

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи  
УДК 615.07:615.16

Турсунова Лазиза Икрамджоновна

**СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА  
«ФИТОБИОТОН»**

5A720507-фармацевтическая химия и фармакогнозия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание магистерской степени

  
Научный руководитель:  
к. фарм. н. доц. Х.Г.Ганиева

  
Научный консультант:  
к.х.н. доц.К.А.Убайдуллаев

  
Оппонент: проф.А.Я.Ибрагимов



ТАШКЕНТ-2012

МАГИСТРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИНИ ЁЗИШ  
БЎЙИЧА ТОПШИРИҚЛАР

Тошкент Фармацевтика институти ректорининг 2011 й “19” февраль 22 -  
сон буйруғи билан тасдиқланган

Фармацевтика илми кафедраси буйича

магистрлик диссертациясининг номи

Стандартлашдиш лекар-субстанцияларни  
рақамлашдиш “Фитоботаника” мавзудаги магистрлик диссертацияси

Илмий раҳбар доц. фарм. ф.и. Ташева Я.Т.

доц. к. фарм. ф.и. Абдушайево В.И.

бошчилигида

(илмий раҳбарнинг исми-фамилияси, лавозими, илмий даражаси ва илмий унвони)

Абдушайево В.И.

томонидан

(тингловчининг исми-фамилияси)

туғалланган ҳолда 2012 й “23” июнь да фармацевтика  
кафедрасига дастлабки ҳимоя учун тақдим этилади.

Тадқиқот ишида Четинг оғлавланиш илми  
стандартлашдиш адаб-субстанцияларни  
ва илмий раҳбарнинг илмий раҳбарнинг илмий раҳбарнинг  
ишлари билан ҳисоб-китоб ва таҳрири қўлдан қўйдаланилади  
Фармацевтика соҳаси, тиббиёт соҳаси буйича чоп этилган адабиётлардан, замонавий усул  
ва услублардан ва ҳ.к.)

Ишда Оғлавланиш илми фармация илми  
5-та стандартлашдиш ва рақамлашдиш  
фарм-ишлари илми раҳбарнинг ту-диш берилиши кўзда тутилади

Ишда куйидаги масалалар баён этилади:

1-боб Адаб-субстанцияларнинг  
(номи)

Намунани таҳрир қўлдан қўйдаланилади ва биологик таҳрир қўлдан қўйдаланилади.

2-боб Таҳрир қўлдан қўйдаланилади  
(номи)

Намунани таҳрир қўлдан қўйдаланилади ва биологик таҳрир қўлдан қўйдаланилади.

3-боб  
(номи)

25 июнь 2012 йил

(сана, ой, йил)

Илмий раҳбар фарм. ф.и. доц. Ташева Я.Т. ва фарм. ф.и. доц. Абдушайево В.И.  
(исми, фамилияси, илмий даражаси ва унвони)

Магистрант 2011 й “ ” февралда топширикни қабул қилди.

## Оглавление

Введение.....	3
<b>Глава I. Литературный обзор</b>	
1.1. Общие сведения о лекарственных растениях « <i>Galega officinalis L.</i> » и « <i>Vaccinium myrtillus</i> ».....	7
1.2. Методы исследования, качественного и количественного анализа алкалоидов.....	11
1.3. Методы исследования, качественного и количественного анализа дубильных веществ.....	16
1.4. Методы исследования, качественного и количественного анализа флавоноидов.....	18
<b>Глава II. Экспериментальная часть. Технология получения и стандартизация настойки «Фитобиотон»</b>	
2.1. Технология получения настойки «Фитобиотон».....	26
2.2. Определение числовых показателей настойки: содержание спирта, сухой остаток и тяжелых металлы .....	26
2.3. Изучение макро-микро элементного состава.....	28
2.4. Разработка методов анализа биологически активных веществ настойки «Фитобиотон».....	30
2.4.1. Качественные реакции на биологически активны вещества «Фитобиотон».....	30
2.4.2. Разработка методов количественного определения алкалоидов, дубильных веществ и флавоноидов.....	36
2.5. Определение микробиологической чистоты настойки «Фитобиотон».....	44
2.6. Изучение стабильности настойки «Фитобиотон».....	45
Заключение .....	48
Список использованной литературы .....	49

**Актуальность темы.** За последние годы по оценке ВОЗ большая часть населения мира широко использует лекарственные растения. Доступность, дешевизна, эффективность и безвредность лекарственных растений поощрило широкое распространение среди населения и лечащих врачей. Популярность лекарственных растений растет не в отдельных регионах или странах, а во всем мире. Использование лекарственных растений в Японии, Китае и Индии выросло в 10-15 раз, аналогичная картина наблюдается в Европейских странах, как Голландия, Бельгия, Германия, Англия, Испания.

На научно-практических конференциях, проведенные ВОЗ в 2003 году в Женеве, и в том же году в Ереване было отмечено, что за последние десятилетия использование лекарственных средств растительного происхождения суммарно достигло 10 миллиардов Американских долларов. В конференции активно участвовали Европейские страны, страны Центральной Азии-Узбекистан, Таджикистан, и ряд Восточных стран, и в том числе Китай. В результате конференции были выделены основные аспекты фармацевтической индустрии, в том числе, развитие в области получения новых ЛП из растительных ресурсов.

В Узбекистане лекарственные растения пользуются большим спросом как в научной, так и в традиционной медицине и спрос на препараты растительного происхождения с каждым годом растет.[1,2]

Многие заболевания излечиваются препаратами растительного происхождения, так как эти препараты не имеют токсичности и при постоянном применении не вызывают привыкания.

Некоторые заболевания требуют постоянного употребления лекарственного препарата. Одним из таких заболеваний является сахарный диабет. При сахарном диабете необходимо постоянно нормализовывать уровень сахара в крови.

Сахарный диабет (СД) является приоритетом первого порядка национальных систем здравоохранения всех без исключения стран мира. В настоящее время на всей планете только по обращаемости насчитывается 246 млн больных СД, причем около 50% приходится на наиболее активный, трудоспособный возраст 40–59 лет. Еще 20 лет назад численность больных СД в мире не превышала 30 млн человек. Учитывая темпы роста распространенности этого заболевания, эксперты Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) прогнозируют, что количество больных СД к 2025 г. увеличится в 1,5 раза и достигнет 380 млн человек, в основном за счет больных СД типа 2, который развивается у взрослых и причинно связан прежде всего с избыточной массой тела. Еще более стремительно увеличивается доля населения с так называемым метаболическим синдромом (МС), который предшествует развитию СД типа 2. МС развивается у лиц с избыточной массой тела или ожирением, неумеренно употребляющих высококалорийную пищу, ведущих малоподвижный образ жизни. По прогнозам, их численность к 2025 г. может превысить 500 млн человек. Установлено, что каждый год до 15% лиц с МС заболевают СД типа 2. Более того, в XXI веке выявились процессы, которые не наблюдались в течение всей истории медицины, – СД типа 2 (характерным для взрослого населения) стали болеть дети.[3]

Эта болезнь особенно распространено среди детей и имеется тенденция омоложения болезни СД. По данным Международной диабетической федерации, ежедневно во всем мире СД заболевают около 200 детей. Между тем известно, что диабет, развившийся в детстве, снижает среднюю продолжительность жизни на 20 лет. Поэтому большое значение имеет нахождение лекарств растительного происхождения, так как такие лекарственные формы не имеют побочных эффектов и больше подходят детскому организму, чем препараты химического происхождения. [4,5]

В официальной медицине изучено растение черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus*), который рекомендован в качестве вяжущего вещества и применяется в виде настоя или отвара. Экспериментально установлено, что листья черники значительно понижают уровень глюкозы в крови. [6]

В народной медицине растение Галлеги лекарственной (*Gallega officinalis*) применяется для повышения артериального давления, сужения периферических сосудов, а также при ослаблении моторных функций кишечника. Последнее время появились сведения о влиянии галлегина на снижение содержания сахара в крови а также уменьшение зависимости от инсулина при сахарном диабете.[7]

Необходимо отметить, что эти лекарственные растения входят в различные лекарственные сборы, которые успешно применяются для лечения сахарного диабета 2 типа. [8]

Стандартизация лекарственных средств растительного происхождения немного затруднена в связи с содержанием в них большого количества сложных по структуре биологически активных соединений. Для решения этого вопроса необходимо проведение комплекса фитохимических исследований по выявлению веществ, доминирующих не только в количественном отношении, но и определяющих терапевтический эффект препаратов и исходного сырья

Разработка современных инструментальных методов оценки качества по действующим веществам жидких многокомпонентных растительных лекарственных форм и их стандартизация дает возможность оценить и повысить качество выпускаемой продукции, контролировать технологические процессы производства и обосновать сроки годности.

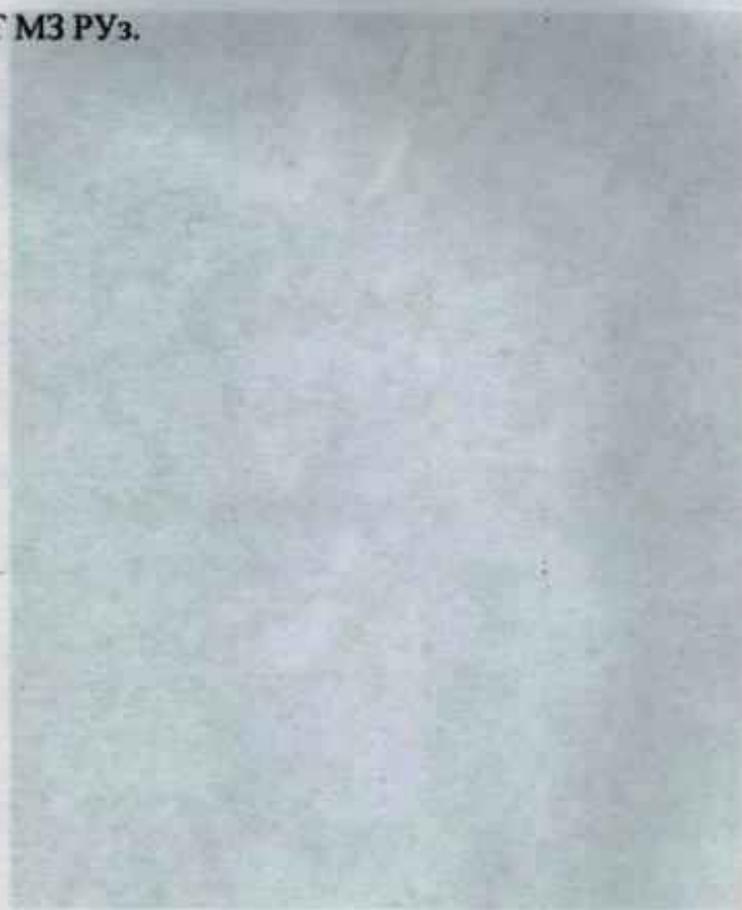
Необходимо отметить, данная работа выполняется согласно договора между ООО Акташ фарм и Ташфарми.

Объекты исследования, т.е. настойка «Фитобиотон» предоставлен со стороны заказчика.

Целью данной диссертационной работы является, стандартизация настойки «Фитобиотон» согласно ГФ XI и отраслевого стандарта.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

- изучение качественного состава настойки на содержание основных действующих биологически активных соединений с применением химических методов;
- разработка методик количественного анализа по действующим веществам с использованием классических и современных методов;
- изучение фармакопейных показателей настойки при установлении срока годности методом «ускоренного старения»;
- изучение микробиологической чистоты настойки «Фитобиотон»;
- разработка проекта ВФС настойку «Фитобиотон» и представление их в ГУККЛС и МТ МЗ РУз.



Широко распространен в Закарпатье, в степных районах Украины.

## ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1. Общие сведения о лекарственных растениях «*Galega officinalis* L.»

#### и «*Vaccinium myrtillus*»

**Галега лекарственная (козлятник) *Galega officinalis* L.** – травянистое растение из семейства Бобовых. Многолетник. Имеет стержневой корень с коротким толстым корневищем и ветвистый мощный стебель высотой до 120 см. Листья непарноперистые, черешковые, линейно-ланцетные или продолговатые, имеют прилистники. Цветки светло-голубого или фиолетового оттенка, колокольчатой формы, собраны в крупные повисшие кистевидные соцветия. Плод – многосемянной боб с матовыми зеленовато-желтыми почковидными семенами. Цветет козлятник в середине лета, а плодоносит до глубокой осени.[9]

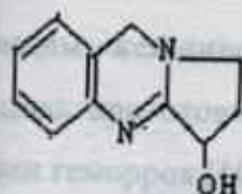


Европейские страны, Средиземноморье, Турция – ареал обитания этого растения. Широко распространен в Закарпатье, в степных районах Украины,

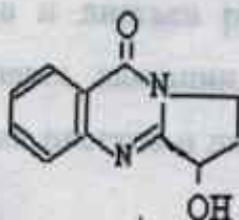
предгорных районах Черноморья и на Кавказе. Это растение можно увидеть растущим в большом количестве по берегам ручьев и рек, на влажных лугах, лесных опушках, в низинных местах и степях.

Выращивают его специально для сбора в качестве лекарственного растения. В период цветения заготавливают траву и листья галеги, а семена собирают в сентябре. В странах Западной Европы траву козлятника начали использовать с 17 века как жаропонижающее, противоглистное и мочегонное средство.

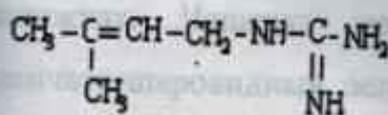
**Химический состав.** Во всех частях галеги лекарственной обнаружены алкалоиды (галегин, вазицинон, пеганин) сапонины, азотсодержащие соединения, горечи, дубильные вещества. В цветках и листьях были найдены органические кислоты (кофейная, кумаровая, синаповая) и витамины. В семенах содержатся жирные масла, фитостероиды, ненасыщенные жирные кислоты, сахара



L - пеганин



Вазицинон



Галегин

Трава козлятника лекарственного относится к неофициальному лекарственному сырью, то есть в фармакопею она не включена. Но галегин, содержащийся в этом растении, довольно хорошо изучен и доказаны его свойства повышать артериальное давление, сужать периферические сосуды, ослаблять моторную функцию кишечника и стимулировать секрецию молока. При местном применении галегин вызывает сужение зрачка. Но основное преимущество козлятника лекарственного, благодаря которому он так известен в народной медицине, это способность снижать содержание сахара в крови и уменьшать зависимость от инсулина при сахарном диабете II типа. Настои и отвары травы галеги принимают внутрь при нарушении толерантности к глюкозе и начальных стадиях диабета. Такой настой может использоваться при лихорадках в качестве потогонного средства. Есть сведения об антигельминтном действии препаратов этого растения. На Кавказе целители советуют полоскать горло настоем козлятника лекарственного при тонзиллитах. Свежим соком галеги промывают раны и трофические язвы. Настой цветков и листьев рекомендуют употреблять кормящим женщинам для увеличения лактации. Гомеопаты применяют эссенцию, приготовленную из свежих цветков и листьев этого растения при лечении геморроя.[10,11]

**Черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.)** – кустарничек высотой 15-40 см с очередными яйцевидными, тонкими, пильчатыми по краю листочками. Цветки одиночные, пазушные, поникающие, на коротких цветоножках. Чашечка небольшим цельнокрайним отгибом; венчик кувшинчато-шаровидный, зеленовато-розовый, 4-5-зубчатый. Плод – сочная, шаровидная ягода до 10 мм в поперечнике, черно-сизая с синеватым налетом. Цветет в мае июне, плодоносит в июле – августе.[12]



**Химический состав.** Ягоды содержат до 12% дубильных веществ конденсированной природы. Красно – фиолетовой цвет связан с наличием антоцианов – гликозидов дельфинидина и мальвидина, известных под общим названием «миртиллина»

Кислогато – сладкий вкус ягод обусловлен сочетанием сахара (сахарозы 5-20%) в органических кислот (лимонный и яблочный до 7%). Содержатся небольшое количество аскорбиновой кислоты и каротина. Много пектиновых веществ.

Листья еще более богаты дубильными веществами (до 20%), а также содержат другие фенольные соединения: арбутин 1-2%, гидрохинон 1%, антоцианы типа миртиллина 1-2%, кверцетин и его гликозиды и другие флавоноиды. В листьях присутствует тритерпеновые сапонины – урсоловая и олеаноловая кислоты. Содержание аскорбиновой кислоты до 250 мг / 100г.

Нежное вяжущее и диетическое средство при острых и хронических желудочно-кишечных расстройствах, особенно у детей. Входит в вяжущие сборы, применяют в виде настоя или отваров. Представляют интерес листья черники, которые в эксперименте значительно понижали уровень глюкозы в крови. Это действие приписывается миртиллину. Листья черники входят состав противодиабетического сбора.[13]

## 1.2. Методы исследования, качественного и количественного анализа алкалоидов

В большинстве случаев процесс выделения алкалоидов из растительного сырья подразделяют на 3 основные стадии: 1) извлечение алкалоидов из растительного сырья; 2) очистка полученных извлечений; 3) разделение суммы алкалоидов и очистка алкалоидов.[14,15]

Из растительного сырья алкалоиды могут быть извлечены в виде свободных оснований и в виде солей.

**Извлечение алкалоидов в виде оснований.** Алкалоиды в растительном сырье обычно содержатся в виде солей, поэтому до извлечения необходима, перевести соли алкалоидов в свободные основания, что достигается обработкой сырья различными щелочами. При подборе щелочи учитывают свойства алкалоидов. Извлечения свободных оснований алкалоидов из растительного сырья проводится различными органическими растворителями. Чаще всего применяются дихлорэтан, хлороформ, этиловый эфир, бензол и другие. Вместе с алкалоидами в извлечение переходят сопутствующие вещества: смолы, жирные масла, хлорофилл и другие пигменты, от которых алкалоиды необходимо отделить.[16]

**Извлечение алкалоидов в виде солей.** Соли алкалоидов в большинстве своем хорошо растворимы в воде и спиртах. Поэтому при извлечении алкалоидов из растительного сырья в виде солей применяют один из названных растворителей, содержащий 1-2% какой-либо кислоты. Обычно

для подкисления использует серную, соляную, винную, уксусную или другую кислоту, дающую с алкалоидами хорошо растворимые в воде или спирте соли.

Извлечение проходит быстро и достаточно полно, но вместе, с алкалоидами извлекаются большое количество сопутствующих веществ. [17]

**Очистка извлечений.** Очистка извлечений, основанная на различной растворимости свободных оснований алкалоидов и их солей.

Очистка извлечений проводится ещё хроматографическими методами (на колонке). Хроматографический метод очистки и разделения алкалоидов применим как к водным растворам солей алкалоидов, так и к растворам оснований алкалоидов в органических растворителях. Адсорбционные процессы, применяемые в химико-фармацевтической промышленности, делят на две группы: 1) процессы очистки, при которых поглощаются примеси, а алкалоиды остаются в растворе; 2) процессы очистки, при которых поглощаются алкалоиды, а сопутствующие вещества остаются в растворе.

Различают два вида адсорбции: молекулярную и ионообменную. В первом случае происходит переход молекулы растворенного вещества из подвижной фазы в неподвижную – твёрдую. Адсорбция осуществляется на полярности твердого сорбента без химической реакции.

Во втором случае происходит обмен ионов растворенного вещества с ионами сорбента.

**Разделение суммы алкалоидов.** В растительном сырье обычно содержится не один, а несколько алкалоидов, и в большинстве случаев при обработке растительного сырья в извлечение переходят все или большинство алкалоидов. Существует разные методы разделение суммы алкалоидов. [18,19,20]

**Разделение суммы алкалоидов на основании их различной растворимости в органических растворителях.** В некоторых случаях частичное разделение происходит уже при обработке органическим

растворителем первоначального водно-кислотного извлечения после подщелачивания. При его обработке, например, этиловым эфиром в органический растворитель могут перейти не все, а только часть алкалоидов. Оставшиеся в первоначальном растворе алкалоиды можно извлечь используя для этого другие органические растворители (хлороформ дихлорэтан и д.р.). [21,22]

**Разделение суммы алкалоидов по различной силе основности.** Если к водному раствору суммы солей алкалоидов с различно выраженными основными свойствами прибавить щелочь недостаточном количестве для перевода всех солей алкалоидов в основания, то в первую очередь в реакцию вступят соли алкалоидов с слабо выраженными основными свойствами, а более сильные основание останутся в виде солей. [23,24]

**Разделение суммы алкалоидов путем получения солей или других производных.** Этот метод основан на том, что в некоторых случаях при обработке суммы алкалоидов каким-либо реактивом в реакцию вступают не все алкалоиды смеси, а часть или один из алкалоидов. Например, так можно разделить фенольные или нефенольные алкалоиды (зметин и цефаэлин).

**Разделение суммы алкалоидов хроматографическим методом.** Этот метод используется как для очистки, так и разделения алкалоидов. Разделение алкалоидов основано на том, что они обычно имеют различную адсорбционную способность. Например, хроматографическим методом из сложной смеси алкалоидов мака можно выделить морфин, на суммы алкалоидов эфедры – эфедрин. [25,26]

**Разделение суммы алкалоидов по различной температуре кипения.** В случае присутствия в смеси летучих алкалоидов разделить их можно путем фракционной перегонки. Так, например, конин и конгидрин сильно отличаются по температуре кипения.

Для идентификации алкалоидов существуют качественные реакции на алкалоиды (полу осадительные реакции). Такие как, реактивом Майера белый

осадок, реактивом Вагнера и Бушарда бурые осадки, реактивом Драгендорфа оранжево-красные или кирпично-красные осадки, реактивом Марме белые или желтоватые осадки. Раствором танина беловатые или желтоватые аморфные осадки, раствором кремневольфрамовой кислоты беловатые осадки, раствором фосфорномолибденовой кислоты желтоватые осадки, которые приобретают через некоторое время синее или зеленое окрашивание вследствие, восстановления молибденовой кислоты. Раствором фосфорновольфрамовой кислоты дают беловатый осадок, раствором пикриновой кислоты с некоторыми алкалоидами образуют пикраты желтого цвета. Некоторые алкалоиды с пикриновой кислотой не осаждаются (аконитин, тиобрамин, морфин, кофеин). [27,28]

Для идентификации алкалоидов еще используются хроматографические методы анализа. Используется два вида хроматографии: тонкослойная хроматография и хроматография на бумаге. С целью идентификации алкалоидов кроме качественных реакций и хроматографического анализа определяют температуру плавления, удельное вращение, брутто формулу, молекулярную массу, получают ряд производных, определяют их константы. Кроме того, для идентификации алкалоидов широко используют УФ, ИК, ПМР, масс-спектры. При этом нет необходимости снимать одновременно спектры исследуемого вещества и известного образца, поскольку подлинной можно взять из литературы.

УФ, ИК, ПМР, масс-спектры особенно широко используются при установлении структуры алкалоидов, так как интерпретация спектров позволяет установить наличия или отсутствия сопряженных двойных связей в различных функциональных групп (карбонильной, N-метильной, гидроксильной и др.), ароматического цикла и др.[29]

Для определения содержания алкалоидов в лекарственном растении и лекарственной форме используются разные количественные методы анализа. Такие как, гравиметрический, титриметрический, колориметрический,

поляриметрический, полярографический, спектрофотометрический, денситометрический или другие методы анализа.

Для определения титриметрическим методом количество алкалоидов в сырье или лекарственной форме в качестве индикатора используют метиловый красный и титранта 0,02 н NaOH, титруют до появления желтой окраски.

Существует весовой метод определения количество алкалоидов в лекарственных препаратах и лекарственных растениях. Этот метод основан на выделение осадка с пикриновой кислотой растворенной в хлороформе. После выпадения осадка, растворитель выпаривают досуха и сушат сушильном шкафу до постоянной массы выпадавшего осадка. С помощью этого метода определяется скополамин, гиосциамин, норгиосциамин и др. алкалоиды.

Для количественного определения производных хинолизидина (термопсин, гомотермопсин, пахикарпин, анагирин, метилцитизин и др.) используется титриметрический метод анализа (прямое титрование), где в качестве титранта используется 0,1 н HCl, а в качестве индикатора используется метиловый синий.[30]

Хроматоспектрофотометрический метод тоже используется для количественного анализа для производных хинолизидина, где основным алкалоидом является цитизин. В процессы хроматографии в качестве колонки используется 95%-ный спирт – хлороформ – концентрированный раствор аммиака (40:80:0,05) и хроматографируют восходящим методом при комнатной температуре. Полученное пятно просматривают в УФ свете при длине волны 360 нм Цитизин просматривается на синем фоне пластинке в виде фиолетовых пятен. Участки сорбента с пятнами элюируют. Оптическую плотность элюата измеряют на спектрофотометре.[31]

Алкалоидов производных лизиргина ( эргометрин, эрготамин, эргокринин, эргокриптин, эргокорнин др.) количественно определяют методом колориметрии. Приготавливают раствор алкалоидов и

колориметрируют на ФЭК-М с зеленым светофильтром (длина волны 530-540 нм) в кювете с толщиной слоя 10 мм.[32]

Количественно определяют берберина спектрофотометрическим методом с применением хроматографии в тонком слое сорбента. Метод основан на разделении алкалоидов в тонком слое сорбента и определении содержания берберина спектрофотометрическим методом. [33,34,35]

### 1.3 Методы извлечения, качественного и количественного анализа

#### дубильных веществ.

Дубильные вещества – это смесь различных полифенолов, имеющих нередко сложную структуру, и очень лабильных, поэтому выделение и анализ индивидуальных компонентов представляет собой большие трудности.

При выделении из растительного материала получают фракции дубильных веществ. Для этого используют экстракцию растительного материала органическими растворителями: обрабатывают сырье петролейным эфиром, бензолом или смесью бензол – хлороформ (1:1) для удаления основной массы хлорофилла, терпеноидов и липидов, затем экстрагируют этиловым эфиром, который извлекают некоторые фенольные соединения, а в том числе оксикоричные кислоты и катехины; после этого проводят экстракцию этилацетатом, в результате которой экстракт переходят лейкоантоцианы, димерные проантоцианидины, эфиры оксикоричных кислот и др. В завершение растительный материал экстрагируют метиловым или этиловым спиртом, при этом в раствор переходят многие дубильные вещества и другие фенольные соединения.[36]

Для получения суммы дубильных веществ используются и другие способы: растительное сырье вначале экстрагируют в горячей водой, а затем охлажденный водный экстракт обрабатывают последовательно вышеперечисленными растворителями.

Широко распространено выделение фенольных соединений, в том числе и некоторых компонентов дубильных веществ, осаждением из водных или спиртоводных растворов солями свинца. Полученные осадки затем обрабатывают разбавленной серной кислотой.[37]

Суммарные извлечения дубильных веществ разделяют на индивидуальные компоненты с помощью хроматографических методов.

Для выделения индивидуальных компонентов дубильных веществ (катехинов, лейкоантоцианидинов и др.) используют различные виды хроматографии 1) адсорбционную хроматографию на колонках целлюлозы, полиамида (иногда вместе полиамида использует гольевой порошок); 2) ионообменную – на колонках катионита Дауэкс-50; 3) распределительную хроматографию на колонках силикагеля; 4) противоточное распределение; 5) гельфильтрацию на колонках Сефадекса Г-50, Г-100 и др.

Идентификация индивидуальных компонентов дубильных веществ основана на хроматографических методах (хроматография на бумаге и тонкослойная), спектральных исследованиях, качественных реакциях и изучении продуктов расщепления.[38]

Хроматограммы дубильных веществ просматривают в УФ свете и отмечают характер флуоресценции зон адсорбции. Некоторые производные катехинов имеют слабую голубую флуоресценцию, усиливающуюся после обработки хроматограмм парами аммиака. Чаще всего для обнаружения катехинов и лейкоантоцианидинов и их производных на хроматограммах используют 1%-ный ванилин в концентрированной HCl. Лейкоантоцианидины можно отличить от катехинов при выдерживании хроматограммы в парах соляной кислоты с последующим нагреванием в течение 2 мин, при этом лейкоантоцианидины переходят в антоцианидины (розовый, красно-фиолетовый цвет), а катехины остаются бесцветными или желтеют.

Для более длительной идентификации веществ используют также методы УФ, ИК и ПМР спектроскопии. [39]

Для изучения структуры дубильных веществ широко применяют гидролиз (в частности, ферментативный с помощью танназы), щелочное расщепление с последующим анализом полученных продуктов.

Идентификацию дубильных веществ в растительном сырье определяют качественными реакциями, которые можно делить на две группы: реакции осаждения и цветные реакции.

- дубильные вещества с 1%-ним желатином образуют муть, исчезающая при добавлении избытке желатина.
- дубильные вещества 1%-ним антипирином образуют аморфный осадок.
- при реакции железоаммониевыми квасцами гидролизуемые дубильные вещества образуют черно-синее окрашивание или осадок, конденсированные черно-зеленое окрашивание или осадок.
- при реакции с бромной водой ощущается запах брома, при наличии конденсированных дубильных веществ сразу образуется осадок.
- реакция с кристаллами  $\text{NaNO}_2$  и 0,1 н  $\text{HCl}$  дает коричневое окрашивание.

Для точных результатов используются количественной анализ дубильных веществ. В литературе описано около 100 различных способов количественного определения дубильных веществ, которые можно подразделить на следующие основные группы.[40]

1. Гравиметрические – основаны на количественном осаждении дубильных веществ желатиной, ионами тяжелых металлов или адсорбции гольевым порошком.
2. Титриметрические – основаны на окислительных реакциях, прежде всего с применением перманганата калия.
3. Фотоколориметрические – основаны на реакциях с солями окисного железа, фосфорновольфрамовой кислотой, с реактивом Фолина – Дениса и др.[41]

## 1.6. Методы извлечения, качественного и количественного анализа

### флавоноидов

Существуют различные способы выделения флавоноидов из растительного сырья. Они зависят от характера растительного материала и типа флавоноида. Лучше всего экстракции подвергается воздушно – сухое сырьё. Если же обрабатывается свежесобранное сырьё, то его помещают в кипящий растворитель, чтобы прекратить действие ферментов, которые могут вызвать гидролиз гликозидов. Флавоноиды растворяются в полярных органических растворителях таких, как этанол, ацетон, этилацетат, метанол и вода. Поэтому флавоноиды экстрагируют из растительного сырья вышеуказанными растворителями или их смесями [42,43].

В литературе описано использование адсорбентов: силикагеля, магнезола, целлюлозы, окиси алюминия, полиамида, сефадексов для разделения и очистки самых различных комбинаций флавоноидов. Наиболее часто употребляют силикагель, целлюлозу и полиамид. Спиртовые и водные экстракты обычно содержат, наряду с суммой флавоноидов, большое количество углеводов, фенолов, дубильных веществ и других соединений, которые затрудняют разделение и выделение флавоноидов и их гликозидов. Для этого первичный экстракт подвергают предварительной очистке с целью удаления балластных веществ и разделения экстрактивных веществ на близкие по полярности соединения. Сгущённые спиртовые экстракты разбавляют водой, выпавший осадок отделяют фильтрованием, фильтрат последовательно обрабатывают органическими растворителями в порядке увеличения полярности: петролейным эфиром [44,45] (гексаном, экстракционным бензином), хлороформом, этилацетатом и н-бутанолом. Большое количество флавоноидов переходит в этилацетатную фракцию. Далее эти фракции разделяются колоночной хроматографией. Следует указать, что выделение флавоноидов и их гликозидов из растительного сырья представляет сложную проблему из-за их плохой растворимости и присутствия в сырье близких по свойствам

соединений, наличия в большинстве флавоноидоносных растениях значительного количества сопутствующих веществ.

По литературным данным, существуют способы выделения суммы флавоноидов методом колоночной хроматографии [46].

В ряде растений сумму флавоноидов получают, экстрагируя растительное сырьё этанолом. Например, из корней шлемника незапятнанного выделены несколько флавоноидов: хризин, вагонин, апигенин, изоскутеллареин и скутелларин. Водно-спиртовой экстракт последовательно обрабатывают хлороформом, этилацетатом и бутанолом, флавоноиды разделяют методом колоночной хроматографии [47].

В листьях *Astragalus galegiformis* обнаружены также флавоноиды, как астрагалин, флагалозид А, В, С, Д, кемпферол. Экстракт сгущают до водного остатка, очищают хлороформом и исчерпывающе экстрагируют этилацетатом [48]. Причём, в зависимости от содержащихся балластных веществ очистку проводят в 2 стадии. Этот метод является много-стадийным, трудоёмким; при относительно невысоком выходе целевого продукта, наблюдается высокий расход дорогих и дефицитных растворителей.

Известная в настоящее время технология получения суммы флавоноидов с Р- витаминной активностью позволяет выделить из бутонов софоры японской рутин [49,50].

По литературным данным видно, что существуют различные способы выделения флавоноидов и общего метода для всех групп не имеется. При этом выбор метода зависит от различных факторов, которые были приведены выше, и для каждого растительного сырья условия экстракции и очистки выбираются индивидуально. С целью обнаружения флавоноидов из хроматографических методов широко используется хроматография на бумаге (БХ), в тонком слое сорбента (ТСХ) и газожидкостная хроматография (ГЖХ), а в последнее время высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [51,52].

Большинство флавоноидов на хроматограммах из-за малой

концентрации бесцветны или слабо окрашены, поэтому их просматривают в УФ-свете и опрыскивают различными хромогенными реактивами. Используя эти реактивы, можно ориентировочно установить структуру ядер, флавоноидов, определить положение гидроксильных групп у  $C_3$ ,  $C_5$ ,  $C_7$ ,  $C_8$  и наличие диоксигруппировки в боковом фенильном радикале [53].

Для качественного анализа флавоноидов чаще всего применяются следующие пробирочные реакции:

- проба Синода ( $Mg+HCl$ ), позволяющая по продуктам реакции восстановления флавоноидов магнием в соляной кислоте, имеющим различную растворимость в воде и амиловом спирте, отличить агликоны от гликозидов.

- реакция Гиббса (появляется голубая окраска с реактивом при отсутствии свободного гидроксила) [54]

- проба Хёрхаммера (жёлтая окраска указывает на наличие свободного гидроксила у  $C_3$ );

- госсипетоновая реакция (красно – коричневая окраска указывает на пара- хиноидный тип строения, наличие свободного гидроксила у  $C_5$  и  $C_8$ );

- реакция со стронция хлоридом в аммиаке (возникающие жёлтое, коричневое, зелёное, чёрное окрашивания указывают на наличие ортодифенольной группировки);

- проба с баритовой водой (зелёное окрашивание-5,6,7-триоксигруппировка). Число гидроксильных групп в молекуле подтверждается путём ацетилирования или бензоилированием. Ацетилирование проводится несколькими способами: в пиридине с избытком уксусного ангидрида, с уксусным ангидридом (перхлоратом магния или концентрированной серной кислотой в качестве катализатора) [55].

При идентификации флавоноидов, чтобы узнать состав, положение, величину окисных циклов и конфигурацию сахарных остатков используют методы определения разности молекулярных вращений, расщепление

стереоспецифическими ферментами, исчерпывающее метилирование ступенчатого гидролиза, периодатное окисление. Метилирование проводят обработкой диметилсульфатом в среде ацетона, йодистым этилом по методу Хакомори.

Одним из основных этапов определения флавоноидов в лекарственных растениях и лекарственных формах является их количественный анализ. Известно большое число методов количественного определения флавоноидов в сырье и готовой продукции. Существующие методы количественного определения флавоноидов можно разделить на несколько групп. В частности, весовые, флюорометрические, фотоэлектрометрические [56,57] полярографические, спектрофотометрические и хроматоспектрофотометрические. Приводится краткое описание и сравнительная оценка существующих методов определения флавоноидов в сырье, субстанции и их лекарственных формах.

Рассмотрены химические методы анализа, одним из которых является титриметрический метод. Данный метод является традиционным в определении флавоноидов. Так, кислотнo-основное титрование в неводных средах (диметилформамид) было применено для количественного определения рутина, где в качестве титранта был использован 0,05н. раствор гидрокситетроэтил аммония в смеси бензол-метанол (4:1).

Существует весовой метод определения суммы флавоноидов. Этот метод основан на выделении флавоноидных компонентов из препарата этанолом, очищенным этилацетатом и натрия гидрокарбонатом, растворением в бутаноле и последующим выпариванием растворителя.

Весовой метод, разработанный для количественного определения содержания рутина в субстанции и его лекарственной форме (в таблетках), основан на гидролизе рутина с последующим образованием агликона кверцетина. Метод очень длителен и недостаточно точен, так как примеси других флавоноидов также подвергаются гидролизу; кверцетин, содержащийся

в препарате, и образующийся при гидролизе агликон, вносят погрешность. Данный метод применён только для индивидуальных веществ.

Известен полярографический метод, который основан на способности флавоноидов восстанавливаться на ртутно – капельном электроде. Потенциалы ионизации полученных флавоноидов [58] очень мало отличаются друг от друга, поэтому обычно определяют их общее содержание. Чтобы определить флавоноиды полярографическим методом необходима предварительная очистка их от сопутствующих веществ. Чувствительность метода невелика (2-4мг в 10мл раствора). Для идентификации иногда используют производные рутина. Метод трудно воспроизводим из-за образования таутомерных форм флавоноидов в процессе полярографии.

Метод комплексонометрического титрования основан на осаждении флавоноидов уксуснокислым свинцом в среде метанола. В качестве примера можно привести метод определения кверцетина и гиперозида [59] в субстанции и таблетированных лекарственных формах. Точность определения  $\pm 1\%$ . Метод применим только для флавоноидов, способных образовывать комплексы со свинцом.

При потенциометрическом методе флавоноиды определяют путём титрования растворами натрия гидроксида в неводных растворителях, в частности гидрокситетраэтила и тетрабутиламмония с использованием катодополяризационного платинового электрода. Относительная ошибка метода определения составляет  $\pm 2\%$ . Данный метод мало избирателен, необходим тщательный подбор индикаторного электрода и титранта. Метод зависит от оптимальных условий потенциометрического титрования, а также от кислотно-основных свойств флавоноидов.

Флуорометрический метод основан на способности флавоноидов к комплексообразованию с катионами металлов и борной кислотой. Этот метод чувствителен и требует тщательности при проведении анализа. Данным методом можно идентифицировать все классы флавоноидов.

Известен также способ определения кверцетина в рутине, основанный на реакции с нитритом цинка в среде изоамилового спирта и последующим измерением флуоресценции раствора [60].

Спектрофотометрический метод наиболее часто применяется для анализа флавоноидов. Этот метод основан на интенсивном поглощении в УФ-области спектра с наличием максимумов поглощения, относящихся к первым (320-380 нм) и вторым (240-270 нм) полосам поглощения. Было установлено, что для получения воспроизводимых результатов подходит полоса, в которой менее выражены сольватохромные эффекты. Часто используется метод прямой спектрофотометрии по какому-либо одному флавоноиду или стандартному образцу, чтобы дать характеристику сырью или препарату. Например, известен СФ-метод определения флавоноидов в настойке календулы, где в качестве стандартного образца используют кверцетин. Ошибка метода составляет  $\pm 4,5\%$ .

Количественное определение рутина прямым СФ методом проводят при длине волны 362,5 нм в растворе абсолютного этанола. Этот метод используют как для очищенных препаратов, так и для смесей.

В основу спектрофотометрических методов анализа положены также реакции восстановления флавоноидов магнием в кислой среде, комплексообразования с хлоридом алюминия, ионизации с добавкой гидроксида натрия, что приводит к образованию определённых продуктов, т.е. смещению максимума спектра поглощения в видимую область.

При реакциях комплексообразования с солями металлов наблюдается bathochromный сдвиг 1-й полосы поглощения флавоноидов на 30-70 нм. В литературе описаны условия комплексообразования с солями металлов Cu, Sn, Pb, Sb, Mg, Zn.

В настоящее время используется метод ВЭЖХ для определения флавоноидов. В качестве элюента использована система растворителей ацетонитрил – вода в объемном соотношении 40:60. Скорость элюирования -

При изучении флавоноидного состава методом ВЭЖХ донника лекарственного выделены и идентифицированы флавоноиды: лютеолин, арбутин, гиперозид, рутин, скополетин, кверцетин [62].

Методом ВЭЖХ на приборе "Gilson" с последующей компьютерной обработкой результатов исследования в чае «Байкальском-7» идентифицированы кверцетин, лютеолин, гесперидин, рутин, гиперозид, дигидрокверцетин, феруловая кислота, кемферол в качестве неподвижной фазы использованы металлические колонки «Platinum EPS C-18» 100А размером 4,6x250 мм, подвижная фаза - метанол- вода – фосфорная кислота (конц.) в соотношении 40:60:0,5 [63,64].

Для определения качественного и количественного состава полифенольных соединений хмеля использован метод ВЭЖХ. В качестве неподвижной фазы использованы: 150:4,6 мм Zorbax, Eclipse-XDB C-8 (USA), а подвижная фаза – ацетонитрил-метанол -1% водный раствор муравьиной кислоты (35:32:33). Халконы детектируются по УФ- поглощению при длине волны 370 нм, флавононы- при длине волны 290 нм. Флавонолы представлены кверцетином и кемпферолом и их сумма составляет 0,16% [65].

Таким образом, методом перекристаллизации получена настойка на основе галлициновой кислоты и черники обоняющей, которая является натуральным биологическим продуктом.

## 2.2. Определение количественного содержания «Фитоэвотон»:

концентрации спирта, тяжелых металлов и сульфид-ионов.

Содержание спирта в настойке «Фитоэвотон» определяли методами гравиметрии ГО XI (п.т.С.26) и рефрактометрией.

Метод 1. Количественное определение спирта в фармацевтических препаратах. В круглодонную колбу вместимостью 200-250 мл отмеривали строго определенное количество жидкости. Так как, настойка была приготовлена на основе 70% спирта, то предварительно 25 мл раствора разбавляли водой до 75 мл. Для

## **ГЛАВА II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ НАСТОЙКИ «ФИТОБИОТОН»**

### **2.1 Технология получения настойки «Фитобиотон»**

Для расширения арсенала гипогликемических средств полученных на основе растительного сырья нами совместно с технологами МЧЖ «Акташ фарм» была разработана технология получения настойки Фитобиотон.

Настойку Фитобиотон получали методом перколяции. На дно перколятора укладывали 3-4 слоя марли и замачивали 70%-ным спиртом, затем укладывали (200г) измельченную траву черники обыкновенной и галлеги лекарственной. Вначале заливали сырье экстрагентом «до зеркала» и открывали спускной кран. Первое извлечение обратно вливали в перколятор и настаивали сутки. По истечении этого срока брали вытяжку в количестве  $\frac{1}{4}$  от рабочего объема перколятора. Затем в перколятор подавали свежий экстрагент до получения зеркального слоя, настаивали 1,5 часа и брали такое же количество вытяжки. Этот процесс повторяли 3-4 раза. Все вытяжки объединяли, затем настойку оставляли в прохладном месте (8-10°C) на 24 часов для очистки примесей. Полученную настойку (количество, которого составило 1 литр в соотношении 1:10) фильтровали через фильтровальную бумагу.

Таким образом, методом перколяции получена настойка на основе галлеги лекарственной и черники обыкновенной, которая условно названа «Фитобиотон».

### **2.2.Определение числовых показателей настойки «Фитобиотон»: концентрации спирта, тяжелых металлов и сухого остатка.**

Содержание спирта в настойке «Фитобиотон» проведены методами согласно ГФ XI (I т.,С.26) и рефрактометрии.

**Метод 1. Количественное определение спирта в фармацевтических препаратах.** В круглодонную колбу вместимостью 200-250 мл отмеривали точное количество жидкости. Так как, настойка была приготовлена на основе 70% спирта, то предварительно 25 мл раствора разбавляли водой до 75 мл. Для

равномерного кипения в колбу с жидкостью помещали капилляры, пемзу или кусочки прокаленного фарфора.

Мерную колбу вместимостью 50 мл помещали в сосуд с холодной водой, собирали около 48 мл отгона, доводя его температуру до 20<sup>0</sup>С и добавляя воду до метки. Отгон был прозрачным или слегка мутным.

Плотность отгона определяли пикнометром и находили соответствующее содержание спирта в процентах по объему.

Содержание спирта в препарате (X) в процентах по объему вычисляют по формуле:

$$X = \frac{50 \cdot a}{b};$$

где: 50 – объем отгона в миллилитрах; а – содержание спирта в процентах по объему; б – объем исследуемого препарата, взятый для отгона, в миллилитрах.

**Метод 2. Рефрактометрия.** Данный анализ проводили после предварительной очистки и выделения спирта из настойки Фитобиотон.

Для этого изучаемый объект, т.е. настойку «Фитобиотон» пропускали через колонку содержащий сорбент березовый активированный уголь. Затем определяли показатель преломления полученного элюата. Содержание спирта определяли по общеизвестной формуле. Результаты количественного содержания спирта приведены в таблице.1.

#### **Определение сухого остатка настойки Фитобиотон**

10 мл настойки Фитобиотон выпаривали на водяной бане до сухого остатка. Затем сухой остаток сушили в сушильном шкафу при температуре 100 – 110 °С до постоянной массы, затем охлаждали в эксикаторе 30 минут и взвешивали. Количество сухого остатка – 2%

#### **Определение тяжелых металлов настойки Фитобиотон**

5 мл препарата выпаривали досуха, прибавляли 1 мл концентрированной серной кислоты, осторожно сжигали и прокаливали. Полученный остаток

обрабатывали при нагревании 5 мл насыщенным раствором аммония ацетата, фильтровали через беззольный фильтр, промывали 5 мл воды и доводили фильтрат водой до объёма 100 мл. 10 мл полученного раствора определяли содержание тяжелых металлов. Количество тяжелых металлов – 0,0009%

Таблица 1

Числовые показатели настойки «Фитобиотон»

Исследуемый образец	Внешний вид	Плотность, г/см <sup>3</sup>	Сухой остаток не менее, %	Тяжёлые металлы, не более %	Концентрация спирта %	
					ГФ.Х I	Рефрактометрия
Настойка «Фитобиотон»	Жидкость светло-коричневого цвета.	0,8850	2	0,0009	69	68

Полученные результаты показали соответствие качественных показателей требованиям общих фармакопейных статей «Настойки», приведённый в ГФ XI.

### 2.3. Изучение макро-микро элементного состава настоек «Фитобиотон»

Известно, что наряду с основными действующими веществами лекарственные растения содержат также и другие соединения, в частности различные макро- и микроэлементы (МЭ). Следует отметить, что они находятся в них в органически связанном виде, т.е. в доступной и усвоенной форме. Терапевтическое действие МЭ может усиливать активность действующего начала лекарственных растений. Кроме того, при контроле качества и стандартизации лекарственных растений и препаратов из них особое внимание уделяется содержанию тяжелых металлов.[66] Поэтому нам было интересно изучить макро- и микроэлементный состав этих растений. При изучении элементного состава настойке Фитобиотон использован метод индукционно - связанной плазмы (масс-спектрометр).

Для этого к 1 мл настойки добавляем 9 мл бидистиллированной воды и данный раствор используем для прямого ввода в спрей-камеру прибора ICP-MS (масс-спектрометр индукционно-связанной плазмы) AT 7500a. Параметры прибора: мощность плазмы 1200 Вт, время интегрирования 0,1 сек, скорость вращения перистальтического насоса – 0,1 об/сек. Остальные параметры прибора установлены в процессе настройки и неизменны в течении между периодами проведения технического обслуживания. В качестве стандарта использовался мультиэлементный (27 компонентный) стандартный раствор с содержанием целевых компонентов 1,0 мг/л.

Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Элементный состав настойки Фитобиотон

Элемент	Количество	Элемент	Количество
Li	0,1000 мг/л	Mo	0,02000 мг/л
Be	0,6100 мг/л	Sr	0,1300 мг/л
Na	19,00 мг/л	Br	0,3700 мг/л
K	740,0 мг/л	I	0,3700 мг/л
Ca	23,00 мг/л	Ga	0,008400 мг/л
Mg	110,0 мг/л	Zn	0,7200 мг/л
Al	0,9600 мг/л	Cu	0,3300 мг/л
Si	240,0 мг/л	Ni	0,1200 мг/л
P	96,00 мг/л	Co	0,01900 мг/л
S	10,00 мг/л	Fe	3,800 мг/л
Ti	0,2600 мг/л	Mn	10,00 мг/л
V	0,01800 мг/л	Cr	1,000 мг/л

Приведённые данные в таблице 2 показывают, что настойка «Фитобиотон» содержит 24 элементов. Из них значительное количество

составляет кальций – 23,00 мг/л, калий – 740,00 мг/л, натрий – 19,00 мг/л, магний – 110,00 мг/л, кремний – 240,0 мг/л, фосфор – 96 мг/л, железа – 3,8 мг/л. Полученные результаты ещё раз доказывают целесообразность применения настойки Фитобиотон в медицине.

## **2.4 Разработка методов анализа биологически активных вещества настойки «Фитобиотон»**

### **2.4.1 Качественные реакции на биологические активные вещества «Фитобиотон»**

Качество настойки показывают его основные действующие вещества. Поэтому важно определить качественно и количественно основные действующие вещества. [67,68] По требованиям ГФ XI в каждом нормативном документе, должны быть качественные и количественные методы определения биологически активных веществ. Ниже приводятся результаты проведенных исследований по изучению химического состава настойки Фитобиотон.

Так как, настойка Фитобиотона приготовлена на основе черники обыкновенной и галеги лекарственной, то исходя из литературных данных нами проведены исследования на наличие таких биологически активных веществ как, алкалоиды, дубильные вещества и флавоноиды.

Для достижения поставленной цели в данной главе магистерской диссертации вначале были проведены реакции идентификации вышеуказанных веществ с последующей разработкой методов их количественного анализа.

#### **Определение дубильных веществ**

Для определения дубильных веществ в настойке проводят следующие реакции:

- к 2 мл препарата прибавляют 4-5 капель солей железоммониевых квасцов. Раствор окрашивается в черно – синей цвет.

- к 2 мл препарата добавляют раствор сульфата аммония, при наличие гидролизуемых дубильных веществ образуется осадок.

- к 2 мл препарата добавляют 10% раствор ацетата свинца, образуется желтый осадок.

- к 2 мл препарата по каплям добавляют бромную воду, при наличие конденсированных дубильных веществ образуется осадок

- к 2 мл препарата прибавляют кристаллы нитрата натрия и 3 капли 0,1 м раствор хлористоводородную кислоту, при наличие гидролизуемых дубильных веществ образуется своеобразный коричневый цвет.

Ниже приводим результаты идентификации дубильных веществ химическими реакциями (таблица 3).

Таблица 3.

**Качественные реакции на дубильные вещества в настойке**

№	Реактивы	Методы	Результаты
1	Раствор железоаммониевых квасцов	к 2 мл препарат прибавляют несколько капель солей железоаммониевых квасцов	Черно-синей цвет и осадок
2	Раствор аммония сульфата	к 2 мл препарат прибавляют р-р сульфата аммония	Осадок (гидролизуемые)
3	10 % раствор ацетата свинца	к 2 мл препарат прибавляют 10 % р-р ацетата свинца.	Осадок желтого цвета
4	Реактив для качественного анализа дубильных веществ	к 10 мл препарат прибавляют 5 мл 40% р-р формалина, кипятят и отделяют осадок. На полученный р-р прибавляют 1г ацетата натрия и 10 капель 1% р-р железоаммониевых квасцов	Образуется осадок (конденсированные) синей круг (гидролизуемые дубильные вещества)

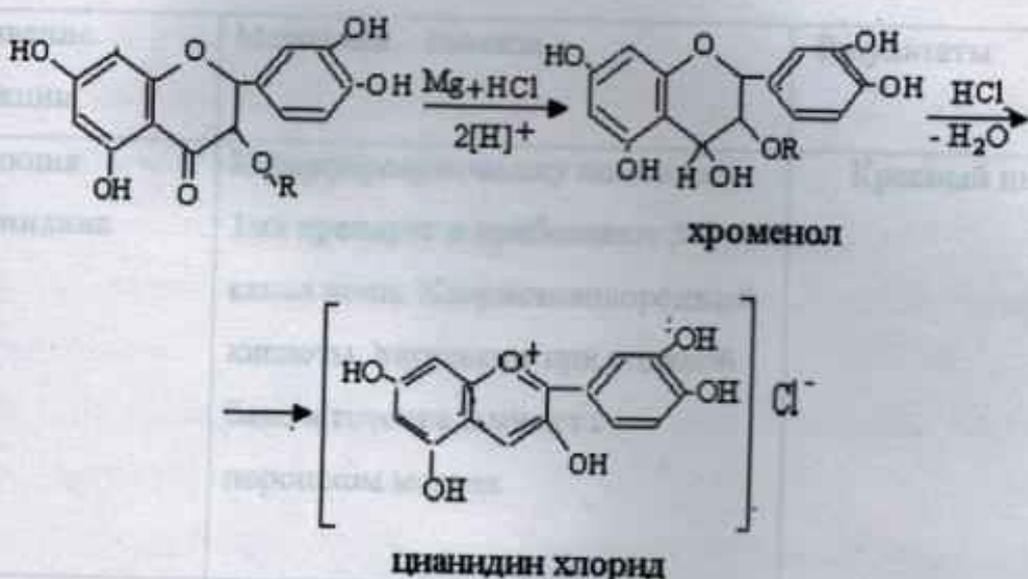
С помощью качественных реакций определены два вида дубильных веществ: пирогаллол и пирокатехин

## Определение флавоноидов

Для определения флавоноидов в настойке используются цветные реакции.

### 1. Реакция цианидина.

В фарфоровую чашку помещают 1 мл препарата и прибавляют 5-6 капель концентрированной хлористоводородной кислоты, нагревают при водяной бане в течение 2 минут с порошком магния, при наличии флавоноидов образуется красный цвет.



### 2. Реакция с хлоридом алюминия

К 2-3 мл препарата прибавляют 1% раствор хлорида алюминия, при наличии флавоноидов образуется желтый цвет.

### 3. Реакция с раствором щелочи (реакция образования Халкона).

К 2 мл препарата прибавляют несколько капель 5% раствора щелочи, при наличии флавоноидов образуется темно желтый цвет, который при нагревании переходит в оранжевый.

### 4. Реакция с минеральными кислотами.

К 2-3 мл препарата прибавляют концентрированную серную кислоту, при наличии флавоноидов образуется ярко желтый цвет.

#### 5. Реакция с хлоридом железа (III)

К 2-3 мл препарата прибавляют несколько капель 1% раствор хлорида железа(III), при наличии флавоноидов образуется темно коричневый цвет.

Качественные реакции доказали наличие флавоноидов в настойке. Результаты проведены в таблице 4.

Таблица 4.

### Результаты качественных реакций на флавоноиды

Для качественного анализа флавоноидов применяют общепринятые

№	Название реакции	Методика анализа	Результаты
1	Реакция цианидина	К фарфоровую чашку помешают 1мл препарат и прибавляют 5-6 капель конц. Хлористоводородной кислоты, нагревают при водяной бане в течение 2 минут с порошком магния	Красный цвет
2	Реакция с раствором 1% хлоридом алюминия	К 2-3 мл препарат прибавляют несколько капель 1% раствор хлорида алюминия	Желтый цвет
3	Реакция с раствором щелочи	К 2-3 мл препарат прибавляют несколько капель 5% р-ра щелочи	Желтый цвет при нагревание переходящий на оранжевый
4	Реакция с минеральными	К 2-3 мл препарат прибавляют несколько капель р-ра	Ярко желтый цвет

	кислотами	конц.серный кислоты.	Таблица 5
5	Реакция с хлоридом железа (III)	К 2-3 мл препарат прибавляют несколько капель хлорида железа (III)	Темно коричневый цвет

Результаты приведенные в таблице свидетельствуют о том, что настойка Фитобиотон содержит флавоноиды.

### Определение алкалоидов

Для качественного анализа алкалоидов используют общеосадительные реакции и методы хроматографии.

Интенсивность осадка зависит как от количественного содержания алкалоидов, так и от чувствительности алкалоида к реактиву.

Ниже приводим реакции на алкалоиды и их результаты.

- к 3 мл препарата прибавляют 5-6 капель реактива Майера образуется белый или осадок.

- к 3 мл препарата прибавляют несколько капель реактива Вагнера и Бушарда, образуется бурый осадок

- к 3 мл препарат прибавляют несколько капель раствора танина, образуется беловатый аморфный осадок.

- к 3 мл препарата прибавляют несколько капель раствора кремневольфрамовой кислоты, образуется белый осадок.

- к 3 мл препарата прибавляют несколько капель раствора фосфорномолибденовой кислоты образуется осадок, который приобретает через некоторое время синее или зеленое окрашивание.

- к 3 мл препарата прибавляют несколько капель раствора пикриновой кислоты, образуется мутный осадок.

Качественные реакции доказали наличие алкалоидов в настойке.

Результаты приведены в таблице 5.

Таблица 5

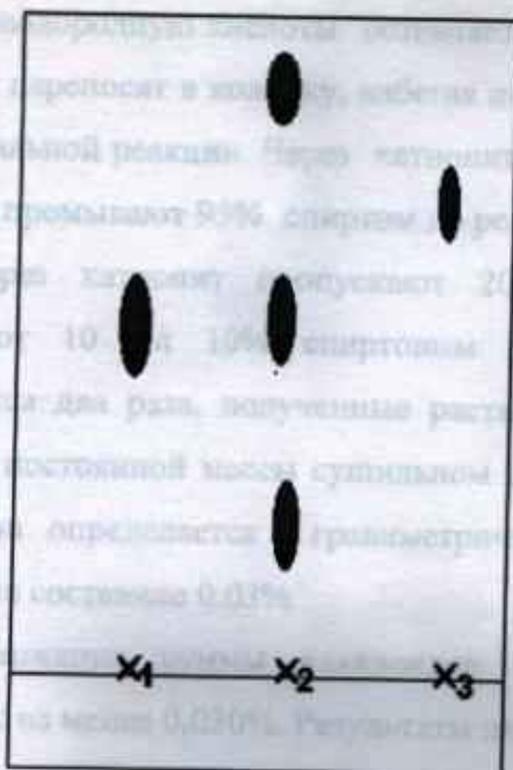
## Общеосадительные реактивы и результаты реакции на алкалоиды

Название реактива	Состав реактивов	Результаты реакции-осадки
Вагнера	$I_2 + KI$	Бурые
Бушарда	$I_2 + KI$	Бурые
Майера	$HgI_2 + KI (K_2Hg_2I_4)$	Бурые
Марме	$CdI_2 + KI (K_2Cd_2I_4)$	Желтые
Драгендорфа	$BiI_3 + KI (KbiI_4)$	Оранжево-кирпично-красный
Р-р танина	10%	Беловатые
Пикриновая кислота	1%	Желтые осадки пикратов
Р-р хлорный платины	5% $H_2PtCl_6$	Белые
Р-р сулемы	5% $HgCl_2$	Белые
Р-р хлорного золота	5% $AuCl_4 \cdot 4H_2O$	Белые

Для получения достоверности информации по результатам качественных реакций на алкалоиды, нами также разработана методика идентификации алкалоидов в полученном экстракте методом ТСХ.

Условиями хроматографирования были следующие:

- Подвижная фаза- бензол:метанол 4:1
- Неподвижная фаза – пластинка Силуфол УФ254



**1-Возицинон**

**2-Сумма  
алкалоидов**

**Rf=0,48**

**3-Пеганин**

**Rf=0,65**

Положительные реакции с общеосадительными реактивами свидетельствуют о наличии алкалоидов в настойке Фитобиотон.

Таким образом, проведенные исследования по идентификации биологически активных веществ, показали наличие флавоноидов, дубильных веществ и алкалоидов. Предварительные полученные положительные реакции на биологически активные вещества приводят к необходимости разработке их методов количественного анализа.

#### 2.4.2 Разработка методов количественного определения алкалоидов, дубильных веществ и флавоноидов

Количественное определение суммы алкалоидов в настойке Фитобиотон. Выделение алкалоидов проводят методом ионообменной хроматографии. Для этого колонку размером 20см x 3см наполняют кислотной формой ионообменной смолы К-1. Подготовку катионита К-1 проводят следующим образом. Устанавливают на штатив, параллельно подготавливают катионит (К-1). 10г К-1 и промывают 3 раза очищенной водой по 50 мл, помещают в стакан сверху наливают 8% раствор

хлористоводородную кислоты оставляет на 12 часов. По истечению времени катионит переносят в колонку, избегая попадания воздуха. Промывают водой до нейтральной реакции. Через катионит пропускают 200 мл настойки, затем настойку промывают 95% спиртом до реакции обесцвечивания элюата. После этого через катионит пропускают 200 мл аммиачного спирта. Затем промывают 10 мл 10% спиртовым раствором щелочи. Это действие повторяется два раза, полученные растворы объединяют и сгущают, затем сушат до постоянной массы сушильном шкафу при 70°C. Количество суммы алкалоидов определяется гравиметрическим методом. Количество суммы алкалоидов составило 0.03%

Содержание суммы алкалоидов в настойке Фитобиотон должно составляет не менее 0,030%. Результаты определение приведены в таблице 6.

Таблица 6.

**Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы алкалоидов настойке «Фитобиотон»**  
( $n=5$ ;  $P=95\%$ ;  $t(P,f)=2,78$ )

$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	$f$	$S^2$	$S$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{\varepsilon}, \%$
$X_1=0,030$	0,03008	4	0,000000007	0,00008	0,0001	0,35
$X_2=0,0301$						
$X_3=0,0301$						
$X_4=0,0302$						
$X_5=0,030$						

Результаты, таблицы 6 показывают, что содержание суммы алкалоидов в настойке Фитобиотон составляет 0,030% средняя относительная ошибка гравиметрического метода  $\pm 0,35\%$

**Количественное определение суммы алкалоидов настойке «Фитобиотон» методом кислотно-основного титрования.** 200 мл настойки помещают в круглодонную колбу емкостью на 1000 мл и упаривают на кипящий водяной бане под вакуумом до половины первоначального объема (100 мл). Сгущенную настойку фильтрует через бумажный фильтр, прибавляют 10 мл 25% раствора гидроксила аммония, реакцию среды

контролирует универсальной индикаторной бумагой. Подщелоченной фильтрат помешают в длительную воронку вместимости на 200 мл, алкалоиды-основания экстрагируют хлороформом три раза по 20 мл. Хлороформные извлечение объединяет, сгущают до 20 мл. Сгущенный хлороформный экстракт помешают в длительную воронку объемом 100 мл, прибавляет 3 мл 10% раствора серной кислоты, встряхивают, отделяют кислотной слой, хлороформной слой еще два раза извлекают 10% раствором серной кислоты по 3 мл. Кислотные растворы объединяют, помешают в длительную воронку объемом 50 мл, подщелачивают 25% раствором аммония гидроксила, экстрагируют хлороформом три раза по 10 мл. Хлороформное извлечение объединяют и фильтруется через бумажный фильтр. К фильтрату прибавляют 2 г безводного сульфата натрия, и отгоняют хлороформ до суха. Сухой остаток растворяют в 20 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты. Избыток кислоты оттитровывают 0,02 М раствором натрия гидроксила (индикатор бромфеноловый – синий).

1 мл 0,02 М раствор хлористоводородный кислоты соответствует 0,00404 г. Сумма алкалоидов, в пересчете на вазицинон, которого в препарате должно быть не мене 0,025%

Содержание суммы алкалоидов в пересчете (X) вычисляют по формуле.

$$X = \frac{(V_0 * K_0 - V * K) * T * 100}{a}$$

где:

X – процентное содержание суммы алкалоидов в пересчете на вазицинон;

$V_0$  – объем 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты (20 мл);

V – объем 0,02 М раствора гидроксила натрия;

$K_0$  – поправочный коэффициент 0,02 М раствора хлористоводородный кислоты;

K – поправочный коэффициент 0,02 М гидроксила натрия;

а - объем настойки взятый для анализа (200 мл)

Содержание суммы алкалоидов в пересчете на вазигинон должно быть не менее 0,025 %.

Таблица 7

Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы алкалоидов в настойке «Фитобитон»

( $n=5$ ;  $P=95\%$ ;  $t(p,f)=2,78$ )

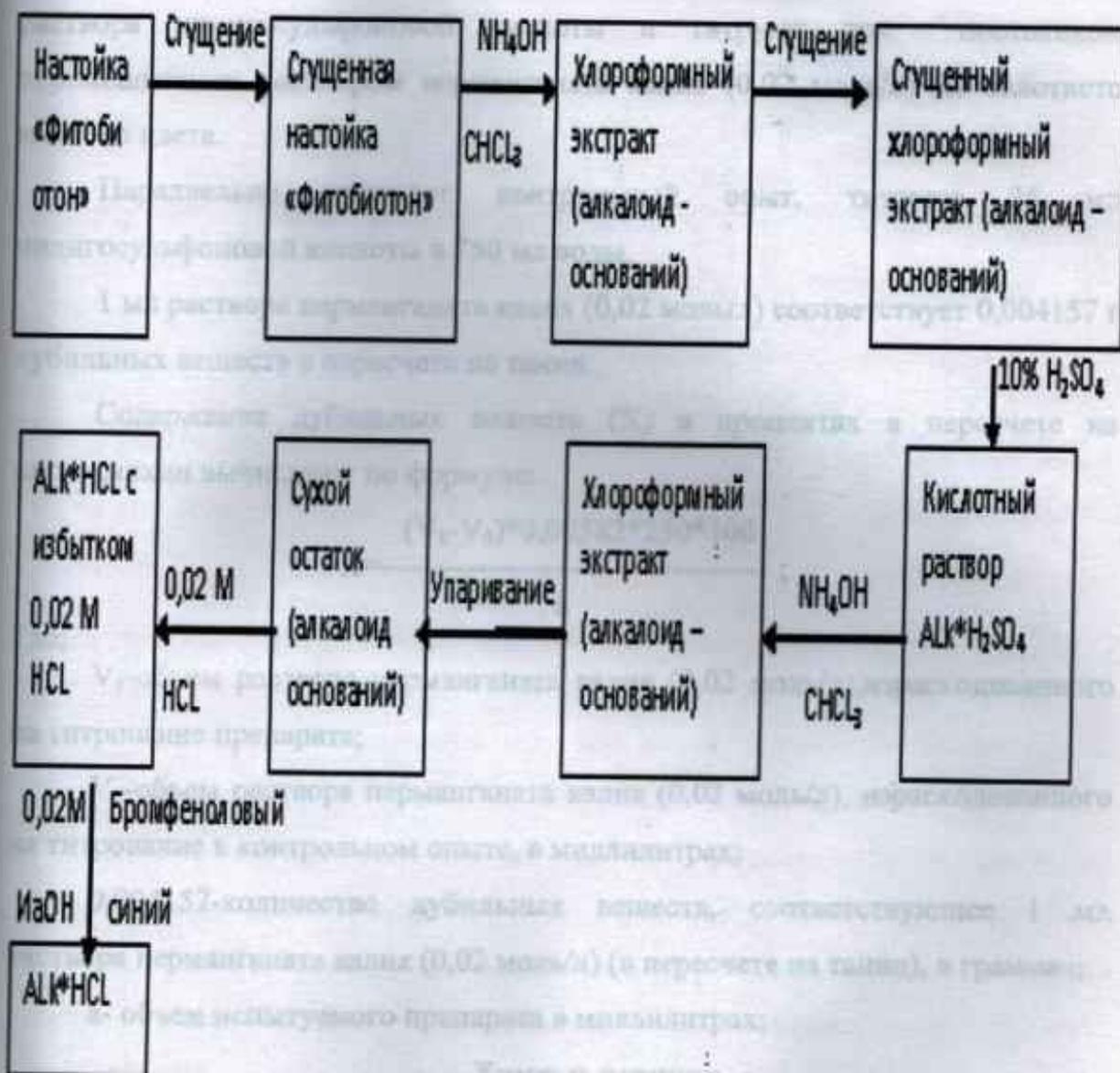
$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	$f$	$S^2$	$S$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{\epsilon}, \%$
$X_1=0,0250$	0,02502	4	0.000000007	0.00008366	0.000104	0.415
$X_2=0,0251$						
$X_3=0,0249$						
$X_4=0,0250$						
$X_5=0,0251$						

Результаты, таблицы 7 показывают, что содержание суммы алкалоидов в настойке Фитобитон в пересчете на вазигинон составляет 0,025, а средняя относительная ошибка титриметрического метода  $\pm 0,415$

Порядок выделения суммы алкалоидов из настойки и его количественное определение приведены в схеме-1.

Количественное определение суммы дубильных веществ в настойке «Фитобитон». Перманганометрический метод основан на способности дубильных веществ быстро окисляться перманганатом калия в сильно разбавленном кислом растворе в присутствии индикатора метилсульфоновой кислоты.

Схема выделения суммы алкалоидов и их количественное определение перешиты на вазидинон



**Количественное определение суммы дубильных веществ в настойке «Фитобиотон».** Перманганометрический метод основан на способности дубильных веществ быстро окисляться перманганатом калия в сильно разбавленном кислом растворе в присутствии индикатора — индигосульфоновой кислоты.

40 мл препарата помещают в мерную колбу объемом 100 мл и доводят водой до метки. Затем отбирают пипеткой 25 мл полученного извлечения на коническую колбу вместимостью 750 мл, прибавляют 500 мл воды и 25 мл раствора индигосульфоновой кислоты и титруют при постоянном перемешивании раствором перманганата калия (0,02 моль/л) до золотисто желтого цвета.

Параллельно проводят контрольный опыт, титруют 25 мл индигосульфоновой кислоты в 750 мл воды.

1 мл раствора перманганата калия (0,02 моль/л) соответствует 0,004157 г дубильных веществ в пересчете на танин.

Содержание дубильных веществ (X) в процентах в пересчете на пирокотехин вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \cdot 0,00582 \cdot 250 \cdot 100}{a};$$

Где;

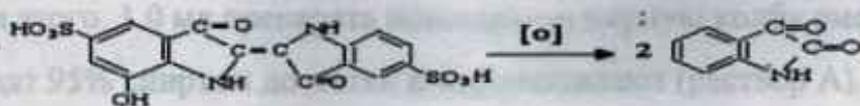
$V_1$  - объем раствора перманганата калия (0,02 моль/л), израсходованного на титрование препарата;

$V_0$  - объем раствора перманганата калия (0,02 моль/л), израсходованного на титрование в контрольном опыте, в миллилитрах;

0,004157 - количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл раствора перманганата калия (0,02 моль/л) (в пересчете на танин), в граммах;

a - объем испытуемого препарата в миллилитрах;

### Химизм реакции



Индигосульфоновая кислота

Изатин (желтый)

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете пирокатехин должно составлять не мене 1,0%. Результаты определения приведены в таблице 8.

**Таблица 8.**

**Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы дубильных веществ в настойке «Фитобитон»**  
( $n=5$ ;  $P=95\%$ ;  $t(p,f)=2,78$ )

$X_i$	$\bar{X}$ , %	f	$S^2$	S	$\Delta \bar{X}$	$\bar{\varepsilon}$ , %
$X_1=1,01$	1.07	4	0,00305	0,05523	0,15	0.64
$X_2=1,11$						
$X_3=1,12$						
$X_4=1,10$						
$X_5=1,01$						

Результаты, таблицы 8 показывают, что содержание суммы дубильных веществ в настойке Фитобиотон в пересчете на пирокатехин составляет 1,07%, средняя относительная ошибка титриметрического метода  $\pm 0,64$ .

**Количественное определение суммы флавоноидов в настойке «Фитобиотон».** Для количественного определения суммы флавоноидов в настойке «Фитобиотон» нами была использована методика спектрофотометрического определения, основанная на реакции комплексообразования с алюминием хлоридом, которая применяется для лекарственного растительного сырья.

Для этого 1,0 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят 95% спиртом до метки и перемешивают (раствор А).

4мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25мл, прибавляют 3 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% спирте и доводят объём раствора 95% спиртом до метки; перемешивают, через 20мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с

толщиной слоя 10мм. В качестве раствора сравнения используют следующий раствор: 4 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25мл, прибавляют 1 мл разведенной уксусной кислоты и доводят объём раствора 95% спиртом до метки. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 1 \cdot P \cdot 100}{D_0 \cdot a_1 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100};$$

где:

$D_0$  – оптическая плотность стандартного образца рутина;

$D_1$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$a_0$  – масса стандартного образца рутина в гр;

$a_1$  – количество испытуемого препарата, взятого для анализа мл.

$P$  – количество рутина в стандартном образце в %;

Содержание суммы флавоноидов в пересчете рутина должно составлять не менее 0,027%. Результаты определения приведены в таблице 9.

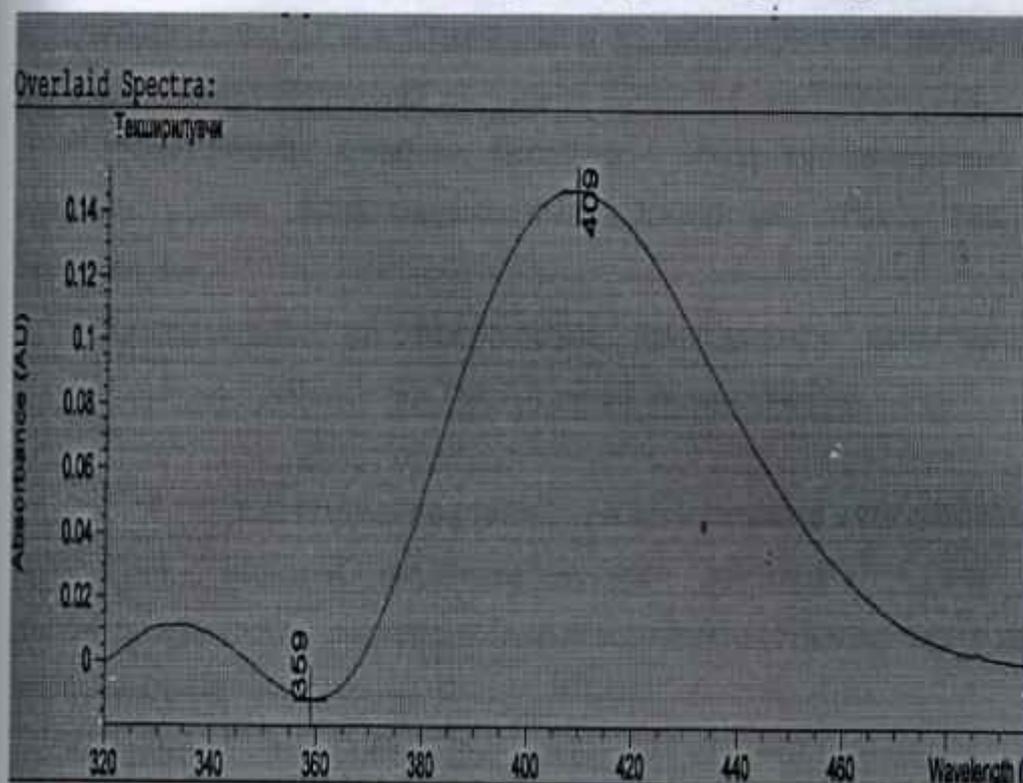
Таблица 9.

**Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в настойке «Фитобитон»**  
( $n=5$ ;  $P=95\%$ ;  $t(p,f)=2,78$ )

$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	$f$	$S^2$	$S$	$\Delta \bar{X}$	$\bar{\varepsilon}, \%$
$X_1=0,0270$	0,0271	4	0.000000025	0.000158	0.000197	0.7
$X_2=0,0269$						
$X_3=0,0273$						
$X_4=0,0272$						
$X_5=0,0271$						

Результаты, таблицы 9 показывают, что содержание суммы флавоноидов в настойке Фитобиотон в пересчете на рутин составляет 0,0271% средняя относительная ошибка спектрофотометрического метода  $\pm 0,7$

#### УФ – спектр испытуемого раствора



### 2.5. Определение микробиологической чистоты настойки Фитобиотон.

Испытание проведена в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2 с. 193 и изменена №2 от 2005г (К статье ГФ XI, издания «Методы микробиологического контроля лекарственных средств»). Требование для данной категории: в 1г препарат допускается наличие не более  $10^5$  аэробных бактерий,  $10^4$  дрожжевых и плесневых грибов,  $10^3$  Enterobacteriaceae при отсутствии *Esherichia coli* и *Salmonellaspp*,

Определение проводят в чашках Петри со стерильными питательными средами: мясо – пептонный агар – для количественного определения выросших колоний, кровяной агар – для определения гемолитических

штампов бактерий, желточно – солевой агар – для выявления патогенных стафилококков, Эндо для обнаружение кишечных групп бактерий, Сабуро – для выделение грибов в питательные среды вносили испытуемый препарат в различной концентрации (1:2:4), не менее трех чашек Петри. После инкубации в термостате при 37<sup>0</sup>С в течение 24 и 48 часов проводит подсчет выросших колоний и идентификацию.

**Обнаружено:** аэробные бактерии – менее 10, дрожжевых плесневых грибов менее 10, Entrobacteriaceae, Esherichia coli, и Salmonellaspp – отсутствуют.

**Заключение:** по результатам проведенных испытаний препарат соответствуют требованиям ГФ XI, вып.2 изменение №2.

## 2.6. Изучение стабильности настойки «Фитобиотон»

Срок годности фармацевтического препарата – это важнейший показатель качества, определяющий его стабильность в процессе надлежащего хранения. [47]

Настойка «Фитобиотон» является спиртосодержащим препаратом поэтому его стабильность изучают в склянках темного стекла, с навинчивающимися крышками по 25 мл с винтовой горловиной по ОСТ 64-2-71-80 или по TSh 64-17490735-01: 2001.Срок годности определяют методом «ускоренного старение». Объектами исследование служили лабораторные образцы препарата 5 серий. При определение стабильности препарата методом «ускоренного старение» определены качественные, количественные и числовые показатели первоначальных образцов, затем тех же при хранение (40<sup>0</sup>С). При этом изучали внешний вид, подлинность, содержание тяжелых металлов сухого остатка, микробиологическую чистоту и количество алкалоидов.

Количественное содержание алкалоидов определена по разработанному методу титрование.

Результаты физико-химического анализа хранившегося настоянки «Фитобиотон» приведены в таблице 10.

Экспериментальный срок годности -720 суток (2 года)

Таблица 10

Таблица результатов анализа настоянки фитобиотона в процессе хранения

№	Дата анализа	Описание	Подлинность	Тяж. металлы (0,001%)	Колич. определение	Плотность (0,8941 г/см <sup>3</sup> )	Сух. остаток (не менее 2%)	Срок хранения	Выводы
1	26.12.10	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,027	0,8972	2,11	-	Удовл.
	13.06.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,026	0,8957	2,12	6 мес	Удовл.
	30.09.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,025	0,8951	2,09	1 год	Удовл.
	15.11.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,025	0,8946	2,07	1 год 6 мес	Удовл.
2	30.02.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,026	0,8932	2,01	2 года	Удовл.
	24.04.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,026	0,8912	1,90	1 год 3 мес	Удовл.
	26.12.10	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,026	0,8960	1,80	-	Удовл.
	13.06.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,027	0,8955	2,10	6 мес	Удовл.
3	30.09.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,025	0,8947	1,98	1 год	Удовл.
	15.11.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,025	0,8940	1,97	1 год 6 мес	Удовл.
	30.02.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,027	0,8931	1,90	2 года	Удовл.
	24.04.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,025	0,8914	1,88	1 год 3 мес	Удовл.
3	26.12.10	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,025	0,8953	1,89	-	Удовл.
	13.06.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,026	0,8942	2,01	6 мес	Удовл.
	30.09.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,027	0,8935	1,97	1 год	Удовл.

15.11.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,028	0,8927	1,87	1 год 6 мес	Удовл.
30.02.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,028	0,8919	1,79	2 года	Удовл.
24.04.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,025	0,8911	1,70	1 г 3 мес	Удовл.
4 26.12.10	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,28	0,8951	2,10	-	Удовл.
13.06.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8949	1,98	6 мес	Удовл.
30.09.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8946	1,92	1 год	Удовл.
15.11.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8941	1,86	1 год 6 мес	Удовл.
30.02.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,28	0,8938	1,80	2 года	Удовл.
24.04.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8934	1,77	1 г 3 мес	Удовл.
5 26.12.10	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8948	1,99	-	Удовл.
13.06.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8945	1,93	6 мес	Удовл.
30.09.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8941	1,88	1 год	Удовл.
15.11.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8938	1,82	1 год 6 мес	Удовл.
30.02.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8935	1,78	2 года	Удовл.
24.04.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,24	0,8931	1,73	1 г 3 мес	Удовл.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведены экспериментально обоснованные исследования по разработке методов контроля качества настойки «Фитобиотон».
2. Изучены числовые показатели настойки «Фитобиотон»: содержание спирта, сухой остаток, тяжелые металлы. Полученные результаты соответствуют требованиям ГФ XI.
3. Качественными реакциями в настойке «Фитобиотон» выявлено наличие алкалоидов, дубильных веществ и флавоноидов.
4. Изучен элементный состав настойки Фитобиотон, где обнаружено 24 элемента. Из них значительное количество составило кальций – 23,00 мг, калий – 740,00 мг, натрий – 19,00 мг, магний – 110,00 мг, кремний – 240,0 мг, фосфор – 96 мг, железа – 3,8 мг.
5. Разработана методика количественного анализа определения суммы алкалоидов (методом кислотно-основного титрование и ионообменной хроматографии), дубильных веществ (методом редоксиметрии) и флавоноидов (УФ-спектрофотометрии) в настойке Фитобиотон.
6. Проведена стандартизация настойки Фитобиотон по фармакопейным показателям: «Описание», «Подлинность», «Сухой остаток», «Плотность», «Тяжелые металлы», «Микробиологическая чистота» и «Количественное определение». Методом «ускоренного старения» установлен срок хранения полученных лекарственных форм-2 года.
7. Профессором кафедры фармакологии и клиник фармации Алиевом Х.У. изучена фармакологическая активность настойки Фитобиотон и выявлены их гипогликемические свойства.
8. На основе разработанных методов подготовлен проекты ВФС на следующие лекарственные растения и лекарственный препарат: «Трава Галлеги лекарственной», «Побеги Черники обыкновенной» и «Настойка Фитобиотон».

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ибрагимов А.Я. Обеспеченность республики Узбекистан лекарственным растительным сырьем. Перспективы и рекомендации // Кимё ва фармация. – 1993.- 70-73с.
2. Ибрагимов А.Я., Идрисходжаев У.М. Ресурсы лекарственных растений Узбекистана, перспективы их использования. // Фармацевтика – Ташкент 2007. №4. 25-31с.
3. <http://www.medkarta.ru./narod.med/>
4. Малахов Г.П. Целительные силы. Том 1.- Москва, 1996.- 672 с.
5. Малахов Г.П. Целительные силы. Том 2.- Москва, 1996.- 576 с.
6. Валентин В. Флавоноиды и дубильные вещества из *Vaccinium myrtillus* (Черника) // Реф. Журн. Химия-Москва, 1954.- №20. 123
7. *Gallega officinalis* (козлятник). Информационный – поисковый сайт «Лекарственные травы» email: homeart@mail 2007.
8. Акопов И.Э. Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применения.- Т.: Медицина, 1990.-440 б.
9. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям.- Москва.- Медицина.- 1984. – 464с.
10. Лавренов В.К., Лавренова В.К. Современная энциклопедия лекарственных растений.- СПб.: Издательский дом «Нева», 2006. - 272 с.
11. Польная энциклопедия народной медицины / Сост. А.В.Маркова.- СПб.:Сова. -М.: Изд-во ЭКСМО, 2002.- 640 с., илл.
12. Халматов Х.Х., Ахмедов У.А. Фармакогнозия. Ташкент. Ибн Сина, 1995-546с.
13. Растительные лекарственные средства/ Н.П. Максютин, Н.Ф. Комисаренко, А.П. Прокопенко и др./ Под ред. Н.П. Максютин.- Киев. 1985. -210с.

14. Резванов А.С., Салимов Б.Т., Камилов Х.М., Левкович М.Г., Султонов С.А. Новый подход к выделению и разделению алкалоидов *Delphinium ajacis* L. //Фармацевтика-Ташкент, 2008 №2.25-26с.
- 15.Ulubelan A., Desai H.K., Hart B.P., Joshi B.S., Pelletier S.W., Mericli A.H., Mericli F., Ozen H.C. Diterpenoid alkaloids of *Consolida oliveriana* //J. Nat. Prod. – Columbus.1996-№9 (59) – P.907-910с.
- 16.Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н.Химический анализ лекарственных растений. Москва Высшая школа, 1983-111,122с.
- 17.М.А.Тожиев, Т.Мирхайтов Количественное определение алкалоидов эрготоксина в лекарственных препаратах//Кимё ва фармация.-1994 №4 с.23
- 18.О.Н.Толкачев, Е.А.Абизов, Е.В.Абизова, С.Д.Мальцев Фитохимическое исследование коры некоторых представителей семейства *Elaeagnaceae* juss как природного источника индольных алкалоидов ряда  $\beta$ -карболина //Химико-фармацевтический журнал.-2008 № 8 с.32
- 19.М.Н.Лякина, Л.И.Брутко Хроматоспектрофотометрическое определение цитизина в экстракте термопсиса жидком //Химико-фармацевтический журнал.-1989 № 2 с.126-129
- 20.Е.С.Артамонова, В.А.Куркин Разработка методов качественного и количественного анализа алкалоидов травы чистотела большого// Химико-фармацевтический журнал.-2008 №11 с.30-33
- 21.Е.Н.Жукович, Т.Л.Зиневич, О.Н.Толкачев Изучение алкалоидного состава масляных экстрактов чистотела большого //Фармация.-2004 №1 с.22-24
- 22.Ю.В.Шелудько, И.М.Герасименко, И.А.Костенюк Сравнительный анализ методов количественного определения суммы индольных алкалоидов //Химико-фармацевтический журнал.- 1996 № 4 с.38-42
- 23.Симон И.С.,Плетнева Т.А., Губина Т.Н.,Шостенко Ю.В. Методы контроля производства атропин-сульфата. Сообщение III. Определение суммы тропановых алкалоидов в корнях скополии и полупродуктах производства

- гносциamina методом неводного титрования. //Химико-фармацевтический журнал.-1970 №9 с.58-61
- 24.Р.В.Лыкова Количественное определение алкалоидов в траве эфедры хвощевой. I.Выделение суммы алкалоидов //Химико-фармацевтический журнал.-1986 №11 с.1331-1334
- 25.З.П.Костенникова, В.В.Дрожжина, Л.И.Байдак Спектрофотометрическое определение резерпина в таблетках //Фармация.-1970№1 с.41-44
- 26.Юнусов С.Ю. Алкалоиды. Ташкент: Фан 1981- 418с.
- 27.Крешков А.П., Максимова Т.В., Дроздов В.А. Анализ алкалоидов титрованием в неводных средах //Фармация.- 1972 №2 с.56-60
28. Государственная фармакопея – Изд. XI. – Вып. 1. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – М.: Медицина, 1990.
- 29.Георгиевский В. П. Биологически активные вещества лекарственных растений. –Новосибирск: Наука, 1990. –С.191-242.
- 30.Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П., Харитонов Ю.Я. Валидация аналитических методов // Фармация.- Москва, 2006. -№ 4.-С. 8-13.
- 31.М.С.Гришина, Л.И.Коваленко, Д.М.Попов, И.А.Самылина Экстракционно-фотометрическое определение алкалоидов в листьях красавки//Химико-фармацевтический журнал- 1985 № 9 с.1102-1105
- 32.В.С.Аксенов, И.У.Нуманов, А.В.Погосов, В.А.Дегтярев Хроматографические исследования алкалоидов опиумного мака и их ацетилпроизводных //Химия природных соединений.-1993 №1 с.109
- 33.Ф.Д.Ахмед-заде, Н.Н.Делентьева Анализ платифиллина гидротартрата методом газожидкостной хроматографии//Фармация.-1986 №4 с.44-24.
- 34.Б.Д.Кабулов, А.Л.Дьяконов, С.В.Залялиева Высокоэффективная жидкостная хроматография алкалоидов//ХПС. 1991. С. 595-613
- 35.Маркарян А.А. Современное состояние стандартизации лекарственного растительного сырья и получаемых из него фитопрепаратов.- Провизор, 2001

36. Мавлянов С.М., Исламбеков Ш.Ю., Исмаилов А.И., Далимов Д.Н., Абдуллажонова Н.Г. Растительные дубильные вещества // Хим. природ. соед. - 2001. - №1. - 3-14 с.
37. Аналитические пути стандартизации спиртосодержащих жидких лекарственных форм фитопрепаратов. 2. Исследование фенольных соединений препарата «Элексир Демидовский» / В.Г. Макаров, К.А. Красно и др. // Фармация. - Москва, 1996. - № 4. - С.36-40.
38. Государственная фармакопея - Изд. XI. - Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. - М.: Медицина, 1990.
39. Маркорян А.А., Абрамов А.А. Хроматографическое изучение фенольного состава сухого экстракта «Нефрофит» // Вестник Моск. ун-та. Сер.-2. «Химия». - Москва, 2003. - Т.44. - №5. - С.356-360.
40. Рахимов. К.Д., Сотиболдиева. Ж.А. и др. Руководство по работе лекарственными растениями. Алматы, 1999. - 5-8 с.
41. <http://www.химик.ру/likens/>
42. Абдуллабекова В.Н., Юлдашев А.А., Количественное определение содержания флавоноидов в сухом экстракте Эрвы шерстистой // Фармацевтика-Ташкент 2007. №2. 33-36 с.
43. Пулатова Д.К., Урманова Ф.Ф., Свечникова А.Н., Камилов ХХ.М. Спектрофотометрическое определение флавоноидов в цветках тысячелистника таволголистного // Фармацевтика-Ташкент 2007. №2. 9-11 с.
44. Лобанова А.А., Буданова В.И., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // Химия раст. сырья. - Барнаул, 2004. - №1. - С.47-52.
45. Матющенко Н.В., Степанова Т.А. Количественное определение суммы флавоноидов в новом фитопрепарате «Элима» // Хим. фарм. журнал. - Москва, 2003. - №5. - С.42-44.

46. Особенности применения стандартного образца рутина в анализе растительного сырья в витаминах фитопрепаратах / Л.П.Смирнова, С. Николоева и др. // Хим. - Фарм. журн. - Москва, 2000.-№1.29-31с.
47. Бадюкова В.А., Шинкаренко А.Л. Тонкослойная хроматография флавоноидов // Химия природ. соедин.- Ташкент, 1973.-№1. 20-35с.
48. Беликов В. В., Шнайбер М. С. Методы анализа флавоноидных соединений // Фармация. – Москва, 1970. -№1. -С.66-70.
49. Ботиров Э.Х., Дренин А.А., Макарова А.В. Химическое исследование флавоноидов лекарственных и пищевых растений // Химия раст. сырья. - Барнаул, 2006. -№1. -С.45-48.
50. Ковальов О.У., Павлій Т.У. и др. Фармакогнозія с основами біохімії рослин.- Харків, «Прапор», Видавництво НФАУ 2000.
51. Суммы флавоноидов в плодах софоры японской. / Абдуллабекова В.Н., Тулаганов А.А. и др. // Вопросы медицинской, биологической и фармацевтической химии. -Москва, 2000. -№1. -С.37-39
52. Куркин В.А., Правдивцева О.Е. Сравнительное изучение содержания суммы флавоноидов и антроценпроизводных в препаратах травы зверобоя // Хим. –фарм. ж-л.- Москва, 2008. –Т. 42. -№ 10.-С.39-42.
53. Петриченко В.М., Галишевская Е.Е. Определение суммы флавоноидов в траве марьянкина лугового // Фармация.- Москва, 2004.-№ 1.-С. 24-26.
54. Беликов В. В. Некоторые особенности спектрофотометрического метода анализа флавоноидных соединений //IV Всесоюзный съезд фармацевтов: Тез. докл. –Казань, 1986. -С. 314-315.
55. Сироткина Е.Е. Выделение и анализ природных биологически активных веществ. –Томск: Изд-во Томского Ун-та, 1987. –С.142-146

56. Сливкин А.И., Селеменев В.Ф., Суховерхова Е.А. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств. - Воронеж: Изд. Воронежского гос. ун-та, 1999. -366 с.
57. Смирнова Л.П., Первых Л.П. Количественное определение суммы флавоноидов в цветках бессмертника песчаного. // Хим. фарм. журнал. - Москва, 1998. - №6. С.35-38.
58. Спектрофотометрический метод количественной оценки содержания полифенолов в сухом экстракте из надземной части *Melilotus officinalis* (L) Pall. и в его лекарственной форме (таб.). /И.И.Чемесова, С.Л.Чубарева и др. // Раст. ресурсы. -Москва, 2000. -Вып.1. -Т.36. - С.86-91.
59. Юрьев Д.В., Эллер К.И., Арзамасцев А.П. Анализ флавонолгликозидов в препаратах и БАД на основе экстракта гинко-билоба //Фармация. - Москва, 2003. -№3. -С.7-9.
60. Ярцева И.Б., Куркин И.А. Количественное определение суммы флавоноидов в траве одуванчика лекарственного //Фармация. - Москва, 1996.- №4. - С.12.-13.
61. Хазиева Р.Ш., Тынчерова А.А. Экстрагируемость флавоноидов травы зверобоя в настои //Фармация.- Москва, 2006.-№6.32-35 ст.
62. Пахамов. В.П. Хроматография в химико-фармацевтических исследованиях //Хим.-фарм. журн.-Москва,2003.-№8. 55-56ст.
63. Справочник Видаль Лекарственные препараты в России. - Москва, 2005 565ст.
64. British pharmacopoeia. Phytomenadione.-1997.-P.1040
65. Юнусходжаева Н.А., Абдуллабекова В.Н. Флавоноиды настойки горца птичьего// Мастер. науч.-практ. конф. «Интеграция образования, науки и производства в фармации», посвященный 70-летию Ташкентского Фармацевтического института.- Ташкент, 2007.205-206ст.
66. Зайнутдинов Х.С. Анализ микроэлементного состава травы *Htlichrysum terasandicum* M.Pol// Кимё ва фармация. Ташкент,1998.-№3.5-6с.

67. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / Под ред. проф. В.Л.Багировой, проф. В.А.Северцева. –СПб.: СпецЛит. 2001. -223 с.
68. Обзор физико-химических методов стандартизации настоек, экстрактов и эликсиров в ведущих странах Европы и Америки / Зенкевич И.Г., Багирова В.Л., Сокольская Т.А., Нечаева Е.Б. и др. // Фармация.- Москва, 2002.-№ 1.-С. 46-45.
69. Абу Али ибн Сина (Авиценна). Канон врачебной науки. Избранные разделы. М.: “МИКО Коммерческий вестник”, Тошкент: Фан АН Республика Узбекистан, 1994.-400 с.
70. Винаградова Т.А., Гажёв Б.Н. и др. Практическая фитотерапия / М.: Изд-во “ЭКСМО-Пресс”, СПб.: “Валери СПД”, 2001.-44-45с.
71. Запесочная Г. Г. Состояние и перспективы исследований биологически активных веществ из растений и создание на их основе новых лекарственных препаратов. -М., 1983. -С. 53-77.
72. Халматов Х.Х., Фитотерапия и его проблемы. // Фармацевтический журнал. №3. -2007.- 42-44 с.
73. Халматов Х.Х., Махсумов М.Н. Фитотерапия.-Тошкенр, 2003.- 112-114 б.
74. International Conference Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures. Methodology. ICH-Q2B. - Geneva. -1996.
75. Mabry T. J. The Systematic Identification of Flavonoids. -New York, 1970. - 354 p.
76. Долгова А.А., Ладыгина Е.Я. Руководство к практическим занятием по фармакогнозии. М.: Медицина, 1977. -256с
77. Завражанов В.И., Китаев Р.И., Хмелев К.Ф. Лекарственные растения.- Воронеж: 1994. -479 с.
78. Минина С.А., Каухонова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. Учеб. пособие для вузов. –Москва: ГЕОТАР-Медиа, 2004. -560 с.

79. Пономарев В.Д. Математические методы в фармации. –М.: Медицина, 1983.-231с.
80. Редченкова В.Н., Хишова О.М. Анализ требований некоторых фармакопей предъявляемых к экстрактам // Хим.-фарм. ж-л. -Москва, 2006.- № 1.-С. 37-40.
81. Сур С.В., Гриценко Э.Н. Проблемы и перспективы разработки и внедрения современных лекарственных средств растительного происхождения // Фарма-тека. – Москва, 2001. –№9-10. -С.10-14.
82. Тяжелые металлы и стандартизация настоек //Т.В.Пелетёнова, Н.И. Потапова и др. //Фармация.-Москва, 2004.-№4. 9-10ст.
83. Dondi F., Blo G., Kahie J., Lodi G., Pietrogrande G., Reschighian P. Chromatographic behavior of flavonoid compounds in reversed-phase HPLC systems // J. Chromatogr. -London, 1988. -Vol.25. –P.423-429.
84. Тайёр дори воситалари технологияси: Фармацевтика институтлари ва медицина институтларининг фарм. фак. талабалари учун ўқув кўлл./ С.М. Маҳкамов, М.У. Усуббоев, А.И. Нуритдинова. – Т.: Ибн Сино номидаги нашриёт, 1991. – 263б.
85. Промышленная технология лекарств: [Учебник. В 2-х т. Том 1 / В.И.Чуешов, О.И.Зайцев, С.Т.Шебанова, М.Ю.Чернов]; Под редакцией профессора В.И.Чуешова. - Х.:МТК-Книга; Изд-во НФАУ, 2002. – 560 с.
86. Промышленная технология лекарств: [Учебник. В 2-х т. Том 2 /
87. Турова А.Д., Сапожникова Э.Н. Лекарственные растения СССР и их применение.- М: Медицина, 1982.- С. 277.
88. Попов А.П. Траволечебник: Лечения лекарственными растениями.- СПб., 1997. -560с.
89. Юлдашев М.П. Флавоноиды корней *Scutellaria comosa* // Химия природ. соедин.- Ташкент.1996.-№6.-С.610.
90. Юлдашев М.П. Строение двух новых флавоноидов из *Scutellaria gamosissima* // Химия природ. соедин.- Ташкент.1994.-№3.-С.355.

91. Юлдашев М.П., Каримов А. Флавоноиды корней *Scutellaria immaculate* // Химия природ. соедин.- Ташкент 2005.-№1.-С.26-27.
92. Хворост П.П., Комисаренко Н.Ф. Флавоноиды *Polygonum aviculare* // Химия природ. соедин. – Ташкент, 1980.-№6.-С.840.
93. Алания М.Д., Кавтарадзе Ш.Н. Флавоноидные гликозиды листьев *Astragalus galegiformis*. // Химия природ.соедин. -Ташкент, 2006.-№6.-С.555-558.
95. Абдуллабекова В.Н., Тулаганов А.А. Разработка метода количественного анализа цветков календулы лекарственной // Хим.-фарм. журн. - Москва, 2001.-№ 10.-С. 25.
96. Хайс И.М., Мацек К. Хроматография на бумаге. -М.: Мир, 1962.- 254-300с.
97. Индикаторные компоненты водных извлечений травы зверобоя / А.М. Власов, К.И. Эллер и др. // Фармация.- Москва. 2005. -№ 3.-С. 15-18.
98. Morrasoni Paola, Bombardelli Ezio. *Silibium marianum* // *Fitoterapia*. -1995. - №1.-Р.3-42.
99. United States Pharmacopoeia. Validation of compendia methods.- 2003.
100. Валидность методики определения компонентов препарата «Саливертин»/ А.М. Савватив, В.Л. и др. // Фармация. –Москва, 2005. -№ 3.- С. 11-14.
101. Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П., Харитонов Ю.Я. Валидация аналитических методов // Фармация.- Москва, 2006. -№ 4.-С. 8-13.

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ПО КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. ВФС на настойку Фитобиотон.
2. ВФС на траву галеги лекарственной
3. ВФС на побеги черники обыкновенной
4. Акт о проведении испытаний на микробиологическую чистоту лекарственного препарата настойки Фитобиотон.

Главного управления по контролю качества лекарственных средств и медицинской техники

Х.К. Давлатов

2013 г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

ВРЕМЕННАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Настойка Фитобиотон	ФФС-42 Узб. стандарта - 2012
Фитобиотон настойка	
Настойка Фитобиотон	Производится впервые

Срок действия установлен  
с "\_\_\_" \_\_\_\_\_ 2012 г.  
Срок действия  
до "\_\_\_" \_\_\_\_\_ 2013 г.

Настоящая временная фармакопейная статья распространяется на настойку Фитобиотон, произведенную в качестве лекарственного средства.

Сырье	
Трава галеги	- 5 г
Побеги черники обыкновенной	- 5 г
ФФС-42 Узб. (0228-2012)	
ГОСТ 2705	- достаточное количество для
ФФС-42 Узб. (0243-2006; ГОСТ 5962-67)	получения 1 г настойки

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ПО КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

**ФАРМАКОПЕЙНЫЙ КОМИТЕТ**

**“УТВЕРЖДАЮ”**

Начальник Главного управления по  
контролю качества лекарственных  
средств и медицинской техники

\_\_\_\_\_ Х.К.Джалилов

“\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2012 г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО  
СРЕДСТВА**

**ВРЕМЕННАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Tincturae Fitobioton**

ВФС 42 Уз-.....-2012

**Fitobioton pastoykasi**

**Настойка Фитобиотон**

Вводится впервые

Срок введения установлен

с “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2012 г.

Срок действия

до “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2015 г.

Настоящая временная фармакопейная статья распространяется на настойку

Фитобиотон, применяемую в качестве лекарственного средства.

**Состав:**

Трава галеги - 5 г

Побеги черники обыкновенной - 5 г

(ФС 42 Уз- 0228-2012)

Спирта этилового медицинского 70% - достаточное количество для

(ФС 42 Уз-0243-2006; ГОСТ 5962-67) получения 1л настойки

**ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ**

**ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА**

**Описание.** Прозрачная жидкость темно зелёного цвета, с характерным запахом, горьковато-жгучего вкуса. Допускается образование легкой мути при хранении. Должно соответствовать требованиям ГФ XI вып.2, с.148.

**Подлинность.** К 2 мл препарата по каплям добавляют бромную воду, при наличии конденсированных дубильных веществ образуется осадок (дубильные вещества).

К 3 мл препарата добавляют несколько капель раствора кремневольфрамовой кислоты, образуется белый осадок (алкалоиды).

К 3 мл препарата добавляют несколько капель раствора Драгендорфа образуется оранжево – кирпично - красный осадок.

**Тяжелые металлы.** 5 мл препарата выпаривают досуха, прибавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, осторожно сжигают и прокаливают. Полученный остаток обрабатывают при нагревании 5 мл насыщенного раствора аммония ацетата, фильтруют через беззольный фильтр, промывают 5 мл воды и доводят фильтрат водой до объёма 100 мл. 10 мл полученного раствора должны выдерживать испытание на тяжелые металлы (не более 0,001% в препарате; (ГФ XI, вып. 1, с. 165).

**Плотность.** От 0,891 до 0,897 г/см<sup>3</sup> (ГФ XI, вып. 1, с. 24, метод 1).

**Сухой остаток.** 5 мл препарата помещают во взвешенный бюкс, выпаривают в водяной бане и сушат 2 ч при (102,5±2,5°C), затем охлаждают в эксикаторе 30 мин и взвешивают. Содержание сухого остатка должно быть не менее 2% (ГФ XI, вып. 1, с. 161; ГФ XI, вып. 2, с. 148).

**Объем заполнения упаковки.** Должен соответствовать ОСТ 64-492-85. Допустимые отклонения для упаковки 25 мл составляют ±5%.

В случае неудовлетворительного результата испытание повторяют на равнозначном количестве препарата.

**Микробиологическая чистота.** Препарат должен выдерживать требования ГФ XI, вып. 2, с. 193 и Изменение №2 от 12.10.2005 г, категория 3Б. В 1 мл препарата допускается наличие не более 10<sup>4</sup> аэробных бактерий, 2·10<sup>2</sup> общего

числа грибов и не более  $10^2$  энтеробактерий и некоторых грамотрицательных бактерий. Отсутствие *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* в 1 мл препарата и отсутствие *Salmonella* в 10 мл препарата.

**Количественное определение.** 200 мл настойки помешают в круглодонную колбу емкостью на 1000 мл и упаривают на кипящий водяной бане под вакуумом до половины первоначального объема (100 мл). Сушенную настойку фильтруют через бумажный фильтр, прибавляют 10 мл 25% раствора гидроксила аммония реакцию среды контролирует универсальной индикаторной бумагой. Подщелоченной фильтрат помешают в делительную воронку вместимостью 200 мл, алкалоиды-основания экстрагируют хлороформом три раза по 20 мл. Хлороформные извлечение объединяют, сгущают до 20 мл. Сгущенный хлороформный экстракт помещают в делительную воронку 100 мл прибавляет 3 мл 10% раствора серной кислоты, встряхивают кислотной слой отделяют, хлороформной слой еще два раза извлекают 10% раствором серной кислоты по 3 мл. Кислотные растворы объединяют, помещают в делительную воронку 50 мл подщелачивают 25% раствором аммония гидроксила, экстрагируют хлороформом три раза по 10 мл. Хлороформное извлечение объединяют, фильтруют через бумажный фильтр 2 г безводного сульфата натрия, хлороформ отгоняют до суха. Сухой остаток растворяют в 20 мл 0,02 М растворе хлористоводородной кислоты. Избыток кислоты оттитровывают 0,02 М раствором натрия гидроксила (индикатор бромфеноловый – синий).

1 мл 0,02 М раствор хлористоводородный кислоты соответствует 0,00404 г суммы алкалоидов в пересчете на возицинон, который в препарате должно быть не менее 0,025%

Содержание суммы алкалоидов в пересчете (X) вычисляют по формуле.

$$X = \frac{(V_o * K_o - V * K) * T * 100}{a}$$

X – содержание суммы алкалоидов в пересчете на возицинон (%);

$V_o$  – объем 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты (20 мл);

- V - объем 0,02 М раствора гидроксила натрия;
- $K_c$  - поправочный коэффициент 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты;
- $K$  - поправочный коэффициент 0,02 М гидроксила натрия;
- v - объем настойки взятый на анализ (200 мл)

Содержание суммы алкалоидов в пересчете на возицинон должно быть не менее 0,025 %.

**Упаковка.** По 25 мл во флаконы оранжевого стекла с винтовой горловиной по ОСТ 64-2-71-80 или по TSh 64-17490735-01:2001 или во флаконы - капельницы по ТУ 64-2-208-79, закупоренные пробками полиэтиленовыми с навинчаемыми пластмассовыми крышками по ОСТ 64-2-87-81 или по ТУ 10-03-0334056-3-95 и ТУ Уз 64-16965647-01-98 или пробками – капельницами и крышками навинчиваемыми по ТУ 64-2-282-84.

На флаконы наклеивают этикетки липкие или из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86Е или писчей по ГОСТ 18510-87Е.

Флаконы, отделяя друг от друга прокладками из картона, помещают в коробки из картона гофрированного по ГОСТ 7476-89 или 8273-75, или мешочного по ГОСТ 2228-81, или в пакеты из пленки полиэтиленовой термоусадочной по ГОСТ 25951-83 с поддоном из картона с вложением внутрь этикетки. Коробки или стопы оклеивают бандеролью из бумаги оберточной по ГОСТ 8273-75 или мешочной по ГОСТ 2228-81Е, или лентой клеевой по ГОСТ 18251-87, или обвязывают шпагатом из лубяных волокон по ГОСТ 17308-88, или нитью хлопчатобумажной по ГОСТ 6309-87, или нитью пропиленовой по ТУ 17-05-009-80, на концы которых наклеивают этикетку липкую или из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86Е, или писчей по ГОСТ 18510-87Е.

Коробки, стопы или пакеты укладывают в ящики дощатые по ГОСТ 2991-85 или ящики из листовых древесных материалов по ГОСТ 5959-80, дно и стенки которых выстилают бумагой оберточной по ГОСТ 8273-75 или мешочной по ГОСТ 2228-81Е, или укладывают в ящики из картона гофрированного для лекарственных средств по ОСТ 64-064-88. Свободное пространство заполняют макулатурой бумажной по ГОСТ 10700-89 или стружкой древесной по ГОСТ 5244-79.

В ящики укладывают упаковочный лист.

В случае контейнерной отгрузки упаковку коробок, стоп или пакетов в ящики исключают.

Групповая и транспортная упаковка в соответствии с ГОСТ 17768-90Е.

**Маркировка.** На этикетке указывают наименование ведомства, предприятие-изготовитель, его адрес, товарный знак, название препарата на латинском, узбекском и русском языках, количество препарата, номер регистрационного удостоверения, номер серии, срок годности, условия хранения, штрих код (при наличии).

Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 17768-90Е.

**Транспортирование.** В соответствии с ГОСТ 17768-90Е.

**Хранение.** В прохладном и защищенном от света месте.

**Срок годности.** 3 года.

**Гипогликемическое средство**

Примечание. Реактивы, титрованные растворы, приведенные в настоящей временной фармакопейной статье, описаны в соответствующих разделах ГФ XI, вып. 1 и

Проректор по научной работе  
Ташкентского фармацевтического  
института, профессор  
д.б.н.

Турсунов Р.Т.

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20....г

Доцент кафедры  
фармацевтической химии,  
канд. хим. наук

Убайдуллаев К.А.

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20... г.

Профессор кафедры  
Фармации ФУПа  
д. ф. н.

Пўлатова Т.П.

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20....г.

Ассистент кафедры  
фармацевтической химии

Юнусходжаева Н.А.

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20....г.

Резидент магистратуры  
Фармацевтический химии

Турсунова Л.И.

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20...г

Председатель  
Фармакопейного комитета,

Халимов А.Х.

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20....г.

Ученый секретарь  
Фармакопейного комитета,  
канд. фарм. наук.

Болтабаева Г.Э.

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20....г.

Таблица результатов анализа настоек фитобитона в процессе хранения

№	Дата анализа	Описание	Подлинность	Тяж. металлы (0,001%)	Коллич. определение	Плотность (0,8941 г/см <sup>3</sup> )	Сух. остаток (не менее 2 %)	Срок хранения	Выводы
1	26.12.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8972	2,11	-	Удовл.
	13.02.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8957	2,12	6 мес	Удовл.
	30.03.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8951	2,09	1 год	Удовл.
	15.05.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8946	2,07	1 год 6 мес	Удовл.
	30.06.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8932	2,01	2 года	Удовл.
2	24.07.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8912	1,90	2 г 3 мес	Удовл.
	26.12.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8960	1,80	-	Удовл.
	13.02.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8955	2,10	6 мес	Удовл.
	30.03.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8947	1,98	1 год	Удовл.
	15.05.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8940	1,97	1 год 6 мес	Удовл.
3	30.06.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8931	1,90	2 года	Удовл.
	24.07.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8914	1,88	2 г 3 мес	Удовл.
	26.12.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8953	1,89	-	Удовл.
	13.02.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8942	2,01	6 мес	Удовл.
	30.03.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8935	1,97	1 год	Удовл.
4	15.05.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,28	0,8927	1,87	1 год 6 мес	Удовл.
	30.06.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,28	0,8919	1,79	2 года	Удовл.
	24.07.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8911	1,70	2 г 3 мес	Удовл.
	26.12.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,28	0,8951	2,10	-	Удовл.
	13.02.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8949	1,98	6 мес	Удовл.
5	30.03.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8946	1,92	1 год	Удовл.
	15.05.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8941	1,86	1 год 6 мес	Удовл.
	30.06.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,28	0,8938	1,80	2 года	Удовл.
	24.07.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,26	0,8934	1,77	2 г 3 мес	Удовл.
	26.12.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8948	1,99	-	Удовл.
	13.02.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8945	1,93	6 мес	Удовл.
	30.03.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8941	1,88	1 год	Удовл.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
 ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ПО КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА  
 ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

ФАРМАКОПЕЙНЫЙ КОМИТЕТ

"УТВЕРЖДАЮ"

Начальник Главного управления  
 по контролю качества  
 лекарственных средств и  
 медицинской техники

Х.К. Давлатов

201... г.

ВРЕМЕННАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

*Herba Galega officinalis*  
 Davitov Galega v'n  
 ... галунн лекарственной

ВФС 41 Уг ..... 201...  
 Выходит альтернатив

Срок годности установлен

с "....." ..... 201... г.

Срок действия

до "....." ..... 201... г.

Соблюдая в фазе дозирования и приготовления соответствующую часть галунн  
 лекарственной (платиник лекарственной - Galega officinalis L., семейства  
 Fabaceae (Leguminosae))

ЛАНЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

15.05.11	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,25	0,8938	1,82	1 год 6 мес	Удовл.
30.06.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,27	0,8935	1,78	2 года	Удовл.
24.07.12	Соотв.	Пол.	Соотв.	0,24	0,8931	1,73	2 г 3 мес	Удовл.

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ПО КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

**ФАРМАКОПЕЙНЫЙ КОМИТЕТ**

**“УТВЕРЖДАЮ”**

Начальник Главного управления  
по контролю качества  
лекарственных средств и  
медицинской техники

Х.К.Джалилов

“ ” 201.. г.

**ВРЕМЕННАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Herba Galegae officinali**

**Dorivor Galega o'ti**

**Трава галеги лекарственной**

**ВФС 42 Уз- .....-201..**

**Вводится впервые**

Срок введения установлен

с “ ” 201.. г.

Срок действия

до “ ” 201.. г.

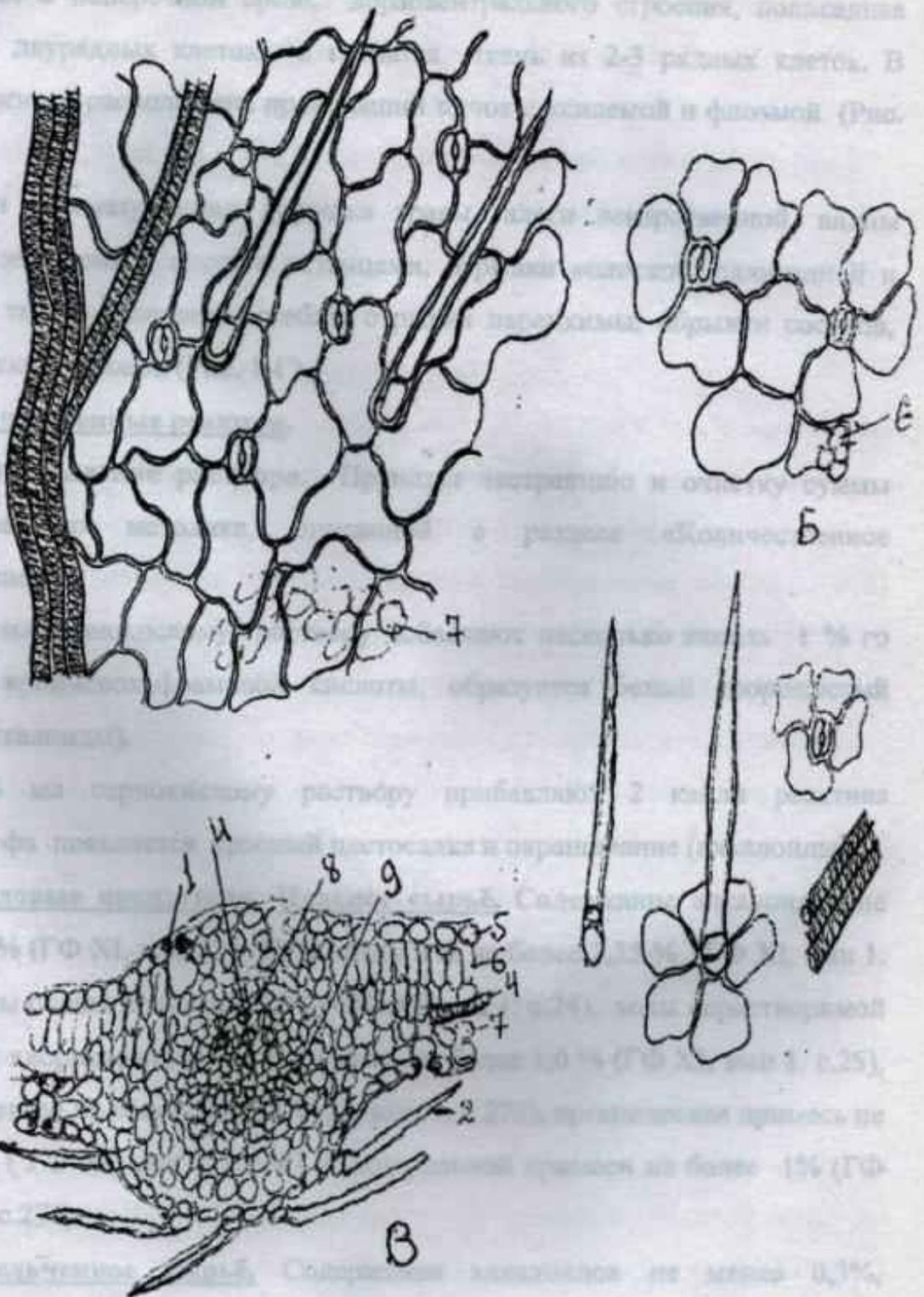
Собранная в фазе цветения и высушенная надземная часть галеги лекарственной (козлятник лекарственной- Galega officinalis L. семейства бобовые - Fabaceae (Leguminosae).

**Внешние признаки. Цельное сырьё.** Смесь стеблей, длиной до 20 см с листьями и цветками. Стебли густо облиственные, голые или покрытые рассеянными волосками. Листья непарнолистнвые, черешковые с прилистями. Листочки листьев с 5-10 парами, продолговатые или линейно – ланцетные, на верхушке с удлинёнными остроконечными 1-3,5 мм длины 0,2-,5 мм ширины. Прилистники широколанцетные, полустреловидные, острые. Цветки собраны в густые, пазушные кисти, чашечка 4-5 мм длины колокольчатые, пятью шиловидными, длинными зубцами. Венчик мотильковый 0,5- 1 см длины. Тычинки в числе 10 сросшиеся у основания, верхняя до половины свободная. Цвет стеблей, листьев чашечки зелёные, венчик светло голубой или бледно фиолетовый. Запах слабый. Вкус горький (неопределяется).

**Измельченное сырьё.** Смесь стеблей, листьев и цветков, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет зеленовато –голубоватый. Вкус слабый (неопределяется).

**Микроскопия.** Препарат листочка с поверхности. Верхний эпидермис со слабо извилистостенными клетками, нижний эпидермис с более извилисто стенными клетками. Устьица с обеих поверхности, но на нижней поверхности наиболее больше, они окружены большей частью 4-5 клетками эпидермиса. По нижней поверхности встречаются двуклеточные волоски, которые у основания короткой (базальной) клетки длинной конечной ( терминальной) клетки, соединённой с первой почти под прямым углом, поэтому волоски прижаты к поверхности листа. Они прикреплены к маленькой округлой клетке эпидермиса. При отваливании волоска эти клетки видны в виде валика с окружающими клетка эпидермиса расположенные в виде разетки. Строение волосков хорошо наблюдать по краю листочка где волоски видны сбоку. Конечная клетка волоска с наружи гладкой или бугристой оболочкой (Рис1-А, Б).

Рис. 1. Микроскопия листа галлы (микрофотографии).  
 1 – устьица; 2 – волоски; 3 – валик; 4 – клетка; 5 – эпидермис; 6 – прилистки устья; 7 – зубчатая ткань; 8 – клетка; 9 – фибры.



**Рис. 1. Микроскопия листа галеги лекарственной.**

А - Нижний эпидермис листа; Б - Верхний эпидермис листа; В - Поперечный срез листа через главной жилки; Г - Элементы порошка листа; 1 - устьица; 2 - волоски; 3 - валик; 4 - жилка; 5 - эпидермис; 6 - палисадная ткань; 7 - губчатая ткань; 8 - ксилема; 9 - флоэма.

Лист в поперечном срезе, дорзовентрального строения, полисадная ткань из двурядных клеток, а губчатая ткань из 2-3 рядных клеток. В главной жилке расположена проводящий пучок с ксилемой и флоэмой. (Рис. 1-В).

При рассматривании порошка травы галеги лекарственной, видны отрывки эпидермиса листа с устьицами, отрывки волосков, палисадной и губчатой ткани; элементы стебля: отрывки паренхимы, обрывки сосудов, механических волокон (Рис. 1-Г).

#### Качественные реакции.

**Приготовление раствора.** Проводят экстракцию и очистку суммы алкалоидов по методике, описанной в разделе «Количественное определение».

1) К 0,5 мл серноокислому раствору добавляют несколько капель 1 % го раствора кремневольфрамовой кислоты, образуется белый творожестый осадок (алкалоиды).

2) К 0,5 мл серноокислому раствору прибавляют 2 капли реактива Драгендорфа появляется красный цветосадка и окрашивание (алкалоиды).

**Числовые показатели. Цельное сырьё.** Содержание алкалоидов не менее 0,2 % (ГФ XI, вып 2. с. 310) влажность не более 7,25 % (ГФ XI, вып 1. с.285), золы общей не более 7,2 % (ГФ XI, вып 1. с.24), золы нерастворимой в растворе хлористоводородной кислоты не более 1,0 % (ГФ XI, вып 1. с.25), стеблей, ветвей не более 30% (ГФ XI, вып 1. с.276), органическая примесь не более 1% (ГФ XI, вып 1. с.280) и минеральной примеси не более 1% (ГФ XI, вып 1. с.276).

**Измельченное сырьё.** Содержание алкалоидов не менее 0,3%, влажность не более 11%, золы общей не более 6,2%; зола нерастворимые в хлористоводородной кислоте не более 0,9 %; частиц непроходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм не более 4,0 % (ГФ XI, вып. 1, с 275, ГФ XI, вып. 2, с 19); частиц проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5

мм, не более 5% (ГФ XI, вып. 1, с 275, ГФ XI, вып. 2, с 19) органической примеси не более 1,0%; минеральной примеси не более 1,0%.

**Микробиологическая чистота.** Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2, с 193 и Изменение №2 от 2005 г, категория 2Б В 1 г препарата допускается наличие не более  $10^5$  аэробных бактерий и  $10^4$  дрожжевых и плесневых грибов (суммарно); не более  $10^3$  Enterobacteriaceae. Не допускается наличие бактерий *Escherichia coli* и *Salmonella* spp.

**Количественной определение суммы алкалоидов.**

5 гр. (т.н.) мелко измельченного надземной части галеги смачивают 10 мл 10% раствором аммиака, помещают в коническую колбу емкостью 250 мл с притертой пробкой, заливают 50 мл хлороформом и нагревают на кипящей водяной бане с обратном холодильником в течение двух часов. Колбу охлаждают до комнатной температуры и хлороформное извлечение фильтруют через бумажный фильтр, сгущают 1/3 первоначального объема. Сгущенный хлороформный экстракт помещают в делительную воронку емкостью 50 мл, добавляют 5 мл 10% раствора серной кислоты, встряхивают. Водный слой отделяют. Эту операцию повторяют 3 раза, объединенный водный раствор фильтруют через бумажный фильтр, фильтрат помещают в делительную воронку емкостью 50 мл, подщелачивают 25% раствором аммиака до pH=10. Извлекают хлороформом три раза по 5 мл, хлороформные извлечения объединяют, фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 2гр безводного сульфата натрия. Хлороформный извлечение отгоняют под вакуумом. К сухому остатку прибавляют 20 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты, нагревают на кипящий водяной бане до растворения осадка. Избыток 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты титруют 0,02 М раствором гидроксила натрия (индикатор бромтимоловый - синий).

Содержание алкалоидов в пересчете на вазицинон рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(V_1 * K_1 - V_2 * K_2) * T * 100 * 100}{a (100 - W)}$$

Где:  $V_1$  – объем 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты (20 мл);  $V_2$  – объем 0,02 М раствора гидроксила натрия ушедшего на титрование;  $K_1$  – поправочный коэффициент 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты;  $K_2$  – поправочный коэффициент 0,02 М гидроксила натрия;  $a$  – точная навеска лекарственного растительного сырья.  $W$  – влажность лекарственного растительного сырья.

1 мл 0,02 М раствор хлористоводородной кислоты соответствует 0,00404 г вазицинона.

Содержание суммы алкалоидов в надземной части лекарственного растительного сырья в пересчете на вазицинон должно быть не менее 0,2% от веса высушенного сырья.

**Масса содержимого упаковки.** 50г

**Упаковка.** В соответствии с ГОСТ 6077-80, ГОСТ 17768-90 Е и ГФ XI. вып 2, с 381. Цельное сырьё упаковывают в мешки тканевые по ГОСТ 19317-73 или льно-джуто-кенафные по ГОСТ 18225-72 массой не более 15 кг нетто или в тюки из ткани по ГОСТ 19298-73 массой не более 50 кг нетто, измельченное в мешки тканевые или льно-джуто-кенафные массой не более 15 кг нетто.

Мешки, заполненные сырьём, должны быть зашиты вручную шпагатом из лубяных волокон по ГОСТ 17308-85 или нитками льняными техническими по ГОСТ 14961-85 стяжками не реже 2 см или машинным способом цепным двойным швом. Измельченное сырьё фасуют по 50 или 100 г в пачки картонные по ОСТ 64-026-87, изготовленные из картона коробочного типа

хром-эрзац или в пакеты бумажные по ОСТ 64-026-87, изготовленные из бумаги для упаковки чая по ГОСТ 1161-75 или бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 Е; или в пакеты полиэтиленовые по ОСТ 64-026-87, изготовленные из плёнки полиэтиленовой натурального цвета по ГОСТ 10354-82. Для склеивания пакетов и пачек должны применяться поливинилацетатная дисперсия ГОСТ 18992-80; приготовленные из кислотных декстринов по ГОСТ 6034-74, крахмал картофельный по ГОСТ 7699-78 или клей карбоксиметилцеллюлозный (КМЦ) по ОСТ 6-05-386-80. Пакеты полиэтиленовые должны быть изготовлены методом термосваривания.

Пачки и полиэтиленовые пакеты укладывают в ящики из листовых древесных материалов по ГОСТ 5959-80, выстланных внутри бумагой оберточной марки Б по ГОСТ 8273-75 или бумагой мешочной по ГОСТ 2228-81 Е или в ящики из гофрированного картона по ГОСТ 15629-83, или обвязывают нитью хлопчатобумажной по ГОСТ 6309-87 или шпагатом из лубяных волокон по ГОСТ 17308-88 или нити пропиленовой по ТУ 17-05-009-80, на концы которых наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 Е или писчей по ГОСТ 18510-87 Е.

**Маркировка.** В соответствии с ГФ XI вып.2, с 384, по ГОСТ 6077-80 и ГОСТ 14192-77. На пачке и этикетке должны быть указаны название ведомства, предприятие-изготовитель, его адрес и товарный знак, название препарата на латинском, русском и узбекском языках, массу сырья, способ употребления, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности.

Маркировка транспортной тары по ГОСТ 14192-77.

**Транспортирование.** По ГОСТ 14192-77, ГОСТ 6077-80 и ГФ XI, вып.2 с.385.

**Хранение.** В соответствии с ГОСТ 6077-80-4 ГФ XI вып. 1, с. 296; На пачках должен быть текст "Хранить в защищенном от света, сухом месте и недоступном для детей месте".

**Срок годности.** 3 года.

Турсунбаева Р.Т.

**Сахараснижающее средство.**

..... 20... г.

Докцент кафедры

фармацевтической химии

канд. хим. наук

**Примечание.** Реактивы, методики определения числовых показателей, приведенные в настоящей ВФС описаны в соответствующих правилах ГФ XI изд., вып 1 и 2.

..... 20... г.

Профессор кафедры

Фармации ФУПа

д. ф. н.

Пуллатова Т.П.

..... 20... г.

Ассистент кафедры

фармацевтической химии

Юнусходжаева Н.А.

..... 20... г.

Резидент магистратуры

Фармацевтический химии

Турсунбаева А.Н.

..... 20... г.

Председатель

Фармакопейного комитета

Халилова А.Х.

..... 20... г.

Ученый секретарь

Фармакопейного комитета

канд. фарм. наук

Болтабаева Г.Э.

..... 20... г.

Проректор по научной работе  
Ташкентского фармацевтического  
института, профессор д.б.н.

Турсунов Р.Т.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20....г

Доцент кафедры  
фармацевтической химии,  
канд. хим. наук

Убайдуллаев К.А.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20... г.

ВРЕМЕННАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Профессор кафедры  
Фармации ФУПа  
д. ф. н.

Пўлатова Т.П.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20....г.

Ассистент кафедры  
фармацевтической химии

Юнусходжаева Н.А.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20...г.

Резидент магистратуры  
Фармацевтический химии

Турсунова Л.И.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20...г.

Председатель  
Фармакопейного комитета,

Халимов А.Х.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20....г.

Ученый секретарь  
Фармакопейного комитета,  
канд. фарм. наук.

Болтабаева Г.Э.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20....г.

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**  
**ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ПО КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА**  
**ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

**ФАРМАКОПЕЙНЫЙ КОМИТЕТ**

**“УТВЕРЖДАЮ”**

Начальник Главного управления  
по контролю качества  
лекарственных средств и  
медицинской техники

Х.К.Джалилов

“ ” 201.. г.

**ВРЕМЕННАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

*Curmus Vaccinici myrtilli*  
*Oddiy chernica povdalari*  
Побеги черники обыкновенной

ВФС 42 Уз- .....-201..

Вводится впервые

Срок введения установлен

с “ ” 201.. г.

Срок действия

до “ ” 201.. г.

Собранная в фазе цветения и высушенные олиственные побеги дикорастущего кустарника черники обыкновенной –*Vaccinium myrtillus* L. сем. *Egicaseae* –вересковых, используемые в качестве лекарственного сырья.

**ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ**

**ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА**

**Внешние признаки. Цельное сырьё.** Смесь ветвей (побеги) длиной до 20 см, с листьями и цветками. Ветви острогребристые, почти крылатые. Листья 1-3 см длины, 0,6-1,8 см ширины с резкой сетью жилок, особенно с нижней стороны. Листовые пластинки тонкие, яйцевидно или эллиптические, с обеих сторон слаболовистые; черешки короткие. Цветки одиночные расположенных при основании молодых веточек, с кувшинчато-шаровидным венчиком, имеющим 4-5 зубчатым отгиб и очень низкой чашечкой. Цвет ветки светлозеленый, венчика зеленовато -розовый. Запах своеобразный, вкус горьковато вяжущий.

**Измельчённое сырьё.** Смесь кусочков ветвей, листьев и цветков проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет серовато зелёный. Запах своеобразный, вкус горьковато вяжущий.

**Микроскопия.** При рассмотривание листовой пластинки под микроскопом видно клетки эпидермиса с обеих поверхностей извилистостенные, в боковых стенках пористые. Устьица на нижней поверхности листа обильные, на верхней поверхности отсутствуют или единично. Околоустьичных клеток 4. По жилкам верхней стороны имеются одноклеточные волоски с грубой кутикулой. На обеих поверхности листа имеются многоклеточные, булововидные коричневые железки с многоклеточной двухрядной ножкой.

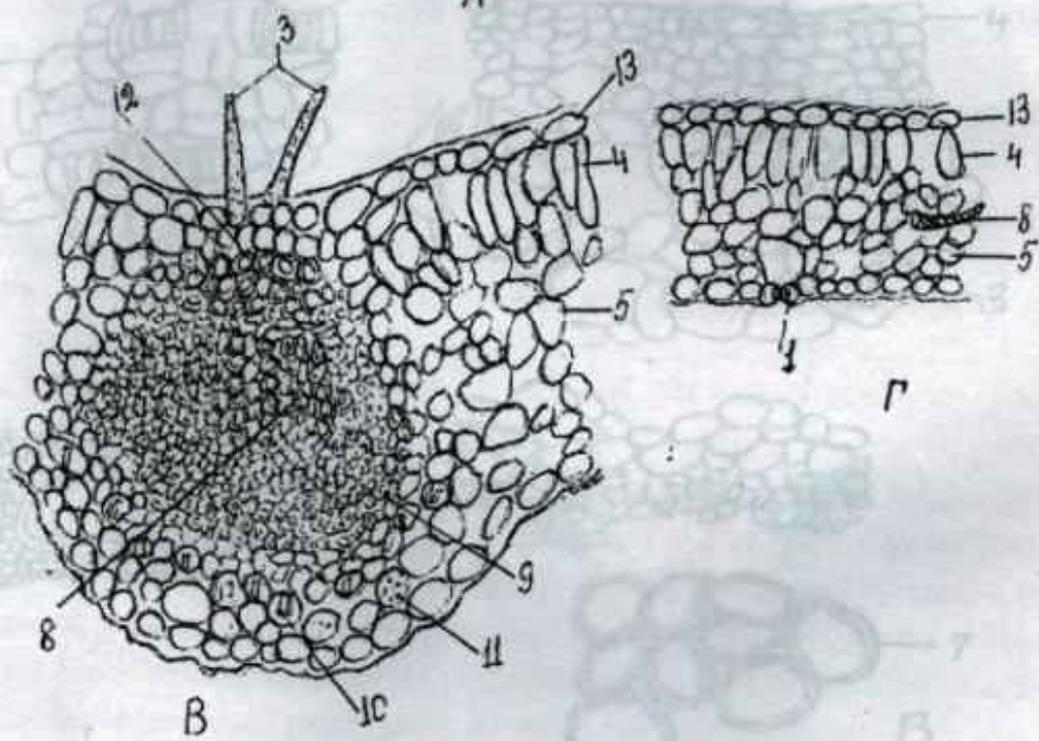
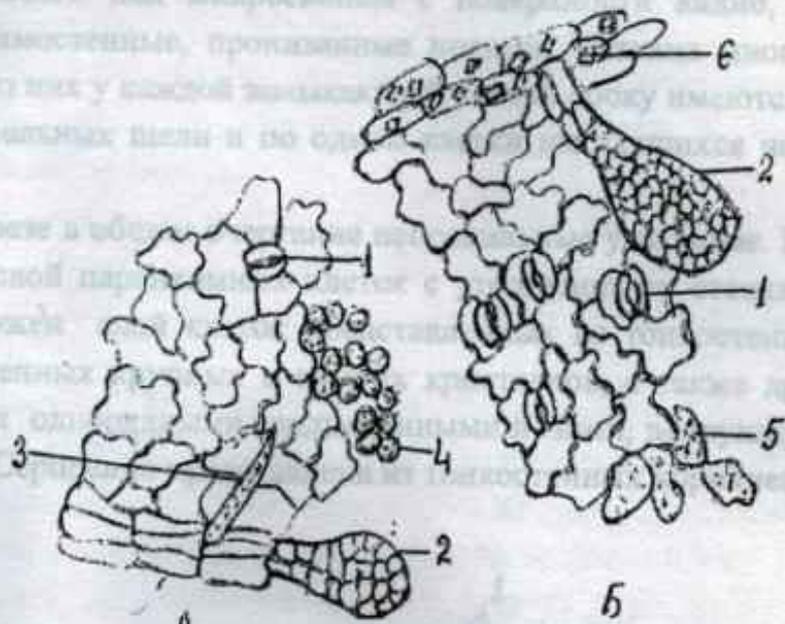
По жилкам имеются кристаллы оксалата кальция и здесь эпидермис утолщенные и кутикула складчатая. Лист в поперечном срезе дорзовентрального строения. Под верхним эпидермисом расположена однородная рыхло расположенная клетками палисадная ткань. Губчатая паренхима состоит из рыхлорасположенных клеток. В главной жилке с обеих сторон имеются колленхима. Проводящий пучок окружён эндодермой и представлена флоэмой с развитой механическими волокнами. Между колленхимой и волокнистой флоэмой имеются кристаллоносный слой состоящий из тонкостенной клеткой содержащий одиночные кристаллы или их сростки.

Ксилема представлена механическими волокнами и однорядными сердцевинными лучами (Рис.1).

А - эпидермис верхней поверхности; Б - эпидермис нижней поверхности; В - поперечный срез через листовую пластинку; 1- устьица; 2- железка; 3- простые волоски; 4- палисадная ткань; 5- губчатая паренхима; 6- кристаллы; 7- складчатая кутикула; 8- проводящий пучок; 9 - механическая обкладка; 10 - кристаллоносная обкладка; 11- поры; 12- колленхима; 13- эпидермис.

При рассмотрении среза под микроскопом с поверхности видно, что эпидермис имеет призматические, прозрачные клетки и окружен 4 клетками, из них у каждой клетки по 2 угловых клетки, парашитных шила и по одному угловому и по одному угловому.

Ветви в эпидермисе среза в виде... Под эпидермисом имеется слой пар... За этим слоем расположена... крупных клеток... Дренирует... лестничными сосудами... клеток (Рис. 2).



**Рис. 1. Анатомическое строение листа черники обыкновенной**

А - эпидермис верхней поверхности; Б - эпидермис нижней поверхности; В - поперечный срез через листовую пластинку; 1-устьица; 2-железка; 3- простые волоски; 4-палисадная ткань; 5-губчатая паренхима; 6- кристаллы; 7- складчатость кутикулы; 8- проводящий пучок; 9 - механическая обкладка; 10 - кристаллоносная обкладка; 11- поры; 12- колленхима; 13- эпидермис.

При рассмотривании побеги под микроскопом с поверхности видно, что эпидермис ветвей прямостенные, пронизанные порами. Устьица много и окружена 6 клетками, из них у каждой замыкающей клетки сбоку имеются по 2 узких клеток, параллельных щели и по одной клетки находящихся над и под устьицам.

Ветки в поперечном срезе в общем очертание неправильные угловатые. Под эпидермисом имеется слой паренхимных клеток с утолщенными стенками. За этим слоем расположен слой клеток представленных из тонкостенных крупных клеток включенных крупных и мелких кристаллов, а также друз. Древесина представлена однорядными сердцевинными лучами, некрупными лестичными сосудами. Серцевина представлена из тонкостенных коричневых клеток (Рис. 2).

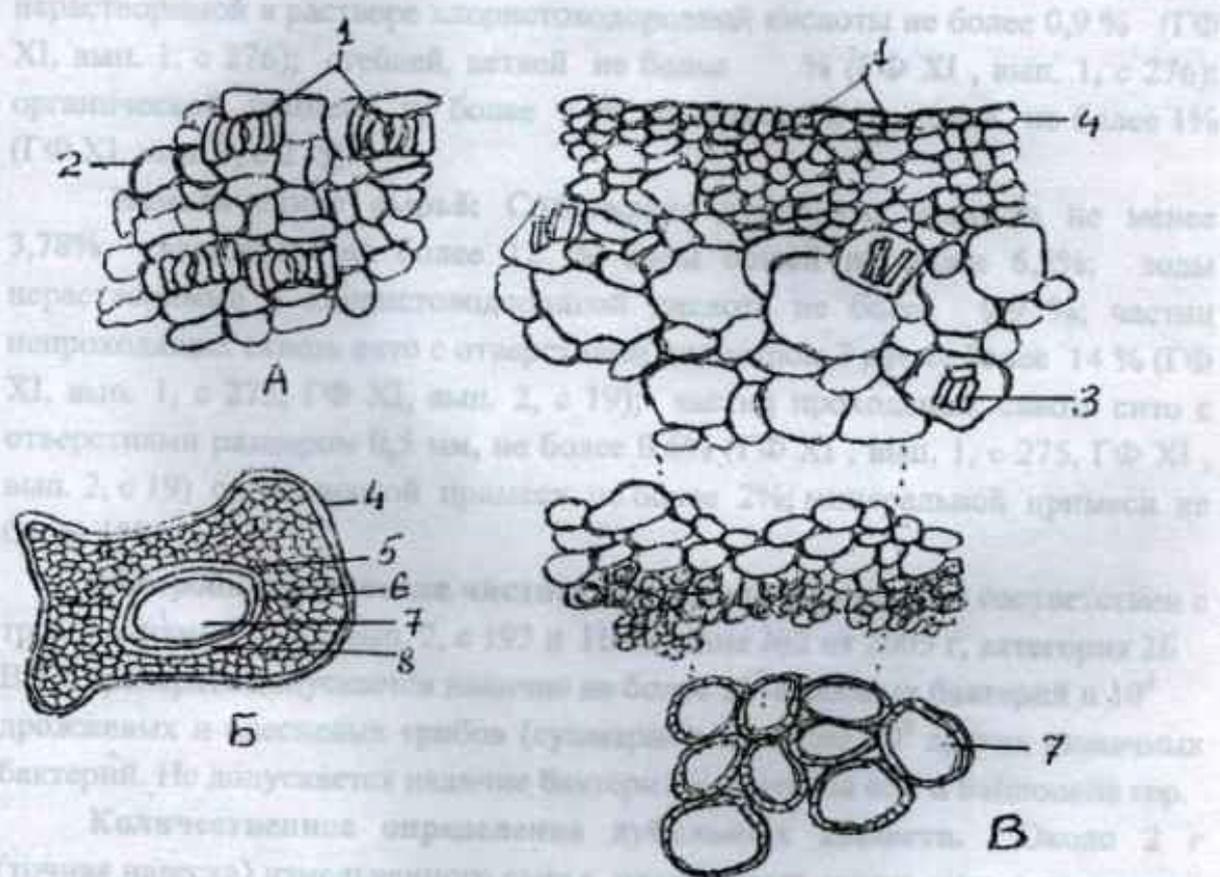


Рис. 2. Анатомическое строение ветки черники обыкновенной

А-эпидермис с поверхности; Б- общее строение поперечного разреза (схема); В-строение ветки в поперечном разрезе; 1-устьица; 2-поры; 3- кристаллы; 4- эпидермис; 5- кора; 6- древесина; 7 -серцевина; 8 - флоэма.

**Качественные реакции.** Приготавливают отвар (1:10) с водой и проводят качественные реакции.

1) К 1 мл раствора добавляют несколько капель раствора железоаммониевые квасцы. При этом образуется темнозелёного цвета окраска и осадки (дубильные - пирокатехиновой группы).

2) К 2 мл раствора в фарфоровой чашке при нагревании на водяной бане добавляют порошка магнезия и 5-6 капель концентрированной хлористоводородной кислоты, появляется красное окрашивание (флавоноиды).

**Числовые показатели. Цельное сырьё.** Содержание дубильных веществ не менее 3,78% (ГФ XI, вып. 1, с 286); влажность не более 12 % (ГФ XI, вып. 1, с 285); золы общей не более 6,9 % (ГФ XI, вып. 1, с 24); золы нерастворимой в растворе хлористоводородной кислоты не более 0,9 % (ГФ XI, вып. 1, с 276); стеблей, ветвей не более % (ГФ XI, вып. 1, с 276); органической примеси не более 2 %; минеральной примеси не более 1% (ГФ XI, вып. 1, с 275).

**Измельченное сырьё:** Содержание дубильных веществ не менее 3,78%, влажность не более 12 %; золы общей не более 6,2%; золы нерастворимые в хлористоводородной кислоте не более 0,9 %; частиц непроходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм не более 14 % (ГФ XI, вып. 1, с 275, ГФ XI, вып. 2, с 19); частиц проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, не более 0,6% (ГФ XI, вып. 1, с 275, ГФ XI, вып. 2, с 19) органической примеси не более 2%; минеральной примеси не более 1%.

**Микробиологическая чистота.** Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2, с 193 и Изменение №2 от 2005 г, категория 2Б В 1 г препарата допускается наличие не более  $10^7$  аэробных бактерий и  $10^4$  дрожжевых и плесневых грибов (суммарно); не более  $10^2$  других кишечных бактерий. Не допускается наличие бактерий *Escherichia coli* и *Salmonella spp.*

**Количественное определение дубильных веществ.** Около 2 г (точная навеска) измельченного сырья, просеянного сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливают 250 мл нагретой до кипения воды и кипятят с обратным холодильником на электрической плитке с закрытой спиралью в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Жидкость охлаждают до комнатной температуры и процеживают около 100 мл в коническую колбу вместимостью 200-250 мл через вату так, чтобы частицы сырья не попали в колбу. Затем отбирают пипетку 25 мл полученного извлечения в другую

коническую колбу вместимостью 750 мл, прибавляют 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании раствором перманганата калия (0,02 моль/л) до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл раствора перманганата калия (0,02 моль/л) соответствует 0,00582 г дубильных веществ (X) в процентах в пересчете на пирокатехин. Содержание дубильных веществ (X) в процентах в пересчете на абсолютное сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) * 0,00582 * 250 * 100 * 100}{m * 25 * (100 - W)}$$

где: V- объем раствора перманганата калия (0,02 моль/л), израсходованного на титрование извлечения, в миллилитрах; V<sub>1</sub>- объем раствора перманганата калия (0,02 моль/л), израсходованного на титрование в контрольном опыте, в миллилитрах, 0,00582-количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл раствора перманганата калия (0,02 моль/л), (в пересчете на пирокатехин), в граммах; m-масса сырья в граммах; W- потеря в массе при высушивании сырья в процентах; 250-общий объем извлечения в миллилитрах; 25- объем извлечения, взятого для титрования, в миллилитрах.

**Масса содержимого упаковки.** 50г

**Упаковка.** В соответствии с ГОСТ 6077-80, ГОСТ 17768-90 Е и ГФ XI. вып 2, с 381. Цельное сырьё упаковывают в мешки тканевые по ГОСТ 19317-73 или льно-джуто-кенафные по ГОСТ 18225-72 массой не более 15 кг нетто или в тюки из ткани по ГОСТ 19298-73 массой не более 50 кг нетто, измельченное в мешки тканевые или льно-джуто-кенафные массой не более 15 кг нетто.

Мешки, заполненные сырьём, должны быть защищены вручную шпагатом из лубяных волокон по ГОСТ 17308-85 или нитками льняными техническими по ГОСТ 14961-85 стяжками не реже 2 см или машинным способом цепным двойным швом.

Измельченное сырьё фасуют по 50 или 100 г в пачки картонные по ОСТ 64-026-87, изготовленные из картона коробочного типа хром-эрзац или в пакеты бумажные по ОСТ 64-026-87, изготовленные из бумаги для упаковки чая по

ГОСТ 1161-75 или бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 Е; или в пакеты полиэтиленовые по ОСТ 64-026-87, изготовленные из плёнки полиэтиленовой натурального цвета по ГОСТ 10354-82. Для склеивания пакетов и пачек должны применяться поливинилацетатная дисперсия ГОСТ 18992-80; приготовленные из кислотных декстринов по ГОСТ 6034-74, крахмал картофельный по ГОСТ 7699-78 или клей карбоксиметилцеллюлозный (КМЦ) по ОСТ 6-05-386-80. Пакеты полиэтиленовые должны быть изготовлены методом термосваривания.

Пачки и полиэтиленовые пакеты укладывают в ящики из листовых древесных материалов по ГОСТ 5959-80, выстланных внутри бумагой оберточной марки Б по ГОСТ 8273-75 или бумагой мешочной по ГОСТ 2228-81 Е или в ящики из гофрированного картона по ГОСТ 15629-83, или обвязывают нитью хлопчатобумажной по ГОСТ 6309-87 или шпагатом из лубяных волокон по ГОСТ 17308-88 или нити пропиленовой по ТУ 17-05-009-80, на концы которых наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 Е или писчей по ГОСТ 18510-87 Е.

**Маркировка.** В соответствии с ГФ XI вып.2, с 384, по ГОСТ 6077-80 и ГОСТ 14192-77. На пачке и этикетке должны быть указаны название ведомства, предприятие-изготовитель, его адрес и товарный знак, название препарата на латинском, русском и узбекском языках, массу сырья, способ употребления, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности.

Маркировка транспортной тары по ГОСТ 14192-77.

**Транспортирование.** По ГОСТ 14192-77, ГОСТ 6077-80 и ГФ XI, вып.2 с.385.

**Примечание.** Реактивы, методики определения числовых показателей, приведенные в настоящей ВФС описаны в соответствующих правилах ГФ XI изд., вып 1 и 2.

**Хранение.** В соответствии с ГОСТ 6077-80-4 ГФ XI вып. 1, с. 296; На пачках должен быть текст "Хранить в защищенном от света, сухом месте и недоступном для детей месте".

**Срок годности.** 2,5 года.

**Сахараснижающее средство.**

Проректор по научной работе  
Ташкентского фармацевтического  
института, профессор  
д.б.н.

Турсунов Р.Т.  
20...г.

Турсунов Р.Т.  
« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20....г

Доцент кафедры  
фармацевтической химии,  
канд. хим. наук

Убайдуллаев К.А.  
“ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20... г.

Профессор кафедры  
Фармации ФУПа  
д. ф. н.

Пўлатова Т.П.  
“ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20....г.

Ассистент кафедры  
фармацевтической химии

Юнусходжаева Н.А.  
“ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20...г.

Резидент магистратури  
Фармацевтической химии

Турсунова Л.И.  
« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20...г.

Председатель  
Фармакопейного комитета,

Халимов А.Х.  
“ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20....г.

Ученый секретарь  
Фармакопейного комитета,  
канд. фарм. наук.

Болтабаева Г.Э.  
" " 20....г.

### АКТ

Осуществления испытаний на микробиологическую чистоту и  
микробиологической чистоты дегустационного препарата  
«Настойка гжети в сахаре».

Контроль качества готовой. Испытания проводились в соответствии с  
требованиями [ФР-Х], вкл. За. 193 в количестве 100 от 2005г (в силе) [ФР-Х]  
и стандарта "Методы контроля качества контроля стерильности изделий",  
Требования для дегустационных и 1с препарата дегустационного изделия на  
базе 10<sup>7</sup> колоний/мл. 10<sup>6</sup> дрожжи: и 10<sup>6</sup> колоний/мл. 10<sup>6</sup>  
Патогенность при употреблении: Патогенность к Salmonella

Определение чистоты в чашках Петри со сбраживаемым питательным  
средством: мезофильный агар - для мезофильных микроорганизмов  
кислотной, кровяной агар - для определения гемолитических штаммов бактерий,  
желточно-солевой агар - для выявления патогенных стафилококков. Для  
для обнаружения кислотоустойчивых групп бактерий, Сабуро - для выявления грибов и  
патогенных средств: мезофильный агар в разведенной концентрации  
(1:204), не менее трех часов. После инкубации в термостате при 37°С в  
течение 24 и 48 часов проводили подсчет колоний и идентификацию.

Обнаружены мезофильные бактерии - менее 10, дрожжи и патогенных грибов  
- менее 10. Патогенность, Патогенность к Salmonella отсутствуют.

«Утверждаю»

Проректор по научной работе

ТМА, д.м.н., профессор

Нажмутдинова Д.К.

2012 г.



## АКТ

**О проведении испытания на антимикробное действие и микробиологической чистоты лекарственного препарата**

**«Настойка галеги и черники».**

**Краткое описание метода.** Испытания проводили в соответствии с требованиями ГФ XI, вып.2.с.193 и изменение №2 от 2005г (К статье ГФ XI, издания "Методы микробиологического контроля лекарственных средств").

Требования для данной категории: в 1г препарата допускается наличие не более  $10^5$  аэробных бактерий,  $10^4$  дрожжевых и плесневых грибов,  $10^3$  Enterobacteriaceae при отсутствии Esherichia coli и Salmonellaspp.

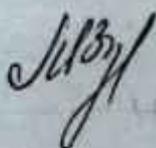
Определение проводили в чашках Петри со стерильными питательными средами: мясо-пептонный агар – для количественного определения выросших колоний, кровяной агар- для определения гемолитических штампов бактерий, желточно –солевой агар –для выявления патогенных стафилококков, Эндо- для обнаружения кишечных групп бактерий, Сабуро – для выделения грибов в питательные среды вносили испытуемый препарат в различной концентрации (1:2:4), не менее трех чашек Петри. После инкубации в термостате при  $37^0$  С в течение 24 и 48 часов проводили подсчет выросших колоний и идентификацию.

**Обнаружено:** аэробные бактерии – менее 10, дрожжевые и плесневых грибы –менее 10, Enterobacteriaceae, Esherichia coli и Salmonellaspp –отсутствуют.

**Заключение:** по результатам проведенных испытаний препарат соответствует требованиям ГФ XI, вып.2. изменение №2.

**Исполнитель:**

Профессор кафедры микробиологии,  
вирусологии и иммунологии ТМА



З.А. Нурузова