



И.Н. Зилфикаров^{1,2,3} 
Ж.В. Дайронас⁴ 
И.И. Бочкарева³ 
Б.Г. Бочкарев⁵

Основные аспекты сквозной стандартизации сырья и лекарственных препаратов эвкалипта прутовидного

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР), ул. Грина, д. 7, стр. 1, Москва, 117216, Российская Федерация

² Закрытое акционерное общество «ВИФИТЕХ», Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, корп. 84, п. Оболенск, Серпуховский район, Московская область, 142279, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Майкопский государственный технологический университет», ул. Первомайская, д. 191, Майкоп, 385000, Республика Адыгея, Российская Федерация

⁴ Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пр. Калинина, д. 11, Пятигорск, 357532, Российская Федерация

⁵ Территориальный орган Росздравнадзора по Республике Адыгея, ул. Советская, д. 166, Майкоп, 385000, Республика Адыгея, Российская Федерация

✉ Зилфикаров Ифрат Назимович; dagfarm@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Принцип сквозной стандартизации основан на том, что содержание биологически активных веществ как в образцах исходного лекарственного растительного сырья, так и в произведенных из него лекарственных препаратах определяют одним и тем же методом. Возможности сквозной стандартизации следует учитывать еще на этапе разработки нормативных документов. **Цель работы:** исследование подходов к анализу листьев эвкалипта прутовидного и лекарственных препаратов хлорофиллипта при условии соблюдения принципа сквозной стандартизации. **Материалы и методы:** лекарственное растительное сырье эвкалипта прутовидного листа, фармацевтическая субстанция Хлорофиллипт, экстракт густой, лекарственный препарат Хлорофиллипт® в лекарственных формах «раствор для приема внутрь и местного применения спиртовой 1%», «раствор для местного применения масляный 2%» и «таблетки для рассасывания, 25 мг». Методы исследования — прямая УФ-спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, качественные реакции. **Результаты:** показана возможность применения стандартного образца эвкалимина при исследовании субстанции хлорофиллипта, препарата Хлорофиллипт® в различных лекарственных формах и лекарственного растительного сырья эвкалипта прутовидного методом тонкослойной хроматографии. **Выводы:** включение методик определения суммы фенолальдегидов с использованием стандартного образца эвкалимина в нормативную документацию и технологию субстанции и лекарственных препаратов хлорофиллипта позволяет соблюдать принципы сквозной стандартизации и осуществлять оценку содержания и контроль активных компонентов на всех стадиях обращения лекарственного средства — от приемки исходного сырья, производственного контроля до анализа и мониторинга качества готовой продукции.

Ключевые слова: эвкалипт прутовидный; хлорофиллипт; сквозная стандартизация; эвкалимин; тонкослойная хроматография; ТСХ; спектрофотометрия

Для цитирования: Зилфикаров И.Н., Дайронас Ж.В., Бочкарева И.И., Бочкарев Б.Г. Основные аспекты сквозной стандартизации сырья и лекарственных препаратов эвкалипта прутовидного. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(2):183–192. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-2-183-192>

I.N. Zilfkarov^{1,2,3} 

J.V. Daironas⁴ 

I.I. Bochkareva³ 

B.G. Bochkarev⁵

The Main Aspects of End-to-End Standardisation of Herbal Drugs, Herbal Drug Preparations, and Herbal Medicinal Products of *Eucalyptus viminalis*

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), 7/1 Grin St., Moscow 117216, Russian Federation

² Closed Joint Stock Company VIFITEH, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, 84 Obolensk settlement, Serpukhov district, Moscow region 142279, Russian Federation

³ Maykop State Technological University, 191 Pervomayskaya St., Maykop 385000, Republic of Adygea, Russian Federation

⁴ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Branch of the Volgograd State Medical University, 11 Kalinin Ave., Pyatigorsk 357532, Russian Federation

⁵ Territorial body of Roszdravnadzor for the Republic of Adygea, 166 Sovetskaya St., Maykop 385000, Republic of Adygea, Russian Federation

✉ Ifrat N. Zilfkarov; dagfarm@mail.ru

ABSTRACT

The principle of consistent, end-to-end standardisation builds upon the fact that qualitative and quantitative analysis of bioactive compounds in herbal drugs, herbal drug preparations, and corresponding herbal medicinal products involves the same methods of analysis. The possibility of such standardisation should be considered at the stage of specification development. **The aim of the study** was to explore approaches to analysing of *Eucalyptus viminalis* leaves and chlorophyllipt medicinal products, observing the principle of end-to-end standardisation. **Materials and methods:** the authors analysed *Eucalyptus viminalis* as a herbal drug (leaves), a herbal drug preparation (chlorophyllipt soft extract), and herbal medicinal products (Chlorophyllipt®, 1% alcohol solution for oral, cutaneous, rectal, and vaginal use; 2% oil solution for cutaneous and vaginal use; and 25 mg orodispersible tablets) by direct UV spectrophotometry, thin-layer chromatography (TLC), and qualitative reactions. **Results:** the study demonstrated the possibility of using a herbal reference standard of eucalimin to analyse the *Eucalyptus viminalis* herbal drug and chlorophyllipt preparations and medicinal products in different dosage forms by TLC. **Conclusions:** procedures for determination of total phenolic aldehydes, if included into specifications and production technology of chlorophyllipt preparations and products, ensure compliance with the principle of end-to-end standardisation and allow for quantitative determination and control of active ingredients throughout the product lifecycle: from the acceptance of raw materials, through in-process controls, to testing and monitoring of finished products' quality.

Key words: *Eucalyptus*; *Chlorophyllipt*; end-to-end standardisation; eucalimin; thin-layer chromatography; TLC; spectrophotometry

For citation: Zilfkarov I.N., Daironas J.V., Bochkareva I.I., Bochkarev B.G. The main aspects of end-to-end standardisation of herbal drugs, herbal drug preparations, and herbal medicinal products of *Eucalyptus viminalis*. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(2):183–192. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-2-183-192>

Введение

Принцип сквозной стандартизации в ряду «лекарственное растительное сырье (ЛРС) – лекарственный растительный препарат (ЛРП)» предложен И.А. Самылиной [1] и основан на том, что биологически активные вещества (БАВ), с которыми связывают основные фармакологические свойства, должны оцениваться качественно и количественно одними и теми же методами как в ЛРС, так и в ЛРП, включая фармацевтическую субстанцию и лекарственные формы. Предпочтение при этом отдается методикам анализа, основанным на одном методе, с допустимым отличием на этапе пробоподготовки.

Действующие фармакопейные статьи (ФС) на ЛРС и нормативная документация (НД) производителя на выпускаемые ЛРП не всегда составлены в соответствии с этим подходом. Проанализировав ФС на ЛРС из Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ), а также доступные нам данные по стандартизации производимых из него ЛРП, мы установили, что принцип сквозной стандартизации соблюдается только для некоторых наименований ЛРП и ЛРС.

Возможности сквозной стандартизации следует учитывать еще на этапе разработки ФС и НД. Весомым аргументом при разработке и внедрении фармакопейных методик контроля качества готовых лекарственных форм является ужесточение требований в отношении сроков проведения экспертизы в рамках обновленного законодательства о проведении федерального государственного надзора за обращением лекарственных средств¹. В частности, объектами регулярных проверок со стороны уполномоченных ведомств являются как расфасованное в пачки ЛРС эвкалипта прутовидного, так и ЛРП эвкалипта, в том числе лекарственные формы хлорофиллипта.

Ранее нами были разработаны методики анализа отдельных ЛРП, полученных из листьев эвкалипта [2–4]. В работе Р.Ш. Хазиева и соавт. [5] предложен иной подход к стандартизации листьев эвкалипта прутовидного, запатентованный в [6]. Однако унифицированной методики, соответствующей принципу сквозной стандартизации, разработано не было.

Фармацевтическую субстанцию Хлорофиллипт, экстракт густой производят из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.) или эвкалипта шарикового (*Eucalyptus globulis* Labill.),

сем. миртовые (*Myrtaceae*) [7]. Использование стандартного образца (СО) эвкалимина в методиках количественного определения суммы фенолальдегидов обусловлено несколькими факторами, такими как общий сырьевой источник, присутствие компонентов эвкалимина в препаратах хлорофиллипта, сходство основных физико-химических свойств СО и определяемого класса веществ, совпадение УФ-спектров испытуемых растворов и стандартного раствора эвкалимина.

Цель работы – исследование подходов к анализу листьев эвкалипта прутовидного и лекарственных препаратов хлорофиллипта при соблюдении принципов сквозной стандартизации. В задачи исследования входили разработка методик обнаружения и количественного определения фенолальдегидов в исследуемых объектах, апробация методик на промышленно выпускаемых образцах, установление норм содержания фенолальдегидов в ЛРС эвкалипта прутовидного и полученных из него ЛРП хлорофиллипта.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись образцы ЛРС, отобранные из различных партий эвкалипта прутовидного листьев (партии 200320, 360620, 1131120, 010221, 310421, 380621, поставщик ООО «Хета», Грузия), образцы фармацевтической субстанции Хлорофиллипт, экстракт густой различных серий (сер. 010319, 020619, 030919, 010621, 020821, 031121, ЗАО «ВИФИТЕХ»), образцы лекарственного препарата Хлорофиллипт® в лекарственных формах «раствор для приема внутрь и местного применения спиртовой 1%» различных серий (сер. 070621, 080621, 090621, 010122, 020122, 030122, ЗАО «ВИФИТЕХ»), «раствор для местного применения масляный 2%» (сер. 040621, 050621, 070721, 010122, 020122, 030122, ЗАО «ВИФИТЕХ») и «таблетки для рассасывания, 25 мг» (сер. 010321, 020421, 030521, 050620, 060620, 070521, ЗАО «ВИФИТЕХ»).

Методы исследования – прямая УФ-спектрофотометрия, тонкослойная хроматография (ТСХ), качественные реакции. Спектрофотометрический анализ проводили на сканирующем спектрофотометре СФ-56 (ООО «ОКБ Спектр»). Экспериментальные данные получали с использованием всех отобранных партий ЛРС и серий ЛРП, результаты обрабатывали, используя программное обеспечение Microsoft Excel 2007. ТСХ

¹ Письмо Росздравнадзора от 09.11.2021 № 01И-1461/21, прил. 3 «Экспертное задание по федеральному государственному контролю (надзору) лекарственных средств для медицинского применения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения, находящихся в обращении».

осуществляли с применением хроматографических пластин KIESELGEL 60 25 DC-ALUFOLIEN 20×20 см (Merck) и Сорбфил ПТСХ-АФ-А (ЗАО «Сорбполимер»).

Стандартный раствор эвкалимина готовили следующим образом: в мерной колбе вместимостью 25 мл растворяли около 0,01 г (точная навеска) СО эвкалимина (ФГБНУ ВИЛАР) в 10,0 мл спирта этилового 96%, затем объем доводили до метки тем же спиртом и перемешивали. 5,0 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем до метки подкисленным спиртом и перемешивали. Подкисленный спирт получали путем добавления к 200 мл этилового спирта 96% 2 мл хлористоводородной кислоты 1%.

Результаты и обсуждение

Анализ лекарственных препаратов хлорофиллипта включает обнаружение фенолальдегидов методом ТСХ. С целью подбора оптимальной хроматографической системы, пригодной для наилучшего разделения фенолальдегидов, проводили сравнительную оценку нескольких смесей растворителей, применяемых в анализе дитерпеновых соединений. В ходе испытания исследуемых систем на хроматографические пластинки наносили образцы хлорофиллипта и эвкалимина в виде спиртовых растворов из расчета 20–30 мкг вещества на точку. Пластинки с нанесенными пробами высушивали на воздухе, затем хроматографировали восходящим способом.

Поскольку основными фенолальдегидами, содержащимися в эвкалипте, являются эуглобали — вещества дитерпеновой природы, не имеющие собственного окрашивания, требовалось подобрать хромогенный реактив, способный их проявлять на хроматограмме. Для этого мы использовали железа(III) хлорида спиртовой раствор 1%, фосфорно-молибденовой кислоты спиртовой раствор 5%, серной кислоты раствор 80% и ванилина раствор 1% в концентрированной серной кислоте с последующим нагреванием. Последний реактив является наиболее чувствительным и окрашивает терпеноиды в цвета от желтого или желто-оранжевого до розового, фиолетово-красного или красно-коричневого. Эвкалимин содержит два основных соединения, которые под воздействием ванилина и серной кислоты окрашиваются в розовый цвет, постепенно переходящий в фиолетовый, затем в красно-коричневый цвет. Хроматограммы ТСХ, полученные нами в различных системах растворителей, представлены на рисунке 1.

Установлено, что наилучшее разделение компонентов хлорофиллипта происходит в системе бензол : ацетон (4 : 1). По данным, полученным в хроматографических экспериментах, показано, что в хлорофиллипте кроме компонентов эвкалимина содержатся вещества, которые характеризуются схожими физико-химическими свойствами и могут быть также отнесены к классу дитерпеновых производных.

Реакция с ванилином положена в основу методики качественного обнаружения терпеноидов в препаратах хлорофиллипта. Методика анализа заключается в следующем: испытуемый раствор, содержащий от 100 до 1000 мкг хлорофиллипта, помещают в выпарительную чашку, затем по стенке прибавляют 1 мл ванилина раствора 1% в серной кислоте; должно появляться окрашивание от фиолетового до красно-коричневого цвета.

При определении суммы фенолальдегидов в соответствии с ФС.2.5.0107.18 «Эвкалипта прутовидного листа» могут быть получены завышенные данные из-за того, что в процессе пробоподготовки из ЛРС получают спиртовое извлечение (испытуемый раствор А), а при приготовлении на следующей стадии анализа раствора Б экстракция целевой фракции гексаном становится затруднительной, так как не достигается полного разделения фаз.

Описанные в научной литературе [3, 4] и ФС.2.5.0107.18 «Эвкалипта прутовидного листа» методики количественного определения фенолальдегидов (эуглобали) в листьях и побегах эвкалипта прутовидного, а также в ЛРП, например препаратах эвкалимина или хлорофиллипта, основаны на наличии выраженного максимума поглощения при длине волны (278 ± 3) нм и практически полном совпадении УФ-спектров испытуемых растворов с таковым стандартного раствора эвкалимина (рис. 2).

С целью соблюдения общих принципов сквозной стандартизации процедура пробоподготовки в ходе анализа ЛРС эвкалипта прутовидного осуществляется с выделением из сложной смеси экстрагируемых веществ максимально очищенной фракции дитерпеновых фенолальдегидов. Селективность анализируемой фракции достигается осаждением сопутствующих веществ фенольной природы катионами меди(II). Изолируемая при этом фракция дитерпеновых фенолальдегидов присутствует и в образце ЛРП Хлорофиллипт®, так как в промышленной технологии биологически активной субстанции Хлорофиллипт, экстракт густой реализована аналогичная процедура ее получения из ЛРС.

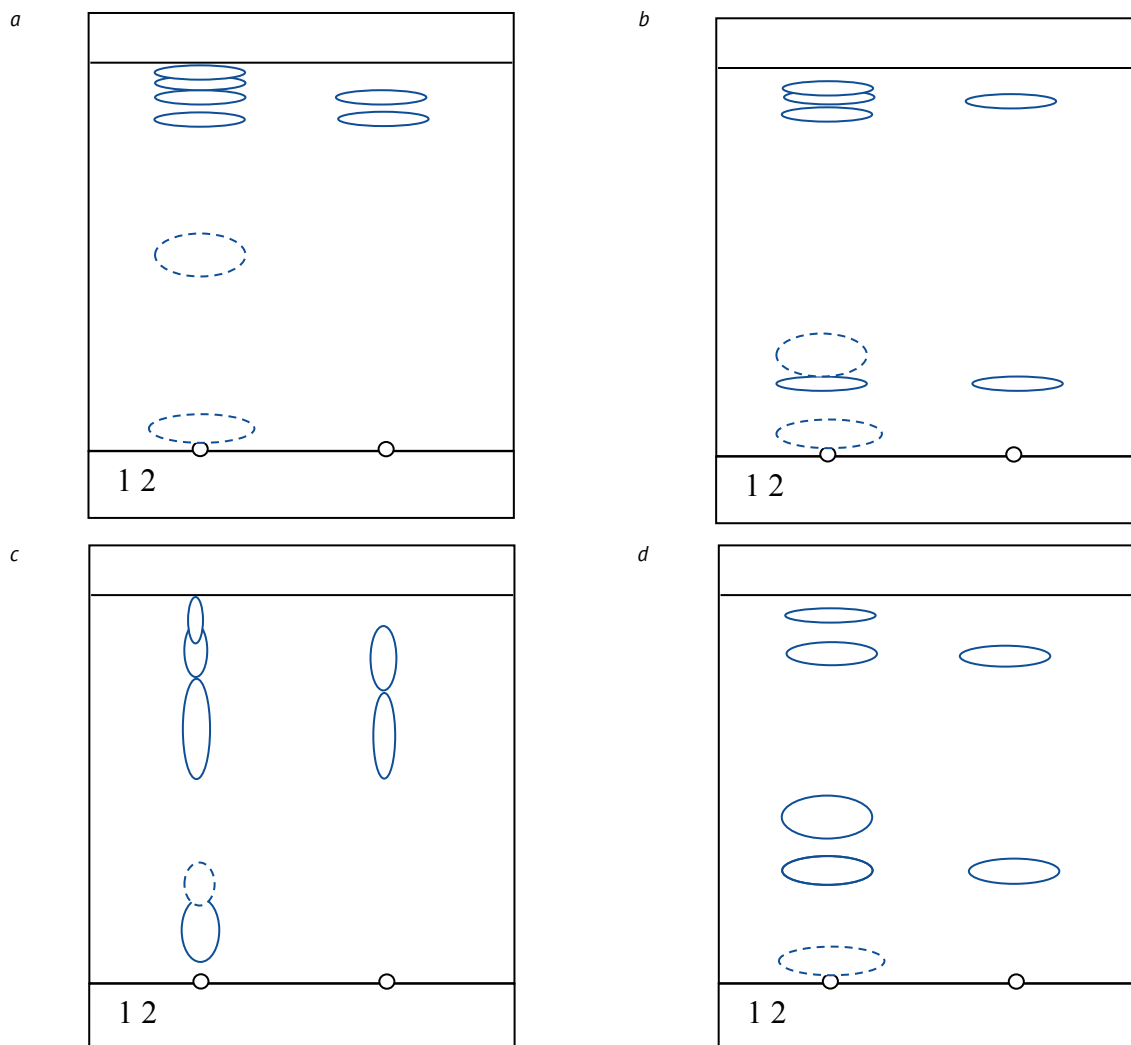


Рис. 1. Тонкослойные хроматограммы испытуемого раствора хлорофиллипта (1) и раствора эвкалимина (2): а – подвижная фаза хлороформ : метанол : вода (4:2:1); б – подвижная фаза гексан : этилацетат : уксусная кислота (6:3:1); с – подвижная фаза этилацетат : спирт 95% : вода (7:2:1); д – подвижная фаза бензол : ацетон (4:1)

Fig. 1. TLC chromatograms of the chlorophyllipt test solution (1) and the eucalimin standard solution (2) in different mobile phases: а–chloroform : methanol : water (4:2:1), б–hexane : ethyl acetate : acetic acid (6:3:1), с–ethyl acetate : 95% alcohol : water (7:2:1), д–benzene : acetone (4:1)

В ходе исследований, связанных с усовершенствованием методики анализа ЛРС эвкалипта прутовидного и произведенных из него ЛРП с соблюдением принципов сквозной стандартизации, нами предложена методика количественного определения суммы фенолальдегидов в листьях эвкалипта и исследуемых ЛРП, принципиальное отличие которой заключается в следующем: оптическую плотность испытуемого раствора измеряют относительно подкисленного спирта на спектрофотометре (толщина слоя кюветы 10 мм, длина волны 278 нм). В тех же условиях определяют оптическую плотность стандартного раствора эвкалимина.

Одна и та же методика используется при анализе как ЛРС, так и ЛРП. Однако для получения испытуемого раствора используются различные способы пробоподготовки, зависящие от состава исследуемых субстанций и описанные ниже. Методика определения суммы фенолальдегидов в ЛРС – листьях эвкалипта и субстанции Хлорофиллипт, экстракт густой была включена в экспериментальную часть диссертационной работы И.Н. Зилфикарова², а также нашла отражение в работах [3–5]. Методика анализа лекарственных препаратов, содержащих хлорофиллипт, была разработана позднее с учетом принципа сквозной стандартизации.

² Зилфикаров И.Н. Новые подходы в разработке и стандартизации фитопрепаратов из эфирномасличного сырья: дис. ... д-ра фарм. наук. Пятигорск; 2008.

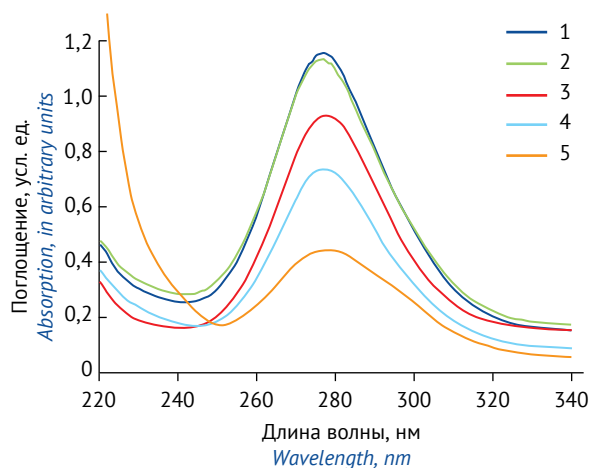


Рис. 2. УФ-спектры поглощения: 1 – стандартный раствор эвкалимина; 2 – испытуемый раствор, содержащий Хлорофиллипт, экстракт густой, субстанция; 3 – испытуемый раствор, содержащий эвкалипта прутовидного листья; 4 – испытуемый раствор, содержащий Хлорофиллипт®, раствор для приема внутрь и местного применения спиртовой 1%; 5 – испытуемый раствор, содержащий Хлорофиллипт®, раствор для местного применения масляный 2%

Fig. 2. UV absorption spectra of the standard solution of eucalimin (1) and test solutions of chlorophyllipt soft extract (2); *Eucalyptus viminalis* leaves (3); Chlorophyllipt®, 1% alcohol solution for oral, cutaneous, rectal and vaginal use (4); and Chlorophyllipt®, 2% oil solution for cutaneous and vaginal use (5)

В настоящей работе объединены и унифицированы все подходы к пробоподготовке.

Методика анализа апробирована нами в условиях промышленного производства в контрольно-аналитической лаборатории отдела контроля качества ЗАО «ВИФИТЕХ» на многочисленных сериях ЛРП. В ходе испытаний установлено соответствие методики всем критериям приемлемости, оцениваемым при ее валидации.

Лекарственное растительное сырье «Эвкалипта прутовидного листа» (*Eucalypti viminalis folia*). Исследуемое ЛРС соответствует по внешним признакам и микроскопии требованиям ФС.2.5.0107.18 «Эвкалипта прутовидного листа» и представляет собой высушенные листья *Eucalyptus viminalis* Labill. – эвкалипта прутовидного семейства *Myrtaceae* – миртовых. Согласно требованиями ГФ РФ цельное сырье должно содержать эфирного масла не менее 1%; суммы фенолальдегидов в пересчете на эвкалимин – не менее 2%.

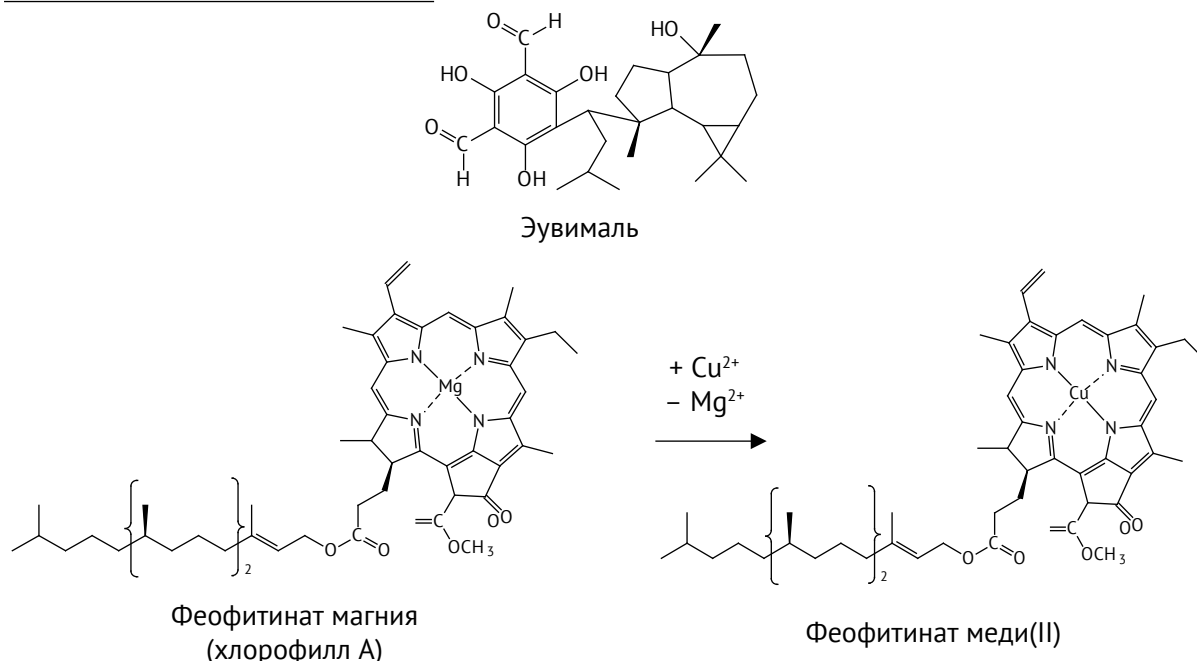
Пробоподготовка: аналитическую пробу ЛРС измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. В коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл помещают около 1,0 г (точная навеска) ЛРС, прибавляют 30 мл спирта этилового 90%, присоединяют обратный холодильник и нагревают в течение 1 ч

на водяной бане при периодическом перемешивании. Полученное извлечение фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл через бумажный фильтр «белая лента». Экстракцию повторяют новой порцией спирта этилового 90% объемом 30 мл. Второе извлечение фильтруют в ту же мерную колбу через тот же фильтр. Коническую колбу и фильтр промывают 20 мл спирта этилового 90%, промывной раствор присоединяют к основному фильтрату. Затем объем раствора в мерной колбе доводят спиртом 90% до метки и перемешивают (раствор А).

10,0 мл раствора А помещают в круглодонную колбу и упаривают на водяной бане или ротационном испарителе до полного удаления спирта. К охлажденному остатку прибавляют 10 мл воды очищенной, 5 мл меди(II) сульфата раствора 2% и перемешивают в течение 5 мин. В реакционную смесь вносят 10 мл хлороформа, перемешивают, а затем количественно переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл с помощью 10 мл хлороформа и тщательно перемешивают. После расслоения хлороформную фазу отделяют в сухую коническую колбу. Водную фазу экстрагируют хлороформом еще два раза порциями по 10 мл. Хлороформные извлечения объединяют и фильтруют в мерную колбу со шлифом вместимостью 50 мл через бумажный фильтр с 2 г натрия сульфата безводного. Коническую колбу и фильтр промывают 5 мл хлороформа, присоединяя смыв к основному фильтрату. Объем раствора в мерной колбе доводят до метки хлороформом и перемешивают (раствор Б). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл раствора Б, объем раствора доводят до метки подкисленным спиртом и перемешивают (раствор В – испытуемый раствор).

Содержание суммы фенолальдегидов в листьях эвкалипта прутовидного рассчитывают в процентах в пересчете на эвкалимин и сухое сырье (табл. 1).

Лекарственное растительное средство Хлорофиллипт, экстракт густой, субстанция. Действующими веществами (основными группами БАВ) хлорофиллипта являются малополярные дитерпеновые альдегиды, производные флороглюцина, объединенные под названием фенолальдегиды (эуглобаль, эувималь), а также комплексные соединения катионов меди(II), образующиеся при их взаимодействии с феофитинами А и Б (остатками молекул хлорофиллов А и Б), ди- и тритерпенами кислотного характера. Сопутствующими веществами являются монотерпены (цинеол), жирные кислоты, стерин и др.



Технология производства субстанции Хлорофиллипт, экстракт густой предусматривает экстракцию на первой стадии высушенных и измельченных листьев эвкалипта спиртом 90%. Из полученного извлечения удаляют спирт путем упаривания в роторно-пленочном испарителе или вакуум-выпарном аппарате, например марки Simax. К водному остатку прибавляют равный объем раствора меди(II) сульфата для получения целевых комплексов и осаждения сопутствующих веществ фенольной природы. Далее фракцию малополярных дитерпеновых фенолальдегидов селективно извлекают неполярным экстрагентом, в частности хлороформом, который на одной из завершающих стадий полностью удаляется из продукта до уровня нормированных значений. Готовый продукт — густая пастообразная смолистая масса темно-зеленого цвета с характерным запахом, умеренно растворимая в этаноле с образованием опалесцирующего раствора, растворимая в хлороформе, практически нерастворимая в воде. Потеря в массе при высушивании должна быть не более 25%, остаточное содержание меди(II) ионов в пересчете на сухое вещество — не более 0,4%, содержание спирта — не более 24,0%, содержание остаточного хлороформа — не более 0,006%. Субстанция должна обладать бактериостатической активностью в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* в концентрации не выше 12,5 мкг в 1 мл среды (25 мкг соответствует 5000 клеток).

Стандартизация субстанции по показателю «Количественное определение», как и исходного ЛРС, предусматривает количественное определение содержания суммы фенолальдегидов в пересчете на эвкалимин методом УФ-спектрофотометрии.

Определение суммы фенолальдегидов в субстанции Хлорофиллипт, экстракт густой осуществляют следующим образом: около 0,1 г (точная навеска) субстанции растворяют в 40 мл спирта этилового 96%. Раствор количественно с помощью того же спирта переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, объем раствора доводят тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор А). 1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, объем доводят подкисленным спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Раствор Б используют в качестве испытуемого.

В результате проведенных испытаний нами было установлено, что содержание суммы фенолальдегидов в пересчете на эвкалимин и сухое вещество в субстанции должно быть не менее 35,0% (табл. 1).

Лекарственный растительный препарат Хлорофиллипт®, раствор для приема внутрь и местного применения спиртовой 1%. С целью приготовления данного ЛРП расчетное количество субстанции хлорофиллипта растворяют в этиловом спирте 95%, полученный раствор

Таблица 1. Количественное определение суммы фенолальдегидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах эвкалипта прутовидного**Table 1.** Quantification of total phenolic aldehydes in the studied herbal drug, herbal drug preparation and herbal medicinal products of *Eucalyptus viminalis*

Объект исследования <i>Object of study</i>	$\bar{x}$	Метрологические характеристики <i>Metrological characteristics</i>				
		<i>f</i>	<i>P</i>	<i>S</i>	Δx	$\varepsilon, \%$
Эвкалипта прутовидного листья <i>Eucalyptus viminalis leaves</i>	3,53%	5	0,95	0,028	0,07	1,98
Хлорофиллипт экстракт густой, субстанция <i>Chlorophyllipt soft extract (herbal drug preparation)</i>	44,83%	5	0,95	0,234	0,60	1,34
Хлорофиллипт®, раствор для приема внутрь и местного применения спиртовой 1% <i>Chlorophyllipt®, 1% alcohol solution for oral, cutaneous, rectal and vaginal use</i>	4,21 мг/мл <i>mg/mL</i>	5	0,95	0,02335	0,06	1,43
Хлорофиллипт®, раствор для местного применения масляный 2% <i>Chlorophyllipt®, 2% oil solution for cutaneous and vaginal use</i>	1,18%	5	0,95	0,00662	0,017	1,44
Хлорофиллипт®, таблетки для рассасывания, 25 мг <i>Chlorophyllipt®, 25 mg orodispersible tablets</i>	11,48 мг/таб. <i>mg/tablet</i>	5	0,95	0,07237	0,186	1,62

Примечание. $\bar{x}$ — среднее значение, *f* — число степеней свободы, *P* — уровень значимости, *S* — среднее квадратическое отклонение, Δx — абсолютная погрешность, ε — относительная погрешность.

Note. $\bar{x}$ — mean value, *f* — number of degrees of freedom, *P* — level of reliability, *S* — standard deviation, Δx — absolute error, ε — relative error.

выдерживают при температуре не выше 10 °C в течение 10 сут, затем фильтруют и фасуют во флаконы оранжевого стекла. Готовый продукт представляет собой прозрачную зеленую жидкость, имеющую слабый характерный запах. В процессе хранения возможно появление опалесценции и мелкодисперсного осадка. Содержание сухого остатка должно быть не менее 0,7%, содержание спирта — не менее 90%.

С целью стандартизации препарата по показателю «Количественное определение» пробоподготовка заключается в следующем: в мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл ЛРП Хлорофиллипт®, раствор для приема внутрь и местного применения спиртовой 1%, доводят объем до метки спиртом этиловым 96% и перемешивают (раствор А). 1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем до метки подкисленным спиртом и перемешивают (раствор Б — испытуемый раствор).

Содержание суммы фенолальдегидов в пересчете на эвкалимин в 1 мл ЛРП должно быть не менее 3,5 мг.

Лекарственный растительный препарат Хлорофиллипт®, раствор для местного применения масляный 2%. Активный компонент препарата — субстанция Хлорофиллипт, экстракт густой, вспомогательное вещество — подсолнечное масло. Расчетное количество субстанции растворяют в подогретом масле, полученный раствор охлаждают, выдерживают

при комнатной температуре в течение 10–12 ч, затем фильтруют через картон марки Т. После контроля качества раствор фасуют во флаконы оранжевого стекла.

Стандартизация масляного раствора по показателю «Количественное определение» также предусматривает определение суммы фенолальдегидов методом спектрофотометрии.

Пробоподготовка заключается в следующем: в мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 0,5 г (точная навеска) ЛРП Хлорофиллипт®, раствор для местного применения масляный 2%, доводят объем до метки хлороформом и перемешивают (раствор А). 1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем до метки подкисленным спиртом и перемешивают (раствор Б — испытуемый раствор).

В ходе испытаний экспериментальных и промышленных серий ЛРП установлено, что подсолнечное масло как растворитель концентрирует фракцию фенолальдегидов, часть сопутствующих веществ не растворяется в масле и остается на фильтре. Было установлено, что нормированной бактериостатической активности препарата соответствует содержание суммы фенолальдегидов не менее 1,0% (табл. 1).

Лекарственный растительный препарат Хлорофиллипт®, таблетки для рассасывания, 25 мг. Каждая таблетка содержит 25 мг субстанции хлорофиллипта, вспомогательными

компонентами препарата являются сахароза, целлюлоза микрокристаллическая, кислота лимонная и кальция стеарат. Для включения субстанции в состав таблетированной массы готовится спиртовой раствор хлорофиллипта, который порционно вводится в смесь вспомогательных компонентов. Распадаемость таблетки должна быть не менее 15 мин.

Стандартизация препарата по показателю «Количественное определение» осуществляется по содержанию хлорофиллипта, установленному гравиметрическим методом, и содержанию суммы фенолальдегидов, установленному спектрофотометрическим методом. Пробоподготовка заключается в следующем: ЛРП Хлорофиллипт®, таблетки для рассасывания, 25 мг в фарфоровой ступке растирают в порошок. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 0,5 г (точная навеска) порошка, прибавляют 50 мл спирта этилового 96% и перемешивают в течение 5 мин. Объем доводят тем же растворителем до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр «белая лента» (раствор А), первые 10 мл фильтрата отбрасывают. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл раствора А, доводят объем до метки подкисленным спиртом и перемешивают (раствор Б – испытуемый раствор).

В ходе исследования опытно-промышленных и промышленных серий препарата нами установлено, что в одной таблетке содержание суммы фенолальдегидов должно быть не менее 10,0 мг (табл. 1).

В таблице 1 представлены результаты испытания разработанной методики в анализе ЛРС эвкалипта прутовидного и ЛРП, содержащих хлорофиллипт.

Заключение

Таким образом, результаты исследований образцов ЛРП хлорофиллипта, выполненных методом тонкослойной хроматографии с использованием в качестве СО раствора эвкалимина, продемонстрировали возможность применения данного СО в анализе субстанции хлорофиллипта, его лекарственных форм и исходного ЛРС – эвкалипта прутовидного листьев.

Включение разработанных методик в НД на субстанцию и лекарственные формы хлорофиллипта позволяет соблюдать принципы сквозной стандартизации и осуществлять контроль активных компонентов на всех стадиях обращения лекарственного средства: от приемки исходного ЛРС, производственного контроля до анализа и мониторинга качества готовой продукции.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Самылина ИА, Ермакова ВА. Современное состояние и перспективы стандартизации лекарственного растительного сырья. *Медико-фармацевтический вестник*. 1996;(6):19. [Samylina IA, Ermakova VA. The current state and prospects for the standardization of medicinal plant materials. *Mediko-farmatsevticheskiy vestnik = Medical Pharmaceutical Bulletin*. 1996;(6):19 (In Russ.)]
2. Зилфикаров ИН, Гунар ОВ. Вопросы стандартизации препарата «Хлорофиллипта раствор в масле 2%». *Фармация*. 2007;(3):7–9. [Zilfikarov IN, Gunar OV. Standardization of the drug "Chlorophyllipt, 2% oil solution". *Farmatsiya = Pharmacy*. 2007;(3):7–9 (In Russ.)]
3. Зилфикаров ИН. Совершенствование стандартизации сырья и фитопрепаратов эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* L. Myrtaceae). В кн.: *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции*. Вып. 62. Пятигорск: ПятГФА; 2007. С. 57–9. [Zilfikarov IN. Improvement of standardization of raw materials and phytopreparations of *Eucalyptus viminalis* L. (Myrtaceae). In: *Development, research and marketing of new pharmaceutical products*. Issue 62. Pyatigorsk: PyatGFA; 2007. P. 57–9 (In Russ.)]
4. Зилфикаров ИН, Северцева ОВ, Абейдулина СА, Еникеева РА, Северцев ВА, Макаров ИЮ. Технология и стандартизация хлорофиллипта. В кн.: *Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения*. Материалы 10 Международного съезда «Фитофарм 2006». СПб; 2006. С. 109–11. [Zilfikarov IN, Severtseva OV, Abeydulina SA, Enikeeva RA, Severtsev VA, Makarov IYu. Technology and standardization of chlorophyllipt. In: *Actual problems of creating new drugs of natural origin*. Materials of the 10th International Congress "Phytopharm 2006". St. Petersburg; 2006. P. 109–11 (In Russ.)]
5. Хазиев РШ, Васильева МВ, Макарова АС, Мусина ЛТ. Количественное определение терпеноидных фенолальдегидов в листьях эвкалипта прутовидного. *Химия растительного сырья*. 2013;(3):155–9. [Khaziev RSh, Vasilyeva MV, Makarova AS, Musina LT. Quantitative determination of formylated phloroglucinol compounds in the leaves of *Eucalyptus viminalis*. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of Plant Raw Materials*. 2013;(3):155–9 (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.1303155>
6. Хазиев РШ, Мусина ЛТ, Макарова АС, Крашениников АЕ. Способ получения антибактериального препарата из листьев эвкалипта прутовидного. Патент Российской Федерации № 2572231; 2015. [Khaziev RSh, Musina LT, Makarova AS, Krasheninikov AE. Method for producing an antibacterial

preparation of manna gum leaves. Patent of the Russian Federation No. 2572231; 2015 (In Russ.)]

7. Зилфикаров ИН, Антонова ОК, Постельников СА. Способ получения хлорофиллипта. Патент Рос-

сийской Федерации № 2416423; 2011. [Zilfkarov IN, Antonova OK, Postelnikov SA. Method for preparing chlorophylliptum. Patent of the Russian Federation No. 2416423; 2011 (In Russ.)]

Вклад авторов. И.Н. Зилфикаров — существенный вклад в концепцию работы, выполнение эксперимента, анализ и интерпретация результатов работы; Ж.В. Дайронас — написание текста и критический пересмотр его содержания; И.И. Бочкарева — анализ, интерпретация и статистическая обработка экспериментальных данных; утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Б.Г. Бочкарев — анализ, интерпретация и статистическая обработка экспериментальных данных; утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Благодарности. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Ifrat N. Zilfkarov—a significant contribution to the concept of the work, performance of the experiments, and collection, analysis and interpretation of the results; Janna V. Daironas—writing of the text and critical revision of its contents, approval of the final version of the article for publication; Inna I. Bochkareva—review, interpretation and statistical analysis of the experimental data, approval of the final version of the article for publication, Boris G. Bochkarev—review, interpretation and statistical analysis of the experimental data, approval of the final version of the article for publication.

Acknowledgements. The study was performed without external funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Зилфикаров Ифрат Назимович, д-р фарм. наук, профессор РАН.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8638-9963>

dagfarm@mail.ru

Дайронас Жанна Владимировна, д-р фарм. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1274-4512>

daironas@mail.ru

Бочкарева Инна Ивановна, канд. фарм. наук, доцент.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7898-4404>

bochkarevainna@gmail.com

Бочкарев Борис Георгиевич, канд. фарм. наук.

dubini_boris@mail.ru

Ifrat N. Zilfkarov, Dr. Sci. (Pharm.), Professor of the Russian Academy of Sciences.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8638-9963>

dagfarm@mail.ru

Janna V. Daironas, Dr. Sci. (Pharm.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1274-4512>

daironas@mail.ru

Inna I. Bochkareva, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7898-4404>

bochkarevainna@gmail.com

Boris G. Bochkarev, Cand. Sci. (Pharm.).

dubini_boris@mail.ru

Статья поступила 09.03.2022

После доработки 29.03.2022

Принята к печати 07.06.2022

Article was received 9 March 2022

Revised 29 March 2022

Accepted for publication 7 June 2022