

Биофармацевтические исследования комбинированного геля, содержащего СО₂-экстракт и эфирное масло лимонника китайского семян

Э.Ф. Степанова¹, Ю.А. Морозов^{1, 2}, З.Д. Хаджиева¹

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал

Волгоградского государственного медицинского университета;

Российская Федерация, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, д. 11;

²Северо-Осетинский государственный университет им. Коста Левановича Хетагурова;

Российская Федерация, 362025, Владикавказ, ул. Ватутина, д. 44–46

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Степанова Элеонора Федоровна – профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ, доктор фармацевтических наук, профессор. Тел.: +7 (928) 919-83-35. E-mail: EFStepanova@yandex.ru

Морозов Юрий Алексеевич – докторант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ, кандидат фармацевтических наук. Тел.: + 7 (928) 072-71-94. E-mail: moroz52@yandex.ru

Хаджиева Зара Джамалеевна – профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ, доктор фармацевтических наук. Тел.: +7 (928) 822-05-99. E-mail: zara-farm@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Лимонник китайский – ценнейший вид лекарственного растительного сырья, на основе которого возможно создание новых эффективных стимулирующих и адаптогенных лекарственных препаратов.

Цель работы – биофармацевтические исследования *in vitro* по выбору оптимального состава комбинированного геля, содержащего сверхкритический углекислотный экстракт и эфирное масло лимонника китайского семян.

Материал и методы. Объекты исследования – эфирное масло из семян лимонника китайского, полученное методом паровой дистилляции с последующей жидкость-жидкостной экстракцией и сверхкритический углекислотный экстракт из шрота, остающегося после дистилляции. Оптимальную композицию геля выбирали с помощью диализа через биологическую мембрану. Изучались коллоидная и термическая стабильность наилучшего состава, а также его структурно-механические свойства.

Результаты. Наивысшая степень высвобождения 72% к 10 часу эксперимента отмечалась у модельного состава с содержанием эфирного масла 2%, дальнейшее увеличение его концентрации нецелесообразно. Данный состав обладает термической и коллоидной устойчивостью: расслоения системы и/или выделения капелек масляной фазы не наблюдалось. Гель способен изменять свою структуру под влиянием механических воздействий и восстанавливать прежнюю структуру после прекращения этого воздействия – обладает тиксотропными свойствами.

Заключение. Предложен оптимальный состав трансдермального комбинированного геля, содержащего СО₂-экстракт из шрота и эфирное масло лимонника китайского семян.

Ключевые слова: лимонник китайский, *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., семена, трансдермальный гель.

Для цитирования: Степанова Э.Ф., Морозов Ю.А., Хаджиева З.Д. Биофармацевтические исследования комбинированного геля, содержащего СО₂-экстракт и эфирное масло лимонника китайского семян. Фармация, 2019; 68 (5): 31–36. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-05-06>

BIOPHARMACEUTICAL STUDIES OF A COMBINATION GEL CONTAINING CO₂-EXTRACT AND ESSENTIAL OIL OF CHINESE MAGNOLIA VINE (*SCHISANDRA CHINENSIS*) SEEDS

E.F. Stepanova¹, Yu.A. Morozova^{1, 2}, Z.D. Khadzhieva¹

¹Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute, Branch, Volgograd State Medical University, 11, Kalinin Pr., Pyatigorsk 357532, Russian Federation;

²Kosta Levanovich Khetagurov North Ossetian State University, 44-46, Vatutin St., Vladikavkaz 362025, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Stepanova Eleonora Fedorovna – professor of the Department of Pharmaceutical Technology with a course of medical biotechnology at the Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of the VolgGMU Ministry of Health of Russia, doctor of pharmaceutical sciences, professor. Tel.: +7 (928) 919-83-35. E-mail:EFStepanova@yandex.ru

Yuri Alekseevich Morozov – candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Doctoral Candidate of the Department of Pharmaceutical Technology with a course in medical biotechnology of the Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of VolgGMU of the Ministry of Health of Russia. Tel.: +7 (928) 072-71-94. E-mail: moroz52@yandex.ru

Zara Dzhamaleyevna Khadzhiyeva – professor of the Department of Pharmaceutical Technology with a course of medical biotechnology at the Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of the VolgGMU Ministry of Health of Russia, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Tel.: +7 (928) 822-05-99. E-mail: zara-farm@mail.ru

SUMMARY

Introduction. Chinese magnolia vine (*Schizandra chinensis*) is the most valuable type of medicinal plant materials, which can be used to design novel effective stimulants and adaptogens.

Objective: to conduct *in vitro* biopharmaceutical studies on selecting the optimal composition of a combination gel containing supercritical carbon dioxide extract and essential oil of Chinese magnolia vine seeds.

Material and methods. The investigation objects were Chinese magnolia vine seed essential oil extracted by steam distillation, followed by liquid-liquid extraction and supercritical carbon dioxide extraction from the oil cake remaining after distillation. The optimal composition of the gel was selected using dialysis through the biological membrane. The colloidal and thermal stability of the best composition, as well as its structural and mechanical properties were studied.

Results. The highest degree of 72% release at hour 10 of the experiment was observed for the model composition with 2% essential oil; a further increase in its concentration is impractical. This composition has thermal and colloidal stabilities: delamination of the system and/or separation of oil phase droplets were not observed. The gel is able to alter its structure under mechanical action and to restore the previous structure after its cessation; it has thixotropic properties.

Conclusion. The authors have proposed the optimal composition of the transdermal combination gel containing CO₂ extract from oil cake and essential oil of Chinese magnolia vine seeds.

Key words: Chinese magnolia vine, *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill., seeds, transdermal gel.

For citation: Stepanova E.F., Morozov Yu.A., Khadzhiyeva Z.D. Biopharmaceutical studies of a combination gel containing CO₂-extract and essential oil of Chinese magnolia vine (*Schizandra chinensis*) seeds. Farmatsiya (Pharmacy), 2019; 68 (5): 31–36. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-05-06>

Введение

В настоящее время научную и прикладную актуальность приобретает проблема оптимизации работоспособности лиц опасных профессий, выполняющих профессиональную деятельность в экстремальных условиях с высокими психическими и чрезмерными физическими нагрузками. Основным направлением этой оптимизации является совершенствование и разработка новых средств и методов коррекции работоспособности [1]. Снижение работоспособности может быть вызвано различными факторами: высокая или низкая температура окружающей среды, стресс, недостаток кислорода. Эти воздействия истощают энергетический потенциал и защитные силы организма, что ведет к быстрому наступлению утомления. Для решения проблемы повышения физической работоспособности с помощью фармакологических средств в военной, авиакосмической и экстремальной медицине Е.Н. Купко и соавт. выдвигают 5 принципиальных подходов, один из которых – применение адаптогенов [2].

Адаптогены (по концепции Н.В. Лазарева, 1958 г.) – лекарственные препараты (ЛП); при их

однократном (курсовом) введении организм приобретает особое состояние, характеризующееся повышенной резистентностью к действию очень многих повреждающих агентов (состояние неспецифически повышенной сопротивляемости). Выделяют адаптогены природного (растительного и животного) и синтетического происхождения [3]. Перспективным представителем растительных адаптогенов является лимонник китайский (*Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill.) семейства лимонниковых (*Schisandraceae*). Это достаточно хорошо изученное, официальное лекарственное растение, обладающее адаптогенными свойствами, повышающее физическую активность, выносливость и работоспособность. В официальной медицине используют семена и целые сушеные плоды, которые обладают наибольшей эффективностью. В народной медицине применяют все части растения, включая листья, кору корней и стебли.

Основной группой биологически активных веществ (БАВ) в лимоннике китайском являются лигнаны, из которых преобладает схизандрин, γ -схизандрин, схизандрол, дезоксисхизандрин. Данная группа БАВ встречается во всех

частях растения – подземных и надземных. В различном ЛРС лимонника китайского содержатся также витамины, органические кислоты, флавоноиды, жиры, эфирные масла и углеводы [4, 5].

На российском фармацевтическом рынке ассортимент ЛП на основе лимонника китайского представлен только настойкой из семян и плодов, применение которой осложнено для некоторых категорий потребителей (военнослужащие, спортсмены, водители и др.) из-за наличия в ее составе спирта этилового [6]. Отсутствие широкого ассортимента лекарственных форм (ЛФ) лимонника можно объяснить несовершенством технологических решений в процессе экстракции сырья. Известные экстракционные установки периодического и непрерывного действия работают при давлении, близком к атмосферному, используя в качестве растворителя углеводороды, спирты, эфиры, кетоны и т.д. Недостатком этих способов и установок является то, что экстракция указанными органическими растворителями не всегда обеспечивает достаточно полное извлечение из сырья БАВ. Кроме того, при отгонке растворителя разрушаются термолабильные вещества экстрактов [7,8].

Разрешить эти проблемы можно с помощью современных вариантов экстракции, в частности экстракцией сжиженным диоксидом углерода в сверхкритических условиях (СК CO₂-экстракция). Ранее нами предложен состав и технология трансдермального геля на «классической» полиэтиленоксидной (ПЭО) основе с лимонника китайского семян СК CO₂-экстрактом. В эксперименте на лабораторных животных гель проявлял, наряду с адаптогенной, антиоксидантную активность, что делает ЛП перспективным для повышения адаптации организма к физическим нагрузкам и открывает возможность для углубления трансдермального подхода в дальнейших исследованиях [9].

На наш взгляд, усилить трансдермальность лигнанов в разработанном геле можно путем замены выбранного ранее пенетратора – пропиленгликоля 1,2 (ПР 1,2) на компоненты эфирного масла семян лимонника

ка китайского, в частности лимонен. Последний одобрен учеными в качестве усилителя проницаемости кожи.

Учитывая, что состав эфирных масел, получаемых углекислотной экстракцией, отличается от эфирных масел, полученных классическим способом перегонки с водяным паром [10], а также тот факт, что лигнаны не перегоняются дистилляцией, нами предложена ресурсосберегающая технология получения из лимонника китайского семян эфирного масла и СК CO₂-экстракта (заявка на изобретение № 2018108492, приоритет от 07.03.2018 г.).

Цель настоящей работы – биофармацевтические исследования *in vitro* по выбору оптимального состава комбинированного геля, содержащего СК CO₂-экстракт и эфирное масло лимонника китайского семян.

Материал и методы

Объектом исследования служили модельные образцы геля воспроизведенного состава (с пропиленгликолем 1,2) и с различным содержанием эфирного масла лимонника китайского семян (см. таблицу).

Технология приготовления модельных образцов геля. Полиэтиленоксидную основу получали традиционно путем сплавления на водяной бане. В часть получившейся основы вводили СК CO₂-экстракты, пропиленгликоль 1,2 (эфирное масло) и тщательно перемешивали. Далее добавляли частями оставшуюся основу и гомогенизировали до получения однородной массы.

Водородный показатель для полученных гелей определяли по общепринятой потенциометрической методике.

Модельные составы исследуемых гелей

Model compositions of test gels

Ингредиенты	Состав, г					
	1	2	3	4	5	6
СК CO ₂ -экстракт семян лимонника китайского	10,0	–	–	–	–	–
СК CO ₂ -экстракт шрота семян лимонника китайского	–	10,00	10,0	10,00	10,0	10,00
Эфирное масло семян лимонника китайского	–	0,50	1,0	1,50	2,0	2,50
Полиэтиленоксид-400	61,6	62,65	62,3	61,95	61,6	61,25
Полиэтиленоксид-1500	26,4	26,85	26,7	26,55	26,4	26,25
Пропиленгликоль 1,2	2,0	–	–	–	–	–
Всего	100,0	100,00	100,0	100,00	100,0	100,00

трической методике (рН-метр рН 150 ММ; ООО «Измерительная техника», Россия).

Фармацевтическую доступность определяли методом равновесного диализа через биологическую мембрану – «переживающую» кожу лабораторных животных (белых крыс самцов). В качестве диализной среды использовали физиологический раствор, система термостатировалась при температуре $34 \pm 1^\circ\text{C}$ и постоянном перемешивании.

Количественное содержание суммы лигнанов в пересчете на схизандрин в образцах диализата (отбирались через каждые 2 ч с обязательным восполнением среды чистым растворителем) определяли с помощью модифицированного нами спектрофотометрического метода, предложенного Ф.Ш. Сатдаровой: адсорбентом служил силикагель 60/200 меш; растворителем – спирт этиловый 95 %. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре марки ПЭ-5400УФ (ООО «Экохим», Россия) при дли-

не волны 254 нм в кювете толщиной 10 мм, используя в качестве раствора сравнения спирт этиловый 95%. Параллельно рассчитывали оптическую плотность раствора государственного стандартного образца (ГСО) схизандрина (ChromaDex®, CDX-00019500-010).

Определение термической и коллоидной стабильности гелевых композиций осуществляли по стандартным методикам с применением центрифуги ApexLAB 80-2S (Китай), термостата (ES-4620 НПО «Экрос», Россия) и бытовой морозильной камеры с терморегулятором.

Структурно-механические свойства наилучшего состава изучали на ротационном вискозиметре FUNGILAB S.A. V.1.1 (TYPE: ALPHA Series; CODE: V100002; SERIAL: ALPR100001, Испания) по методике, предложенной Ю.А. Морозовым и соавт. [11].

Результаты и обсуждение

Полученные в лабораторных условиях модельные образцы геля представляли собой однородные от желтого до желто-оранжевого цвета мазеобразные массы с характерным запахом лимонника китайского. Все составы со временем оставались стабильными, не расслаивались; значение водородного показателя находилось на уровне $6,1 \pm 0,1$.

Результаты эксперимента по изучению степени высвобождения суммы лигнанов в пересчете на схизандрин из ЛФ (рис. 1) показали, что наименьшая степень высвобождения около 50% к 10-му часу эксперимента соответствует составу № 1. По мере увеличения содержания в геле эфирного масла степень высвобождения БАВ также увеличивается. Степень высвобождения из состава № 5 к концу эксперимента максимальная – 72,5%.

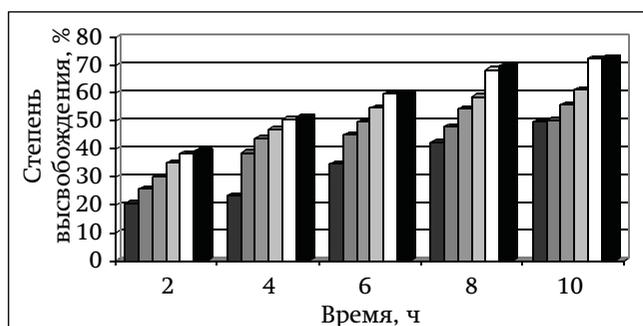


Рис. 1. Степень высвобождения суммы лигнанов в пересчете на схизандрин из исследуемых модельных составов гелей (№№ 1–6 слева направо)
Fig. 1. The degree of isolation of the amount of lignans calculated with reference to schizandrin from the studied model compositions of gels (Nos. 1–6 from left to right)



Рис. 2. Кривая течения
Fig. 2. Flow curve



Рис. 3. Кривая вязкости
Fig. 3. Viscosity curve

В ходе выполнения эксперимента установлено, что дальнейшее увеличение содержания в геле эфирного масла до 2,5% нецелесообразно, так как степень высвобождения лигнанов к 10-му часу составляет 73%. Данные результаты позволяют считать оптимальным составом модельный образец № 5.

Изучение термической и коллоидной стабильности позволяет прогнозировать устойчивость ЛФ в процессе производства и хранения при изменении температурных параметров и механическом воздействии. Исследуемый состав геля (№ 5) оказался стабильным при замораживании (-20°C), при центрифугировании (5 мин при скорости 6000 об/мин), а также при нагревании (24 ч при температуре 34°C).

Для изучения тиксотропных свойств геля на основании экспериментальных данных строились кривые зависимости скорости сдвига от напряжения сдвига (см. рис. 2) и скорости сдвига от вязкости (см. рис. 3).

Согласно данным, представленным на рис. 2, «восходящая» и «нисходящая» кривые образуют «петлю гистерезиса» – графическое доказательство наличия явления тиксотропии для изучаемого образца, характеризующую восстановление системы. Количественная характеристика данного явления – энергия, необходимая для разрушения исследуемой структуры, составившая $230390,05 \pm 240$ Дж. Наличие у фитопрепарата тиксотропных свойств характеризует способность дерматологической формы к намазываемости, выдавливанию из туб и указывает на другие потребительские свойства.

Анализ кривой вязкости (см. рис. 3) подтверждает, что интервал величин вязкости для исследуемого геля находится в пределах $261139 \pm 130 - 437208 \pm 145$ мПа·с^h и располагается в районе общепринятого реологического оптимума консистенции для мазей на гидрофильных основах.

Заключение

На основании проведенных биофармацевтических исследований выбран оптимальный состав трансдермального геля: СК CO_2 -экстракт шрота семян лимонника китайского – 10,0 г.; эфирного масла лимонника китайского семян – 2,0 г.; ПЭО-400 – 61,6 г.; ПЭО-1500 – 26,4 г.

Для выбранного состава определен водородный показатель – $6,1 \pm 0,1$. В условиях эксперимента доказана термическая и коллоидная ста-

бильность трансдермального геля. Изучены основные реологические свойства предложенного геля.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература

1. Михайлов В.Г., Шалимов П.М., Алиев Х.М., Нестерук А.В. Совершенствование средств психофизиологической коррекции для восстановления функционального состояния после чрезмерных физических нагрузок у лиц опасных профессий. Военно-медицинский журнал, 2012; 333 (1): 70–1.
2. Купко Е.Н., Гусова Б.А., Молчанов М.В., Семухин А.М. Анализ фармакологических подходов к повышению физической работоспособности спасателей в условиях чрезвычайных ситуаций. Фармация и фармакология, 2014; 6 (7): 88–91.
3. Шабанов П.Д. Адаптогены и антигипоксантаы. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, 2003; 2 (3): 50–81.
4. Косман В.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., В.Г. Макаров. Лигнаны масляного экстракта семян лимонника китайского [*Schisandra chinensis* Turcz. (Baill.)]. Химия растительного сырья, 2014; (4): 131–8.
5. Косман В.М., Карлина М.В., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г., Воробьев В.В., Лапкина Г.Я. Фармакокинетика лигнанов лимонника китайского. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, 2015; 13 (4): 3–21.
6. Государственный реестр лекарственных средств (Электронный ресурс). Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>
7. Касьянов Г.И. Техника и технология использования диоксида углерода в суб- и сверхкритическом состоянии. Вестник ВГУИТ, 2014; (1): 130–5.
8. Букеева А.Б., Кудайбергенова С.Ж. Обзор современных методов выделения биоактивных веществ из растений. Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева, 2012; (2): 192–7.
9. Макиева М.С., Морозов Ю.А., Воронков А.В., Степанова Э.Ф., Ремезова И.П., Поздняков Д.И. Разработка трансдермального геля с маслом лимонника китайского и оценка степени его влияния на работоспособность и неврологический статус животных в эксперименте. Медицинский вестник Северного Кавказа, 2016; 11, (4): 532–6.
10. Сидельников В.Н., Патрушев Ю.В., Сизов Н.В., Петренко Т.В. Сравнительный анализ состава пихтового масла, полученного водно-паровой дистилляцией и эфиромасличной фракции CO_2 -экстракта лапки пихты сибирской. Химия растительного сырья, 2003; (1): 79–85.
11. Морозов Ю.А., Макиева М.С., Морозова Е.В., Олисаев Э.Г. Изучение реологических свойств геля с лимонника китайского семян CO_2 -экстрактом. Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация, 2016; 35 (19/240): 169–75.

References

1. Mikhailov V.G., Shalimov M.P., Aliev H.M., Nesteruk A.V. improving the means of psychophysiological correction for recovery of functional status after excessive physical activity in persons of hazardous occupations. *Voenno-meditsinskiy zhurnal*, 2012; 333 (1): 70–1 (in Russian).
2. Kupko E.N., Gusova B.A., Molchanov M.V., Semukhin A.M. analysis of pharmacological approaches to increase the physical performance of rescuers in emergency situations. *Farmatciya i farmakologiya*, 2014; 6 (7): 88–91 (in Russian).
3. Shabanov P.D. Adaptogens and antihypoxants. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*, 2003; 2 (3): 50–81 (in Russian).
4. Kosman V.M., Pozharitskaya O.N., Shikov A.N., Makarov V.G.. Lignans oil extract of seeds of *Schisandra chinensis* (*Schisandra chinensis* Turcz. (Bail.)). *Himiya rastitel'nogo syr'ya*, 2014; (4): 131–8 (in Russian).
5. Kosman V. M., Karlina M. V., Pozharitskaya O. N., Shikov A. N., Makarov V.G., Vorob'ev V.V., Lapkina, G.J. The Pharmacokinetics of *Schisandra chinensis* lignans. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*, 2015; 13 (4): 3–21 (in Russian).
6. State register of medicines (Electronic resource). Access mode: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (in Russian).
7. Kasyanov G.I. Technique and technology of carbon dioxide use in sub – and supercritical state. *Vestnik VGUIT*, 2014; (1): 130–5 (in Russian).
8. Bukeeva, A.B., Kudaibergenova S.Zh. Review of current methods for the isolation of bioactive compounds from plants. *Vestnik ENU im. L.N. Gumileva*, 2012; (2): 192–7 (in Russian).
9. Makieva M.S., Morozov A.Yu., Voronkov AV., Stepanova E.F., Remezov I.P., Pozdnyakov D.I. Development of transdermal gel of oil of *Schisandra chinensis* and evaluation of the extent of its influence on the performance and the neurological status of animals in the experiment. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza*, 2016; 11, (4): 532–6 (in Russian).
10. Sidel'nikov V.N., Patrushev Yu.V., Sizov N.In. Petrenko T.V. Comparative analysis of the composition of pine oil, obtained by water-steam distillation and essential oil fraction of CO₂-extract of Siberian fir legs. *Himiya rastitel'nogo syr'ya*, 2003; (1): 79–85 (in Russian).
11. Morozov Yu.A., Makieva M.S., Morozova E.V., Eliseev E.G. The study of the rheological properties of the gel of *Schisandra chinensis* seed CO₂-extract. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Medicina. Farmatciya*, 2016; 35 (19/240): 169–75 (in Russian).

Поступила 28 ноября 2018 г.

Received 28 November 2018

Принята к публикации 6 февраля 2019 г.

Accepted 6 February 2019