника гераниевое масло могло бы полностью отделиться в приёмник. Допускается слабое отделение неконденсированных паров, но при первом их появлении холодная вода пускается в холодильник. После полного отделения масляной жидкости в приёмнике нагревание колбы прекращают, масляная жидкость переходит в градуированную часть аппарата. Нижний водный слой сливается и отбрасывается, масляная фаза собирается в приёмник и используется в дальнейшем исследовании

1. Хроматограмма выделенной масляной фазы должна иметь вид, как представлено на рис. 1. Идентификация отдельных компонентов производится на основе сравнения времён удерживания, индексов Ковача (табл. 1) и полных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки. Определяют в хроматограмме полученные репрезентативные и характерные компоненты, представленные в табл. 1. Методика хроматографического анализа указана в разделе «Количественное определение»

Хроматографический профиль масляной фазы

Время удерживания, мин	Индекс Ковача	Наименование компонента
13.392	1102	Linalool
13.760	1113	Phenylethanol
14.347	1129	trans-Rose oxide
15.460	1160	Menthone
15.790	1170	Isomenthone
16,873	1200	α -Terpineol
17.946	1231	Citronellol
18.750	1254	Geraniol
19.483	1275	Citronellyl formate
20.333	1300	Geranyl formate
24.348	1423	Caryophyllene
27.505	1526	Citronellyl butyrate
28.424	1557	Geraniol butyrate
29.293	1587	10-epi- γ -eudesmol
29.674	1600	Phenylethyl tiglate
32.425	1698	Geranyl tiglate

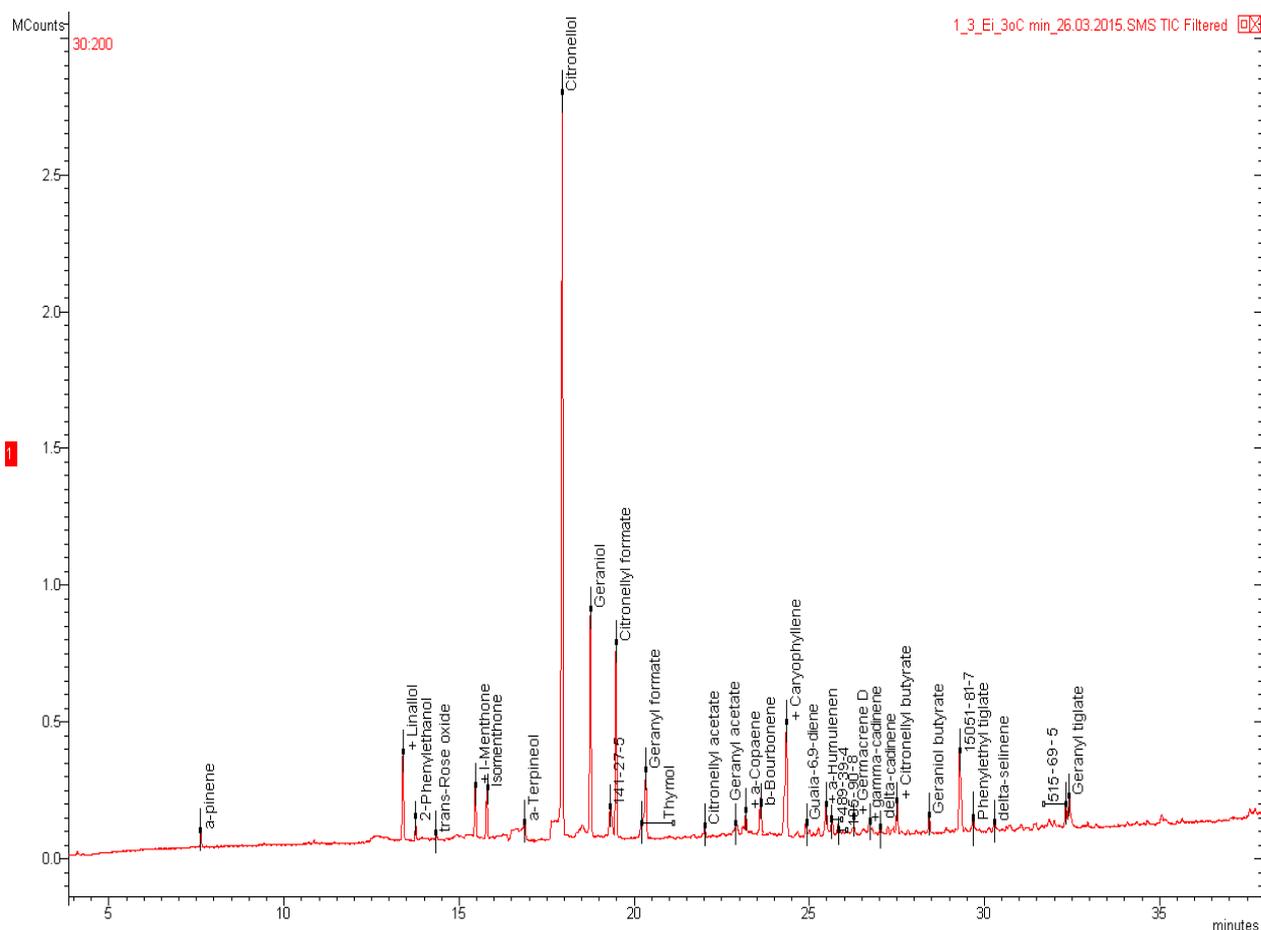


Рис. 1. Хроматограмма масляной фазы

2. К 0,05 г выделенной масляной фазы прибавляли 10 мл этанола (раствор А).

На линию старта хроматографической пластинки марки «Silufo», размером 10×12 см, с помощью микрошприца наносят: в первую точку - 5 мкл раствор А, во вторую – 5 мкл раствора СОВС цитронеллола, в третью - 5 мкл раствора СОВС гераниола, в четвертую - 5 мкл раствора СОВС линалоола и в пятую - 5 мкл раствора СОВС фенилэтилового спирта. Пластинку сушили на воздухе в течение 5 минут и хроматографируют восходящим способом в смеси растворителей бензол:хлороформ (1:1). После достижения растворителем линии фронта – 10 см, пластинку вынимают и высушивают на воздухе в течение 10 минут, а затем детектируют 5 % спиртовым раствором фосфорномолебденовой кислоты и нагревают в сушильном шкафу при $t^{\circ} = 105 - 110$ °С в течение 5 – 10 минут. При этом

хроматографические зоны проявлялись в виде темно-синих пятен на светло-желтом фоне совпадающие по значению R_f с пятнами СОВС (R_f ~ гераниола – $0,13 \pm 0,04$, цитронеллола – $0,19 \pm 0,005$, линалоола – $0,25 \pm 0,02$, фенилэтилового спирта – $0,35 \pm 0,01$).

- Примечание:**
1. Приготовление раствора СОВС цитронеллола: 0,01 г цитронеллола - стандарта («Alfa Aesar», A19016, Lot 10180517) помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Срок годности раствора – 10 дней.
 2. Приготовление раствора СОВС гераниола: 0,01 г гераниола - стандарта («Alfa Aesar», A13736, Lot 10180072) помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Срок годности раствора – 10 дней.
 3. Приготовление раствора СОВС линалоола: 0,01 г линалоола - стандарта («Alfa Aesar», A14424, Lot 1017400) помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Срок годности раствора – 10 дней.
 4. Приготовление раствора СОВС 2-фенилэтанола: 0,01 г 2-фенилэтанола - стандарта («Alfa Aesar», A15241, Lot 10179159) помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в небольшом количестве этанола и доводили объем до метки. Срок годности раствора – 10 дней.
 5. Приготовление 5 % раствора фосфорномолибденовой кислоты. 0,50 г фосфорномолибденовой кислоты растворяют в 10 мл этанола. Раствор используют свежеприготовленным.

Распадаемость согласно методике ОФС.1.4.2.0013.15. Капсулы должны распадаться в воде за время не более 30 мин.

Однородность массы согласно методике ОФС.1.4.2.0009.15

Оболочку капсул промывают изопропиловым спиртом.

Однородность дозирования эфирного масла согласно методике ОФС.1.4.2.0008.15 метод 2.

Из отобранных единиц капсул выделяют эфирное масло на приборе Клевенджера как описано в разделе «Подлинность».

Содержание эфирного масла в одной капсуле, г (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot \rho}{a}$$

Где V – объем выделенной масляной фазы, мл

ρ – плотность эфирного масла герани душистой, которое использовалось при производстве капсул, г/см³

a – количество капсул взятых для анализа (20 единиц)

Количественное определение

Ретинола ацетат и α -токоферола ацетат

Количественное определение проводили по ОФС.1.2.3.0017.15 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

За результаты анализа принимают среднее арифметическое 3 – 5 повторных измерений.

Содержание должно быть:

α -токоферола ацетата от 0,0081 до 0,0099 г

ретинола ацетат 0,0062 до 0,0076 г.

Цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта

От испытуемой серии препарата отбирают случайным образом пробу в количестве 20 единиц. Затем из отобранных единиц выделяют эфирное масло на приборе Клевенджера согласно методике представленной в разделе «Подлинность». Выделенную масляную фазу высушивают над безводным натрием сульфатом и используют для количественного определения цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта. Определение проводят хромато-масс-спектрометрический метод.

Анализ проводят на хроматографе Varian CP 3800 с квадрупольным масс-спектрометром 4000 MS в качестве детектора. Используется кварцевая колонка VF-5 MS (5% фенил -, 95% диметилполисилоксан) длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм. Температура испарителя 280 °С, газ-носитель - гелий - 1 мл/мин. Температура колонки: 50 °С (2 мин), 50-270 °С (со скоростью 4 °С в мин), изотермический режим при 270 °С в течение 10 мин. Точную навеску масляной фазы (около 0,10 г) растворяют в 10 мл гексана и полученный раствор вводят в хроматограф в объеме 1 мкл при делении потока 1:50.

На хроматограммах определяют площади пиков, соответствующих цитронеллолу, гераниолу, линалоолу и фенилэтиловому спирту.

Для индивидуальных веществ (стандартов цитронеллола, гераниола, линалоола и фенилэтилового спирта) проводят градуировку зависимости площади пика от концентрации вещества и для каждого компонента рассчитывают калибровочный коэффициент (табл. 2) по уравнению вида:

$$k = C/S,$$

где, k – калибровочный коэффициент; C – концентрация, г/л; S – площадь пика.

Таблица 2

Значения калибровочных коэффициентов

Наименование компонента	Значение калибровочного коэффициента k
Linalool	$1,77 \cdot 10^{-7}$
Phenyletanol	$1,83 \cdot 10^{-7}$
Citronellol	$1,95 \cdot 10^{-7}$
Geraniol	$1,91 \cdot 10^{-7}$

Содержание линалоола, фенилэтилового спирта, цитронеллола, гераниола и лимонена в одной капсуле, г (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{281 \cdot C\% \cdot V \cdot \rho}{20 \cdot 100}$$

Где С% – содержание компонента в эфирном масле, %;

V – объем выделенной масляной фазы, мл

ρ – плотность эфирного масла лимона Мейера, которое использовалось при производстве капсул, г/см³

20 – количество капсул взятых для анализа

За результаты анализа принимают среднее арифметическое 3 – 5 повторных измерений.

Содержание должно быть:

Цитронеллола не менее 0,0164 г

Гераниола не менее 0,0038 г,

Линалоола не менее 0,0010 г,

Фенилэтилового спирта не менее 0,0003

Примечание: При проведении испытания следует использовать стандартные вещества (линалоола, фенилэтилового спирта, изоментона, цитронеллола и гераниола) достаточной чистоты не менее 97%

Упаковка Полимерная банка

Маркировка

Транспортирование

Хранение от 15 до 25 °С

Срок годности. 3 года (срок наблюдения).

Применение. Желчегонное, противовоспалительное и спазмолитическое средство.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**Регистрационное удостоверение №****Дата регистрации**ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации**НОРМАТИВНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ**

№ _____.

ЛИМОНЕОЛ

(торговое наименование лекарственного препарата)

(международное непатентованное или химическое наименование)

Мягкие капсулы, 0,04 г

(лекарственная форма, дозировка)

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

ФАСОВЩИК (ПЕРВИЧНАЯ УПАКОВКА)

УПАКОВЩИК (ВТОРИЧНАЯ/ТРЕТИЧНАЯ УПАКОВКА)

ВЫПУСКАЮЩИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

СПЕЦИФИКАЦИЯ**Лимонеол****Мягкие желатиновые капсулы 0,04 г**

ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	ОФС.1.4.1.0005.15 Визуально	Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью жёлтого цвета с характерным для лимона запахом
Подлинность Компоненты эфирного масла	хромато-масс-спектрометрическим методом	1. Хроматограмма должна иметь вид, по положению пиков основных компонентов, как представлено на рис 1.
Однородность массы	ОФС.1.4.2.0009.15	В соответствии с требованиями
Однородность дозирования эфирного масла	ОФС.1.4.2.0008.15 метод 2	В соответствии с требованиями
Распадаемость	ОФС.1.4.2.0013.15	не более 30 минут
Количественное определение: лимонена	хромато-масс-спектрометрический метод	Лимонена не менее 0,0280 г
Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0002.15	категория 4б
Упаковка		Полимерная банка
Маркировка		
Транспортирование		
Хранение		от 15 до 25 °С
Срок годности		3 года (срок наблюдения)

Состав на одну капсулу

Действующее вещество:

Эфирное масло лимона Мейера экзокарпия 0,0400 г

Вспомогательное вещество: подсолнечное масло до 0,50 г

Оболочка капсулы: желатин, глицерин, вода очищенная

Описание Капсулы овальной формы, заполненные маслянистой жидкостью желтого цвета с характерным для лимона запахом.

Подлинность**Компоненты эфирного масла**

От испытуемой серии препарата отбирают случайным образом пробу в количестве 20 единиц. Затем из отобранных единиц выделяют эфирное масло на приборе Клевенджера. В круглодонную колбу с нормальным шлифом 29 мм и объёмом 1 литр отобранную пробу капсул, заливают их 400 мл дистиллированной воды температуры (20-25⁰). Колбу хорошо закупоривают шлифовой пробкой (нормальный шлиф 29 мм) и оставляют в течение часа, встряхивая каждые 10 мин, при этом нельзя мочить шлифовую пробку. После истечения вышеуказанного времени колбу добавляются несколько зерен керамических кипелок и соединяют с аппаратом Клевенджера. Колба подогревается (на электрической плитке) и проводится водяная дистилляция в течение 3 часов, время отсчитывается с момента начала кипения в колбе. За 5 минут до окончания дистилляции охлаждающая вода в холодильнике останавливается, причём нижняя часть холодильника нагревается до 30-40⁰С, чтобы прилипшее к стенкам холодильника гераниевое масло могло бы полностью отделиться в приёмник. Допускается слабое отделение неконденсированных паров, но при первом их появлении холодная вода пускается в холодильник. После полного отделения масляной жидкости в приёмнике нагревание колбы прекращают, масляная жидкость переходит в градуированную часть аппарата. Нижний водный слой сливается и

отбрасывается, масляная фаза собирается в приемник и используется в дальнейшем исследовании

1. Хроматограмма выделенной масляной фазы должна иметь вид, как представлено на рис. 1. Идентификация отдельных компонентов производится на основе сравнения времен удерживания, индексов Ковача (табл. 1) и полных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки. Определяют в хроматограмме полученные репрезентативные и характерные компоненты, представленные в табл. 1. Методика хроматографического анализа указана в разделе «Количественное определение»

Таблица 1

Хроматографический профиль выделенной масляной фазы

№ п.п.	Наименование компонента	Время удерживания, мин	Индекс Ковача
1	α -pinene	7,621	934
2	Sabinene	8,868	973
3	β -Pinene	9,041	978
4	Myrcene	9,396	989
5	p-Cymene	10,665	1026
6	Limonene	10,828	1030
7	γ -Terpinene	11,852	1059
8	Linalool	13,392	1102
9	α -Terpineol	16,873	1200
10	cis-p-Mentha-1(7),8-dien-2-o	18,308	1241
11	Geranial	19,335	1271
12	Citronellyl acetate	22,288	1359
13	β -Bourbonene	23,586	1399
14	Caryophyllene	24,348	1423

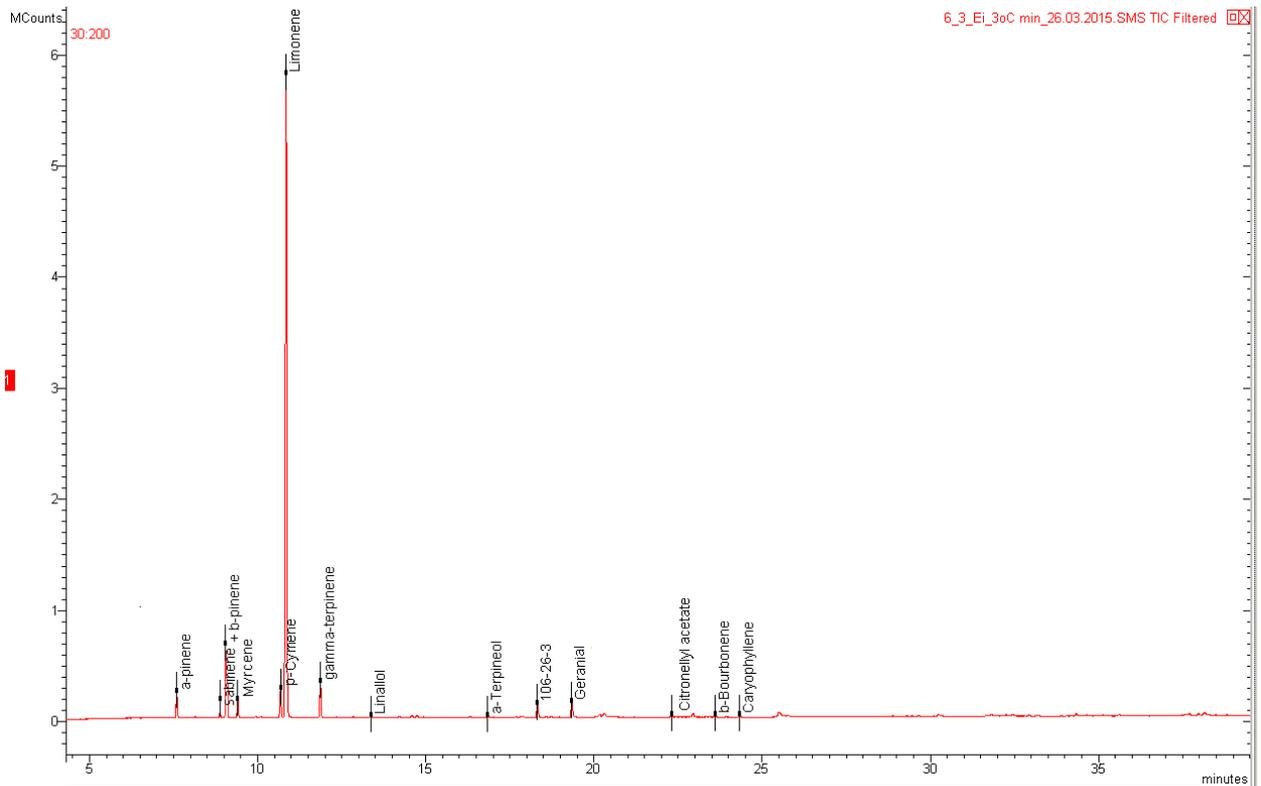


Рис. 1. Хроматограмма эфирного масла лимона Мейера

Распадаемость согласно методике ОФС.1.4.2.0013.15. Капсулы должны распадаться в воде за время не более 30 мин.

Однородность массы согласно методике ОФС.1.4.2.0009.15

Оболочку капсул промывают изопропиловым спиртом.

Однородность дозирования эфирного масла согласно методике ОФС.1.4.2.0008.15 метод 2.

Из отобранных единиц капсул выделяют эфирное масло на приборе Клевенджера как описано в разделе «Подлинность».

Содержание эфирного масла в одной капсуле, г (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot \rho}{a}$$

Где V – объем выделенной масляной фазы, мл

ρ – плотность эфирного масла герани душистой, которое использовалось при производстве капсул, г/см³

a – количество капсул взятых для анализа (10 или 30)

Количественное определение

Лимонена

Полученную масляную фазу от количественного определения эфирного масла используют для количественного определения лимонена. Определение проводят хромато-масс-спектрометрическим методом.

Анализ проводят на хроматографе Varian CP 3800 с квадрупольным масс-спектрометром 4000 MS в качестве детектора. Используется кварцевая колонка VF-5 MS (5% фенил -, 95% диметилполисилоксан) длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм. Температура испарителя 280 °С, газ-носитель - гелий - 1 мл/мин. Температура колонки: 50 °С (2 мин), 50-270 °С (со скоростью 4 °С в мин), изотермический режим при 270 °С в течение 10 мин. Точную навеску масляной фазы (около 0,10 г) растворяют в 10 мл гексана и полученный раствор вводят в хроматограф в объеме 1 мкл при делении потока 1:50.

На хроматограмме определяют площадь пика, соответствующего лимонену.

Для индивидуального вещества - лимонена проводят градуировку зависимости площади пика от концентрации вещества и рассчитывают калибровочный коэффициент по уравнению вида:

$$C=k \cdot S,$$

где, k – калибровочный коэффициент; C – концентрация компонента, г/л; S – площадь пика.

Значение калибровочного коэффициента $k=1,46 \cdot 10^{-7}$.

Содержание лимонена в эфирном масле рассчитывали по формуле:

$$C\% = (C_{\text{компонента}} / C_{\text{масла}}) \cdot 100,$$

где $C_{\text{компонента}}$ – концентрация компонента, найденная по градуировочному графику, г/л

$C_{\text{масла}}$ - концентрация масла в пробе, г/л

Содержание лимонена в одной капсуле, г (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C\% \cdot V \cdot \rho}{20 \cdot 100}$$

Где $C\%$ – содержание лимонена в эфирном масле, %;

V – объем выделенной масляной фазы, мл

ρ – плотность эфирного масла лимона Мейера, которое использовалось при производстве капсул (среднее 0,853), г/см³

20 – количество капсул взятых для анализа

За результаты анализа принимают среднее арифметическое 3 – 5 повторных измерений.

Содержание должно быть:

Лимонена не менее 0,0280 г

Примечание: При проведении испытания следует использовать стандартное вещество лимонена достаточной чистоты не менее 97%

Упаковка Полимерная банка

Маркировка

Транспортирование

Хранение от 15 до 25 °С

Срок годности. 3 года (срок наблюдения).

Применение. Желчегонное, противовоспалительное и спазмолитическое средство.