

КОМИТЕТ ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ  
АДМИНИСТРАЦИИ ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

***ОТХОДЫ ПРОМЫШЛЕННОЙ ПЕРЕРАБОТКИ  
(ШРОТ) ЯБЛОК ОАО «САДЫ ПРИДОНЬЯ»  
– БОГАТЫЙ ИСТОЧНИК ЦЕННЫХ  
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ***

*Методические рекомендации*

Волгоград, 2007

«УТВЕРЖДАЮ»

Председатель Комитета по здравоохранению

Администрации Волгоградской области

Заслуженный врач РФ

Е.А. Анищенко

«30» ноября 2007 г



Комитет по здравоохранению Администрации Волгоградской области

Волгоградский государственный медицинский университет

**Отходы промышленной переработки (шрот) яблок  
ОАО «Сады Придонья» – богатый источник  
ценных биологически активных веществ**

Методические рекомендации

Волгоград, 2007

Составители:

А.В. Симонян, А.А. Саламатов, А.А. Аванесян.

Настоящие методические рекомендации посвящены разработке технологии комплексной переработки промышленных отходов (шрота) яблок, после производства сока на ОАО «Сады Придонья». Комплексная переработка шрота яблок позволяет получать потенциальные лекарственные средства и лекарственные формы на их основе, характеризующиеся широким спектром фармакологической активности в сочетании с низкой токсичностью.

Методические рекомендации предназначены для специалистов здравоохранения – врачей, провизоров, интернов, ординаторов и аспирантов, а также для студентов фармацевтического факультета и слушателей послевузовского образования.

Рецензенты:

**А.В. Гукасян** – заместитель председателя Комитета по здравоохранению администрации Волгоградской области по фармацевтической деятельности

**Б.Б. Сысуев** – канд. фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии Волгоградского государственного медицинского университета

## Содержание

<b>Введение</b> .....	5
<b>Биологически активные вещества яблок</b> .....	7
Химический состав яблок.....	7
Фармакологическая активность БАВ из яблок.....	11
Применение яблок в народной медицине.....	12
<b>Разработка технологии выделения и очистки БАВ из отходов яблок и лекарственных форм на их основе</b> .....	14
Разработка технологии субстанции випома и лекарственных форм на его основе.....	14
Разработка технологии субстанции випома.....	14
Исследование фармакологической активности субстанции випома.....	19
Разработка технологии жидкой лекарственной формы субстанции випома.....	23
Разработка технологии гранул випома.....	27
Разработка технологии мази випома.....	34
Исследование ранозаживляющей активности мази випома.....	42
Разработка технологии помала и лекарственных форм на его основе.....	46
Разработка технологии помала.....	46
Разработка технологии гранул помала.....	51
Разработка технологии таблеток помала.....	59
<b>Заключение</b> .....	65
<b>Список литературы</b> .....	67
<b>Приложение</b> .....	73

## ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных задач современного здравоохранения является разработка технологии новых высокоэффективных лечебно-профилактических средств, характеризующихся низкой токсичностью и отсутствием побочных эффектов.

Перспективным направлением решения этой проблемы является поиск новых природных источников биологически активных веществ (БАВ) в промышленных отходах растительного сырья. Так, из шрота травы чабреца предложен лекарственный препарат «Терисерп», содержащий сумму тритерпеноидов и обладающий гиполипидемическим, противоатеросклеротическим, иммуномодулирующим и кардиотоническим действием в сочетании с низкой токсичностью. Аналог терисерпа — «Гипурам» предложен из промышленных отходов плодов облепихи.

Плоды растений рода яблоня богаты БАВ: тритерпеноидами, пектиновыми веществами,  $\alpha$ -аминокислотами и другими органическими кислотами, сахарами, витаминами, флаваноидами, дигидрохалконами, катехинами. Однако, несмотря на это, применение яблок в фармацевтической промышленности ограничено получением экстракта яблочного железа и яблочного порошка, при этом вовсе не используется ряд БАВ.

Ранее одним из авторов с соавторами запатентована технология получения из шрота яблок субстанции, содержащей сумму тритерпеноидов и являющейся аналогом терисерпа. Следует отметить, что после выделения целевого продукта в сырье остаются другие ценные БАВ:  $\alpha$ -аминокислоты, флавоноиды, пектиновые вещества. Так,  $\alpha$ -аминокислоты, флавоноиды обладают гепато- и радиопротекторной, желчегонной активностью, усиливают регенеративные процессы в организме. Пектиновые вещества характеризуются сорбционным, а также гиполипидемическим действием.

С этих позиций представляет интерес разработать технологию комплексной переработки промышленных отходов (шрота) яблок, после произ-

водства сока на ОАО «Сады Придонья», позволяющую получать ценные БАВ, а также лекарственные формы на их основе.

Проведенные исследования позволят предложить доступные, малотоксичные лекарственные средства широкого спектра фармакологической активности.

## **БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ЯБЛОК**

Яблоня – самая распространенная плодовая культура стран с умеренным и субтропическим климатом. Из 10 тысяч разновидностей яблони, описанных в помологических атласах, только более 100 имеют промышленное значение. Во многих странах соответствующие государственные органы предписывают питомникам обязательный набор сортов [24, 31].

Большое многообразие видов яблони обнаружено в поймах Волги и Дона. Садоводство данного региона имеет своеобразный характер развития, отличный от других районов России. В формировании местного сортимента яблони принимали участие, с одной стороны, южные и западноевропейские сорта, поступавшие из Крыма, питомников юга Украины, и, с другой стороны – среднерусские сорта. Жаркий и резкоконтинентальный климат способствует выращиванию интенсивно окрашенных нежных яблок с высокими вкусовыми качествами. Из культивируемых сортов яблонь Поволжья в настоящее время наиболее широко распространены следующие: Мелба, Дочь Папировки, Квинти, Конфетное (летние сорта), Боровинка, Осеннее полосатое, Анис алый (осенние), Северный синап, Память Мичурина, Джонатан (зимние) [16].

### **Химический состав яблок**

Свежие яблоки содержат 83–86 % воды, 13,8 % безазотистых экстрактивных веществ, 0,4 % белка, 1,3 % клетчатки, 0,2 % жира, воск, фурфурол, сахара, витамины, каротин, микро- и макроэлементы, эфирное масло, тритерпеноиды, пектиновые вещества, фенольные соединения и другие органические кислоты (винная, фолиевая) [11]. Семена содержат до 33 % жирного масла, около 0,6 % амигдалина, эфирное масло, фитонциды. Кроме того, в яблоках содержатся 17  $\alpha$ -аминокислот, из которых 7 незаменимых. В семенах преобладает кислота глутаминовая, в мякоти – аспарагиновая, в кожице – лизин и фенилаланин [38].

Различные сорта яблок содержат кислоту аскорбиновую и полифенольные вещества, обладающие высокой антиоксидантной активностью [12, 27].

В плодах яблони удовлетворительными считают сорта яблок, содержащие 8–10 мг % витамина С и 40–50 мг % витамина Р, хорошими и отличными – соответственно 25–30 и 75–100 мг %. В средней зоне садоводства встречаются сорта яблок с наиболее высоким содержанием витаминов С и Р. Из них витамином С богаты Папировка (22,4 мг %), Мелба (16,1 мг %), Антоновка (14,3 мг %). Витамина Р (250–360 мг %) больше всего содержат сорта Апорт белый, Кронсельское прозрачное, Память Шевченко и Ренет Кичунова [12].

В яблоках сорта Кермерриан и французских сидорных сортах методом ВЭЖХ определено содержание фенольных веществ (производные кислоты оксикоричной, флаван-3-олы, флаванолы и дигидрохалконы). Обнаружено, что в различных тканях яблок доминируют флаван-3-олы, особенно процианидины, многие из которых представлены высокополимерными соединениями [45, 50].

Несмотря на различия в полифенольном составе отдельных сортов яблок, кожица наиболее богата указанными выше соединениями, особенно кверцетином и рутином [43, 44, 48]. В то же время, основными видами фенольных соединений в мякоти всех сортов являются флаван-3-олы и кислоты гидроксикоричные, содержание которых составляет от 86 до 95 % от общего содержания полифенольных соединений [43].

Исследована динамика накопления кислоты аскорбиновой и полифенольных соединений в яблоках, произрастающих на Кубани в процессе созревания и хранения, и установлен ряд закономерностей. Так, кислота аскорбиновая синтезируется в основном в тканях наружного эпидермиса яблок и ее количественное содержание не обусловлено степенью их зрелости и определяется в основном помологическим сортом яблок. Наоборот, полифенольный состав плодов, оказывающий большое влияние на формирование вкуса и цвета плодов, обуславливается состоянием их зрелости и, в меньшей степени,



погодными условиями. Максимальное количество катехинов, лейкоантоцианов содержат незрелые плоды. По мере созревания количество этих полифенолов снижается, а окисленных форм – флавонолов (рутин, кверцетин) – увеличивается. Среди флавоноидов в яблоках преобладают вещества с Р-витаминной активностью (103–224 мг %) и лейкоантоцианы (90–220 мг %) [27].

Несмотря на изменчивость состава фенольных соединений яблок, установлено, что время сбора и условия хранения не оказывают существенного влияния на антиоксидантную активность полифенолов [52]. Однако не удалось выявить корреляции между антиоксидантной активностью яблок и содержанием отдельных классов биологически активных веществ (БАВ), входящих в их состав [48].

Яблоки содержат также пектиновые вещества, содержание которых колеблется от 0,8 % у летних сортов до 1,4 % у зимних (в пересчете на сырую массу плодов). Важным источником получения пектина являются шрот яблок – отходы производства соков [37].

В состав яблок также входит группа летучих веществ, образующаяся главным образом в процессе их ферментации при хранении и переработке. Методами газожидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектроскопией идентифицированы следующие соединения: этил-2-метилбутират, этилацетат, этилбутират, этилгексаноат, этилпропионат, 2-метилбутилацетат, которые обеспечивают характерный аромат яблок [47].

Таким образом, яблоки являются доступным источником получения БАВ, представляющих значительный интерес для фармации. Особую ценность с точки зрения промышленного производства представляют отходы яблок – шрот. Так, разработана технология получения суммы тритерпеноидов, заключающаяся в 4-кратном экстрагировании шрота яблок кипящим 96 % этанолом при соотношении сырье-экстрагент 1:5–1:6 с последующей отгонкой этанола, сгущением, фильтрацией и сушкой. Выход целевого продукта 5 % [1]. Предложенный метод характеризуется доступностью, не свя-

зан с использованием токсичных экстрагентов, агрессивных реактивов и может быть рекомендован для промышленного производства потенциального гиполипидемического средства.

Разработаны две технологические схемы переработки шрота яблок. Первая позволяет получить пектин и сумму органических кислот с выходами 6,5 % и 7,8 %, соответственно. Перед выделением пектина сырье обрабатывают раствором кальция гидроксида для перевода пектина и органических кислот в нерастворимые соли кальция и промывают горячей водой. При этом из шрота яблок удаляется до 30 % водорастворимых балластных веществ, снижающих качество пектина. Далее из шрота получают пектин по традиционной технологической схеме: сырье экстрагируют подкисленной водой, затем осаждают пектин из извлечения ацетоном, сушат и измельчают. Вторая – предполагает получение воска, пектина и фурфурола. На первом этапе из шрота яблок гексаном извлекают воск, широко используемый в косметической и фармацевтической промышленности. Затем получают пектин по традиционной технологии, при этом его выход увеличивается на 3–7 %, время гидролиза сокращается из-за снятия с поверхности шрота воскового налета, что позволяет более эффективно использовать сырье. Далее, кислотным гидролизом пентозанов из него получают фурфурол, используемый в химической промышленности [8].

Разработана технология комплексной переработки шрота яблок, позволяющая получить пектин и сумму полифенолов, обладающих антиоксидантной активностью. Шрот яблок экстрагируют разбавленной минеральной кислотой и выделяют из извлечения фенольные соединения осаждением на сополимере стирола и дивинилбензола. Затем полифенолы элюируют метанолом и полученное извлечение сгущают под вакуумом и сушат сублимационной сушкой. На следующей стадии получают пектин высокой степени очистки, с высокой гелеобразующей способностью. Выделенные полифенольные соединения и пектин, обладая антиоксидантной активностью, могут быть использованы как биологически активные добавки к пищевым продуктам [49].

Следует отметить, что получение пектина – многостадийный и трудоемкий процесс, связанный с высоким расходом этанола [37]. С этих позиций более рационально предложить технологию субстанции, содержащей пектиновые вещества, аминокислоты, полифенолы, обладающие антиоксидантным, гиполипидемическим, гепатопротекторным действием.

### **Фармакологическая активность БАВ из яблок**

Фармакологические свойства яблок обусловлены присутствием пентациклических тритерпеноидов (главным образом – кислоты урсоловой), фенольных соединений, аминокислот, пектиновых веществ. Так, тритерпеновые вещества характеризуются гиполипидемическим, противоатеросклеротическим, иммуномодулирующим и кардиотоническим действием в сочетании с низкой токсичностью [1].

Также установлено, что кислоты урсоловая и 2- $\alpha$ -гидроксиурсоловая, выделенные из кожицы яблок, обладают противоопухолевой активностью [51].

Многие пентациклические тритерпеноиды, в том числе и кислота урсоловая обладают противовоспалительной активностью, не уступающей нестероидным противовоспалительным средствам, например вольтарену, однако, в отличие от них, данные соединения не обладают ульцерогенным действием, а наоборот усиливают регенеративные процессы. Так, в опытах *in vitro* установлено, что кислота урсоловая избирательно ингибирует активность циклооксигеназы-2 и синтез простагландина E<sub>2</sub>, предотвращая канцерогенез, одним из факторов, развития которого являются хронические воспалительные процессы [46].

Ценные свойства яблок связаны также с содержанием в них значительного количества полифенольных соединений (фенолокислоты, катехины, кверцетин, флоретин), обладающих выраженной антиоксидантной активностью. В опытах *in vivo* установлено, что под влиянием диеты лиофилизированными яблоками у крыс уменьшается интенсивность перекисного окисле-

ния мембран клеток, снижается уровень малонового диальдегида в сердце и почках, триглицеридов – в печени, что в значительной степени обуславливает гипохолестеринемическую, гепато- и кардиопротекторную активность яблок. Лиофилизированные яблоки также способствуют уменьшению интенсивности окислительных деструкций в почках и снижают уровень глюкозо- и протеинурии [40].

### **Применение яблок в народной медицине**

Яблоки обладают приятными вкусовыми и ценными лечебными свойствами. Издавна их используют в народной медицине в свежем, моченом, сушеном виде (сборы, отвары, порошки) [11, 31].

Благодаря высокому содержанию фенолокислот и их сложных эфиров, яблоки (преимущественно сладкие сорта) рекомендованы для профилактики мочекаменной болезни. Для улучшения минерального обмена обычно назначают чай, приготовленный из 2–3 неочищенных яблок, прокипяченных 15 мин в 1 литре воды. Кроме того, отвары из сладких сортов показаны при гастритах с повышенной кислотностью, почечно- и желчнокаменной болезнях, а также при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Так, при ишемической болезни сердца эффективен чай из яблочной кожуры, который готовят настаиванием 10 г кожуры в 200 мл горячей воды в течение 1 ч. Затем, к извлечению добавляют одну чайную ложку натурального меда и 1–2 капли розового масла. Применяют по 100 мл 2–3 раза в день в течение 14 дней. Через месяц курс повторяют. Кислые сорта яблок, богатые органическими кислотами, рекомендуют при гастритах с пониженной кислотностью [31].

Свежий сок яблок показан как желчегонное, мочегонное средство, а также при гепатохолециститах, заболеваниях ЖКТ, артритах [48].

Отвары из яблок показаны также при сахарном диабете, ларингите, бронхите и для поддержания умственного и физического тонуса. Сушеные яблоки, вместе с алычей, урюком, персиками, черносливом, грушей в виде сборов, назначают при спастических колитах, антацидном гастрите [16].

Кроме яблок, в народной медицине широко используют листья, кору, древесину и корни яблони. Так, отвар из листьев яблони показан при ларингитах, фарингитах, а настой – принимают внутрь как потогонное средство, или, заваривая с листьями облепихи, шиповника, используют при остеохондрозе. Ацетоновые и этаноловые извлечения из древесины яблони применяются как антибактериальные средства [11].

Настой коры яблони в индийской медицине применяется при перемежающейся лихорадке, а отвар из корней – как снотворное, жаропонижающее средство, а также при сахарном диабете [31, 40].

Яблоки часто используют в косметике. Так, маски из тертых свежих яблок применяют для очищения как жирного, нормального, так и сухого типа кожи лица. Их назначают при пористой и морщинистой коже, при наличии веснушек и пигментных пятен. При приготовлении маски для нормального типа кожи, к тертым яблокам рекомендуют добавлять равные количества тертой моркови и нежирного кефира. Маски из яблок применяют 2–3 раза в неделю. Под влиянием яблочного сока кожа долго сохраняет свежесть [11].

Таким образом, богатый комплекс БАВ яблок обуславливает их эффективность при лечении и профилактики заболеваний, сопровождающихся множественными метаболическими нарушениями. На этом основании представляет интерес разработать технологию комплексной переработки промышленных отходов (шрота) яблок для получения фракции, содержащей аминокислоты, полифенолы, пектиновые вещества, и очищенной суммы три-терпеновых веществ, а также лекарственных форм (ЛФ) на их основе.

# РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БАВ ИЗ ОТХОДОВ ЯБЛОК И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ИХ ОСНОВЕ

## Разработка технологии субстанции вилома и лекарственных форм на его основе

### *Разработка технологии субстанции вилома*

Шрот яблок является доступным источником получения субстанции, которая представляет собой сгущенное водное извлечение, содержащее  $\alpha$ -аминокислоты, пектиновые вещества, флавоноиды, производные оксикоричных кислот, под рабочим названием «субстанция вилома».

Для получения субстанции вилома нами проведена оптимизация процесса экстрагирования шрота яблок. На полноту извлечения **биологически активных веществ (БАВ)** из растительного сырья наибольшее влияние оказывают следующие факторы: природа экстрагента, степень измельчения сырья, соотношение сырье-экстрагент, продолжительность, кратность экстрагирования и температурный режим. Целевой продукт получен методом ремацерации исходного сырья водой, в которой хорошо растворимы большинство  $\alpha$ -аминокислот, пектиновые вещества, многие органические кислоты. Кроме того, ремацерация характеризуется минимальными потерями веществ на диффузии, что способствует наиболее полному истощению сырья.

Нами установлено, что оптимальным для выделения субстанции вилома является сырье с размером частиц 3–5 мм. Использование более мелкой фракции нецелесообразно, т.к. наблюдается избыточное набухание растительного сырья и резкое возрастание гидравлического сопротивления. Полученное извлечение отстаивают в течение 10–12 ч при температуре 3–4 °С. Образующийся осадок отделяют фильтрованием.

Определение выхода целевого продукта проводили по содержанию суммы  $\alpha$ -аминокислот в процентах, в пересчете на пролин [14].

Установлено, что оптимальными условиями экстрагирования субстанции вилома из шрота яблок методом ремацерации являются следующие: соотношение сырье-экстрагент – 1:5; число экстракторов – 5; продолжительность извлечения – 1 ч, температурный режим – 80–90 °С.

С целью повышения противомикробной стабильности водное извлечение сгущают до остаточной влажности 49 %. Целевой продукт представляет собой вязкую сиропообразную жидкость бордового цвета с запахом яблок, кислого вкуса, с плотностью 1100–1120 кг/м<sup>3</sup>, значением рН 2,51 и содержит не менее 2,44 % суммы  $\alpha$ -аминокислот в пересчете на пролин.

Нами установлено, что субстанция вилома характеризуется высокой стабильностью в течение 12 месяцев хранения при температуре 20±2 °С в защищенном от света месте по следующим показателям: органолептические свойства, количественное содержание  $\alpha$ -аминокислот, плотность, значение рН, остаточная влажность.

На основании проведенных исследований нами разработана технологическая схема производства субстанции вилома из шрота яблок (рис. 1).

### *Технология производства субстанции вилома*

#### Стадия ВР. 1. Санитарная обработка производства.

Санитарную обработку производства проводят в соответствии с требованиями ГОСТ Р 52249-2004 от 10.03.2004 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств».

#### ВР. 1.1. Подготовка воздуха.

Очистка воздуха в помещениях галенового цеха фабрики двухступенчатая. На первой ступени воздух проходит через фильтры типа ФМ, ФЯЛ или ФРП (сухие рулонные), которые установлены на входе в кондиционер. На второй ступени очистка осуществляется ячейковыми фильтрами типа ЛАИК, установленными перед воздухораздаточным устройством. В холодное время года воздух прогревается калорифером.

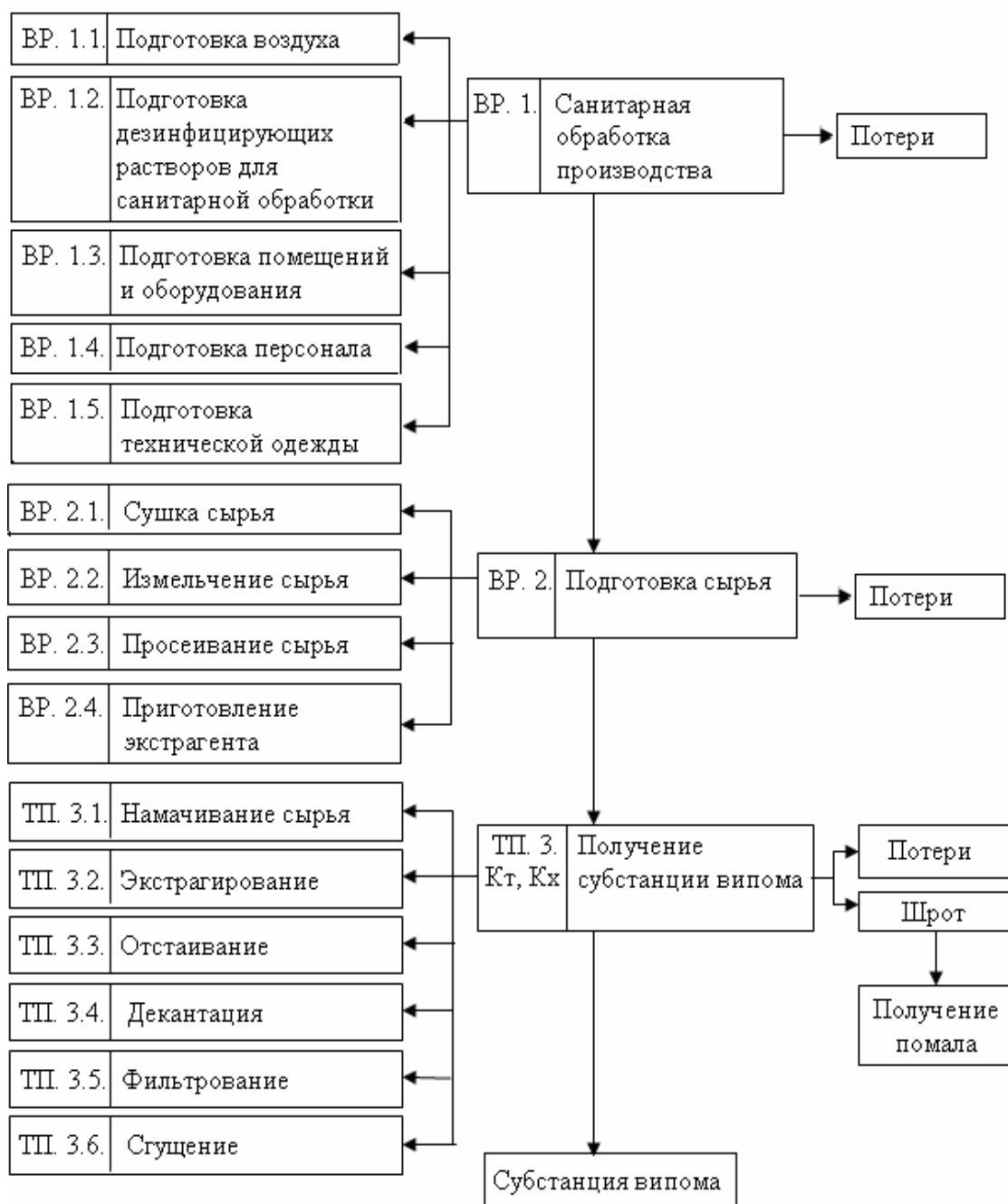


Рис. 1. Технологическая схема производства субстанции вивома

ВР. 1.2. Подготовка дезинфицирующих растворов для санитарной обработки.

Готовят дезинфицирующие растворы – 3 % раствор водорода пероксида с добавлением 0,5 % моющего средства, 1 % раствор хлорамина Б, 1 % раствор дегмина.



### ВР. 1.3. Подготовка помещений и оборудования.

#### Подготовка производственных помещений.

Ежедневно производится влажная уборка производственных помещений. Панели, стены, двери, окна, вентиляционные воздуховоды в производственных помещениях необходимо протирать влажной тряпкой, смоченной 3 % раствором перекиси водорода с добавлением 0,5 % моющего средства не реже одного раза в неделю.

Для обеззараживания полов наряду с раствором перекиси водорода с моющим средством используют 1–2 % раствор хлорамина.

Генеральная уборка помещений проводится не реже 1 раза в месяц.

#### Подготовка оборудования.

Перед началом работы проверяют исправность оборудования. Периодическая чистка и дезинфекция оборудования должна производиться с применением 3 % раствора водорода пероксида с добавлением 0,5 % раствора моющего средства с последующей промывкой теплой и холодной водой и ополаскиванием водой очищенной.

### ВР. 1.4. Подготовка персонала.

Все лица, занятые в производстве лекарственных средств, должны соблюдать правила личной гигиены, пройти предварительное медицинское освидетельствование и бактериологическое обследование в соответствии с Приказом Минздравмедпрома РФ от 14.03.96 г № 90 «О порядке проведения предварительных и периодических медицинских осмотров работников и медицинских регламентах допуска к профессии». Перед началом работы персонал должен надеть санитарную одежду, спецобувь, вымыть руки с мылом, обработать их 1 % раствором дегмина.

### ВР. 1.5. Подготовка технической одежды.

Подготовленный персонал должен иметь специальный комплект санитарной технологической одежды: халат или брючный костюм, бахилы и шапочку. Комплект одежды должен быть изготовлен из материалов или сме-

шанной ткани, отвечающих гигиеническим требованиям и обладающих минимальным ворсоотделением.

Смена санитарной одежды должна производиться не реже 2 раз в неделю, полотенце для личного пользования – ежедневно.

## ВР. 2. Подготовка сырья.

ВР. 2.1. Сушка сырья. Влажный шрот, сразу после получения яблочного сока сушат до остаточной влажности 15 % в защищенном от света, проветриваемом помещении.

ВР. 2.2. Измельчение сырья. Сухой шрот измельчают на валковых дробилках и по транспортеру передают на стадию просеивания.

ВР. 2.3. Просеивание сырья. Измельченный шрот просеивают на вибрационных ситах и отбирают фракцию 3–5 мм. Фракцию сырья с размером частиц более 5 мм повторно измельчают и просеивают.

ВР. 2.4. Приготовление экстрагента. Мерник заполняют рассчитанным количеством воды очищенной.

## Стадия ТП. 3. Получение субстанции випома.

ТП. 3.1. Намачивание сырья. Фракцию шрота яблок 3–5 мм загружают в мацерационный бак. Сверху сырье покрывают сеткой с грузом. Из мерника добавляют трехкратное количество воды (по отношению к массе сырья) и оставляют на 30 мин для намачивания.

ТП. 3.2. Экстрагирование. Намоченное сырье делят на пять равных частей. Первую порцию сырья загружают в экстрактор № 1 с ложным дном, обтянутым марлей в 3–4 слоя и с паровой рубашкой. Сверху сырье покрывают сеткой с грузом. К первой порции намоченного сырья экстрактора № 1 добавляют дополнительно количество воды до соотношения сырье-экстрагент 1:5 и нагревают при температуре 80–90 °С в течение 1 ч. Затем из первого экстрактора сливают водное извлечение и добавляют его с дополнительным количеством воды к намоченному сырью в экстрактор № 2 – до соотношения сырье-экстрагент 1:5. В экстрактор № 1 подают воду очищенную и далее экстрагируют как указано выше. Ремацерацию проводят в батарее из

пяти экстракторов. Из пятого экстрактора получают извлечение в трехкратном количестве по отношению к массе загруженного в него сырья с концентрацией суммы аминокислот – не менее 0,43 % в пересчете на пролин.

ТП. 3.3. Отстаивание. Водное извлечение перекачивают в отстойник периодического действия и проводят отстаивание в течение 10–12 ч при температуре 3–4 °С.

ТП. 3.4. Декантация. После отстаивания надосадочную жидкость сливают через краны, расположенные на разной высоте отстойника.

ТП. 3.5. Фильтрация. Полученное извлечение фильтруют через фильтр, работающий под давлением столба жидкости. В качестве фильтрующего материала используют двойной слой марли.

ТП. 3.6. Сгущение. Очищенное водное извлечение сгущают в вакуум-выпарном аппарате до остаточной влажности 49 %. Целевой продукт представляет собой сиропобразную жидкость темно-бордового цвета с запахом яблок, кислого вкуса, с плотностью 1100–1120 кг/м<sup>3</sup>, значением рН 2,51 и содержит не менее 2,44 % суммы α-аминокислот в пересчете на пролин.

Далее полученная субстанция вилома использована нами для разработки технологии жидкой **лекарственной формы (ЛФ)**, под рабочим названием «Випом», гранул вилома, мази, под рабочим названием «мазь вилома», а также изучена возможность ее использования в качестве вспомогательного вещества в технологии гранул и таблеток, содержащих тритерпеновые вещества из шрота яблок, под рабочим названием «Помал».

На основании разработанной технологии производства целевого продукта нами составлена соответствующая НТД, а именно лабораторный регламент и проект ФСП субстанции вилома.

### ***Исследование фармакологической активности субстанции вилома***

В настоящее время не вызывает сомнений, что нарушения регуляции свободнорадикальных процессов, происходящих в организме, являются од-

ной из причин таких патологий, как лучевая болезнь, атеросклероз, инфаркт миокарда, заболевания гепатобиллиарной системы и др. [20, 32]. Поэтому антиоксидантная и антирадикальная активности многих фракций БАВ растительного происхождения (полифенольные соединения, пектиновые вещества, аминокислоты и другие органические соединения) обуславливают их адаптогенное, иммуностимулирующее, гиполипидемическое, кардио- и гепатопротекторное действие [3, 9, 15, 25, 29].

На этом основании нами изучена антирадикальная активность субстанции вилома, оценку которой проводили по степени гашения хемилюминесценции в системе, генерирующей свободные радикалы [22]. В качестве препарата сравнения выбран дибунол, обладающий, как описано в литературе, антиоксидантной и антирадикальной активностью и рекомендованный при заболеваниях, сопровождающихся активацией перекисного окисления липидов [10, 17, 29]. Установлено, что субстанция вилома в концентрации 1,25 мкг/мл обеспечивает гашение хемилюминесценции до 52,6 % (рис. 2). Полученные данные говорят о достаточно выраженной антирадикальной активности целевого продукта, значительно превышающей аналогичный показатель дибунула, который не способствует гашению хемилюминесценции даже в концентрации 1 мг/мл. В литературе также имеются данные, что дибунол по антиоксидантной активности значительно уступает кофейной, феруловой кислоте, циквалону [34]. Кроме того, тяжелые побочные эффекты (гипопротромбинемии, фиброз легких, канцерогенное действие) ограничивают применение дибунула в медицине [10].

Многие антиоксиданты стимулируют желчеобразование и благоприятно влияют на гепатобиллиарную систему [32]. На основании исследований установлена гепатопротекторная, желчегонная и гипохолестеринемическая активность субстанции вилома.

Острую токсичность целевого продукта изучали на белых крысах, при этом  $LD_{50} > 5000$  мг/кг, т.е. субстанцию вилома следует отнести к группе практически нетоксичных веществ.

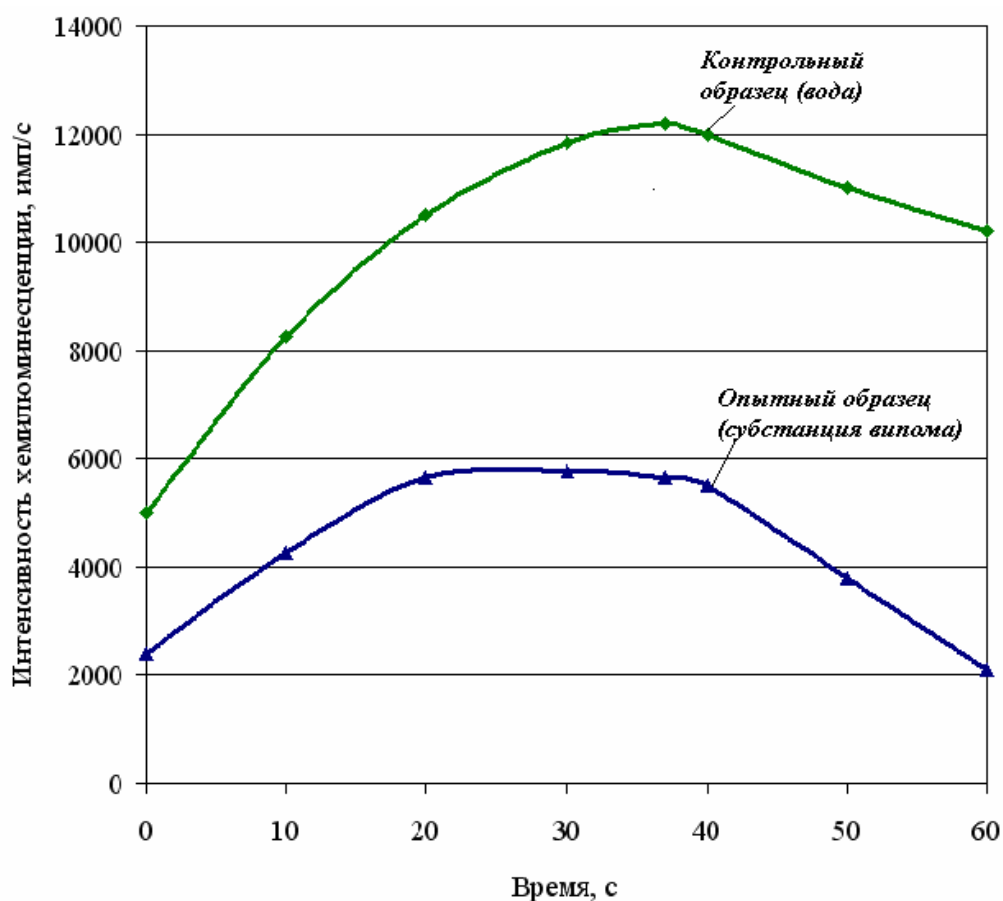


Рис. 2. Антирадикальная активность субстанции вилома.

Гепатопротекторную активность субстанции вилома исследовали на белых крысах с экспериментальным хроническим гепатитом, вызванным трехразовым пероральным введением тетрахлорметана (по 0,3 мл на 100 г массы тела в 50 % масляном растворе). Исследуемый продукт вводили перорально в дозе 25 мг/кг в виде водного раствора в течение 12 дней. Аналогично вводили в терапевтической дозе препарат сравнения – официальное гепатозащитное средство силибинин. В качестве второго препарата сравнения использовали **лекарственное средство (ЛС)** из отходов бобов какао – кавехол, разрешенное к применению (приказ МЗ РФ № 335 от 14.11.97., регистр. № 97/335/10), обладающее гепатопротекторным, желчегонным и антиоксидантным действием.

В сыворотке крови животных определяли общий билирубин, триглицериды, щелочную фосфатазу и аланинаминотрансферазу, а в тканях печени – гликоген и общие липиды. Установлено, что введение животным с токсическим гепатитом субстанции вилома способствует существенному восстано-

лению нарушенных показателей: снижению в крови повышенного уровня общего билирубина на 31,7 % ( $p < 0,001$ ), триглицеридов на 36,6 % ( $p < 0,001$ ), аланинаминотрансферазы на 50 % ( $p < 0,01$ ), щелочной фосфатазы на 45 % ( $p < 0,001$ ), а также уменьшению в ткани печени общих липидов на 54,3 % ( $p < 0,05$ ) и увеличению гликогена на 159 % ( $p < 0,001$ ). Этот эффект находился на уровне или превышал действие официального гепатозащитного препарата силибинина и заметно превышал влияние кавехола.

Исследовано желчегонное действие субстанции випома в опытах *in vivo* на белых крысах. В трехчасовых порциях собранной желчи определяли содержание холестерина и желчных кислот. Исследуемое вещество в дозе 25 мг/кг вводили в желудок крысе за 30 мин перед опытом в объеме 2 мл раствора. В аналогичных условиях исследовали препараты сравнения – официальное желчегонное средство фламин в терапевтической дозе и кавехол. Контролем служили опыты, в которых животным вводили воду.

Установлено, что субстанция випома обладает значительной желчегонной активностью: по сравнению с контролем желчевыделение усиливается на 76 % ( $p < 0,001$ ). Этот эффект превышает действие как фламина, так и кавехола, для которых аналогичный показатель составил 54,2 % и 55,2 %, соответственно.

Исследование гипохолестеринемического действия субстанции випома проводили на белых крысах, у которых гиперхолестеринемия вызывалась внутрибрюшинным введением твина-80 в дозе 200 мг на 100 г массы тела животного. Одновременно с твином-80 опытным животным перорально вводили в объеме 1 мл субстанцию випома в дозе 25 мг/кг. Контрольные животные в аналогичных условиях получали 1 мл воды. В качестве препаратов сравнения использовались официальные гипохолестеринемические средства: цетамифен, полиспонин и сапарал, вводимые в терапевтических дозах, в аналогичных условиях. У всех животных, а также в группе интактных крыс исследовалось содержание в сыворотке крови общего холестерина.

Установлено, что под влиянием введения субстанции вилома у животных с гиперхолестеринемией уровень холестерина в крови снижался на 37,6 % ( $p < 0,001$ ), тогда как под влиянием полиспонина на 23,2 % ( $p < 0,001$ ), цетамифена – на 19,5 % ( $p < 0,05$ ), сапарала – на 20,4 % ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, субстанция вилома характеризуется отчетливой антирадикальной, гепатопротекторной, желчегонной и гипохолестеринемической активностью, низкой токсичностью и представляет интерес для создания на ее основе новых высокоэффективных ЛС.

### ***Разработка технологии жидкой лекарственной формы субстанции вилома***

Несмотря на высокую физико-химическую и микробиологическую стабильность субстанции вилома, ее использование в качестве самостоятельного ЛС нерационально, особенно в педиатрии и в гериатрии, вследствие выраженного кислого вкуса, обусловленного высокой концентрацией органических кислот. На этом основании нами разработана технология жидкой ЛФ, под рабочим названием «випом», в которой к исходной субстанции вилома добавлена сахароза (в соотношении 3:1), являющаяся корригентом и стабилизатором.

Випом представляет собой вязкую сиропообразную жидкость темно-бордового цвета с запахом яблок, кисло-сладкого вкуса, с плотностью 1250–1270 кг/м<sup>3</sup>, остаточной влажностью 36,75 %, значением рН 3,08 и содержит не менее 1,83 % суммы  $\alpha$ -аминокислот в пересчете на пролин.

Нами установлено, что випом характеризуется высокой стабильностью в течение 24 месяцев хранения в защищенном от света месте при температуре  $20 \pm 2$  °С. Контроль качества вилома проводят по следующим показателям: органолептические свойства, количественное содержание  $\alpha$ -аминокислот, плотность, значение рН и остаточная влажность.

Таким образом, разработанная нами жидкая ЛФ – випом, обладает удовлетворительными органолептическими свойствами, достаточно высокой

химической и микробиологической стабильностью и может быть предложена в качестве лечебно-профилактического средства в комплексной терапии заболеваний гепатобиллиарной и сердечно-сосудистой систем.

На основании проведенных исследований нами разработана технологическая схема производства вилома (рис. 3).

### *Технология производства вилома*

#### Стадия ВР. 1. Санитарная обработка производства.

Санитарную подготовку производства осуществляют так же, как при производстве субстанции вилома (с. 15–18).

#### Стадия ВР. 2. Подготовка сырья.

##### ВР. 2.1. Приготовление субстанции вилома.

Технология субстанции вилома описана выше (см. с. 18–19).

##### ВР. 2.2. Подготовка вспомогательного вещества.

На весах отвешивают рассчитанное количество сахарозы.

#### Стадия ТП. 3. Получение вилома.

##### ТП. 3.1. Растворение.

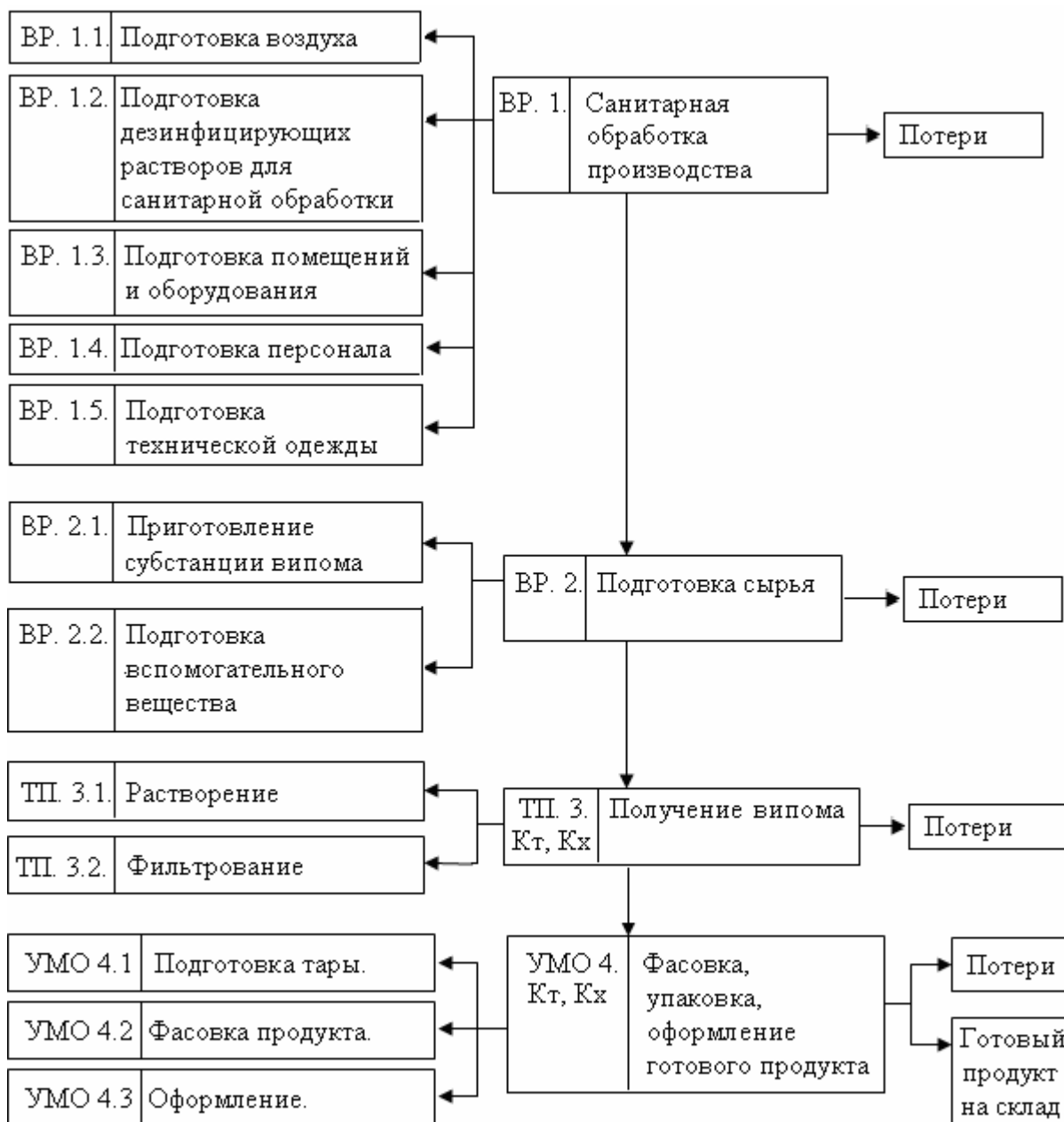
В реактор с паровой рубашкой, снабженный якорной мешалкой, отвешивают свежеприготовленную субстанцию вилома и нагревают ее до температуры 60–70 °С. Затем к субстанции вилома частями добавляют сахарозу в соотношении 3:1 по массе, при постоянном перемешивании до полного растворения.

##### ТП. 3.2. Фильтрация.

После полного растворения сахарозы вилом фильтруют в горячем состоянии через фильтр, работающий под давлением столба жидкости. В качестве фильтрующего материала используют двойной слой марли.

Целевой продукт представляет собой вязкую сиропообразную жидкость темно-бордового цвета с запахом яблок, кисло-сладкого вкуса, с плотностью 1250–1270 кг/м<sup>3</sup>, остаточной влажностью 36,75 %, значением рН 3,08 и содержит не менее 1,83 % суммы α-аминокислот в пересчете на пролин.





*Рис. 3. Технологическая схема производства вилома*

После взятия пробы на анализ по указанным выше показателям (в случае положительных результатов анализа) вилом передаётся на фасовку

Стадия УМО. 4. Фасовка, упаковка, оформление готового продукта.

УМО. 4.1. Подготовка тары.

Флаконы светозащитного стекла, вместимостью 100 мл, крышки и пробки подвергают санитарной обработке в соответствии с приказом МЗ РФ

№ 309 от 21.10.97 «Об утверждении инструкции по санитарному режиму аптечных учреждений (аптек)» и далее передают на фасовку вилома.

#### УМО. 4.2. Фасовка продукта.

Вилом фасуют с помощью универсальной фасовочной машины во флаконы светозащитного стекла и плотно укупоривают пробками и навинчивающимися крышками. Флаконы упаковывают в картонные пачки или коробки. Для склеивания коробок допускается применять ленту с липким слоем, оберточную бумагу. Каждый флакон снабжается этикеткой, листком-вкладышем или инструкцией по применению.

#### УМО. 4.3. Оформление.

На флаконы наклеивают этикетки «Внутреннее», с указанием предприятия-изготовителя, его товарного знака, названия ЛС на латинском и русском языках, объема, в мл, условия хранения, способа применения, регистрационного номера, штрих-кода, номера серии, даты изготовления, срока годности (2 года).

Каждая упаковочная единица групповой тары должна быть также снабжена аналогичной этикеткой из бумаги этикеточной или типографской или обандеролена. При оклеивании или обвязывании групповой тары концы должны быть заклеены этикеткой, обеспечивающей контроль вскрытия.

Вилом представляется ОТК в соответствии с ОСТ 42-504-96 «Контроль качества лекарственных средств на промышленных предприятиях и в организациях» и до получения заключения ОТК хранится на складе карантинного хранения.

Вилом, складированный на тележках, сдаётся на склад готовой продукции с паспортом ОТК.

На основании разработанной технологии производства целевого продукта нами составлена соответствующая НТД, а именно лабораторный регламент и проект ФСП вилома.

### *Разработка технологии гранул вилома*

Гранулы, как ЛФ, характеризуются относительной простотой приготовления, не связанного с использованием дорогостоящего оборудования, компактностью, возможностью точного дозирования лекарственного вещества, удобства хранения, транспортировки и применения.

С этих позиций представляет интерес разработать технологию гранул субстанции вилома и изучить их важнейшие физико-химические и технологические характеристики.

На подготовительном этапе, по описанной выше технологии, нами получено водное извлечение из шрота яблок с концентрацией суммы аминокислот не менее 0,43 % в пересчете на пролин (см. технологию получения субстанции вилома, стадии ТП. 3.1.–ТП 3.5). Затем полупродукт массой 500,0 г сгущают в вакуум-выпарном аппарате до получения субстанции массой 60,5 г, характеризующейся густой пластичной консистенцией с остаточной влажностью 24–26 %. Полученную субстанцию подвергают влажному гранулированию с использованием гранулятора с диаметром отверстий 1 мм; с последующей сушкой сначала при комнатной температуре 10–12 ч, затем при температуре 60–70 °С в течение 16 ч. После полного охлаждения гранул при комнатной температуре, проводят вторичное гранулирование через сито с тем же диаметром отверстий и выделением гранулята преобладающей фракции – 0,5–1 мм.

Исследования показали, что свежеприготовленные гранулы вилома, имеют оптимальные значения влажности (5,4 %), прочности на истирание (>98,5 %), распадаемости (<5 мин) и отличную сыпучесть, т.е. по всем технологическим показателям соответствуют требованиям ГФ XI. Кроме того, гранулы вилома характеризуются высокой стабильностью в процессе хранения. Так, через 1 месяц хранения гранул вилома при комнатной температуре в негерметичной упаковке, основные показатели качества, указанные выше, соответствуют требованиям ГФ XI.

Известно, что большинство растительных экстрактов обладают выраженной гигроскопичностью, обуславливающей ухудшение технологических характеристик гранул на их основе в процессе длительного хранения [5].

На этом основании нами изучена возможность использования в технологии гранул вилома вспомогательных веществ, улучшающих сыпучесть гигроскопичных порошков и характеризующихся устойчивостью в процессе хранения: аэросила, микрокристаллической целлюлозы и лактозы. При этом содержание аэросила от общей массы гранулята составило 2–8 %, а микрокристаллической целлюлозы и лактозы – 5–50 %.

На подготовительном этапе водное извлечение шрота яблок, полученное пятикратной ремацерацией, сгущают до остаточной влажности 24–26 %, затем сушат при температуре 60–70 °С в течение 12 ч до остаточной влажности 4–6 % и измельчают до порошкообразного состояния. Полученную субстанцию, под рабочим названием «порошок вилома», смешивают с указанными выше вспомогательными веществами, увлажняют водой очищенной и далее готовят гранулы вилома, как описано выше. В соответствии с ГФ XI нами проведена оценка качества приготовленных гранул вилома [7].

Установлено, что гранулы вилома с содержанием лактозы 15 % характеризуются наиболее оптимальными технологическими характеристиками: однородным фракционным составом, насыпной плотностью – 530 кг/м<sup>3</sup>, высокой прочностью на истирание (99,2 %), распадаемостью <5 мин, влажностью – 4,7 %, отличной сыпучестью – 11,5 г/с и наименьшей гигроскопичностью. Так, через 1 месяц хранения данных гранул при комнатной температуре в негерметичной упаковке, их влажность увеличивается на 0,1 %. Для гранул вилома других составов, в том числе для целевого продукта, приготовленного без добавления вспомогательных веществ, аналогичный показатель составляет 0,4–0,6 %. На этом основании, наиболее рационально в технологии гранул вилома использовать лактозу, в количестве 15 % от массы гранулята.

Для удобства хранения, транспортировки и приема внутрь гранулы випома целесообразно упаковывать в твердые желатиновые капсулы. Для этого необходимо учитывать насыпную массу гранул и среднюю массу, содержащуюся в одной капсуле. Поскольку фармакологическая активность субстанции випома установлена в дозе 25 мг/кг, оптимальное соотношение порошка випома и лактозы в гранулах – 85:15, насыпная масса гранул – 530 кг/м<sup>3</sup>, то гранулы випома необходимо помещать в твердые желатиновые капсулы № 000. При этом средняя масса навески гранул в 1 капсуле составляет 0,72 г, принимать по одной капсуле 3 раза в день до еды.

На основании проведенных исследований, нами разработана технологическая схема производства гранул випома (рис. 4) следующего состава:

Порошка випома	85,0 г
Лактозы	15,0 г
Воды очищенной	15,1 мл

Учитывая, что лактоза является корригентом вкуса и обладает малой гигроскопичностью, гранулы данного состава могут быть упакованы также в банки светозащитного стекла, снабженные ложкой-дозатором.

Гранулы випома, приготовленные без добавления вспомогательных веществ, должны быть упакованы в твердые желатиновые капсулы для повышения стабильности при хранении и корригирования вкуса.

#### *Технология производства гранул випома*

Рассмотрена на примере приготовления гранул випома с содержанием 15 % лактозы.

##### Стадия ВР. 1. Санитарная обработка производства.

Санитарную подготовку производства осуществляют так же, как при производстве субстанции випома (с. 15–18).

##### Стадия ВР. 2. Получение порошка випома.

#### ВР. 2.1. Приготовление водного извлечения шрота яблок.

Приготовление водного извлечения из шрота яблок, без последующего сгущения, осуществляют в соответствии с технологической схемой производства субстанции випома (стадии ТП. 3.1–ТП. 3.5). Концентрация  $\alpha$ -аминокислот в водном извлечении составляет 0,43 % в пересчете на пролин.

#### ВР. 2.2. Сгущение водного извлечения.

Водное извлечение сгущают в вакуум-выпарном аппарате до получения субстанции, характеризующейся густой пластичной консистенцией с остаточной влажностью 24–26 %. Из 100 кг водного извлечения получают 11,95–12,27 кг полупродукта.

#### ВР. 2.3. Сушка водного извлечения.

Полупродукт сушат в вакуум-сушильном шкафу до остаточной влажности 4–6 %. При этом, из 11,95–12,27 кг густого водного извлечения получают 9,46–9,66 кг порошка випома.

#### ВР. 2.4. Измельчение порошка випома.

Порошок випома измельчают в вертикальной шаровой мельнице и по транспортеру передают на стадию просеивания. Во избежание деструкции термолабильных БАВ порошка випома, в процессе измельчения материал непрерывно охлаждают с помощью паровой рубашки, вмонтированной внутри рабочей камеры.

ВР 2.5. Просеивание. Измельченный порошок випома просеивают на вибрационных ситах и выбирают фракцию с размером частиц – не более 0,5 мм. Более крупную фракцию повторно измельчают и просеивают.

#### Стадия ВР. 3. Подготовка вспомогательных веществ.

Отвешивают рассчитанное количество лактозы. Мерник заполняют водой очищенной.

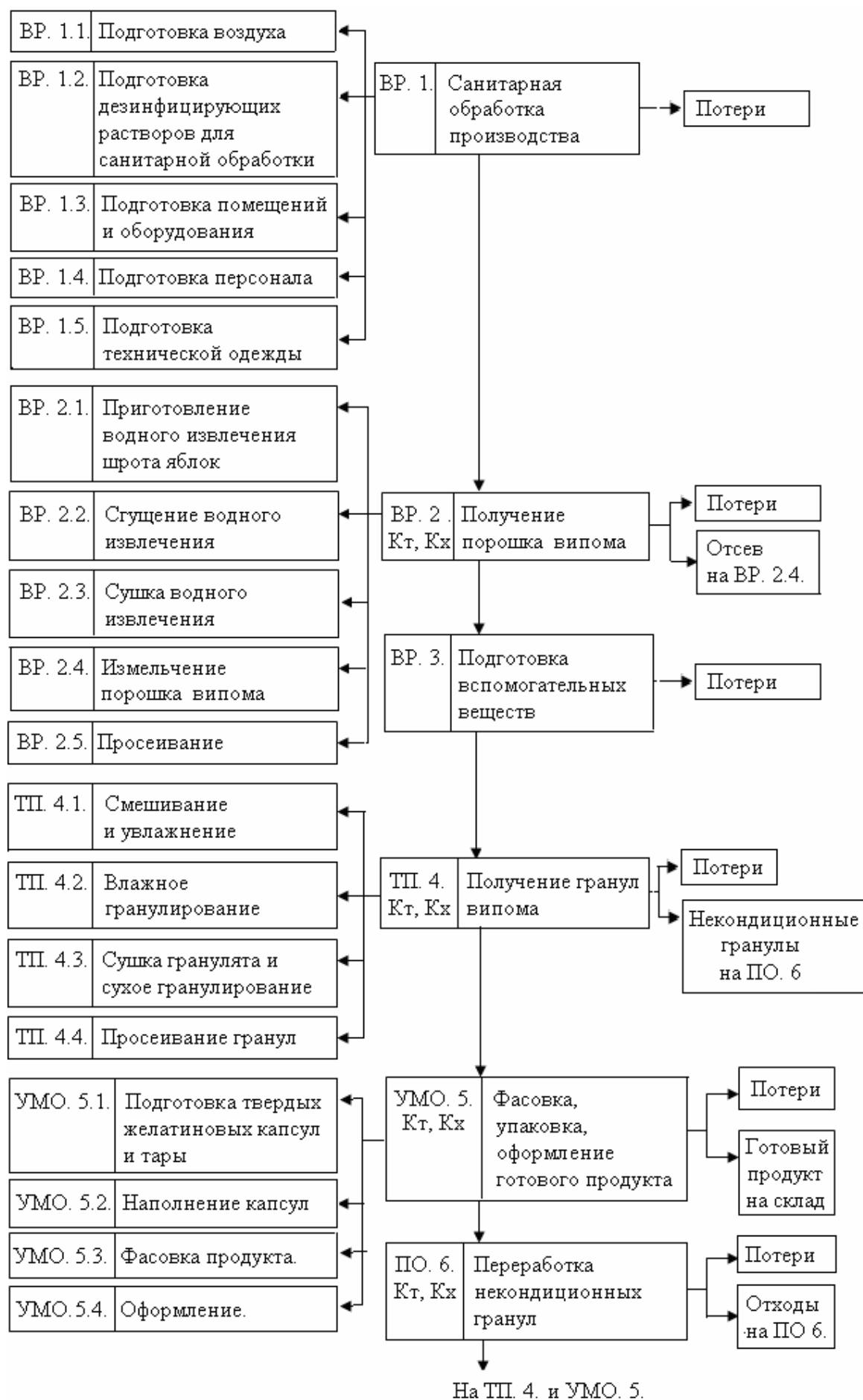


Рис. 4. Технологическая схема производства гранул випема

## Стадия ТП. 4. Получение гранул вилома.

### ТП. 4.1. Смешивание и увлажнение.

В червячно-лопастной смеситель загружают порошок вилома и лактозу в соотношении 85:15 и перемешивают до однородного состояния. Затем смесь постепенно увлажняют водой очищенной (из расчета 15,1 л воды на 100 кг смеси сухих ингредиентов) при тщательном перемешивании до получения пластичной немаркой массы, которую, во избежание высыхания, немедленно передают в гранулятор.

### ТП. 4.2. Влажное гранулирование.

Влажную массу через бункер загружают в гранулятор с диаметром отверстий 1 мм и осуществляют влажное гранулирование.

### ТП. 4.3. Сушка гранулята и сухое гранулирование

Гранулы раскладывают тонким слоем на стеллажи, изготовленные из нержавеющей стали, в защищенном от прямого солнечного света, проветриваемом помещении и сушат в течение 10–12 ч. Затем гранулы помещают в вакуум-сушильный шкаф и сушат при температуре 50–60 °С до остаточной влажности – не более 5 %. После полного охлаждения гранул при комнатной температуре их загружают в гранулятор с диаметром отверстий 1 мм и проводят вторичное (сухое) гранулирование.

### ТП. 4.4. Просеивание гранул.

Гранулят просеивают на вибрационном многоярусном сите и выделяют преобладающую фракцию – 0,5–1 мм. Некондиционные гранулы, к которым относят отсев и просев направляют на ПО. 6.

После взятия пробы на анализ по следующим показателям: фракционный состав, прочность на истирание, распадаемость, насыпная масса, сыпучесть, остаточная масса, количественное содержание суммы аминокислот – не менее 0,038 % в 1,0 г гранулята (в случае положительных результатов анализа) гранулы вилома передают на фасовку.

## Стадия УМО. 5. Фасовка, упаковка, оформление готового продукта.



#### УМО. 5.1. Подготовка твердых желатиновых капсул и тары.

С учетом насыпной массы гранул випома – 530 кг/ м<sup>3</sup>, для их наполнения необходимо использовать твердые желатиновые капсулы № 000, которые изготавливают на стороннем фармацевтическом предприятии.

Широкогорлые флаконы светозащитного стекла, вместимостью 100 г, крышки и пробки подвергают санитарной обработке в соответствии с приказом МЗ РФ № 309 от 21.10.97 «Об утверждении инструкции по санитарному режиму аптечных учреждений (аптек)».

#### УМО. 5.2. Наполнение капсул.

В автомат закрытые твердые желатиновые капсулы № 000 засыпают через бункер, из которого они поступают в блок питания и ориентации. Ориентированные капсулы (донышко вниз, крышечка вверх) передаются в блок наполнителя, где они с помощью вакуума открываются и наполняются гранулами випома, закрываются и заклеиваются, а затем передаются для полировки и фасовки во флаконы.

#### УМО. 5.3. Фасовка продукта.

Гранулы випома в твердых желатиновых капсулах фасуют с помощью автомата с электронным отсчетом в широкогорлые флаконы светозащитного стекла и укупоривают навинчивающимися крышками. Флаконы упаковывают в картонные пачки или коробки. Для склеивания коробок допускается применять ленту с липким слоем, оберточную бумагу. Каждый флакон снабжается этикеткой, листком-вкладышем или инструкцией по применению.

#### УМО. 5.4. Оформление.

На флаконы наклеивают этикетки «Внутреннее», с указанием предприятия-изготовителя, его товарного знака, названия ЛС на латинском и русском языках, количество капсул (шт.), условия хранения, способа применения, регистрационного номера, штрих-кода, номера серии, даты изготовления, срока годности.

Остальные операции данной стадии аналогичны таковым при изготовлении випома.

## Стадия ПО. 6. Переработка некондиционных гранул.

Гранулы вилома фракции более 1 мм измельчают в вертикальной шаровой мельнице, просеивают на вибрационном сите с диаметром отверстий 0,5 мм, просев смешивают с гранулами вилома фракции менее 0,5 мм (полученными на стадии ТП. 4) и далее их направляют на стадию ТП. 4. Отсев вновь измельчают и просеивают.

На основании разработанной технологии производства целевого продукта нами составлена соответствующая НТД, а именно лабораторный регламент и проект ФСП гранул вилома.

### ***Разработка технологии мази вилома***

Известно, что ряд  $\alpha$ -аминокислот (гистидин, изолейцин, лейцин, глицин, серин, пролин) способствуют росту и регенерации тканей [3, 17]. Разработаны топикальные составы, содержащие до 50 % полипептидов,  $\alpha$ - и  $\beta$ -аминокислоты. Препараты стимулируют пролиферацию и дифференциацию кератиноцитов, ускоряют лечение дерматитов [41]. Пектиновые вещества также обладают ранозаживляющей активностью – преимущественно за счет высоких сорбционных свойств они способствуют элиминации экссудата и продуктов жизнедеятельности микроорганизмов [6]. Кроме того, противовоспалительная, антимикробная и ранозаживляющая активность многих ЛС растительного происхождения в значительной степени обусловлена высоким содержанием полифенольных соединений [30].

Как было описано выше, в состав субстанции вилома входят  $\alpha$ -аминокислоты, пектиновые вещества, флавоноиды, производные оксикоричных кислот. С этих позиций представляет интерес разработать технологию мази, содержащей субстанцию вилома, под рабочим названием «мазь вилома» и изучить в опытах *in vivo* ее ранозаживляющую способность.

В качестве основ для мази вилома целесообразно использовать гидрофильные основы, из которых в настоящее время наиболее широко применяют следующие: эфиры целлюлозы (МЦ, Na-КМЦ), гели желатина, поли-

этиленоксиды [7]. Вследствие особенностей нанесения мази випома (на открытую раневую поверхность), применение некоторых основ нецелесообразно. Так, гели желатина обладают высокой способностью к синерезису и малой устойчивостью к микробной контаминации. Использование полиэтиленоксидов, вследствие их выраженной осмотической активности, приводит к дегидратации, раздражению раневых поверхностей и замедлению процессов регенерации. Поэтому, использование мазей на данных основах целесообразно только в I фазе раневого процесса: с целью активации отторжения некротических масс и адсорбции раневого экссудата [2, 13, 23].

На этом основании для разработки технологии мази випома нами выбраны следующие основы: гидрогели 3–8 % МЦ, 4–6 % Na-КМЦ, глицерогели указанных компонентов, 7–10 % гели поливинола, а также глицерогели аэросила, хорошо смешивающиеся с гидрофильными субстанциями лекарственных веществ. С целью упрощения технологического процесса приготовления мазей, в качестве исходной субстанции использовали водное извлечение шрота яблок, полученное пятикратной ремацерацией без последующего сгущения. Для увеличения срока годности в состав мазей был добавлен консервант – кислота сорбиновая в количестве до 0,2 % [7]. Поскольку мазь наносится на раневую поверхность, то ее готовили в асептических условиях и подвергали стерилизации. Учитывая высокую термолабильность БАВ, содержащихся в субстанции випома, стерилизацию проводили по методу Тиндаля (тиндализация) [7].

Свежеприготовленные мази исследованы в соответствии с ГФ XI по следующим показателям качества: органолептический контроль, коллоидная и термическая стабильности, значение pH, количественное содержание  $\alpha$ -аминокислот, а также реологические свойства.

Установлено, что только мазь випома, приготовленная на основе 6,5 % геля МЦ по всем показателям соответствует требованиям, предъявляемым к дерматологическим мазям [7]. Количественное содержание  $\alpha$ -аминокислот в мази випома составляет не менее 0,41 % в пересчете на пролин.

Целевой продукт обладает также оптимальными тиксотропными свойствами, характеризующими способность дисперсной системы восстанавливать структуру после прекращения механических воздействий на нее, что обеспечивает равномерное и сплошное распределение мази випома на поверхности кожи или слизистой оболочки (рис. 5) [18].

Небольшая площадь петли гистерезиса позволяет утверждать, что приготовленная мазь соответствует требованиям ГФ XI [7].

Нами установлено, что мазь випома на основе 6,5 % геля МЦ характеризуется стабильностью в течение 24 месяцев хранения в защищенном от света месте при температуре  $20 \pm 2$  °С по следующим критериям: органолептический контроль, коллоидная и термическая стабильность, значение рН, количественное содержание  $\alpha$ -аминокислот, а также реологические свойства.

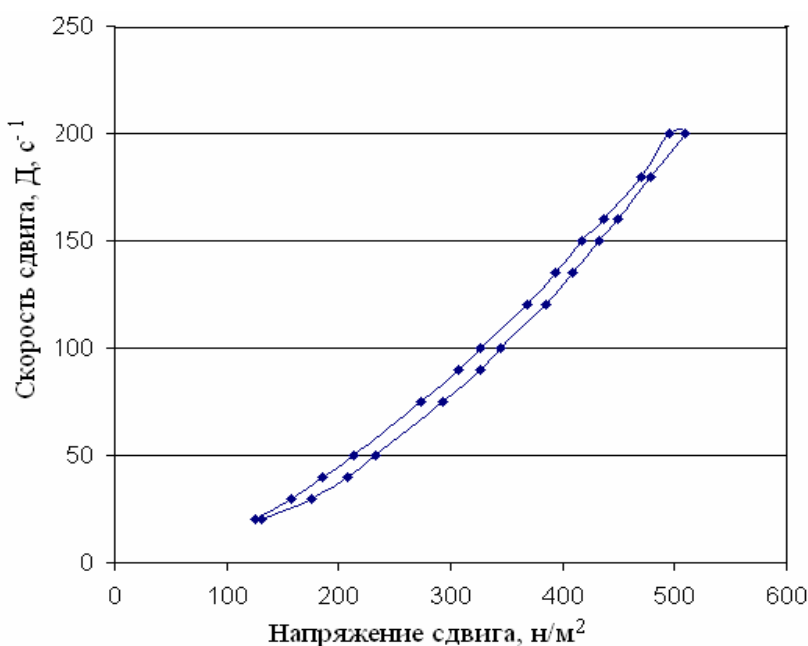


Рис. 5. Реограмма течения мази випома на основе 6,5 % геля МЦ

Кроме того, через 14 месяцев хранения мази випома во флаконах нейтрального стекла с резиновыми пробками и металлическими колпачками при температуре  $20 \pm 2$  °С подтверждена ее стерильность. Испытания данного показателя проведены в ООО «Фармапроф» при ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора» (см. приложение).

На основании проведенных исследований нами разработана технологическая схема производства мази випома (рис. 6) следующего состава:

Метилцеллюлозы	6,5
Кислоты сорбиновой	0,2
Водного извлечения из шрота яблок	до 100,0

### *Технология производства мази випома*

#### Стадия ВР. 1. Санитарная обработка производства.

В соответствии с ГОСТ Р 52249-2004 от 10.03.2004 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств», приготовление и фасовку мазей перед финишной стерилизацией следует проводить в асептических условиях помещения класса чистоты типа С (допускается до 100 микроорганизмов в 1м<sup>3</sup> воздуха). Подготовка первичной упаковки должна проводиться, в помещениях класса чистоты типа D (допускается до 200 микроорганизмов в 1м<sup>3</sup> воздуха).

#### ВР. 1.1. Подготовка воздуха.

С целью обеспечения подачи в производственные помещения ламинарного потока стерильного воздуха используют фильтрующие установки, состоящие из фильтров предварительной очистки воздуха, вентилятора, и стерилизующего фильтра марки ФПП-15-3, представляющего слой ультратонких волокон из полихлорвинилового полимера. Внутри помещений дополнительно устанавливают передвижные рециркуляционные воздухоочистители ВОПР-0,9 и ВОПР-1,5, обеспечивающие быструю и эффективную очистку воздуха за счет механической фильтрации и ультрафиолетовой радиации.

В производственных помещениях классов чистоты С и D подпор воздуха должен быть равен 4 мм рт. ст, температура 23±2 °С, относительная влажность воздуха – 30–40 %.

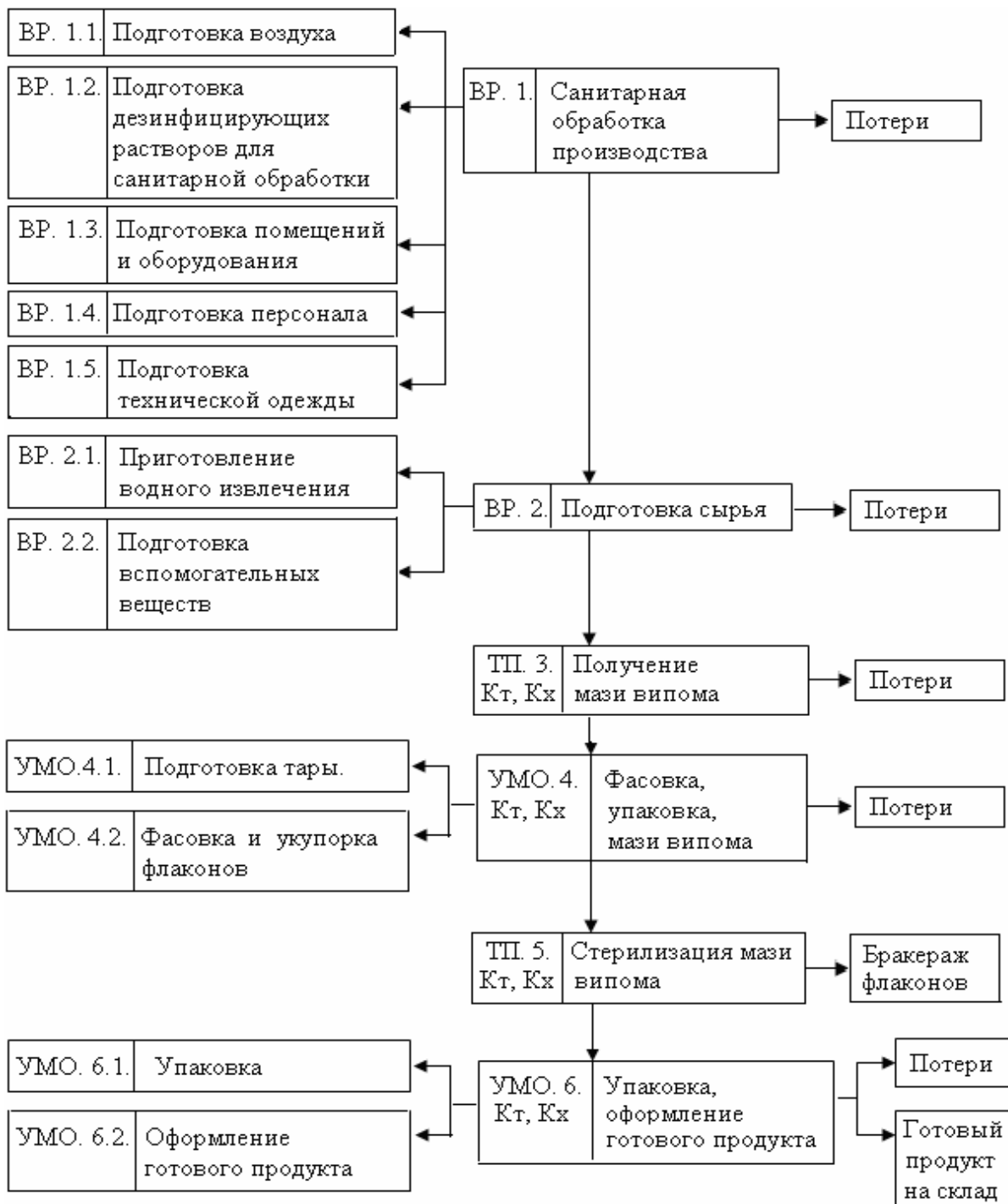


Рис. 6. Технологическая схема производства мази вилома

ВР. 1.2. Подготовка дезинфицирующих растворов для санитарной обработки.

Перечень дезинфицирующих растворов описан в технологии производства субстанции вилома (с. 16). Продолжительное использование одного вида дезинфицирующего средства приводит к образованию устойчивых штаммов. На этом основании, в соответствии с ГОСТ Р 52249-2004 от 10.03.2004

«Правила производства и контроля качества лекарственных средств», дезинфицирующее средство меняют каждые 14 дней.

#### ВР. 1.3. Подготовка помещений и оборудования.

##### Подготовка помещений.

Санитарную подготовку помещений классов чистоты С и D проводят в соответствии с требованиями ГОСТ Р 52249-2004 от 10.03.2004.

Уборку производственных помещений (полов и оборудования) проводят не реже одного раза в смену в конце работы с использованием растворов дезинфицирующих средств. Кроме того, после завершения работ в помещениях включают незранированные бактерицидные лампы. Один раз в неделю проводят генеральную уборку помещений с освобождением от оборудования.

##### Подготовка оборудования.

Подготовку оборудования проводят так же, как и при производстве субстанции випема (с. 17).

#### ВР. 1.4. Подготовка персонала.

К персоналу, работающему в производственных помещениях классов С и D, в соответствии с ГОСТ Р 52249-2004 от 10.03.2004, предъявляются следующие требования:

Класс D: следует носить санитарный костюм общего назначения, головной убор, сменную обувь или бахилы.

Класс С: следует носить санитарный костюм с брюками (цельный или состоящий из двух частей), плотно облегающий запястья, с высоким воротником, головной убор, сменную обувь или бахилы. Одежда и обувь не должны выделять ворс или частицы.

Санитарную одежду необходимо менять не реже 1 раза в день. Резиновые перчатки следует менять после каждого контакта с кожей лица, а также в любом случае, когда возникла опасность их загрязнения.

Все лица, занятые в производстве ЛС, должны соблюдать правила личной гигиены, пройти предварительное медицинское освидетельствование и бактериологическое обследование в соответствии с Приказом Минздравмед-

прома РФ от 14.03.96 г № 90 «О порядке проведения предварительных и периодических медицинских осмотров работников и медицинских регламентах допуска к профессии».

#### ВР. 1.5. Подготовка технической одежды.

Комплект санитарной одежды для персонала должен быть стерильным перед началом работы и отвечать следующим требованиям: обладать минимальным ворсоотделением, пылеемкостью, пылепроницаемостью, а также воздухопроницаемостью не ниже  $300 \text{ м}^2 \cdot \text{с}$ , гигроскопичностью не менее 7 %, не накапливать электростатического заряда. Этим требованиям удовлетворяет ткань из лавсана с хлопком. Технологическая одежда персонала, занятого производством мази вилома должна соответствовать классу чистоты той зоны, в которой он работает (классы С и D).

Стерилизацию санитарной одежды и дезинфекцию обуви осуществляют в соответствии с приказом МЗ РФ № 309 от 21.10.97.

#### Стадия ВР. 2. Подготовка сырья.

##### ВР. 2.1. Приготовление водного извлечения.

Приготовление водного извлечения из шрота яблок, без последующего сгущения, осуществляют в соответствии с технологической схемой получения субстанции вилома (стадии ТП. 3.1–ТП. 3.5). Концентрация  $\alpha$ -аминокислот в водном извлечении составляет 0,43 % в пересчете на пролин.

##### ВР. 2.2. Подготовка вспомогательных веществ

Отвешивают метилцеллюлозу марки МЦ-16 и кислоту сорбиновую.

##### Стадия ТП. 3. Получение мази вилома (загрузка 10 кг).

В смесительный реактор из нержавеющей стали, снабженный паровой рубашкой и мешалками (якорной, грабельной, планетарной), загружают 0,65 кг метилцеллюлозы и при постоянном перемешивании добавляют 4,66 кг горячего свежеприготовленного водного извлечения шрота яблок. Полученную смесь оставляют до полного охлаждения, затем в реактор добавляют 4,66 кг холодного водного извлечения, 0,02 кг кислоты сорбиновой и перемешивают до однородной массы. Приготовленную мазь подвергают контролю по сле-



дующим критериям: органолептический контроль, коллоидная и термическая стабильность, значение рН, количественное содержание  $\alpha$ -аминокислот, а также реологические свойства. После взятия пробы мази випома на анализ (в случае положительных результатов анализа) готовый продукт передаётся на фасовку.

#### Стадия УМО. 4. Фасовка, упаковка мази випома.

##### УМО. 4.1. Подготовка тары.

В соответствии с ГОСТ Р 52249-2004, подготовку тары и укупорочных средств осуществляют в помещении класса чистоты D.

Флаконы нейтрального стекла вместимостью 10,0 г, резиновые пробки и алюминиевые колпачки подвергают обработке, включая стерилизацию, в соответствии с Приказом МЗ РФ № 309 от 21.10.1997.

##### УМО. 4.2. Фасовка и укупорка флаконов.

Мазь випома фасуют по 10,0 г с помощью шнековой машины для фасовки во флаконы нейтрального стекла, укупоривают резиновыми пробками и алюминиевыми колпачками «под обкатку».

#### Стадия ТП. 5. Стерилизация мази випома.

Учитывая, что субстанция випома содержит термолабильные вещества (пектиновые вещества, органические кислоты), стерилизацию мази випома осуществляют по методу Тиндаля. Флаконы, содержащие целевой продукт подвергают нагреванию при температуре 60–65 °С в течение 1 ч, затем помещают в термостат при температуре 37 °С на 1 сутки. Указанные операции повторяют еще 2 раза.

#### Стадия УМО. 6. Упаковка, оформление готового продукта.

##### УМО. 6.1. Упаковка.

Флаконы упаковывают в картонные коробки. Для склеивания коробок допускается применять ленту с липким слоем, оберточную бумагу. Каждый флакон снабжается этикеткой, листком-вкладышем или инструкцией по применению.

## УМО. 6.2. Оформление готового продукта.

На флаконы наклеивают этикетку «Наружное» снабженная предупредительной надписью «Стерильно», с указанием предприятия-изготовителя, его товарного знака, названия ЛС на латинском и русском языках, массы, в г, условия хранения, способа применения, регистрационного номера, штрих-кода, номера серии, даты изготовления, срок годности (2 года).

Каждую упаковочную единицу любого вида групповой тары снабжают аналогичной этикеткой из бумаги этикеточной или типографской. При оклеивании или обвязывании групповой тары концы должны быть заклеены этикеткой, обеспечивающей контроль вскрытия.

Готовая продукция представляется ОТК согласно ОСТ 42-504-96 «Контроль качества лекарственных средств на промышленных предприятиях и в организациях». До получения заключения ОТК продукция хранится на складе карантинного хранения.

Мазь випома, складированная на тележках, сдаётся на склад готовой продукции с паспортом ОТК.

На основании разработанной технологии производства целевого продукта нами составлена соответствующая НТД, а именно лабораторный регламент и проект ФСП мази випома.

### *Исследования ранозаживляющей активности мази випома*

Исследование ранозаживляющей активности мази випома проведено на модели термического ожога у 12 нелинейных крыс обоего пола в возрасте 80 суток. В качестве препарата сравнения использовали официальный лекарственный препарат левомеколь (мазь), обладающий противомикробным и противовоспалительным действием, традиционно применяемый при лечении гнойных ран [17].

Для оценки результатов эксперимента был использован комплексный критерий определения эффективности заживления ожогов у экспериментальных животных. Данный критерий представляет собой совокупность трех аде-

кватных методов исследования, показатели которых отражают различные стороны течения раневого процесса, и обеспечивают наиболее достоверную и максимально объективную оценку процесса заживления.

Первый метод основан на исследовании характера заживления раны. Для этого были проведены гистологические исследования ожоговых поверхностей. Срезы кожи, полученные на 3, 7 и 14 сутки эксперимента, помещали в 10 % раствор формалина с последующим экспериментом по стандартной методике и окраской гематоксилином и эозином, позволяющим определить влияние терапии на процессы репарации.

В результате проведенных исследований установлено, что заживление ожоговой поверхности происходит при применении мази випома и левомеколя, а также в контрольной группе животных, не получавших лечение. Однако наиболее быстро признаки начала краевой эпителизации, уже на 3 сутки, наблюдались при применении мази випома. На 14 сутки зарегистрированы пикообразные разрастания эпителия при практически полном смыкании ожогового дефекта. Под эпителизованными участками наблюдались разрастания соединительной ткани. У животных контрольной группы, а также группы сравнения, в меньшей степени наблюдалась выраженная клеточно-лейкоцитарная инфильтрация, что приводило к удлинению сроков эпителизации и заживления раны по сравнению с животными опытной группы. Также отмечено, что при использовании левомеколя эпителизация происходила с элементами патологической регенерации, проявляющейся в виде роста эпителия вокруг волосяного фолликула.

Бактериологические исследования, позволяют оценить динамику заживления ран путем определения наличия микрофлоры в составе раневого отделяемого и ее качественной оценки. Количественный и видовой состав микрофлоры поверхности раны изучали путем посева смывов с поверхности раны на дифференциально-диагностические среды, после применения соответствующего лечения. В качестве контроля использовали 8 смывов с ожоговых поверхностей, не подвергшихся лечению.

При исследовании микробиоценоза поверхности раны учитывали: общее количество микрофлоры; микроорганизмы сем. Enterobacteriaceae; стафилококки; грибы рода Candida; оценивали частоту встречаемости отдельных видов микроорганизмов, в зависимости от биотопа и применяемых препаратов для лечения ожогов, плотность бактериальной обсемененности в динамике на 7 и 14 сут. лечения ожогов с учетом индекса доминирования

Основные представители, высеваемые с поверхностного слоя раны – стафилококки (табл. 1). При оценке биоценозов поверхностей раны особое значение уделяют сообществу стафилококков, являющихся доминирующими. Наибольший удельный вес среди стафилококков принадлежит *S. Saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. aureus*.

Таблица 1

*Частота встречаемости экологических групп микроорганизмов в микробиоценозе раневой поверхности у крыс*

Биотоп	Экологические группы, %			
	Staphylococcus	Streptococcus	Enterobacteriaceae	Грибы рода Candida
Контроль	100,0	37,5	87,5	75,0
<b>Мазь випома</b>	<b>75,0</b>	<b>12,5</b>	<b>25,0</b>	<b>25,0</b>
Левомеколь	87,5	25,0	62,5	37,5

Анализ доминантности стафилококков показал, что на поверхности ожога контрольной группы доминировали золотистый (54,8) и эпидермальный (с гемолитическими свойствами) стафилококки (41,8) (табл. 2).

Таблица 2

*Степень доминантности видов стафилококков в структуре сообщества различных биотопов ожоговой поверхности*

Биотоп	Вид стафилококков, %		
	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>
Контроль	3,4	41,8	54,8
<b>Мазь випома</b>	<b>23,6</b>	<b>45,9</b>	<b>30,5</b>
Левомеколь	23,6	31,3	45,1

Наибольшая численность эпидермального и сапрофитного стафилококков при применении мази випома, свидетельствует о его положительном

влиянии на раневую поверхность, тогда как на обрабатываемых левомеколем биотопах, доминировал золотистый стафилококк (45,1 %), осложняющий течение раневого процесса и обуславливающий гнойные осложнения. Из данных табл. 2 видно, что наименьшее содержание стафилококка золотистого в ранах обрабатываемых мазью випома, что также оказывает положительный эффект на заживление ожоговых поверхностей.

При изучении общей бактериальной обсемененности в динамике установлено, что к 14 суткам эксперимента наиболее значительное снижение микробной плотности на поверхности ожога наблюдалась после применения мази випома: снижение со  $139,4 \pm 18,9$  до  $119,7 \pm 10,7$  КОЕ/см<sup>2</sup>. Снижение плотности микробных ассоциаций в динамике на 7 и 14 сут зафиксировано также на раневых поверхностях, не подвергавшихся лечению и после применения левомеколя с  $254,9 \pm 34,5$  до  $230,2 \pm 22,2$  КОЕ/см<sup>2</sup> и с  $200,2 \pm 25,5$  до  $185,2 \pm 16,54$  КОЕ/см<sup>2</sup> соответственно.

Третий критерий – динамика уменьшения площади кожного дефекта (на 3, 7 и 14 сутки эксперимента), из расчета на начало лечения – 0 % заживления (табл. 3).

*Таблица 3*

*Площадь кожной раны (% от площади ожога).*

Серия	3 сут.	7 сут.	14 сут.
Контроль (без лечения)	85,0	45,8	36,9
<b>Мазь випома</b>	<b>52,0</b>	<b>36,0</b>	<b>25,5</b>
Левомеколь (препарат сравнения)	94,5	62,1	26,7

Как видно из данных табл. 3, использование мази випома приводит к более выраженному уменьшению площади кожной раны по сравнению с контрольной группой и животными, получавшими левомеколь.

Таким образом, нами разработана технология мази випома на основе 6,5 % геля МЦ, соответствующая по основным показателям качества требованиям ГФ XI и обладающая удовлетворительными структурно-механическими свойствами. В опытах *in vivo*, было установлено, что мазь обладает дос-

таточно выраженной противоожоговой и ранозаживляющей активностью – ее использование ускоряет процессы эпителизации, приводит к значительному уменьшению площади раны уже на 3 сутки и отчетливому снижению микробной плотности ожоговой поверхности.

### **Разработка технологии помала и лекарственных форм на его основе**

Шрот яблок – доступный источник получения потенциального лекарственного средства, под рабочим названием «Помал» («субстанция помала»), содержащего сумму тритерпеноидов и обладающего гиполипидемическим, гипотриглицеридемическим, противоатеросклеротическим, кардиотоническим и иммуномодулирующим действием [1].

#### ***Разработка технологии помала***

На подготовительном этапе сырье (шрот яблок) после экстрагирования субстанции вилома сушат до остаточной влажности 14,9 %, измельчают, обеспыливают через сито с диаметром отверстий 0,25 мм.

Для выделения помала из шрота яблок нами выбран достаточно простой и доступный метод – ремацерация, характеризующийся минимальными потерями БАВ на диффузии, что способствует наиболее полному истощению сырья.

На полноту извлечения БАВ из растительного сырья наибольшее влияние оказывают природа экстрагента, степень измельчения сырья, продолжительность и кратность экстрагирования. На этом основании нами изучено влияние данных факторов на выход помала.

Пентациклические тритерпеноиды практически нерастворимы в воде и в этаноле низкой концентрации, но растворимы в хлороформе, умеренно растворимы в 96 % этаноле [35]. В качестве экстрагента нами использован 96 %

этанол – наиболее доступный экстрагент, характеризующийся меньшей токсичностью по сравнению с хлороформом.

Для выделения и очистки помала нами использован доступный метод замены растворителя, т.е. к этаноловому извлечению из последнего перколятора добавляют воду очищенную в соотношении 1:1, при этом в осадок выделяется субстанция, содержащая сумму тритерпеноидов, затем отстаивают в течение 24 ч при температуре не более +8 °С, аморфный осадок отделяют фильтрованием или центрифугированием, промывают 50 % этанолом, сушат и измельчают. Следует отметить, что очистка помала методами изменения рН среды, адсорбционным, дробной кристаллизацией, несмотря на получение более чистого продукта, сопряжена со значительными потерями субстанции и целесообразна в основном для получения стандартного образца урсоловой кислоты. Таким образом, при получении помала, наиболее рационально проводить очистку полупродукта методом замены растворителя.

На основании проведенных исследований нами установлено, что оптимальными параметрами экстрагирования помала являются следующие: сырье с размером частиц 1–0,5 мм, соотношение сырье-экстрагент в процессе настаивания – 1:1,5, число перколяторов – 6, продолжительность настаивания в каждом перколяторе – 12 ч. При этом достигается максимальное истощение сырья, процесс протекает с минимальными затратами экстрагента. Выход целевого продукта составляет 4,92 %.

Помал представляет собой аморфный порошок светло-зеленого цвета с характерным запахом и слабо-кислым вкусом, остаточной влажностью – не более 3,5 %. Стандартизацию помала проводили методом спектрофотометрии продуктов реакции тритерпеновых веществ с кислотой серной концентрированной при длине волны 310 нм [19, 33]. Установлено, что помал содержит не менее 80 % суммы тритерпеновых веществ в пересчете на кислоту урсоловую, что говорит об относительно высокой степени его очистки. Для сравнения – лекарственный препарат «Терисерп», обладающий гиполипидемической активностью и получаемый из шрота травы чабреца, должен со-

держат не менее 70 % суммы тритерпеноидов [4, 26]. Следует отметить, что на чистоту субстанции тритерпеноидов значительное влияние оказывает комплексная технология переработки шрота яблок, т.е. предварительное экстрагирование водой очищенной для получения субстанции вилома, что приводит к удалению значительной части водорастворимых «балластных веществ», снижающих процентное содержание тритерпеновых веществ в субстанции помала.

Нами установлено, что субстанция помала стабильна в течение 36 месяцев хранения в сухом защищенном от света месте при температуре  $20\pm 2$  °С по следующим показателям: органолептические свойства, количественное содержание тритерпеновых веществ, остаточная влажность.

На рис. 7. представлена технологическая схема производства субстанции помала.

#### *Технология производства помала*

Технология помала включает следующие стадии и операции:

##### Стадия ВР. 1. Санитарная обработка производства.

Санитарную подготовку производства осуществляют так же, как при производстве субстанции вилома (с. 15–18).

##### Стадия ВР 2. Подготовка сырья.

ВР 2.1. Сушка сырья. Влажный шрот, сразу после экстрагирования субстанции вилома сушат до остаточной влажности 14,9 % в защищенном от прямого солнечного света, проветриваемом помещении.

ВР 2.2. Измельчение сырья. Сухой шрот измельчают на валковых дробилках и по транспортеру передают на стадию просеивания

ВР 2.3. Просеивание сырья. Измельченный шрот просеивают на вибрационных ситах и выбирают фракцию 0,5–1 мм. Фракцию сырья с размером частиц более 1 мм повторно измельчают и просеивают.

ВР 2.4. Приготовление экстрагента. Мерник заполняют рассчитанным количеством 96 % этанола.



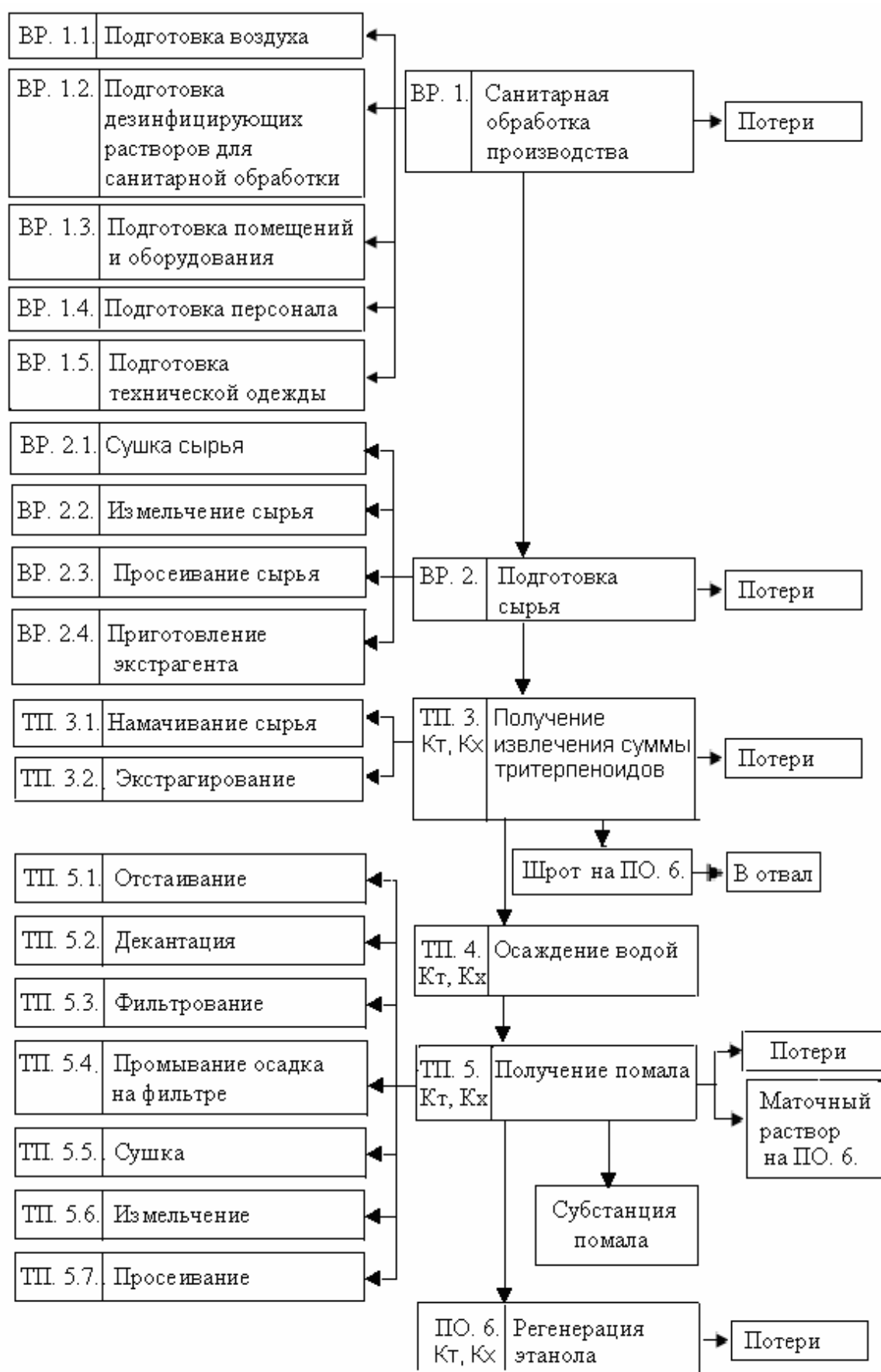


Рис. 7. Технологическая схема производства субстанции помала

### Стадия ТП 3. Получение извлечения суммы тритерпеноидов.

ТП 3.1. Намачивание сырья. Фракцию шрота яблок 0,5–1 мм загружают в мацерационный бак, сверху сырье покрывают сеткой с грузом. Из мерника к сырью добавляют равный объем 96 % этанола и намачивают в течение 4 ч

ТП 3.2. Экстрагирование. Намоченное сырье делят на шесть равных частей. Первую порцию сырья загружают в перколятор № 1 с ложным дном, обтянутым марлей в 3–4 слоя. Сверху сырье покрывают сеткой с грузом. Из мерника в первый перколятор подают 96 % этанол в соотношении сырье-экстрагент примерно 1:1,5 (до «зеркала»). Настаивание продолжают в течение 12 ч. Затем из первого перколятора сливают этаноловое извлечение и добавляют его к намоченному сырью экстрактора № 2 – до соотношения сырье-экстрагент 1:1,5. В I перколятор подают 96 % этанол. Ремацерацию проводят в батарее из шести перколяторов. Извлечение из шестого перколятора используют для выделения помала.

Стадия ТП 4. Осаждение водой. К извлечению целевого продукта из VI перколятора добавляют равное по объему количество воды, при этом осаждаются тритерпеновые соединения, преимущественно урсоловая кислота.

### Стадия ТП 5. Получение помала.

ТП 5.1. Отстаивание. Разбавленное водой извлечение перекачивают в отстойник периодического действия и проводят отстаивание полученной суспензии в течение 24 ч при температуре не более +8 °С.

ТП 5.2. Декантация. После отстаивания надосадочную жидкость сливают через краны, расположенные на разной высоте отстойника.

ТП 5.3. Фильтрование. Осадок отделяют фильтрованием с использованием фильтров, работающих под давлением столба жидкости. В качестве фильтрующего материала используют фильтровальную бумагу.

ТП 5.4. Промывание осадка на фильтре. Осадок помала загружают в реактор, снабженный мешалкой, и многократно промывают 40–50 % этанолом, в котором нерастворим помал и вторично фильтруют.

ТП 5.5. Сушка. Целевой продукт раскладывают тонким слоем (не более 5 мм) на тканевую поверхность и сушат в сушильном шкафу, при температуре не выше 60 °С. Остаточная влажность помала не должна превышать 3,5 %. Выход целевого продукт составляет 4,92 %.

ТП 5.6. Измельчение. Высушенный помал измельчают в барабанных мельницах и по движущей ленте передают на стадию просеивания.

ТП 5.7. Просеивание Измельченный продукт просеивают на вибрационных ситах, выделяя фракцию с размером не более 0,5 мм. Отсев направляют на дополнительное измельчение и просеивание.

Целевой продукт представляет собой аморфный порошок светло-зеленого цвета с характерным запахом и слабо-кислым вкусом, остаточной влажностью – не более 3,5 % и содержанием суммы тритерпеновых веществ в пересчете на кислоту урсоловую – не менее 80 %.

#### ПО 6. Регенерация этанола.

Истощенное сырье из перколятора I выгружают и помещают его на ложное дно перегонного куба и осуществляют регенерацию этанола. Кроме того, производят регенерацию этанола из объединенного маточного этанолового раствора после отделения помала (стадии ТП 5.2., 5.3., 5.4).

Далее субстанция помала использована нами для разработки технологии гранул и таблеток.

На основании разработанной технологии производства целевого продукта нами составлена соответствующая НТД, а именно лабораторный регламент и проект ФСП субстанции помала.

### **Разработка технологии гранул помала**

Гранулы, как ЛФ, обладают рядом положительных свойств (описанных в разделе «Разработка технологии гранул випома»). На этом основании нами разработана технология гранул помала и изучено влияние вспомогательных веществ на их важнейшие физико-химические и технологические характеристики.

Учитывая гидрофобную природу помала, его низкую прессуемость (прочность модельной таблетки помала на сжатие – 2 кг), наиболее рационален метод влажного гранулирования с использованием гидрофильных вспомогательных веществ, обеспечивающих хорошую распадаемость гранул, их высокую прочность и однородный фракционный состав.

С целью изучения влияния природы вспомогательных веществ и их количества на технологические характеристики гранул нами была проведена серия опытов по получению гранул помала с использованием следующих гидрофильных вспомогательных веществ:

1. Сахароза и крахмал – наиболее доступные вспомогательные вещества, обладающие высокой гидрофильностью. Их использование позволит улучшить биодоступность гидрофобной субстанции помала.

2. Пектин, выделенный нами из шрота яблок, обладающий энтеросорбционным и гиполипидемическим действием [28, 36, 39].

Пектин получен нами из шрота яблок по методике, описанной Сапожниковой Е.В. Автор подчеркивает, что наиболее правильно проводить извлечение пектина из материала, обработанного этанолом, при этом удаляются все сахара наряду с другими этанолорастворимыми соединениями, присутствие которых значительно снижает качество целевого продукта. В сырье остаются главным образом полисахариды (клетчатка, гемицеллюлоза, крахмал) и пектиновые вещества [28]. На этом основании, первоначально из шрота нами выделена субстанция помала, как описано выше, а затем сырье, после регенерации этанола, используют для получения пектина.

С целью выделения пектина шрот экстрагируют водой при температуре 45–50 °С в течение 30 мин, затем нагревают до кипения в течение нескольких мин и фильтруют. К охлажденному извлечению добавляют трехкратный объем 96 % этанола, отстаивают в темном месте при температуре 3–4 °С в течение 10–12 ч, выделившийся пектин отделяют фильтрованием или центрифугированием, сушат и измельчают. Сырье, для его более полного истощения,

пятикратно экстрагируют и далее выделяют целевой продукт, как описано выше [28]. Выход пектина яблочного составляет 7,5 %.

3. Натрия пектинат также полученный нами из шрота яблок. Известно, что натрия пектинат, по сравнению с пектином яблочным, быстрее набухает и растворяется в воде и, как следствие, улучшает один из важнейших технологических параметров гранул – распадаемость [42].

Методика получения натрия пектината заключалась в следующем: на первом этапе из шрота яблок, после экстрагирования помала, получено водное извлечение, содержащее пектин яблочный (как описано выше), к которому добавляют 5 % раствор натрия гидрокарбоната до значения pH 8,0. Затем натрия пектинат осаждают добавлением трехкратного объема 96 % этанола и отстаивают при температуре +5 °С в течение 10–12 ч. Осадок отделяют центрифугированием, промывают несколько раз 96 % этанолом до нейтральной реакции, вновь центрифугируют и сушат при температуре не выше 50 °С. Готовый продукт представляет собой крупнокристаллический порошок, который измельчают в присутствии пятикратного количества воды, затем сушат при температуре не выше 40 °С. Как и при получении пектина яблочного сырья, для его более полного истощения, пятикратно экстрагируют и далее выделяют целевой продукт, как описано выше. Выход натрия пектината составляет 9,5 %.

4. Натрия альгинат – полимер на основе альгиновых кислот, получаемых из бурых водорослей. Натрия альгинат также как и натрия пектинат является энтеросорбентом, характеризующимся быстрым набуханием в воде, но с более выраженной радиопротекторной активностью [21, 39].

5. Сорбит пищевой порошкообразный – заменитель сахарозы, благоприятно влияющий на функцию желудочно-кишечного тракта и обладающий желчегонной активностью [35].

В качестве увлажнителей нами использована вода очищенная, а также водные растворы следующих веществ: крахмала 1–5 %, пектина яблочного 1–5 %, натрия пектината 1 %, ПВП 1–3 %, МЦ 1–3 %, Na-КМЦ 1 %, натрия

альгината 1–4 %. Кроме того, как увлажнитель использована субстанция ви-  
пома, полученная по описанной выше технологии и разбавленная водой в со-  
отношении 1:1.

Гранулы готовили методом влажного гранулирования с использовани-  
ем гранулятора с диаметром отверстий 1 мм; с последующей сушкой сначала  
при комнатной температуре (10–12 ч), а затем при температуре 40–50 °С в тече-  
ние 3–4 ч, вторичным гранулированием через сито с тем же диаметром от-  
верстий и выделением гранулята преобладающей фракции – 0,5–1 мм.

Полученные гранулы помала анализировали в соответствии с ГФ XI по  
следующим показателям: гранулометрический состав, остаточная влажность,  
распадаемость, прочность на истирание, насыпная масса, текучесть.

Установлено, что гранулы помала с пектином яблочным characterи-  
зуются неудовлетворительной распадаемостью вследствие медленного набуха-  
ния пектина. Разработанный нами способ получения натрия пектината позво-  
ляет использовать данную субстанцию в качестве вспомогательного веществ-  
ва – разрыхлителя в технологии гранул, характеризующихся удовлетвори-  
тельной распадаемостью и прочностью. В данную ЛФ включены две разные  
субстанции с гипополипидемической активностью – помал и натрия пектинат.  
Кроме того, натрия пектинат, как и все пектиновые вещества – не только  
вспомогательное вещество, но и потенциальное ЛС.

На основании проведенных нами исследований установлены наиболее  
оптимальные составы гранул помала:

№ 1 – помал с сахарозой (1:1), увлажнитель – вода;

№ 2 – помал с сорбитом (1:1), увлажнитель – вода;

№ 3 – помал с натрия пектинатом (1:1), увлажнитель – вода;

№ 4 – помал с натрия пектинатом (1:1), увлажнитель – 1 % раствор на-  
трия пектината;

№ 5 – помал с натрия пектинатом (1:1), увлажнитель – субстанция ви-  
пома;

№ 6 – помал с натрия альгинатом (1:1), увлажнитель – вода.

Гранулы разработанных составов соответствуют требованиям ГФ XI по основным показателям (табл. 4). На рис. 8 приведен фракционный состав гранул помала, который показывает, что все они имеют в основном размеры 0,25–1 мм.

Таблица 4.

Технологические свойства гранул помала

Состав гранул	Распадаемость, мин	Прочность на истирание, %	Остаточная влажность, %	Насыпная масса, кг/м <sup>3</sup>	Сыпучесть, г/с
№ 1	6	99,4	3,4	566	9,8
№ 2	5	99,97	3,1	375	9,7
№ 3	8	99	3,2	405	9,4
№ 4	11	99,2	3,5	412	9,7
№ 5	7	98,9	3,5	419	9,6
№ 6	12	99,8	3,1	591	10,1

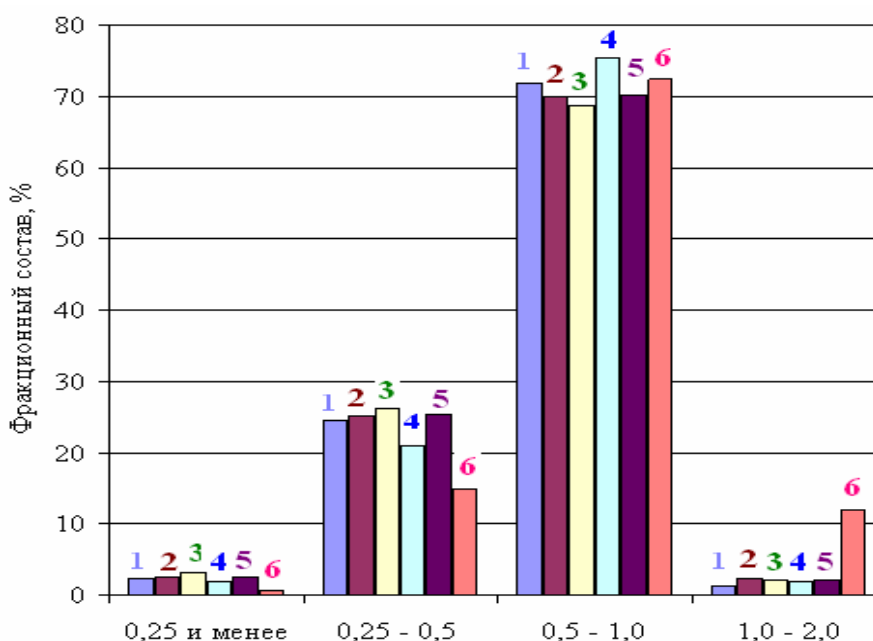


Рис. 8. Фракционный состав гранул помала

Разработаны гранулы помала в твердых желатиновых капсулах, что позволяет увеличить точность дозирования и удобство при применении внутрь.

Поскольку средняя разовая терапевтическая доза помала составляет 0,2 г, оптимальное соотношение помала и вспомогательных веществ в гранулах – 1:1, то установлено, что гранулы помала с сахарозой (состав № 1) необходимо помещать в капсулы № 00; гранулы помала с сорбитом и с натрия пек-

тинатом (составы №№ 2–5) – в капсулы № 000, а гранулы помала с натрия альгинатом (состав № 6) – в желатиновые капсулы № 0.

Содержание суммы тритерпеноидов в одной капсуле составляет от 0,156 до 0,160 г в пересчете на кислоту урсоловую [19].

Нами установлено, что гранулы помала в твердых желатиновых капсулах стабильны в течение 36 месяцев хранения при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте по основным показателям качества, регламентируемых ГФ XI, в том числе и по количественному содержанию тритерпеноидов.

Таким образом, нами разработана технология получения гранул помала – потенциального гипополипидемического средства, обладающего низкой токсичностью. Приготовленные гранулы по всем показателям соответствуют требованиям ГФ XI. Кроме того, нами изучена и подтверждена возможность сочетания в одной ЛФ помала и энтеросорбентов – натрия альгината и натрия пектината, выделенного из шрота яблок.

На этом основании нами разработана технологическая схема производства гранул помала (рис. 9).

### *Технология производства гранул помала*

Рассмотрена на примере приготовления гранул помала с сахарозой (1:1), увлажнитель – вода очищенная.

#### Стадия ВР. 1. Санитарная обработка производства.

Санитарную подготовку производства осуществляют так же, как при производстве субстанции вилома (см. с. 15–18).

#### Стадии ВР. 2. Подготовка сырья.

ВР. 2.1. Измельчение сырья и ВР. 2.2 Просеивание сырья осуществляют, используя те же технологические приемы и оборудование, как и при производстве гранул вилома (ВР. 2.4. и ВР. 2.5, соответственно) и выделяют фракцию помала с размером частиц – не более 0,5 мм. Отсев направляют на вторичное измельчение и просеивание



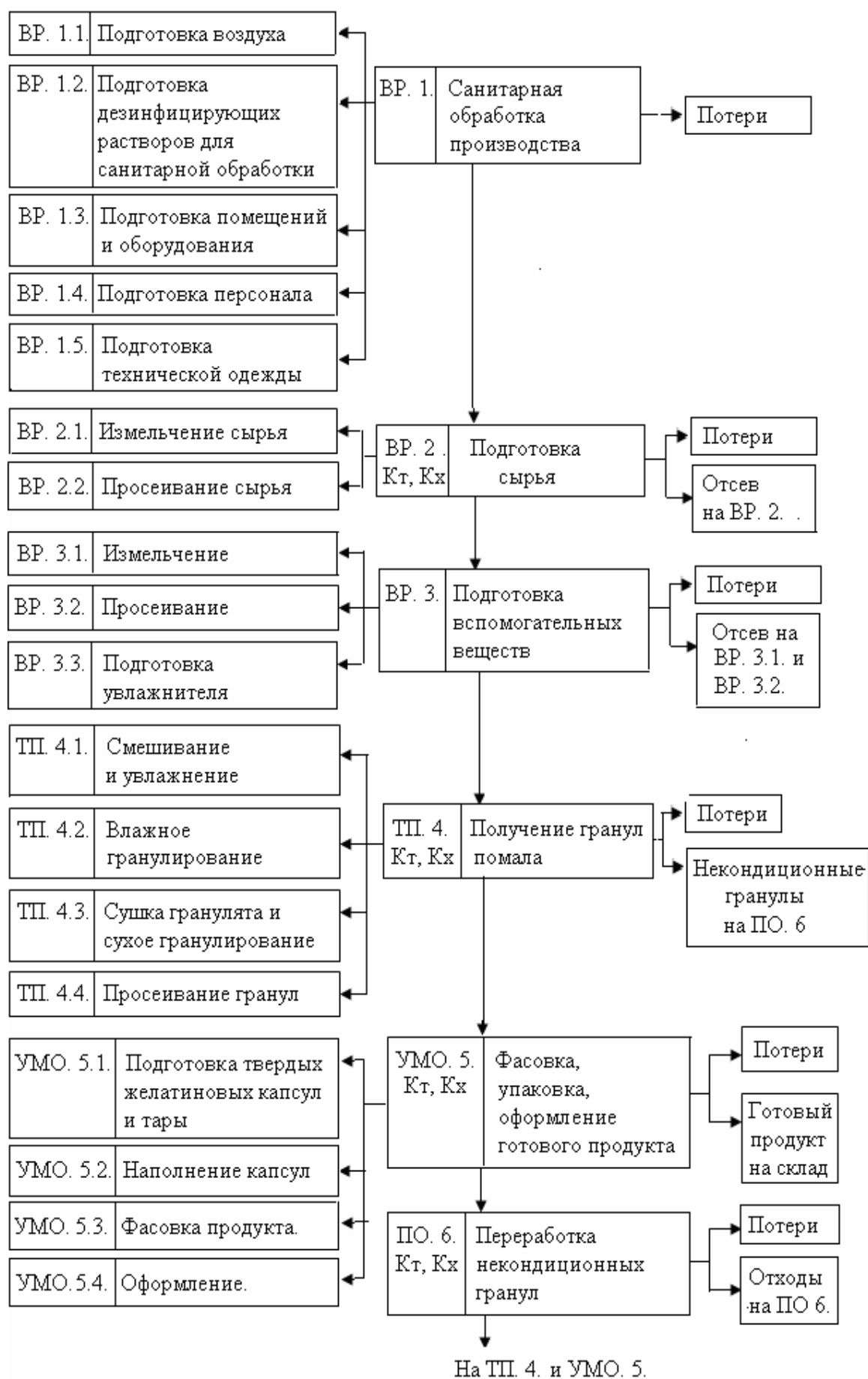


Рис. 9. Технологическая схема производства гранул помала

### Стадия ВР. 3. Подготовка вспомогательных веществ.

ВР. 3.1. Измельчение и ВР. 3.2. Просеивание. Данные технологические операции осуществляют так же, как и при подготовке сырья (ВР.2) и выделяют фракцию сахарозы с размером частиц – не более 0,5 мм.

### ВР. 3.3. Подготовка увлажнителя.

Мерник заполняют рассчитанным количеством воды очищенной.

### Стадия ТП. 4. Получение гранул помала.

#### ТП. 4.1. Смешивание и увлажнение.

В червячно-лопастной смеситель загружают сахарозу и помал в соотношении 1:1 и перемешивают до однородного состояния. Затем смесь постепенно увлажняют водой очищенной (из расчета 27 л воды на 100 кг смеси сухих ингредиентов) при тщательном перемешивании до получения пластичной немаркой массы, которую передают в гранулятор.

ТП. 4.2. Влажное гранулирование, ТП. 4.3. Сушка гранулята и сухое гранулирование, ТП. 4.4. Просеивание гранул осуществляют, так же как и при получении гранул вилома.

После взятия пробы на анализ по следующим показателям: фракционный состав, прочность на истирание, распадаемость, насыпная масса, сыпучесть, остаточная масса, количественное содержание суммы тритерпеновых веществ – должно быть не менее 0,38 г и не более 0,42 г в 1,0 г гранулята (в случае положительных результатов анализа) гранулы помала передают на фасовку.

Стадии УМО. 5. Фасовка, упаковка, оформление готового продукта и ПО. 6. Переработка некондиционных гранул проводят, применяя технологические приемы и оборудование, которые использованы на аналогичных стадиях при получении гранул вилома. При этом, гранулы помала с сахарозой необходимо помещать в капсулы № 00.

На основании разработанной технологии производства целевого продукта нами составлена соответствующая НТД, а именно лабораторный регламент и проект ФСП гранул помала.

### *Разработка технологии таблеток помала*

С целью обеспечения точного дозирования помала, удобства при хранении и применении, нами разработаны технологические схемы приготовления таблеток с использованием предварительного гранулирования и содержанием помала в каждой таблетке – 0,2 г.

Ранее нами установлен оптимальный состав и технология гранул помала. Нами изучена возможность получения таблеток на основе этих гранул, а также на основе гранул помала с крахмалом (в соотношении 1:1, при использовании в качестве увлажнителей – водных растворов крахмала 1–5 %, пектина яблочного 1–5 %, ПВП 1–3 %, МЦ 1–3 %, Na-КМЦ 1 %, натрия альгината 1–4 %, субстанции вилома), характеризующихся лучшей распадаемостью и удовлетворительной прочностью на истирание и сыпучестью, что особенно важно при приготовлении таблеток.

Таким образом, нами приготовлен гранулят для таблетирования следующего состава:

№ 1 – помал с сахарозой (1:1), увлажнитель – вода;

№ 2 – помал с сорбитом (1:1), увлажнитель – вода;

№ 3 – помал с натрия пектинатом (1:1), увлажнитель – вода;

№ 4 – помал с натрия пектинатом (1:1), увлажнитель – 1 % раствор натрия пектината;

№ 5 – помал с натрия пектинатом (1:1), увлажнитель – субстанция вилома;

№ 6 – помал с натрия альгинатом (1:1), увлажнитель – вода;

№ 7 – помал с крахмалом (1:1), увлажнитель – 5 % раствор крахмала;

№ 8 – помал с крахмалом (1:1), увлажнитель – 5 % раствор пектина яблочного;

№ 9 – помал с крахмалом (1:1), увлажнитель – субстанция вилома;

№ 10 – помал с крахмалом (1:1), увлажнитель – 3 % раствор натрия альгината;

№ 11 – помал с крахмалом (1:1), увлажнитель – 2 % раствор МЦ.

Нами отобрана фракция гранулята – 0,5–1 мм указанных составов, ее опудрили кальция стеаратом (в количестве 1 % от массы гранулята) и подвергли прессованию на лабораторном прессе с рабочим давлением 36,16–289,0 кг/см<sup>2</sup>.

Качество таблеток оценивали согласно статьям ГФ XI по следующим показателям: внешний вид, средняя масса и отклонения в средней массе отдельных таблеток, распадаемость, прочность на сжатие и на истирание, качественный и количественный анализ.

Использование сахарозы и сорбита для получения таблеток приводит к снижению текучести таблетлируемых масс, способствует их налипанию на рабочие поверхности пуансонов и матрицы и увеличивает давление выталкивания таблетки из матрицы. В результате нами получены таблетки неудовлетворительного качества: с трещинами и сколами.

Нами установлено, что, при использовании крахмала, а в качестве увлажнителей 5 % растворов крахмала и пектина яблочного, субстанции випема, 2 % раствора МЦ, 3 % раствора натрия альгината таблетки помала соответствуют требованиям ГФ XI по показателям распадаемости, прочности на сжатие и истирание. Однако наиболее рационально в качестве увлажнителей использовать 5 % растворы крахмала и пектина яблочного. При этом таблетки состава № 7 имеют наибольшую прочность на сжатие и истирание, что особенно важно в процессе транспортировки и хранения, а таблетки состава № 8 обладают наилучшей распадаемостью (табл. 5).

Установлено, что средняя масса таблеток помала с крахмалом составляет 0,41 г, отклонения в массе отдельных таблеток (у данных составов) составили  $\pm 2,5$  %, что соответствует требованиям ГФ XI.

Стандартизацию таблеток помала исследуемых составов проводили по количественному содержанию тритерпеновых веществ [19]. Установлено, что данный показатель составляет – не менее 0,158 г в одной таблетке (в пересчете на кислоту урсоловую).

*Технологические характеристики таблеток помала*

Состав таблеток	Рабочее давление прессования, кг/см <sup>2</sup>	Распадаемость, мин	Прочность на сжатие, кг	Прочность на истирание, %
№ 3	70,32	Более 1 ч	7	99,3
№ 4	70,32	Более 1 ч	7	99,6
№ 5	105,48	Более 1 ч	6	99,1
№ 6	70,32	Более 1 ч	6	99,8
№ 7	<b>35,16</b>	<b>8</b>	<b>Свыше 8</b>	<b>99,2</b>
№ 8	<b>70,32</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>98,9</b>
№ 9	175,8	11	6	99
№ 10	70,32	12	6	99,5
№ 11	105,48	6	6	99,1

Нами установлено, что таблетки помала характеризуются высокой стабильностью в течение 36 месяцев хранения в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре по основным показателям качества, регламентируемых ГФ XI: внешний вид, средняя масса и отклонения в средней массе отдельных таблеток, распадаемость, прочность на сжатие и на истирание, а также по количественному содержанию тритерпеновых веществ.

На основании проведенных исследований нами разработана технологическая схема производства таблеток помала (рис. 10).

*Технология производства таблеток помала*

Рассмотрена на примере приготовления таблеток помала с крахмалом (1:1), увлажнитель – 5 % раствор крахмала.

Стадия ВР. 1. Санитарная обработка производства.

Санитарную подготовку производства осуществляют так же, как при производстве субстанции випома (см. с. 15–18).

Стадии ВР. 2. Подготовка сырья.

ВР. 2.1. Измельчение сырья и ВР. 2.2 Просеивание сырья осуществляют, используя те же технологические приемы и оборудование, как и при производстве гранул випома (ВР. 2.4. и ВР. 2.5, соответственно) и выделяют фракцию помала с размером частиц – не более 0,5 мм. Отсев направляют на вторичное измельчение и просеивание.

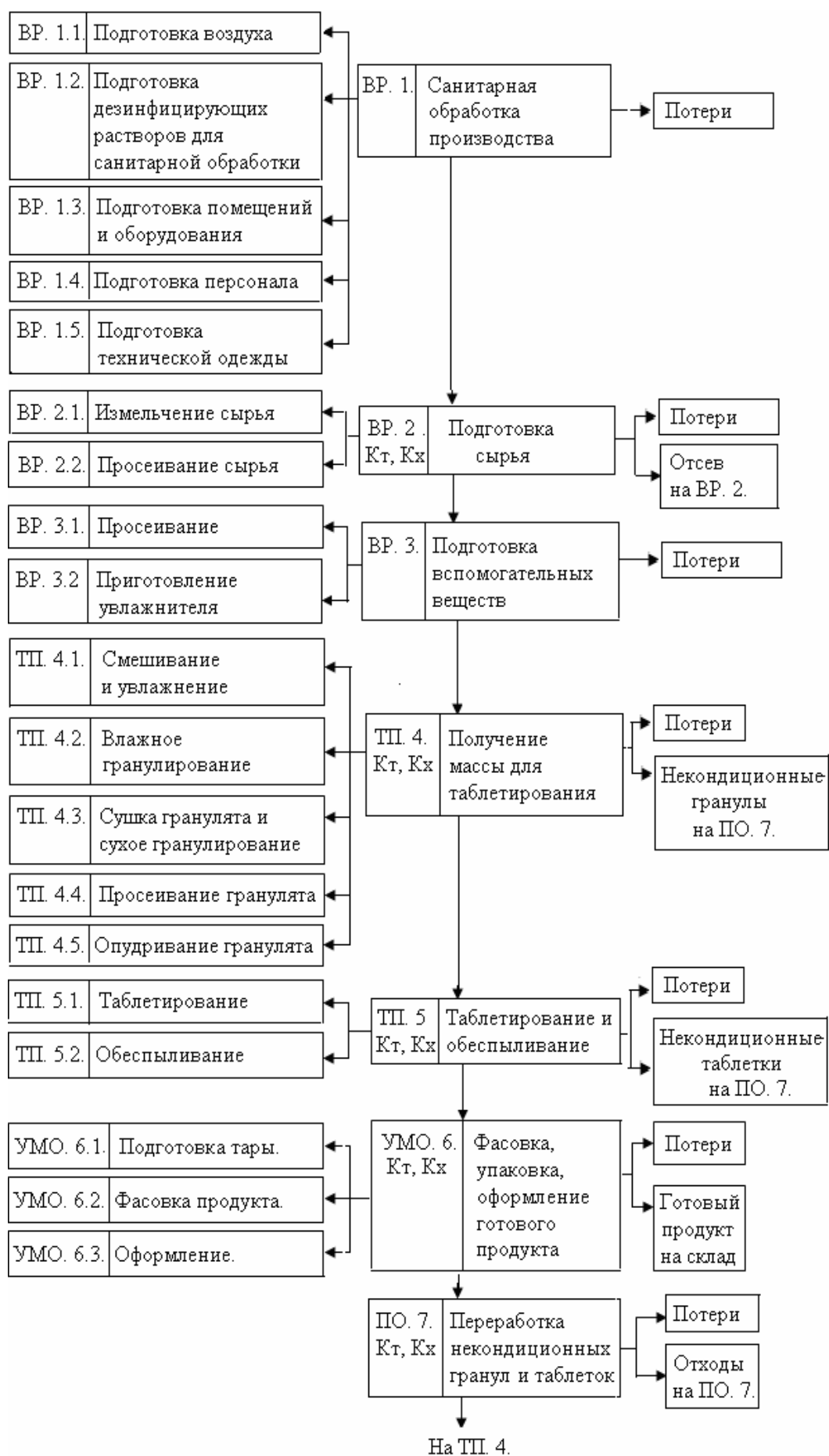


Рис. 10. Технологическая схема производства таблеток помала

### Стадия ВР. 3. Подготовка вспомогательных веществ.

ВР. 3.1. Просеивание. Данную технологическую операцию осуществляют так же, как и при подготовке сырья (ВР.2) и выделяют фракцию крахмала с размером частиц – не более 0,5 мм.

#### ВР. 3.2. Приготовление увлажнителя (загрузка 100 кг).

В реактор с паровой рубашкой и якорной мешалкой заливают 75 л воды очищенной и нагревают до температуры 85–95 °С. В другом реакторе, при комнатной температуре смешивают 5 кг крахмала и 20 л воды очищенной холодной, полученную суспензию с помощью насоса перекачивают в первый реактор с горячей водой и нагревают при заданной температуре и постоянном перемешивании в течение нескольких мин до получения однородной консистенции. Затем раствор фильтруют в горячем состоянии через друк-фильтр, в случае необходимости доводят водой до требуемой массы (100,0 кг).

### Стадия ТП. 4. Получение массы для таблетирования.

#### ТП. 4.1. Смешивание и увлажнение.

В червячно-лопастной смеситель загружают крахмал и помал в соотношении 1:1 и перемешивают до однородного состояния. Затем смесь постепенно увлажняют свежеприготовленным 5 % раствором крахмала (из расчета 55 л раствора на 100 кг смеси сухих ингредиентов) при тщательном перемешивании до получения пластичной немаркой массы, которую передают в гранулятор.

ТП. 4.2. Влажное гранулирование, ТП. 4.3. Сушка гранулята и сухое гранулирование, ТП. 4.4. Просеивание гранул осуществляют так же как и при производстве гранул випома.

После взятия пробы на анализ по следующим показателям: фракционный состав, прочность на истирание, распадаемость, насыпная масса, сыпучесть, остаточная масса, количественное содержание суммы тритерпеновых веществ – не менее 0,39 г и не более 0,4 г в 1,0 г гранулята (в случае положи-

тельных результатов анализа) гранулы помала передают на опудривание и последующее таблетирование.

ТП. 4.5. Опудривание гранулята. Гранулят загружают в барабанный смеситель и при перемешивании со скоростью 6–8 об/мин частями добавляют кальция стеарат в количестве 1 % от массы гранулята. Кальция стеарат используют как смазывающее вспомогательное вещество, снижающее давление выталкивания таблетки из матрицы и предотвращающее образование царапин на их гранях.

#### Стадия ТП. 5. Таблетирование и обеспыливание.

ТП. 5.1. Таблетирование. Опудренный гранулят из бункера засыпают в матрицы роторно-таблеточной машины, диаметр которых составляет 9 мм, и при давлении прессования  $35,16 \text{ кг/см}^2$  получают таблетки помала светло-зеленого цвета диаметром 9 мм, высота  $0,45 \pm 0,5$  мм, в изломе светло-зеленого цвета.

#### ТП. 5.2. Обеспыливание таблеток.

Для удаления с поверхности таблеток, входящих из пресса пылевых фракций, таблетки проходят через вращающийся перфорированный барабан и очищаются от пыли, которая отсасывается из обеспыливателя пылесосом.

После взятия пробы таблеток на анализ по следующим показателям: внешний вид, средняя масса и отклонения в средней массе отдельных таблеток, распадаемость, прочность на сжатие и на истирание, а также количественное содержание тритерпеновых веществ (должно быть 0,152–0,168 г, в пересчете на среднюю массу одной таблетки). В случае положительных результатов анализа таблетки помала передают на фасовку.

Стадии УМО. 5. Фасовка, упаковка, оформление готового продукта и ПО. 6. Переработка некондиционных гранул проводят, применяя технологические приемы и оборудование, которые использованы на аналогичных стадиях при получении гранул помала. Следует отметить, что таблетки помала упаковывают в широкогорлые флаконы светозащитного стекла по 60 штук, с



навинчиваемыми крышками. Свободное пространство заполняют ватой медицинской гигроскопической.

На основании разработанной технологии производства целевого продукта нами составлена соответствующая НТД, а именно лабораторный регламент и проект ФСП таблеток помала.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Нами разработана комплексная технология по переработке ценного отхода промышленного производства – шрота яблок. Комплексная переработка шрота яблок экстрагированием водой позволяет получить потенциальное лекарственное средство «Випом» в различных лекарственных формах (жидкая лекарственная форма для внутреннего применения, гранулы, мазь), обладающее антирадикальным, гепатопротекторным, желчегонным, гипохолестеринемическим и ранозаживляющим действием и относящееся к практически нетоксичным веществам. Затем из того же шрота яблок экстрагированием этиловым спиртом получают потенциальное лекарственное средство «Помал» и соответствующие лекарственные формы (гранулы, таблетки), обладающие гиполипидемической, противоатеросклеротической, иммуномодулирующей и кардиотонической активностью.

Таким образом, на основании проведенных исследований нами разработана технология по комплексной переработке шрота яблок (рис. 11).

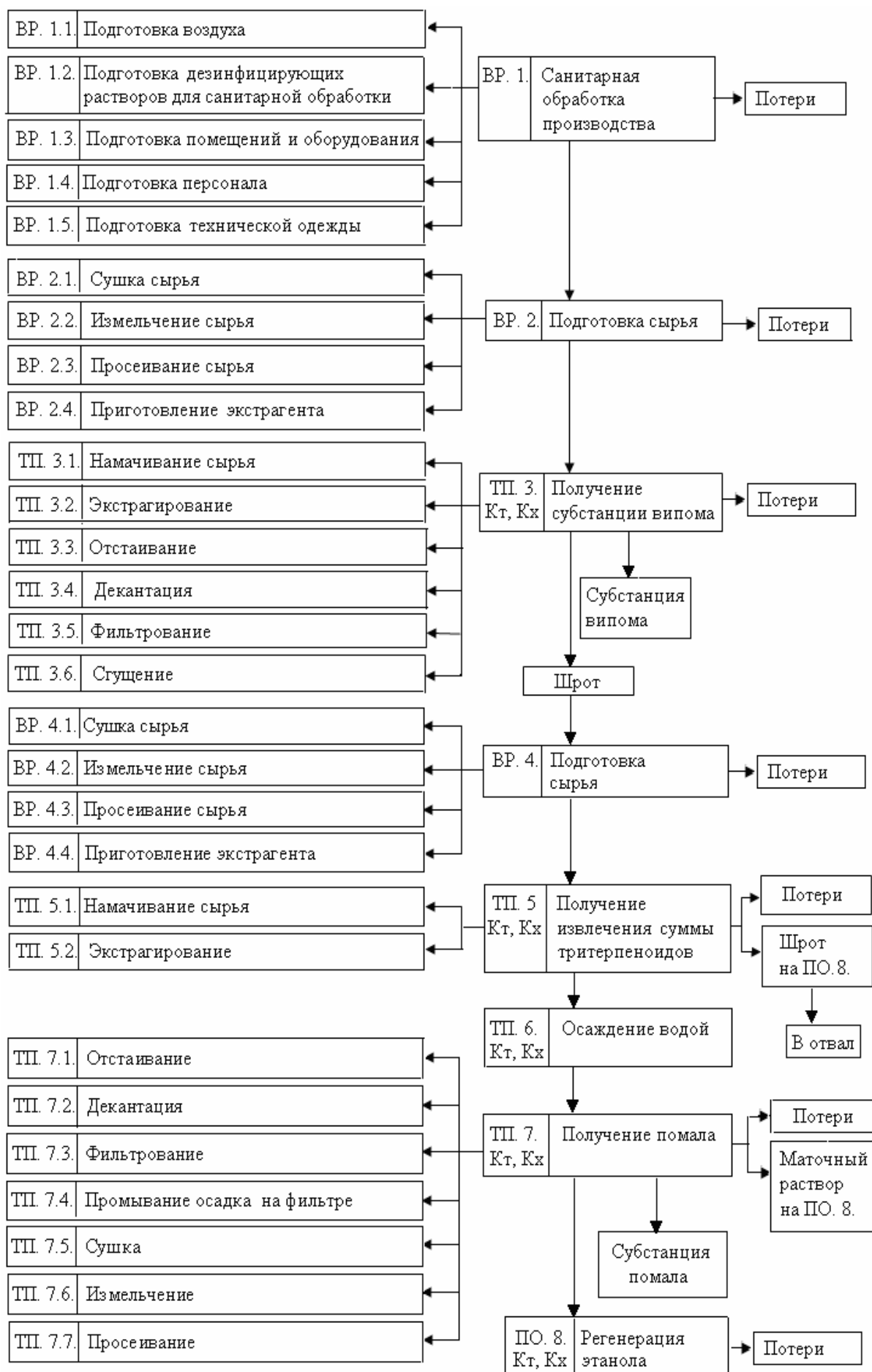


Рис. 11. Технологическая схема комплексной переработки шрота яблок

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А1 1767739 RU А61 К 35/78 Способ получения средства, обладающего гипохолестеринемическим действием / Оганесян Э.Т., Василенко Ю.К., Симонян А.В. – № 4843660/14; Заявлено 29.06.90.
2. Алексеева, И.В. Разработка лекарственных форм для лечения ран / И.В. Алексеева // Фармация –2003. – Т.52, № 2. – С.43–45.
3. Аминокислоты в медицине / Западнюк В. И., Купраш Л.П., Заика М.У. и др. – Киев: Здоров'я, 1982. – 199 с.
4. ВФС 42-2701-96. Терисерп. – 14.07.96.
5. Выбор состава и разработка технологии таблеток сухого экстракта стевии / Ф. Т. Холтоев, Н.С. Файзуллаева, М.У. Усуббаев и др. // Хим.-фарм. журн. – 2003. – Т. 37, № 6. – С. 42–45.
6. Гидроколлоидные покрытия – новое поколение средств для лечения ран и ожогов (обзор) / Г.Я. Кивман, Ю.В. Ляшенко, Э.З. Рабинович и др. // Хим.-фарм. журн. – 1994. – Т. 28, № 9. – С. 21–27.
7. Государственная фармакопея СССР. – XI – изд. – М.: Медицина, 1987. – Вып 1. – 336 с.
8. Гранатова, В.П. Комплексное использование яблочных выжимок / Гранатова В.П., Давиденко Л.И., Зайко Г.М. // Изв. вузов. Пищ. технол. – 1998. – № 2–3. – С. 49–51.
9. Громова, В.Ф. Применение импульсной вольтамперометрии для изучения антиокислительной активности физиологически активных веществ // Громова В.Ф., Шаповал Г.С., Луйк А.И. // Хим.-фарм. журн. – 1994. – Т. 28, № 11. – С. 11–14.
10. Дегтярев, И.А. Ионол. Распределение в организме, метаболизм и биологическое действие. II. Биологическое действие ионола (Обзор) / Дегтярев И.А., Заиков Г.Е. // Хим.-фарм. журн. – 1985. – Т. 19, № 10. – С. 1160–1168.
11. Дудченко, Л.Г. Пищевые растения – целители / Дудченко Л.Г., Кривенко В.В. – Киев: Урожай, 1989. – 210 с.

12. Елисеев, Э.И. Биохимические особенности плодов диких видов яблони в условиях Сев. Кавказа / Э.И. Елисеев // Бюл. Всесоюз. Ин-та растениеводства. – 1971. – Вып. 73. – С. 53–55.
13. Изучение местноанестезирующего и ранозаживляющего действия мазей на гидрофильных основах / С.В. Чащина, В.Э. Колла, Н.А. Горнова и др. // Фармация – 1992. – Т.41, № 3. – С.17–20.
14. Использование нингидриновой реакции для количественного определения  $\alpha$ -аминокислот в различных объектах: Метод. реком. / ВолГМУ; Сост. А.В. Симонян, А.А. Саламатов, Ю.С. Покровская и др. – Волгоград, 2007. – 45 с.
15. Макарова, М.Н. Антирадикальная активность флавоноидов и их комбинаций с другими антиоксидантами / Макарова М.Н., Макаров В.Г., Зенкевич И.Г. // Фармация – 2004. – Т. 53, № 2. – С. 30–32.
16. Малыченко, В.В. Яблоня / В.В. Малыченко: Справочник. – Волгоград: Нижне-Волжское кн. изд-во, 1994. – 578 с.
17. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский: В 2 т. – 14-е изд. перераб. и доп. – М.: Новая волна, 2000. – 2 т.
18. Мичник, О.В. Исследования реологических свойств мазей, содержащих различные фитокомплексы / Мичник О.В., Степанова Э.В., Гладышев В.В. // Фармация. – 1993. – № 1–3. – С. 21–24.
19. Оганесян, Э.Т. Спектры поглощения некоторых пентациклических три-терпеноидов в серной кислоте / Оганесян Э.Т., Шинкаренко А.Л., Бандюкова В.А. // Химия природ. соединений. – 1968. – № 24. – С. 147, 212.
20. Определение антиоксидантной активности экстрактов растительного сырья методом катодной вольтамперометрии / Е.И. Короткова, О.А. Аврамчик, М.С. Юсубов и др. // Хим.-фарм. журн. – 2003. – Т. 37, № 9. – С. 55–56.
21. Особенности действия и перспективы применения в медицине деградированных альгинатов / И.С. Ажгихин, А.И. Аразашвили, Н.Н. Аракелова и др. // Фармация – 1988. – Т. 37, № 1. – С.77–85.

22. Пашков, А.Н. Приставка к хемилуминометру ХЛМ 1Ц-01 для определения гасителей хемилуминесценции / А.Н. Пашков // Клиническая лабораторная диагностика – 1992. – № 5–6 . – С. 62–63.
23. Перцев, И.М. Многокомпонентные мази на гидрофильной основе / Перцев И.М., Даценко Б.М., Гунько В.Г. // Фармация – 1990. – Т. 39, №5. – С.73–77.
24. Плотников, З.Е. О яблоке и из яблок / З.Е. Плотников – М.: Колос, 1992 – 191 с.
25. Получение и изучение физико-химических и гепатопротекторных свойств пектиновых веществ / Ю.К. Василенко, С.В. Москаленко, Н.Ш. Кайшева и др. // Хим.-фарм. журн. – 1997. – Т. 31, № 6. – С. 28–29.
26. Получение и изучение физиологической активности тритерпенового вещества, выделенного из отходов производства экстракта чабреца / Ю.К. Василенко, Э.Т. Оганесян, Л.И. Лисевицкая и др. // Хим.-фарм. журн. – 1978. – Т. 12, № 9. – С. 61–65.
27. Причко, Т.Г. Биологически активные вещества яблок Кубани в процессе созревания и хранения / Причко Т.Г., Скорикова Ю.Г. // Теория и практика применения искусственного холода в пищевых отраслях. – СПб., 1993. – С. 15–21.
28. Сапожникова, Е.В. Пектиновые вещества плодов / Е.В. Сапожникова. – М.: Химия, 1965. – 195 с.
29. Сейфулла, Р.Д. Проблемы фармакологии антиоксидантов / Сейфулла Р.Д., Борисова И.Г. // Фармакология и токсикология. – 1990. – Т. 53, № 6. – С. 3–10.
30. Семкина, О.А. Мази, гели, линименты и кремы, содержащие фитопрепараты (обзор) / О.А. Семкина // Хим.-фарм. журн. – 2005. – Т. 39, № 7. – С. 30–36.
31. Семчук, Н.А. Яблоки на вашем столе / Н.А. Семчук. – Минск: Кн. изд-во, 1992. – 411 с.

32. Симонян, А.В. Природные и синтетические производные коричной кислоты / А.В. Симонян: Монография. – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. – 164 с.
33. Симонян, А.В. Химическое исследование тритерпеноидов и полифенолов некоторых видов *Thymus L.*, произрастающих на Кавказе / А.В. Симонян: Автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук. – Ставрополь, 1972. – 28 с.
34. Синтез, антирадикальная и антиоксидантная активность циквалона и его аналогов / М.А. Симонян, Х. Диб, А.Н. Пашков и др. // Хим.-фарм. журн. – 2007. – Т. 41, № 8. – С. 7–10.
35. Химическая энциклопедия: В 5 т. – М.: Большая Российская Энциклопедия, 1995. – 5 т.
36. Хотимченко, М.Ю. Фармакологическая активность низкоэтерифицированного пектина / М.Ю. Хотимченко: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Владивосток, 2002. – 24 с.
37. Шелухина, Н.П. Научные основы технологии пектина / Н.П. Шелухина: Монография. – Фрунзе, 1988. – 210 с.
38. Шишкина, Е.Е. Пищевая ценность сибирских яблок / Шишкина Е.Е., Архипова Т.Н., Солоненко Е.П. // Пищ. пром-ть. – 1988. – № 7. – С. 33–34.
39. Эффективность применения пектина и натрия альгината при хронической интоксикации солями кадмия в эксперименте / В.К. Сибиряков, М.В. Марченко, М.Л. Мелихова и др. // Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности: Материалы Рос. науч. конф., Санкт-Петербург, 11–12 окт. 2001. – СПб., 2001. – С. 402–403.
40. Aprikian, O. Lyophilized apple counteracts the development of hypercholesterolemia, oxidative stress, and renal dysfunction in obese zucker rats / Aprikian O., Busseroles J., Manach C. // J. Nutr. – 2002. – VOL. 132, № 3. – P. 1969–1976.
41. C1 2850024 France A61 K 38/50. Compositions pour application topique comprenant au moins un polypeptide de la famille des hydrolases, a activite amidasique et/ou un produit capable de moduler son activite / Caroline Delat-

- tre, Bernard Dominique, Mehul Bruno // РЖ 19. ХИМИЯ: Сводн. т. / ВИНТИ. – 2006. – № 9. – О. 191П.
42. C1 6159503 USA A 61 K 9/14. Pectin process and composition. / Hercules Inc., Glahn P.E. // РЖ 19. ХИМИЯ. Сводн. т. / ВИНТИ. – 2002. – № 2. – P.1.152П.
43. Determination of polyphenolic profiles of basque cider apple varieties using accelerated solvent extraction / R.M. Alonso Salces, E. Korta, A. Barranco et al // J. Agr. and food Chem. – 2001. – VOL. 49, № 8. – P. 3761–3767.
44. Di Venere Donato. The low temperature metabolism of apple phenolic and its influence upon infection, caused by *Phlyctaena vagabunola* / Di Venere Donato, Linsalata Vito, Bertolini Paolo // J. Agr. and food Chem. – 2001. – VOL. 49, № 12. – P. 5817–5821.
45. Guyot, S. Reversed phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety / Guyot S., Marnet N., Laraba D. // J. Agr. and food Chem. – 1998. – VOL. 46, № 5. – P. 1698–1705.
46. Kotha Subbaramiah. Ursolic acid inhibits Cyclooxygenase-2 transcription in human mammary epithelial cells / Kotha Subbaramiah, Pedro Michaluart, Andrew J. Dannenberg // Cancer research. – 2000. – VOL. 60, № 5. – P. 2399–2404.
47. Lopez, M. L. Influence of different oxygen and carbon dioxide concentrations during storage on production of volatile compounds by Starking Delicious apples / Lopez M. L., Lavilla T., Vendrell M. // J. Agr. and food Chem. – 1998. – VOL. 46, № 2. – P. 634–643.
48. Pearson, D.A. Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation / Pearson D.A., Tan C.H., German J.B. // Life Sci. – 1999. – VOL. 64, № 21. – P. 1913–1920.
49. Schieber, A. A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds for apple pomall / Schieber A., Hill P., Streker P. // Sci and Emerging Technol. – 2003. – № 1. – P. 99–107.

50. Sokoner, P. Polyphenol profiles of French cider apple varieties / Sokoner P., Guyot S., Drilleau J.F. // J. Agr. and food Chem. – 1999. – VOL. 47, № 12. – P. 4847–4853.
51. The cytotoxic activity of ursolic acid and derivatives / Ma Chao Mei, Cai Shao-Qing, Cui Jing Rong et al // Eur. J. Med. Chem. – 2005. – VOL. 40, № 6. – P. 582–589.
52. Van der Sluis Addic. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar harvest, year and storage conditions / Van der Sluis Addic A., Decker Matthias Jagor Anton de // J. Agr. and food Chem. – 2001. – VOL. 49, № 8. – P. 3606–3613.



## ПРИЛОЖЕНИЕ

---

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«ФАРМАПРОФ»**

---

Адрес местонахождения : 400131, г. Волгоград, ул. Голубинская, 7  
(Волгоградский НИ противочумный институт)  
Тел/факс (8442) 32-33-32  
Банковские реквизиты: р/с 40702810800000001150 в ОАО «АКБ «КОР» г. Волгоград, БИК 041806799  
К/с 30101810100000000799, ИНН 3443043182, КПП 344401001, ОКОНХ 91514, ОКПО 53558185  
ОГРН 1023402974407

В ООО «Фармапроф» при ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора» было проведено исследование на стерильность мази «Вилома», изготовленной 14 ноября 2005 года на кафедре фармацевтической технологии и биотехнологии Волгоградского государственного медицинского университета.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** мазь «Вилома» стерильна.

23.01.2007г.

Зав. лабораторией, к.м.н.

Жукова С.И.

/ Директор ООО «Фармапроф»

Замарин А.Е.

