

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи
УДК 615.9.322:615.454.1.014.24

ТОЛИПОВА КОМОЛА МАХМУДЖОН КИЗИ

Разработка технологии геля на основе настойки календулы

5A320406-Технология лекарственных средств и препаратов

**Диссертация
на соискание
академической степени магистра**

**Научный руководитель:
д.ф.н. Ё.С.Кариева**



Ташкент -2016

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ**

Факультет: фармация

Студент магистратуры: Толипова Комола
Махмуджон кизи

Кафедра: технология лекарственных форм

Научный руководитель: д.ф.н. Кариева
Ёкут Саидкаримовна

Учебный год: 2014-2015 гг.
2015-2016 гг.

Специальность: 5А320406 «Технология
лекарственных средств и препаратов»

АННОТАЦИЯ МАГИСТРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность темы. Согласно Протоколу заседания Кабинета Министров Республики Узбекистан № 32 от 20 апреля 2015 года «О мероприятиях по развитию производства отечественными предприятиями лекарственных средств и биологически активных добавок на основе лекарственных растений» и Программе прикладных исследований № ППИ-11 «Разработка технологий производства новых лекарственных средств на основе отечественного природного и синтетического сырья» разработка и дальнейшее внедрение в производство лекарственных препаратов на основе местного растительного сырья – важнейшая задача фармацевтической технологии.

Цели и задачи исследования. Проведение исследований по научно-обоснованному подбору состава и разработке технологии, эффективного противовоспалительного геля на основе настойки календулы, оценка качественных, количественных, структурно-механических и биофармацевтических показателей, изучение стабильности.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования явилась настойка календулы и разработанная на ее основе гелевая лекарственная форма. Предмет исследования - подбор состава и технологии геля, изучение качественных и количественных показателей, проведение исследований по изучению консистентных свойств, проведение биофармацевтических исследований, установление сроков годности и условий хранения разработанного геля.

Научная обоснованность уровня новизны результатов исследования. Впервые по результатам комплексных исследований, подобран оптимальный состав и экспериментально разработана технология получения геля на основе настойки календулы лекарственной, оценены его качественные и количественные показатели.

Доказана противовоспалительная активность, а также отсутствие острой токсичности и раздражающего действия разработанного геля, установлены сроки годности и условия хранения препарата.

Практическая значимость и реализация результатов исследования. Разработанный гель расширит ассортимент эффективных, безопасных, и качественных лекарственных препаратов на растительной основе. Учитывая тот факт, что календула лекарственная является отечественным сырьем можно предположить экономическую эффективность разработанного геля по сравнению с зарубежными аналогами.

Состав и структура работы. Диссертация изложена на 87 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы (глава I), экспериментальной части, включающей главы II– V, общих выводов, списка использованной литературы и приложений. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 4 рисунками. Библиографический список включает 84 источников отечественных и зарубежных авторов.

Основные результаты проведенной работы. Впервые подобран состав и разработана технология противовоспалительного геля на основе настойки календулы, проведена оценка качества. Изучением активности подтверждена ярко выраженная противовоспалительная активность геля. Изучено условия хранения и сроки годности разработанного геля.

Краткое выражение предложения и выводы. На основании результатов проведенных технологических и биофармацевтических исследований подобран состав и технология геля на основе настойки календулы. Доказано соответствие показателей качества требованиям нормативных документов. Проведено исследование реологических показателей геля, что анализируемая мягкая лекарственная форма является дисперсной системой, для которой характерны упруго-вязко-пластичные свойства. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* доказана высокая биодоступность, специфическая противовоспалительная активность препарата. Срок годности установлен равным 2 годам.

Научный руководитель: _____

Студент магистратуры: _____

**MINISTRY OF HEALTH OF THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN
TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE**

Faculty: Industrial pharmacy

Chair: Technology of medicinal forms

Academic year: 2014-2015
2015-2016

Resident of Master degree: Tolipova Komola
Maxmudjon kizi

Scientific adviser: ph.sc.d Kariyeva Ekut
Saidkarimovna

Specialty: 5A320406 Technology of medicinal forms and preparations

ANNOTATION OF MASTERS' DISSERTATION

Current importance of theme. Development and further implantation of medicinal preparations which are made from vegetal materials to production is vital mission of pharmaceutical technology according to protocol of session of cabinet of ministers of Uzbekistan Republic №32 from 20th of April 2015 year "about arrangements on development of production of medicinal tools and biological active additions which are made from medicinal plants by domestic enterprises" and program of applied researches № PAR -11 "working out technologies of production of new medicinal tools from domestic natural and synthetic materials".

Aims and problems of research. Doing researches on scientific grounded selection of structure and development of technology, effective anti-inflammatory gel which is made from calendula's tincture, evaluation of qualitative, quantitative, structural and mechanical and bio pharmaceutical indicator's, studying stability.

Object and subject of research. Object of this research is calendula's tincture and development of medicinal form of gel which was made from it. Subject of this research is choosing composition and technology of gel, studying qualitative and quantitative indicators, doing researches on studying consistent indicators, doing bio pharmaceutical researches, establishing expiration date and conditions of keeping produced gel.

Scientific ground of level of newness of research's result. First time according to complex research's results the optimal composition and the experimental technology of medicinal gel which is made from calendula's tincture was created, and qualitative and quantitative indicators were evaluated. Anti-inflammatory activity, absence of acute toxicity, grating action of created gel was proved, expiration date and keeping conditions were established.

The practical significance and realization of results of research. Created gel will expand assortment of effective, safe and qualitative medicinal preparations made from vegetal materials. According to fact that medicinal calendula is

domestic material, it can be thought about economic efficiency of created gel compered to foreign competitors.

Composition and structure of work. Dissertation consist of 83 pages of computer text and includes introduction, observation if literature (chapter 1), experimental part including chapter 2-5, general conclusion, list of used literature and applications. The work is illustrated with 7 tables and 3 pictures. Bibliographical list includes 84 sources of domestic and foreign authors.

Main results of work which was done. For the first time composition was chosen and technology was developed for anti-inflammatory gel which was made from calendula's tincture, and evaluation of quality was done. By studying activity anti-inflammatory activity of gel was proved. Keeping conditions and expiration date of created gel was studied.

Short statement about research and conclusion. According to results of technological and bio pharmaceutical researches composition was chosen and technology was developed for anti-inflammatory gel which was made from calendula's tincture. Matching indicators with demands of standard documents was proved. A study of the rheological parameters of the gel showed that analyzed mild medicinal form is dispersed system, which is viscous elastic plastic attribute. In experiments in vitro and in vivo it was demonstrated bio accessible, specific anti-inflammatory activity of preparation. Expire date is equal to 2 years.

Scientific adviser: _____

Resident of Master's degree: _____

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	8
ГЛАВА I. Литературный обзор.....	13
1. Лекарственные растения – источник безопасных и эффективных лекарственных средств.....	13
2. Применение препаратов календулы официальной (<i>Calendula officinalis</i> L.) в практической медицине.....	19
3. Факторы, влияющие на терапевтическую эффективность препаратов в виде аппликационных лекарственных форм.....	29
Выводы по главе I	33
ГЛАВА II. Объекты и методы исследований.....	35
1. Объекты исследований: основные и действующие вещества.....	35
2. Методы исследования.....	37
Выводы по главе II.....	38
ГЛАВА III. Исследования по разработке технологии и определению качественных показателей геля на основе настойки календулы	39
1. Подбор состава, разработка технологии и определение качественных показателей гелей на основе настойки календулы.....	39
2. Количественное определение биологически активного вещества в разработанном геле противовоспалительного действия.....	44
Выводы по главе III	47
ГЛАВА IV. Биофармацевтические исследования разработанных гелей на основе настойки календулы	48
1. Биофармацевтические исследования разработанных гелей на основе настойки календулы в опытах <i>in vitro</i>	48
2. Биофармацевтические исследования предлагаемого геля в опытах <i>in vivo</i>	52
Выводы по главе IV	55

ГЛАВА V. Изучение консистентных свойств и стабильности разработанного геля противовоспалительного действия.....

1. Изучение консистентных свойств геля на основе настойки календулы	56
2. Установление сроков годности и условий хранения разработанного геля противовоспалительного действия.....	62
Выводы по главе V.....	69
Заключение.....	70
Список литературы.....	72
Приложения.....	81

ВВЕДЕНИЕ

Обоснование и актуальность темы диссертации. Согласно Протоколу заседания Кабинета Министров Республики Узбекистан № 32 от 20 апреля 2015 года «О мероприятиях по развитию производства отечественными предприятиями лекарственных средств и биологически активных добавок на основе лекарственных растений» и Программе прикладных исследований № ППИ-11 «Разработка технологий производства новых лекарственных средств на основе отечественного природного и синтетического сырья» разработка и дальнейшее внедрение в производство лекарственных препаратов на основе местного растительного сырья – важнейшая задача фармацевтической технологии.

Необходимо отметить, преимущества препаратов, полученных из лекарственного растительного сырья по сравнению с синтетическими. Это лучшая переносимость и усвояемость организмом, меньшее количество нежелательных побочных эффектов, экономическая целесообразность производства и др.

Календула лекарственная (ноготки) – *Calendula officinalis* L. семейства астровых – Asteraceae является одним из наиболее популярных лекарственных растений. Согласно статистическим данным календула занимает второе место после ромашки аптечной, опережая такие известные растения как шалфей, валериану и зверобой. Календула лекарственная имеет очень богатый химический состав: в цветочных корзинках содержатся каротиноиды и флавоноиды (каротин, ликопин, виолаксантин, цитраксантин, рубиксантин, флавоксантин, флавохром). В соцветиях календулы имеются также полисахариды, полифенолы, смолы (около 3,4%), слизь (2,5%), азотсодержащие слизи (1,5%), органические кислоты (яблочная, аскорбиновая и следы салициловой). В семенах содержится жирное масло, представленное глицеридами преимущественно лауриновой и пальмитиновой кислот, алкалоиды. В корнях обнаружен инулин, ряд тритерпеновых гликозидов,

являющихся производными олеаноловой кислоты и 8 типов гликозидов, получивших название «календулозиды».

Фармакологическая активность препаратов календулы обусловлена в основном каротиноидами и флавоноидами. Препараты календулы оказывают противовоспалительное, антимикробное, противовирусное, регенерирующее, ранозаживляющее, спазмолитическое действие.

Несмотря на широкий терапевтический спектр ассортимент препаратов на основе данного растения небольшой. В связи с этим, разработка и внедрение в медицинскую практику эффективных, качественных и безопасных лекарственных препаратов на основе календулы – актуальная задача фармацевтической науки.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования явилась настойка календулы и разработанная на ее основе гелевая лекарственная форма. Предметом исследования являются подбор оптимального состава и технологии геля на основе настойки календулы противовоспалительной природы, изучение качественных и количественных показателей, проведение исследований по изучению консистентных свойств, проведение биофармацевтических исследований, установление сроков годности и условий хранения разработанного геля.

Цель и задачи исследования. Проведение исследований по научно-обоснованному подбору состава и разработке технологии, эффективного противовоспалительного геля на основе настойки календулы.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- доказать актуальность вопроса разработки лекарственных средств, обладающих нестероидным противовоспалительным действием путём проведения анализа литературных данных по эффективности препаратов данной группы применяемых в лечении соответствующих заболеваний;

- с применением вспомогательных веществ, выполняющих различные функции при введении в состав лекарственной формы, подобрать состав и

разработать технологию гелевой лекарственной формы на основе настойки календулы;

- провести исследования по изучению качественных и количественных показателей разработанного геля, согласно требованиям нормативной документации;

- изучить консистентные свойства геля на основе настойки календулы, приготовленного по предлагаемому составу;

- провести изучение микробиологической чистоты разработанного геля, установить соответствие требованиям НД по данному показателю.

- изучить биофармацевтические показатели разработанного геля в экспериментах *in vitro*, исследовать их специфическую активность и безвредность;

- провести исследования по изучению сроков годности и условий хранения предлагаемого геля на основе настойки календулы.

Научная новизна. По результатам комплексных исследований, включающих технологические, структурно-механические, биофармацевтические испытания впервые подобран оптимальный состав и экспериментально разработана технология получения геля на основе настойки календулы лекарственной. Оценены качественные и количественные показатели предлагаемого геля.

Доказана противовоспалительная активность, а также отсутствие острой токсичности и раздражающего действия разработанной гелевой лекарственной формы. По результатам изучения сохранности качественных и количественных характеристик методами естественного хранения и «ускоренного старения» установлены сроки годности и условия хранения геля.

Краткий обзор литературы по теме. Проведенный анализ литературы позволил установить, что на сегодняшний день выявлено большое количество растений, проявляющих противовоспалительное, ранозаживляющее, антимикробное и др. действия. Имеются данные о проведенных исследованиях по выявлению терапевтической эффективности и календу-

лы лекарственной. Но лекарственные формы, полученные из этих растений, не отличаются разнообразием, и в большинстве своем представлены водными или водно-спиртовыми вытяжками. Имеющаяся мазевая лекарственная форма на основе календулы лекарственной не обеспечивает высокой биодоступности. Отечественными учёными проводятся исследования по созданию гелей, на основе растительных извлечений, однако нет сведений о научно-обоснованной разработке этой лекарственной формы на основе календулы.

Таким образом, данные, полученные в ходе обзора литературных источников подтверждают целесообразность создания, оценки качества и установления эффективности и стабильности гелевой лекарственной формы на основе настойки календулы.

Краткая характеристика методик, использованных в исследовании. Оценка качества предлагаемого геля проведена в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи «Мази» (ГФ XI, вып.2).

Для определения значения pH геля использован потенциометрический метод (ГФ XI, вып.1.) с использованием pH-метра «MetlerToledo» (Германия). Количественное содержание биологически активного вещества определены спектрофотометрическим методом на приборе Agilent 8453. Консистентные свойства изучены на приборе «Реотест-2» (Германия) с использованием ячеек, состоящих из систем соосных цилиндров S/S1 при 25°C, 40°C, 55°C. Биофармацевтические исследования разработанного геля в экспериментах *in vitro* едены с использованием прибора Кривчинского. Специфическая противовоспалительная активность, острая токсичность и местно-раздражающее действие разработанного средства изучены совместно с к.б.н., с.н.с. Н.Л. Выповой.. Стабильность геля определена в естественных условиях и методом «ускоренного старения» согласно инструкции И-42-2-82.

Практическая и научная значимость результатов исследований. На основании проведенных исследований впервые подобран оптимальный

состав и разработана рациональная технология гелевой лекарственной формы на основе настойки календулы, проведено изучение качественных и количественных характеристик, исследованы консистентные свойства предлагаемого геля. Проведены биофармацевтические исследования в экспериментах *in vitro* по изучению высвобождения активных веществ из разработанного геля. Экспериментами *in vivo* установлена ярко выраженная противовоспалительная активность геля на основе настойки календулы. Установлены сроки годности и условия хранения разработанной гелевой лекарственной формы.

Гель на основе настойки календулы по предлагаемому составу и технологии расширит ассортимент эффективных, безопасных, и качественных лекарственных препаратов на растительной основе. Учитывая тот факт, что календула лекарственная является отечественным сырьем можно предположить экономическую эффективность разработанного геля по сравнению с зарубежными аналогами.

Структура и объём диссертации. Диссертационная работа изложена на 87 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, общих выводов, списка использованной литературы и приложений. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 4 рисунками. Список литературных источников включает 99 наименований.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1. Лекарственные растения – источник безопасных и эффективных лекарственных средств

Традиционное лечение лекарственными растениями, различными вытяжками и порошками, полученными из них, а также продуктами природного происхождения насчитывает история в несколько тысячелетий. Несмотря на огромный ассортимент лекарственных средств синтетического происхождения, препараты из растений занимают одну из ключевых позиций в лечении и профилактике заболеваний. За последние двадцать лет во многих странах, в том числе Германии, Франции, Италии, Великобритании, США и России наблюдается повышение интереса к фитотерапии. Растительное сырье рассматривается как источник новых биологически активных веществ лекарственных средств, т.е. используется как активное начало для получения стандартизованных фитотерапевтических средств с доказанной эффективностью, качеством и безопасностью [16,32,42,61].

Согласно принципам рациональной фармакотерапии, лекарственный препарат должен быть терапевтически высокоэффективным, иметь минимум побочных и нежелательных явлений, быть экономически доступным. Препараты из лекарственного растительного сырья наиболее полно отвечают поставленным целям.

Узбекистан является одним из государств, которые имеют богатый опыт использования целебных свойств лекарственных растений и препаратов из них в медицине. Одной из причин является географическое положение страны, и соответственно, хорошие климатические условия для произрастания большого количества растений, в том числе и лекарственных. Но самым главным фактором можно считать богатое наследие, оставленное великими отечественными учеными, такими как Авиценна [16,19,57,78]. Правительство независимого Узбекистана уделяет большое внимание продолжению исследований наших предков молодыми учеными настоящего времени, использованию опыта и рекомендаций великих ученых для соз-

и внедрения в медицинскую практику лекарственных средств на основе натуральных источников. Подтверждением является протокол Кабинета Министров Республики Узбекистан №32 от 21 апреля 2015 года по внедрению в промышленное производство целого ряда научных разработок на основе отечественного лекарственного растительного сырья [62].

Как известно, из огромного многообразия высших растений (около 500 тыс. видов трав и растений), произрастающих на нашей планете, лишь около - 10-15 % исследованы на содержание биологически активных веществ, на наличие фармакотерапевтического действия и используется научной медициной. Несмотря на этот небольшой процент, на сегодняшний день источником для 40% мировой фармацевтической продукции является лекарственное растительное сырье. Из всех лекарственных препаратов, используемых при патологических состояниях сердечно-сосудистой системы, 80% составляют средства, полученные из лекарственного растительного сырья. Данные показатели для заболеваний печени и желудочно-кишечного тракта и бронхо-легочных патологий составляют около 70% [58,61,3].

Согласно Государственному реестру Российской Федерации среди лекарственных средств, применяемых в современной медицине России, около 40% производят из сырья культивируемых или дикорастущих лекарственных растений [13]. Данный показатель в Республике Узбекистан равен 11.4% [47].

Глобальное использование растительных сырьевых ресурсов для создания лекарственных средств имеет целый ряд предпосылок. Так, биологически активные вещества, содержащиеся в растениях по своей структуре и природе наиболее близки человеческому организму, чем вещества, синтезированные синтетическим путём, а это в свою очередь, обеспечивает включение данных веществ в биохимические процессы человека и оказание разностороннего, мягкого действия даже при длительном применении. Ввиду этого препараты, приготовленные из лекарственных растений, об-

ладают более высокой биологической доступностью и гораздо реже встречаются случаи их непереносимости. Данный факт также объясняет меньшее количество противопоказаний и побочных эффектов растительных препаратов по сравнению с синтетическими.

Всем известно, что создание синтетических препаратов требует больших финансовых затрат: в результате повышается себестоимость готовой продукции. В случае с разработкой препаратов растительного происхождения такие затраты сравнительно невысоки, что также способствует популяризации их среди населения.

В качестве положительных аспектов использования лекарственных растений необходимо отметить увеличение ассортимента лекарственных средств, созданных на основе рационального сочетания лекарственных растений между собой и с синтетическими средствами, что особенно важно для педиатрической практики, пациентов пожилого и старческого возраста, больных с сочетанной патологией [16, 17, 57, 58].

Многочисленными исследованиями доказано, что лекарственные растения являются естественными источниками минеральных комплексов, а макро- и микроэлементы находятся в них в органически связанной форме, т.е. наиболее доступны и усвояемы. Также установлено, что в большинстве растений сбалансированность и количественное содержание минеральных веществ такие, каких нет в других продуктах питания. Согласно современным исследованиям в лекарственных растениях обнаружен 71 химический элемент из периодической таблицы Д.Менделеева [65, 76].

Несмотря на рассмотренные и доказанные преимущества, потребность населения всего мира на препараты растительного происхождения превышает их наличие на сегодняшний день, что объясняет необходимость разработки новых препаратов данной группы для решения проблемы сохранения здоровья и увеличения продолжительности жизни человека.

Использование растений в лечении заболеваний или их профилактики составляют основу народной медицины, которая передавалась в течение

от отца к сыну и т.д. Еще в средние века с появлением письменности великие умы пытались записать имеющиеся данные и результаты, полученные при использовании тех или иных растений для лечения заболеваний. Великий ученый-энциклопедист Ибн Сина много занимался вопросами ботаники, поскольку в своей врачебной деятельности пользовался лекарственными растениями. Карл Линней (1707-1778), учитывая заслуги Ибн Сины в области данной науки, назвал вечнозеленое тропическое растение его именем – Авиценна.

Авиценна справедливо считается одним из величайших ученых медиков в истории человечества. По сведениям различных исторических источников, общее число медицинских трудов доходит до 50, однако до настоящего времени дошли только около 30 работ. Одними из великих трудов являются произведения Авиценны «Канон врачебной науки», «Китаб аш-шифа» («Книга исцеления»), «Китаб ан-наджат» («Книга спасения») и др. главным медицинским трудом Ибн Сина, принесшим ему многовековую славу во всем культурном мире и до сих пор используемый в качестве руководства для многих специалистов в данной области, является «Канон врачебной науки». Это медицинская энциклопедия, в которой с логической последовательностью излагаются сведения относительно профилактики и лечения болезней.

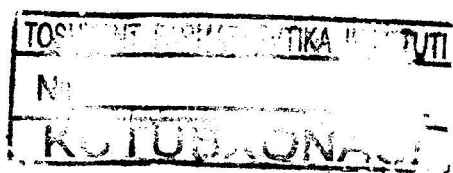
Хотелось отдельно остановиться на книге второй данного сборника. Это капитальный свод сведений о лекарственных средствах, которые использовались в то время в медицине. В данной книге описано более 800 лекарственных веществ растительного, животного и минерального происхождения с указанием их лечебных свойств и применения. Интересен тот факт, что помимо лекарственных растений, произрастающих в Средней Азии и других странах Ближнего и Среднего Востока, автор приводит описание и использование лекарств, привозимых из Индии, Китая, Греции, Африки, островов Средиземного моря и др. стран. Многие из этих растений приобрели известность и стали широко применяться благодаря сочи-

нениям Ибн Сины, что еще раз подтверждает значение «Канона» в истории лекарствоведения. Многие лекарства, предложенные им, прочно вошли в фармакопею и применяются по сегодняшний день [16,19,70].

Приблизительно тем временем датируется самый древний источник медицинской литературы на Руси, названный "Изборником Святослава". Он представляет собой справочник болезней, для каждой болезни описаны народные способы лечения при помощи лекарственных растений.

Согласно историческим справкам, лечение различных патологий с использованием лекарственных растений наиболее широко применялось в азиатских странах. Так, одной из наиболее древних фармакопей описывающих лечебные травы считается фармакопея Египта, написанная еще в 4 веке до н. э. В настоящее время известно, что в ней упоминались известные в настоящее время лекарственные растения такие как зверобой, алое, мята, подорожник и др. [72].

Ещё одной азиатской страной, где широко применяются препараты на основе лекарственных растений является Китай. Народной медицине Китая более 4000 лет. Здесь уже в 492—536 гг. н. э. была составлена первая в мире фармакология «Бэнь-цао-у-зин-цзо-чжу». Ценным источником применяемым и по сегодняшний день считается сборник «Materia Medica». В нем приводятся около 7000 видов лекарственных растений. А Китайская фармакопея 1990 г. издания включала в себя 784 статьи о препаратах, используемых в традиционной китайской медицине, и 509 статей о запатентованных китайских лекарственных средствах. Китай является одной из немногих стран, где законодательством закреплено одновременное развитие народной и современной медицины. Разумеется это основа для стабильного роста народной медицины в данной стране. Так, в современном Китае более 900 заводов занимаются производством лекарственных средств на основе растительного сырья. За период с 2000 года объем продаж препаратов на растительной основе увеличился в 11 раз [59,68,71].



Ещё одной из стран азиатского континента имеющих древнюю историю народной медицины является Индия. Самым первым источником о растениях данного региона является книга «Яджур-веда». Она датируется I в. н. э. и в нее включено описание и применение более 500 видов лекарственных растений. Традиционная медицина в данной стране развита и в настоящее время. Так, по системе Аюрведа, основывающейся преимущественно на лекарственных растениях, занимается более 250 тысяч специалистов. Треть всех практикующих врачей используют в своей деятельности принципы и опыт народной медицины [63,64,66].

Значительные успехи по рациональному использованию лекарственных растений во Вьетнаме достигнуты за последнюю четверть века. В результате проведенных аналитических работ составлен список наиболее широко используемых лекарственных растений в традиционной народной медицине. Данный список включает порядка 2000 растений. Фармакопея, выпущенной Фармакопейным комитетом Вьетнама содержит статьи по 215 растениям, а также по 27 препаратам, производимым из лекарственных растений, в которых приводятся нормы качества, методы испытаний, правила сбора, обработки сырья, методы приготовления лекарственных форм, данные о терапевтической эффективности, дозе и имеющих место побочных действиях [50].

В последние десятилетия в странах Европейского континента также возрос интерес населения к препаратам растительного происхождения. Так, по результатам опроса населения 50% предпочитают проводить лечение натуральными средствами. В Швейцарии и в США объем фитопрепаратов отпускаемых без рецепта врача составляет около 40% общего товарооборота на фармацевтическом рынке, в Японии – около 20%, а в Германии – более 15%. А по данным Всемирной Организации здравоохранения около 3 млрд. проживающих во всем мире пользуются в основном традиционными лекарственными средствами растительного происхождения. [65].

В настоящее время фитотерапевтические лекарственные средства, выпускаемые фармацевтической промышленностью, представлены в широком ассортименте жидких (настойки, жидкие экстракты, капли, сиропы, чай), твердых (таблетки, сборы для лечебных ванн, пастилки) и мягких (мази, гели, кремы) лекарственных форм [6,13, 31,47,76].

Учитывая вышеизложенное, постоянное увеличение ассортимента новых и высокоэффективных синтетических лекарственных препаратов, внедрение их в практическое здравоохранение не только не уменьшают значения лекарственных растений как источник лекарственных средств, но и создают перспективы их дальнейшего изучения.

2. Применение препаратов календулы официальной (*Calendula officinalis* L.) в практической медицине

Проводить скрининговые исследования новых лекарственных растений является одной из наиболее актуальных задач современности. Однако данные исследования требуют больших финансовых затрат. В связи с чем, первоочередное значение приобретают исследования направленные на более глубокий анализ, с целью дальнейшего использования в медицине, растений уже применяемых в здравоохранении.

Одним из таких растений является календула лекарственная (ноготки) – *Calendula officinalis* L. семейства астровых – Asteraceae. На сегодняшний день она входит в число наиболее популярных по выращиванию в Европе лекарственных растений. Согласно статистическим данным календула занимает второе место после ромашки аптечной, опережая такие известные растения как шалфей, валериану и зверобой [23]. В 80-х гг. XX века были зарегистрированы два лечебных сорта календулы лекарственной: Рыжик и Кальта [37].

Календула - однолетнее травянистое растение высотой 50-70 см, стебли ветвистые. Листья очередные, сидячие или короткочерешковые, продолговатые, длиной до 13 см. Соцветия в виде корзинок диаметром 5-6 см.

Цветки ложноязычковые и трубчатые, золотисто-оранжевые. Плоды развиваются только с язычковых цветков в виде сухих семян разной формы и размеров в одном и том же соцветии. Цветет с июня до заморозков, плоды начинают созревать в июле. Родиной данного растения является Средиземноморье и Центральная Европа. Культивируются повсеместно. Растение светолюбивое. Желательно выделять влажные почвы. Удобрения и подкормка способствуют более длительному цветению. Используют навоз, суперфосфат, аммиачную селитру, соль калия. Размножают семенами. Сеют ранней весной, заделывают на глубину 2-3 см с междурядьями 60 см. После всходов почву необходимо вспушить, систематически уничтожаются сорняки. Урожай сухих соцветий около 18 ц/га. Выведены садовые формы ноготков [44,67].

Эффективность календулы как лекарственного средства доказана еще и тем, что проводятся широкомасштабные исследования по интродукции календулы в условиях Центрального Казахстана. Оценена семенная всхожесть при различных сроках сбора, в зависимости от размера и веса, сроков хранения. Установлены оптимальные сроки посева ноготков в условиях культуры, оценены сроки наступления и длительность основных фенологических фаз. Определены урожайность цветочных корзинок и морфологические параметры растений в процессе вегетации [11,41,46].

Календула лекарственная имеет очень богатый химический состав. В цветочных корзинках содержатся каротиноиды и флавоноиды (каротин, ликопин, виолаксантин, цитраксантин, рубиксантин, флавоксантин, флавохром). В соцветиях календулы имеются также полисахариды, полифенолы, смолы (около 3,4%), слизь (2,5%), азотсодержащие слизи (1,5%), органические кислоты (яблочная, аскорбиновая и следы салициловой) [23,44,67].

Химический состав различных частей растений зависит от многих факторов, в том числе от места произрастания. Так, при анализе цветков календулы лекарственной сорта «Кальта», культивируемой в Пензенской области установлено, что в данных образцах сырья достаточно высокое

содержание флавоноидов (от 2,8 % до 6,06%) и каротиноидов (от 3,31 до 8,39 мг %) [21].

Также проводятся исследования по изучению морфолого-анатомических признаков, химического состава и других частей календулы лекарственной. Так, учеными Пятигорского медико-фармацевтического института, были проведены эксперименты по изучению плодов календулы и разработке технологии лекарственной формы на основе жирного масла. Качественный анализ плодов подтвердил наличие различных групп биологически активных соединений – каротиноидов, органических кислот, белка, полисахаридов и жирного масла. Также установлено наличие 23 элементов, таких как фосфор, калий, кальций, магний, натрий, кремний, железо и др. Жирное масло получали методом исчерпывающей экстракции хлороформом в аппарате Сокслета, далее растворитель отгоняли на ротационно-испарительной установке при вакууме 0,8 атм. и температуре 60⁰С. Полученное масло представляло собой непрозрачную маслянистую жидкость темно-желтого цвета своеобразного запаха и вкуса. Также было изучено влияние степени измельченности сырья и времени экстракции на выход жирного масла. Установлено, что жирнокислотный состав плодов календулы лекарственной характеризуется высоким содержанием линолевой (46,84%), олеиновой (24,87%) и пальмитиновой (13,01%) кислот [29].

Хотелось отметить, что в последние годы в зарубежных странах в качестве фармакопейного сырья используются не только цветы календулы, но и другие части растения: так, Французская фармакопея рекомендует применение ее соцветий, а согласно Немецкой гомеопатической фармакопеи возможно использование всей надземной части в период цветения растения [18,51,54].

Данное обстоятельство подтверждено исследованиями, по результатам которых выявлено, что в надземных частях растения найдено до 10% горького вещества календена, имеющего ненасыщенный характер. Запах цветков и их фитонцидные свойства обусловлены наличием эфирного масла.

Наземные органы растения содержат тритерпеновый сапонин, дающий **при** гидролизе олеаноловую и глюкуроновую кислоты. Установлено **наличие** тритерпеноидов арнидиола и фарадиола.

В семенах содержится жирное масло, представленное глицеридами **преимущественно** лауриновой и пальмитиновой кислот. В семенах найдены **алкалоиды**. В корнях обнаружен инулин и ряд тритерпеновых гликозидов, являющихся производными олеаноловой кислоты. В корнях календулы обнаружено 8 типов гликозидов, получивших название «календулозиды» [4,44,67].

Фармакологическая активность препаратов календулы обусловлена в основном каротиноидами и флавоноидами. При местном применении препараты календулы оказывают противовоспалительное, антимикробное действие на экспериментальных моделях микробного и асептического воспаления. Установлена противовирусная активность препаратов календулы при местном применении.

Препараты календулы ускоряют процессы регенерации тканей, ускоряют рост и улучшают качество грануляций, способствуют более быстрой эпителизации и формированию более нежного рубца. При применении внутрь препараты календулы также проявляют свою противовоспалительную активность, способствуют регенерации слизистых оболочек желудка и кишечника, заживлению язв и эрозий. Календулозид В из корней задерживает развитие экспериментальной язвы желудка. Галеновые формы цветков календулы оказывают спазмолитическое действие, преимущественно на желудок и кишечник, снимают спазм сфинктеров желчевыводящих путей, усиливают секреторную активность печени и поступление желчи в двенадцатиперстную кишку [4,15,21].

Современная медицина использует следующие лекарственные средства: настой, настойка, жидкий экстракт, брикеты, мазь "Календула", препарат противоязвенного действия "Калефлон" (очищенный экстракт).

Настойку календулы применяют при гингивитах, пиорее, молочнице у детей, трещинах губ, при воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей, ангинах. Календула используется в виде полосканий 2% раствором через каждые 1,5-2 часа. Такие же полоскания назначают при пародонтозе. Применяют настойку при порезах, гнойных ранах, ожогах.

Настои календулы применяют внутрь при язвенной болезни, эрозивных гастритах, колитах, энтероколитах, используют как желчегонное средство. При проктитах и парапроктитах применяют в виде лечебных клизм.

Настойку календулы (*Tinctura Calendulae*) готовят из краевых цветков календулы или из цветочных корзинок на 70% спирте. Соотношение растительного сырья к извлекателю 1:10. Из сухих цветков календулы готовят водный настой (1:10). Принимают по 1 столовой ложке настоя 4-5 раз в день.

Мазь "Календула" (*Unguentum "Calendulae"*) состоит из 20 г настойки календулы и 90 г эмульсии консистентной (вода/вазелин). Применяют при ожогах, порезах, трещинах губ, сосков, при ушибах, экземе и т. д.

Калефлон - очищенный экстракт из цветков календулы. Выпускают в таблетках по 0,1 г, светло-коричневого (до темно-коричневого) цвета со слабым специфическим запахом. Назначают в качестве противовоспалительного и стимулирующего репаративные процессы при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, при хронических гастритах и энтеритах. Препарат можно назначать вместе с антацидными и спазмолитическими средствами [21,44,67].

Согласно литературным данным, в маслах растений семейства *Asteraceae*, в которое входит и календула лекарственная, содержится значительный ассортимент биологически активных веществ таких как, жирные кислоты, фосфолипиды, витамины и др. данные вещества обеспечивают ранозаживляющее, противовоспалительное, антисептическое и др. терапевтические эффекты [29].

В народной медицине издревле масло из семян календулы использовали при лечении язвы желудка, кожных ран. Нанесение масла данного лекарственного растения на поверхность раны ускоряет развитие эпителизации и, соответственно, сроков заживления, т.е. обладает репаративной активностью. Фармакопея Франции, изданная в 1840 г., включала 5 препаратов из травы, листьев и семян календулы, рекомендованных для лечения некоторых разновидностей рака [15].

В современном здравоохранении в основном используются цветки календулы лекарственной, которые используются в виде настоек, мазей, суммарных галеновых препаратов и др. Так, масляный и спиртовой экстракты цветков применяют в качестве бактерицидного и противовоспалительного средства при ангинах, заболеваниях слизистой оболочки ротовой полости, порезах, гнойных ранах и ожогах [15,67].

А сотрудниками Московской медицинской академии им. И.М.Сеченова на основе масляного CO_2 – экстракта календулы созданы ректальные суппозитории. Ими рассмотрено влияние различных фармацевтических факторов (вид и количество эмульгаторов, количественное соотношение липофильной и гидрофильной фазы и др.) на свойства эмульсионных суппозиторных композиций. В качестве основ использовали полиэтиленоксиды с различной степенью полимеризации, основу для суппозиторий «твердый жир» типа А, эмульгаторы с различными значениями гидрофильно-липофильного баланса. В результате проведенных исследований была разработана оптимальная по составу композиция, содержащая до 35% масляного CO_2 – экстракта календулы [31].

Болгарскими учеными с использованием метода математического планирования эксперимента с двумя изучаемыми факторами, взятыми на трех уровнях, разработана технология получения экстрактов из ноготков для косметических препаратов. При этом исследована возможность применения в качестве растворителя гликолей, этанола и масла. Доказано, что

наибольшее влияние на извлечение биологически активных веществ оказывает такой фактор как температура процесса [37].

Широкое применение календулы лекарственной в косметологии подтверждается исследованиями Мулюгиной Р.Н. с соавт. по изучению противовоспалительной активности влажных салфеток для лечения акне. Данные влажные салфетки, содержат композиции компонентов растительного и синтетического происхождения антимикробного действия: экстракты календулы, ромашки, эфирное масло чайного дерева и хлоргексидин. В результате исследований, проведенных на крысах, выявлено ускорение времени выздоровления животных на 56% при полном подавлении гнойно-воспалительного процесса, при этом салфетки обладали слабым раздражающим действием [26,45].

Учеными Пятигорского медико-фармацевтического института разработано косметическое средство с комплексным извлечением из травы череды, цветков календулы и ромашки. Данное косметическое средство представляло собой лед, для приготовления которой использовали воду очищенную или минеральную без газа. Для достижения цели готовили настои из вышеперечисленных лекарственных растений и замораживали в полиэтиленовых формах. Установлено, что данное извлечение содержит дубильные вещества (7,85%), флавоноиды (0,031%), органические кислоты (7,79%) и аскорбиновую кислоту (5,30%) [40,8].

Как видно, отвары и настои из лекарственных растений являются одними из самых популярных лекарственных форм и используются в составе косметических средств (лосьонов, шампуней, кремов, средств для ванн, пропитки для влажных салфеток). Однако данные лекарственные формы очень нестойки и сохраняют микробиологическую чистоту только в течение 3 суток: со временем биологически активные вещества водных извлечений подвергаются химической деструкции и окислению. В связи с вышеизложенным, проводятся исследования по разработке способов стабилизации настоев и отваров. Так, например, Гаврилин М.В. с соавт. провели

исследования по изучению способов стабилизации водных извлечений из цветков ромашки, календулы и травы тысячелистника. В ходе экспериментов проводили количественное определение жизнеспособных бактерий и грибов, а также бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. В результате проведенных исследований доказано, что оптимальными условиями получения извлечений, сохраняющих постоянство качественных и количественных показателей в течение 2-х лет, являются: использование в качестве экстрагента – кипящей воды очищенной, микробиологическая стабилизация путем добавления нипагина в концентрации 0,15%, химическая стабилизация путем добавления натрия метабисульфита (0,5%) и трилона Б (0,5%) [11].

В настоящее время все более широкое применение находят препараты комбинированного состава, включающие в себя одновременно вытяжки из нескольких лекарственных растений.

Одним из подобных препаратов является ректальная мазь антигеморроидального действия, в которой в качестве активных ингредиентов содержатся водно-спиртовые экстракты гамамелиса, календулы, мяты. Действующими веществами данной композиции являются дубильные вещества и флавоноиды, обуславливающие ее терапевтическое действие. Так, благодаря наличию каротиноидов и флавоноидов календула оказывает противовоспалительное действие, флавоноиды и дубильные вещества гамамелиса обеспечивают антимикробное, вяжущее и венотонизирующее действие, а мята перечная – как спазмолитическое и противовоспалительное средство. В результате проведенных исследований предложен состав ректальной мази с экстрактом календулы, мяты и гамамелиса на эмульсионной основе, содержащей в качестве основы гель карбопола, вазелиновое масло, масло какао и эмульгатор базовый. Помимо приведенных выше растений, в антигеморроидальных препаратах также используются семена конского каштана, плоды облепихи, корневища аира болотного [5,6].

Учеными института общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ) изучено гепатозащитное влияние лекарственного сбора "календула-6", состоящего из цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), побегов пятилистника кустарникового (*Pentaphylloides Fruticosa* (L.) O.Schwarz), листьев мяты перечной (*Mentha piperita* L.), черных листьев бадана и корней бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch.), корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*). Для проведения исследований был приготовлен водный отвар данного сбора в соотношении 1:10. Полученные результаты подтверждают перспективы дальнейших исследований по изучению данного сбора для профилактики и лечения алкогольного гепатита и его осложнений [14].

Календула лекарственная входит в состав и другой композиции, названной "Баайкальский-6". Данная растительная композиция кроме цветков ноготков включает листья брусники, крапивы, толокнянки, траву горца птичьего и, следовательно, содержит целый комплекс биологически активных веществ: флавоноиды, витамины, фенологликозиды, дубильные вещества, тритерпены и др. Учеными Бурятского государственного университета разработан способ получения сухого экстракта, который обеспечивает полноценный перевод действующих веществ из растительного сырья. При получении фитоэкстракта учитывали такие факторы как тип и концентрация экстрагента, степень измельчения сырья, время достижения равновесной концентрации в системе экстрагент-сырье, кратность экстракции. В ходе исследований установлены оптимальные режимы экстракции: экстрагент- горячая вода (80⁰С), соотношение сырья и экстрагента 1:10 (12), степень измельчения для листьев брусники и толокнянки 2 мм, для листьев крапивы, травы горца птичьего и цветков ноготков 5 мм [46].

Широко применяются вытяжки из лекарственного растительного сырья при различных воспалительных заболеваниях полости рта. Необходимо отметить, что современные лекарственные препараты

синтетического происхождения обладают наряду с антимикробным действием и рядом недостатков, таких как, высокая сенсibilизирующая активность, высокий риск развития резистентности патогенной и сапрофитной микрофлоры и других побочных эффектов. В подобных случаях лекарственные препараты из растительного сырья при научно-обоснованном применении обладают преимуществами: эффективностью, мягкостью действия, безопасностью, широтой терапевтического действия. Основываясь на вышеприведенных данных, в Самарском государственном медицинском университете разработан состав нового комбинированного препарата на основе лекарственного растительного сырья, включающий цветки календулы лекарственной. Также в состав данного препарат входят вытяжки из таких растений как листья эвкалипта, трава эхинацеи, кора дуба и лекарственная субстанция – эвгенол. Данное лекарственное средство обладает антимикробным, противовоспалительным регенерирующим, кровоостанавливающим, иммунокоррегирующим и местным анестезирующим лечебно-профилактическим действием. По технологическому способу получения это сложная настойка, являющаяся суммарным спирто-водным извлечением из нескольких официальных видов растительного сырья. Состав был назван “Дентос” и на него был получен патент РФ. Также ими была разработана стоматологическая повязка на основе данного фитопрепарата [26,33,45].

Календула лекарственная используется не только в медицине и фармации. Ещё в Древнем Риме лепестки календулы применяли в кулинарии для придания блюдам золотисто-желтую окраску. Учитывая возмещение недоверия населения к пищевым красителям синтетического происхождения, во Владимирском государственном университете Орлиным Н.А. с соавт. доказано, что краситель из лепестков календулы можно получать двумя методами – масляной и спиртовой экстракцией. Для масляного извлечения измельченные лепестки календулы заливают растительным маслом в соотношении 1:10 и, помещая в установку для экстрагирования, экстраги-

руют в течение 40 мин при температуре 70⁰С. Оставляют на некоторое время, фильтруют. Полученный данным способом краситель в виде масляного экстракта был применен для окраски коровьего масла. Вторым методом – это спиртовая экстракция: для этого лепестки календулы заливают 96% этиловым спиртом и экстрагируют в течение 30 мин при температуре 50⁰С, полученную вытяжку фильтруют. Данное извлечение было использовано для окраски карамельных конфет [30].

А сотрудники Горского государственного аграрного университета Э.И.Рехвиашвили с соавт. исследовали биотехнологические аспекты производства хлебо-булочных изделий с добавлением порошка календулы лекарственной, обладающей сбалансированным составом питательных веществ и ценным комплексом витаминов. По результатам исследований установлено, что хлеб, приготовленный из пшеничной муки с добавлением порошка календулы лекарственной, обладает значительно лучшими органолептическими свойствами в сравнении с хлебом из муки высшего сорта. Полученный хлеб имеет лечебно-профилактическое назначение, т.к. обладает антиоксидантными свойствами и высокими физико-химическими показателями качества [33].

Учитывая тот факт, что календула лекарственная является местным растительным сырьем, разработка лекарственных препаратов на его основе – это одно из основополагающих направлений современной отечественной фармацевтической промышленности, позволяющих наполнить внутренний рынок отечественными лекарственными средствами [1,2].

3. Факторы, влияющие на терапевтическую эффективность препаратов в виде аппликационных лекарственных форм

Во второй половине XX века получила развитие наука, названная биофармацией, её основная задача обеспечение достижения максимального фармакотерапевтического эффекта разрабатываемых и внедряемых в практическое здравоохранение лекарственных препаратов и снижение до

минимума нежелательных побочных действий. Согласно принципам данной науки на терапевтический эффект влияют различные фармацевтические факторы, такие как физическое состояние лекарственного вещества, природа, физическое состояние и количество вспомогательных веществ, лекарственная форма, пути введения в организм и др. [60,79].

В аппликационных лекарственных формах одним из факторов, влияющих на полноту действия активного вещества, является основа-носитель, использованная при подборе состава препарата. В связи с этим, при разработке лекарственных средств, предназначенных для нанесения на кожные покровы или на слизистую оболочку, особое внимание уделяется компонентам, составляющим основу лекарственной формы.

Так, Беловым П.М. с соавт. были проведены исследования по разработке состава комбинированной мази противоревматоидного действия, в которой в качестве активных субстанций использованы экстракт травы горца птичьего, диметилсульфоксид, мефенаминовая кислота. По результатам биофармацевтических исследований *in vitro*, проведенные методом диффузии в желатиновый гель, доказано, что наибольший процент высвобождения действующих веществ наблюдался при использовании в качестве основы сплава ПЭГ, эмульсионной основы и бенецела (метилцеллюлоза, марка Е 15) [48].

Аналогичные исследования по изучению влияния такого фактора, как вид основы-носителя на высвобождения каротиноидов и терпеноидов с целью теоретического и экспериментального обоснования состава эмульсионной мази с маслом лоха были проведены Р.Дз.Кусовой. По результатам проведенных исследований выявлено, что интенсивность и полнота высвобождения активных субстанций зависит от вида использованного носителя. Так, к 7-ми часам наблюдались следующие значения высвобождения терпеноидов: из 20% эмульсионной мази – 83%, из 10 % мази - 75% и из геля на основе аэросила в концентрации 10 % - 62%. А при исследовании высвобождения каротиноидов выявлена следующая картина: через 8 часов

После начала эксперимента из 20% мази высвободилось 90%, из 10% мази – 68% и из геля 51% каротиноидов [22].

Учеными Пермской государственной фармацевтической академии изучено влияния биофармацевтических факторов на высвобождение лекарственных веществ из геля и пленок анестезирующего и реминерализирующего действия. Биофармацевтические исследования проводили методом диализа через полупроницаемую мембрану. Согласно полученным результатам доказано, что регулируя факторы, влияющие на полноту растворения лекарственных веществ, можно разрабатывать препараты с заданной скоростью дозирования и осуществлять новые подходы к их научно-обоснованному применению [9,74].

В Карагандинском государственном университете им. Е.А.Букетова разработана комбинированная ранозаживляющая мазь на гидрофильной основе. В данных исследованиях в качестве основ использовали такие сополимеры акриловой кислоты и ее производных, как β -ВОЭА АК с акриловой (АК) и метакриловой кислотами (МАК), терполимеры β -ВОЭА АК с моновиниловым эфиром моноэтаноламина (МВЭМЭА) и натриевой солью метакриловой кислоты (Na-МАК). По результатам изучения специфической активности полученных гелей отобраны наиболее оптимальные составы [75].

Ученые лаборатории мягких лекарственных форм ГНЦЛС разработали и предложили водорастворимые эфиры целлюлозы (метилцеллюлоза, оксипропилметилцеллюлоза, натрий карбоксиметилцеллюлоза). В ходе исследований проводили варьирование содержания данных эфиров в водных растворах, что позволило получить основы, имеющие консистенцию от легкотекучих жидкостей до твердых структурированных гелей. По результатам были получены однородные и стабильные лекарственные препараты [7].

Исследования по научно-обоснованному подбору составов мягких лекарственных форм были проведены в Запорожском государственном ме-

Запорожском университете. Изучено влияние основы-носителя на высвобождение дилтиазема из разработанных интраназальных мазей. По результатам исследования наиболее оптимальными оказались глицерогели на основе метилцеллюлозы, второе место принадлежало эмульсионной основе [22].

В настоящее время в состав современных аппликационных лекарственных форм с целью улучшения всасывания действующих веществ вводят различные активаторы и пенетранты, такие как натрия лаурилсульфат, димексид и др. Согласно проведенным исследованиям натрия лаурилсульфат способствует увеличению резорбции микрокристаллического сульфамидного пиридазина из гидрофильной основы. Показана, способность диметилсульфоксида легко проникать через неповрежденную кожу, транспортировать, депонировать и пролонгировать при этом поступление лекарственных веществ в организм [28,35,36,39].

В последние годы при выборе основы-носителя ученые все чаще используют методы математического планирования эксперимента, в которых в качестве фактора используют различные виды основы, а в виде отклика — высвобождения *in vitro*. Так, сотрудниками Запорожского государственного медицинского университета проведены исследования по научному обоснованию вида основы-носителя в разработанных мазевых композициях по плану однофакторного дисперсионного анализа с повторным наблюдением. Установлено, что по влиянию использованных основ на полноту высвобождения активного вещества — дилтиазема их можно расположить в следующий ряд: метилцеллюлоза > моноглицериды дистиллированные > полиэтиленоксиды > вазелин-ланолиновая основа. При этом разница в высвобождении дилтиазема из мазей на основе метилцеллюлозы и вазелин-ланолиновой основе в процентном выражении составила более 40% [12].

Использование метода математического планирования практикуют и сотрудники Запорожского государственного медицинского университета.

Ими были разработаны линименты-гели, в которых в качестве гелеобразователей применены желатин, проксанол-ПЭО, энтеросгель, метилцеллюлоза и поливинилпирролидон. С использованием метода равновесного диализа по Кривчинскому установлено, что наилучшее высвобождение обеспечивает носитель на основе поливинилпирролидинового глицерогеля. Следующие результаты у метилцеллюлозы и энтеросгеля. Наихудшими в данных исследованиях оказались желатин и проксанол-ПЭО [10].

Аналогичные исследования проводятся и в Ташкентском фармацевтическом институте. Так, Ё.С.Кариевой и Ф.Х.Максудовой проведены исследования по разработке научно-обоснованных составов моноактивных 3 и 5% гелей диклофенака натрия и комбинированных гелей диклофенака натрия и бензкетозона – методом однофакторного дисперсионного анализа с повторными наблюдениями. Высвобождение диклофенака натрия определялось методом равновесного диализа по Л.Кривчинскому. В качестве полупроницаемой мембраны использовали целлофан с толщиной 50 мкм. В ходе проведенных экспериментов выявлено, что наибольший процент высвобождения активной субстанции наблюдался при применении в качестве гелеобразователя карбопола [25,38].

Учитывая вышеизложенное, научно-обоснованный подход к выбору вида и количества использованной основы-носителя является основополагающим для достижения максимального эффекта аппликационных лекарственных форм.

Выводы по главе I

1. Лекарственные препараты на основе растительного сырья обладают широким спектром терапевтического действия, минимальными нежелательными и побочными действиями, безопасностью и доступностью. В сравнении с синтезированными средствами они легче усваиваются и assimилируются организмом, их можно использовать при лечении хронических заболеваний, т.е. применять в течение длительного времени. Выше-

указанные преимущества подтверждают актуальность разработки лекарственных препаратов из растительного сырья.

2. Календула лекарственная – одно из наиболее широко используемых с древних времен отечественное лекарственное растение. По результатам многочисленных исследований доказана ее антимикробная, ранозаживляющая, противовоспалительная, противовирусная, регенерирующая активности. Несмотря на широкий фармакотерапевтический эффект биологически активных веществ данного растения спектр выпускаемых во всем мире лекарственных форм на его основе невелик.

3. Биологическая доступность активных веществ из аппликационных лекарственных форм зависит от многих факторов. Основным среди них является вид и количество использованной основы-носителя, в частности гелеобразователя.

Таким образом, проведение исследований по подбору состава и разработке технологии, качественного, терапевтически эффективного и стабильного при хранении противовоспалительного, ранозаживляющего геля на основе настойки календулы лекарственной является одной из актуальных задач современной фармацевтической науки.

ГЛАВА II. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Объекты исследований: основные и действующие вещества

Настойка календулы – (ФС 42 Уз-0153-2011) – прозрачная жидкость желтовато-бурого цвета со специфическим запахом, горьковатого вкуса. Должна содержать сухого остатка не менее 2,1%, спирта этилового не менее 65,0%. Содержание тяжелых металлов не более 0,001%. Содержание дигликозида изорамнетина в настойке календулы лекарственной должно быть не менее 0,05%. В медицине используется как антисептическое и противовоспалительное средство.

Вода очищенная – (ФС 42 Уз-0511-2012) – бесцветная, прозрачная жидкость без запаха и вкуса, pH 5,0-6,8. Вода не должна давать реакции на хлориды, сульфаты, кальций и тяжелые металлы.

Карбопол – гигроскопичный белый хлопьевидный порошок, слабокислой реакции, объемная плотность – 208 кг/м^3 , размер частиц твердого полимера – 2-7 мкм, каждая частица представляет собой трехмерную сетчатую структуру из сплетенных цепей полимера. Набухание в воде достигает от 150 до 250%. Величина pH 1% водной дисперсии равна 2,5-3,5. Широко используется в производстве гелей, поскольку обладает следующими достоинствами: высокая вязкость гелей при низких концентрациях полимера, термическая и микробиологическая устойчивость, совместимость со многими лекарственными веществами, возможность получения гелей с широким диапазоном pH от 4 до 10, отличные суспендирующие и эмульгирующие свойства, гипоаллергенность, тиксотропность, легкость нанесения и удаления с кожных покровов, высокая абсорбция лекарственных веществ.

Аэросил – (кремния диоксид коллоидный) – рыхлый порошок белого или белого с голубым оттенком цвета, без запаха, при взбалтывании с водой образует смесь, обладает адсорбционными свойствами. Плотность 2360 кг/м^3 , содержание влаги не более 1,5%, массовая доля оксида железа – не более 0,003%, алюминия – не более 0,05%, титана – не более 0,02%.

Натрия карбоксиметилцеллюлоза $-[C_6H_7O_2(OH)_{3-x}(OCH_2COONa)_x]_n$ (ОСТ 6-05-386-73 или др. имп.) - белый или слегка желтоватый, гигроскопичный порошкообразный или волокнистый продукт без запаха и вкуса, с насыпной массой 400-800 кг/м³, плотностью 1,59 г/см³. Показатель преломления – 1,515. Степень замещения –ОН групп -0,4-1,2 (в пересчете на одно элементарное ядро). Степень полимеризации 200-1500. Водопоглощение при 25⁰С и 50% относительной влажности – 38%. Температура размягчения натрия КМЦ – 170⁰С, при более высоких температурах она разлагается. Данное высокомолекулярное соединение в холодной и горячей воде набухает с последующим растворением, образуя высоковязкие водные растворы. В водных растворах является полиэлектролитом и обладает свойствами защитных коллоидов. Натрия КМЦ способна к ионным реакциям. Взаимодействие натрия КМЦ с различными веществами в значительной мере зависит от степени её замещения, а также от структуры и свойств лекарственных веществ.

Метилцеллюлоза - $[C_6H_7O_2(OH)_{3-x}(OCH_3)_x]_n$ - эфир целлюлозы и метанола, белый аморфный порошок. Растворима в холодной (до 50⁰С) воде, некоторых органических кислотах, спиртах и эфирах. Нерастворима в большинстве органических растворителей.

Глицерин – (ФСП 42 Уз-23325453-2306-2013) – прозрачная, бесцветная, густая гигроскопическая жидкость, без запаха или со слабым своеобразным запахом, с относительной плотностью 1,229-1,233 и показателем преломления 1,4710-1,4744. Смешивается с водой и 95% спиртом во всех соотношениях, мало растворим в эфире, практически нерастворим в жирных маслах. Глицерин в фармации применяется в качестве растворителя, вводится в состав мазей, гелей и паст во избежание их высыхания.

Диметилсульфоксид (ДМСО)- (НД 42 Уз-9272-20126, ВР, USP) химическое вещество с формулой - $(CH_3)_2SO$. Вязкая бесцветная жидкость или бесцветные кристаллы с характерным запахом, смешиваются в любых соотношениях с водой, этанолом, бензолом, хлороформом, плотность

1.1004 г/см³, вязкость составляет 1,996 спз (20°C). Диметилсульфоксид при смешивании с водой сильно нагревается. Кристаллы плавятся при температуре 18,5°C, жидкость закипает при температуре 189°C.

В терапии воспалительных процессов диметилсульфоксид применяется в виде водных растворов (10-50%), как местное противовоспалительное и обезболивающее средство, а также в составе мазей - для увеличения трансдермального переноса действующих веществ (пенетрирующее свойство), поскольку за несколько секунд проникает через кожу и переносит другие вещества [35,39].

Пропиленгликоль – (C₃H₈O₂) – молекулярная масса 76,09, плотность – 1,036 г/см³, температура плавления – 59°C, температура кипения – 188,2°C. Это бесцветное органическое соединение, почти без запаха, прозрачное, вязкое со слабо выраженным сладким вкусом, также называемое 1.2-пропандиол, пропан-1,2-диол или α-пропиленгликоль. По внешнему виду он представляет собой гигроскопичную бесцветную жидкость, растворимую в воде, этаноле, диэтиловом спирте, ацетоне и хлороформе.

Полиэтиленоксид-400 – продукт полимеризации окиси этилена с этиленгликолем. Представляет собой бесцветную или желтоватую жидкость, вязкость 39-45 сантипуаз, рН водного раствора с массовой долей основного вещества 5% - 5,0-7,5, среднее значение молекулярной массы - 380-440. Находит широкое применение в технологии мягких лекарственных форм, таблеток и капсул.

2. Методы исследования

Качественные показатели разработанного геля изучали согласно требованиям общей фармакопейной статьи «Мази» (ГФ XI, том.2) и соответствующей НД.

Значение рН водного извлечения геля (1:10) изучали потенциометрическим методом, согласно ГФ XI, с использованием потенциометра «Mettler Toledo» (Германия). Реологические свойства геля исследовали при по-

мощи ротационного вискозиметра «Реотест-2» с использованием ячейки, состоящей из системы соосных цилиндров S/S1 с константой $Z=5,6$ при температурных факторах равных 25°C , 40°C и 55°C .

Количественное содержание действующего вещества в предлагаемом геле изучали спектрофотометрически на приборе спектрофотометр марки Spekol 2000 243C115G («Analytik Jena», Германия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с определением критерия Стьюдента с помощью статистических программ Windows Excel 2010.

Исследования биофармацевтических показателей в экспериментах *in vitro* проводили методом Кривчинского. В качестве полупроницаемой мембраны использовали целлофан (марка МС АТ-100), толщиной 50 мкм. Диализной средой служила вода очищенная. Исследования проводили в условиях термостатирования $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$: температуры, необходимой для протекания диффузии лекарственных веществ через мембрану.

Специфическую (противовоспалительную) активность, острую токсичность и местно-раздражающее действие изучали при помощи специальных фармакологических тестов совместно с сотрудниками лаборатории фармакологии института Биоорганической химии им. Акад. О.С.Садыкова АН РУз. Стабильность разработанного геля изучали в условиях естественного хранения и методом «ускоренного старения» согласно инструкции И-42-2-82.

Выводы по главе II

В данной главе приводятся данные по активным и вспомогательным веществам, использованным при подборе состава разработанного геля. Также приведены сведения о методиках и лабораторном оборудовании, использованном при оценке качественных и количественных характеристик, изучении реологических и биофармацевтических показателей, определении сроков годности и условий хранения предлагаемой лекарственной формы.

ГЛАВА III. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ТЕХНОЛОГИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЮ КАЧЕСТВЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ НАСТОЙКИ КАЛЕНДУЛЫ

1. Подбор состава, разработка технологии и определение качественных показателей гелей на основе настойки календулы

В разрабатываемом геле противовоспалительного действия в качестве активной субстанции была использована настойка календулы в массовой доле 10%. Количество массовой доли было определено в соответствии с данными, полученными при анализе литературных источников и согласно, рекомендациям фармакологов.

Как известно, до 80% от общей массы мягких лекарственных форм составляют основы-носители. Вид основы-носителя оказывает непосредственное влияние на терапевтическую активность разрабатываемой лекарственной формы. Данный факт доказан многочисленными биофармацевтическими исследованиями. Нами при подборе состава гелевой лекарственной формы, содержащей в качестве активной субстанции настойку календулы, были использованы основы, составы которых были наиболее удачными в исследованиях отечественных и зарубежных ученых. Одно из основных требований, предъявляемых к современным лекарственным препаратам, кроме качества и эффективности, это экономическая доступность для пациентов. В связи с этим, нами были выбраны основы, в составе которых использованы преимущественно вспомогательные вещества либо производимые на территории республики, либо, завозимые местными производителями. В состав основ входят гелеобразователи, пластификаторы, растворители, корректоры значения pH, консерванты и др. Так, в качестве гелеобразователей использовали метилцеллюлоза (МЦ), натрий карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ), карбопол, аэросил, в качестве пластификаторов - глицерин, пропиленгликоль и др. Поскольку настойка календулы приготовлена на спиртовой основе, следовательно введение консервирующего

агента не требуется. Составы приготовленных гелей приведены в таблице 2.1.

Таблица 2.1

Состав геля на основе настойки календулы

Ингредиенты, г	Составы							
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8
Настойка календулы	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Аэросил					15,0		4,0	10,0
Карбопол	1,0					1,5		
Na-КМЦ			6,0				3,0	
МЦ				6,0				
Пропиленгликоль	7,0	5,0				8,0		
Глицерин	10,0	5,0	10,0	10,0	10,0	8,0	30,0	46,0
Диметилсульфоксид	10,0				10,0		5,0	10,0
Полиэтиленоксид-400		35,0						
10% раствор натрия гидроксида	0,5					0,5		
Вода очищенная	до 100,0	до 100,0	до 100,0	до 100,0	до 100,0	до 100,0	до 100,0	до 100,0

При разработке технологии данных гелей исходили из растворимости компонентов, степени набухания гелеобразователя и других физико-химических свойств использованных вспомогательных веществ.

В гелях составов № 5, 7 и 8 в качестве гелеобразователя использовали аэросил в различной концентрации. Во всех этих композициях также использовали разное количество глицерина (пластификатор) и диметилсульфоксида (пенетрант). Для приготовления гелей № 5 и 8 аэросил смешивали с глицерином, перемешивали до полученной однородной массы, добавляли смесь настойки и димексида. В составе №7 помимо аэросила гелеобразователем явилась и натрий карбоксиметиллцеллюлоза в концентрации 3%, т.е. применяли комплексный гелеобразователь. В данном составе натрий-карбоксиметиллцеллюлозу заливали водой очищенной и оставляли набухать в течение 30-60 минут. Далее поступали как в предыдущих составах.

В составах №3 и 4 гелеобразующим агентом являлись производные целлюлозы: метилцеллюлоза или натрий-карбоксиметилцеллюлоза, которые оставляли набухать приблизительно в течение 30-60 минут, далее добавляли пластификатор, в данном случае, глицерин, перемешивали, далее по частям добавляли настойку календулы, гомогенизировали.

В составе №2 был применен полиэтиленоксид -400 в качестве гелеобразующего компонента. Первоначально готовили гель полиэтиленоксида, далее добавляли пропиленгликоль, глицерин и по частям настойку календулы.

При использовании в качестве гелеобразователя карбопола (составы №1 и 6), его заливали рассчитанным количеством воды очищенной, оставляли набухать на 5-6 часов, пропиленгликоль смешивали с глицерином, диметилсульфоксидом и настойкой календулы, соединяли две массы, перемешивали до получения однородной массы.

Все приготовленные гели оставляли на 48 часов. По истечении времени визуально проверяли смешиваемость компонентов, взаимное влияние вспомогательных веществ. Так, через 48 часов наблюдалось расслоение гелей по составу №2 и 3. В остальных гелевых композициях визуальных изменений не было отмечено.

Таким образом, из приготовленных 8-ми гелей, для дальнейших исследований были отобраны гели по 6-ти составам.

На следующем этапе исследований были изучены качественные характеристики гелей по 6-ти вышеприведенным составам. При этом определяли такие показатели как внешний вид (цвет, запах), однородность, значение pH водного извлечения, термо- и коллоидная стабильность, потеря в массе при высушивании.

Органолептические показатели изучаемых гелей определяли визуально, показатель однородности проверяли согласно методике ГФ XI, с. 720. Величину pH водного извлечения измеряли потенциометрическим методом ГФ XI, вып.2. с.114-115 (pH-метр «Metler Toledo», Германия). Изуче-

ние остальных показателей проводили согласно общепринятым методикам, приведенным в НТД. Полученные результаты приведены в таблице 2.2. Номера составов соответствуют номерам, приведенным в таблице 2.1. В соответствии с данными, полученными в ходе проведения исследований, анализируемые гели однородны, с характерным растительным запахом каендулы от темно-песочного до коричневого цвета, имеющие различную степень вязкости. Учитывая способ применения гелей, нами было решено исключить из дальнейших исследований составы №1 и №7, которые не имели требуемой вязкости, т.е. количество использованного гелеобразователя было недостаточно.

Поскольку гели наносятся на поверхность кожи, то они должны иметь такое значение pH, которое не будет оказывать раздражающего действия. Следовательно, значение pH должно находиться в пределах от 5,5 до 7,0. Для определения данного показателя 5 г геля смешивали с 10-кратным количеством горячей воды (50 мл), взбалтывали, фильтровали и определяли значение pH на pH-метре. Значения pH водного извлечения всех анализируемых прописей находились в пределах 5,5-6,7, т.е. данные гелевые композиции не будут оказывать отрицательного влияния на кожные покровы.

Лекарственные препараты, предназначенные для нанесения на кожу и слизистые оболочки должны обладать стабильностью при центрифугировании и к изменениям температуры. Данные показатели были использованы для всех анализируемых гелей. Подтверждение наличия или отсутствия коллоидной стабильности проводили центрифугированием образцов гелей в течение 5 минут при скорости вращения центрифуги 1500 об/мин. Гели по всем 6-ти прописям обладали коллоидной стабильностью.

В отдельной серии экспериментов определяли термостабильность, для чего образцы анализируемых гелей оставляли в термостате в течение 6 часов при температуре $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Неустойчивыми к нагреванию оказались гели составов №4 и №7, они были исключены из следующих исследований.

Таблица 2.2

Оценка качественных характеристик гелей, содержащих настойку календулы

Составы	Анализируемые показатели					
	внешний вид	однородность	коллоидная стабильность	термостабильность	значение pH водного извлечения	потеря в массе, %
1	2	3	6	5	6	7
№1	Прозрачный гель светло-коричневого цвета жидкой консистенции с характерным запахом календулы	соотв-ет	расслоение не наблюдалось	наблюдалось не расслоение	5,9	9,06
№4	Прозрачный гель темно-песочного цвета с характерным запахом календулы	соотв-ет	расслоение не наблюдалось	наблюдалось расслоение	6,7	7,34
№5	Полупрозрачный гель светло-коричневого цвета вязкой консистенции с характерным запахом календулы	соотв-ет	расслоение не наблюдалось	расслоение не наблюдалось	6,7	8,20
№6	Прозрачный гель светло-коричневого цвета с характерным запахом календулы	соотв-ет	расслоение не наблюдалось	расслоение не наблюдалось	6,3	8,16
№7	Гель коричневого цвета жидкой консистенции с характерным запахом календулы	соотв-ет	расслоение не наблюдалось	наблюдалось расслоение	5,5	9,72
№8	Полупрозрачный гель светло-коричневого цвета с характерным запахом календулы	соотв-ет	расслоение не наблюдалось	расслоение не наблюдалось	6,2	8,86

Для гелей одним из основных показателей качества является такая характеристика как потеря в массе при высушивании, поскольку в неплотной упаковке или при хранении при повышенной температуре за счет потери воды, входящей в состав геля, в результате испарения возможна потеря пластичности, увеличение вязкости и других реологических показателей. Согласно нормативной документации этот показатель не должен превышать 14%, во всех анализируемых гелях данная характеристика составила от 8,16% до 9,72%.

По результатам проведенных исследований всем определяемым качественным показателям предъявляли соответствующим требованиям гели по составам №5, 6, 8. Эти гели были использованы в дальнейших исследованиях.

2. Количественное определение биологически активного вещества в разработанном геле противовоспалительного действия

На сегодняшний день при стандартизации субстанций и приготовленных из них лекарственных препаратов применяют современные высокоэффективные методы, такие как различные виды хроматографии (высокоэффективная жидкостная хроматография, газовая хроматография), спектрофотометрия и др.

Как известно, цветки календулы, как и сырье, имеет богатый химический состав, однако настойка календулы анализируется по содержанию суммы флавоноидов, в пересчете на рутин. Согласно литературным данным, при определении количественного содержания действующих веществ в настойке календулы и препаратах на ее основе используется спектрофотометрический метод. Учитывая вышеизложенное, было решено в анализируемом геле по составам №5, 6, 8 определить количественное содержание суммы флавоноидов.

Методика количественного определения суммы флавоноидов. 1 г геля помещали в мерную колбу объемом 25 мл, прибавляли 5 мл 96%

спирта этилового, 5 мл 5% раствора алюминия хлорида в 70% спирте этилового и перемешивали. Через 10 мин прибавляли 2мл 5% раствора уксусной кислоты в 70% спирте этилового, доводили объем раствора 70% спиртом этиловым до отметки и перемешивали. Через 30 мин измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектофотометре при длине волны 408 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора-сравнения раствор, состоящий из 1 мл препарата, 5мл 96% спирта этилового Р и 2мл 5% раствора уксусной кислоты в 70% спирте этиловом, который помещен в мерную колбу емкостью 25мл и доведен 70% спиртом этиловым до отметки.

Параллельно через 30 мин измеряли оптическую плотность раствора, содержащего 1 мл раствора сравнения (раствор стандартного образца рутина), приготовленного аналогично испытуемому раствору, используя как компенсационный раствор – раствор, который состоит из 1 мл раствора сравнения, 2мл 5% раствора уксусной кислоты в 70% спирте этиловом, который помещен в мерную колбу емкостью 25 мл и доведен 70% спиртом этиловым до отметки.

Содержание суммы флаваноидов (X) в геле при перерасчете на рутин в % в 1 г рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D_1 * m_0 * 25 * 25 * 100}{D_0 * m_1 * 1 * 50} = \frac{D_1 * m_0 * 25 * 25 * 2}{D_0 * m_1};$$

где D_1 - оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность РСО рутина;

m_1 - масса навески геля, в граммах;

m_0 -масса СО рутина, в граммах.

Содержание суммы флаваноидов в пересчете на рутин в геле должно быть не менее 0,05%.

Приготовление раствора СО: 25 мг (точная навеска) СО рутина высушенного при температуре 135⁰ С до постоянного веса, помещали в мерную колбу емкостью 100 мл, растворяли в 80мл 96% спирта этилового

при нагревании на водяной бане, после охлаждения доводили объем раствора тем же растворителем до отметки и перемешивали. Срок хранения раствора 1 месяц при хранении в хорошо укупоренной таре в прохладном, защищенном от света месте.

Приготовление 5% раствора алюминия хлорида: 5г алюминия хлорида помещали в мерную колбу объемом 100мл, растворяли в 35мл 70% спирта этилового, доводили объем раствора 70% спиртом этиловым до отметки и перемешивали. Срок хранения раствора 5 суток.

Приготовление 5% раствора кислоты уксусной: в мерную колбу объемом 100 мл с 70% спиртом этиловым помещали 5 мл кислоты уксусной ледяной и 70% спиртом этиловым доводили объем до отметки, перемешивали. Срок хранения раствора суток.

Результаты определения количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин, для анализируемого геля по трем составам приведены в таблице 2.3.

Таблица 2.3

Результаты количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин, в гелях на основе настойки календулы (n=5)

гель на основе настойки календулы по составу	Найденное количество, %	Метрологические характеристики
Состав №5	0.0583	$\bar{X}_{ср}=0.0587$ $S=0,000666$ $\Delta x_{ср}= 0,00165$ $E_{ср}=2,81\%$
	0.0595	
	0.0584	
Состав №6	0.0597	$\bar{X}_{ср}=0.0604$ $S=0,000650$ $\Delta x_{ср}= 0,00162$ $E_{ср}=2,68\%$
	0.0604	
	0.0610	
Состав №8	0.0618	$\bar{X}_{ср}=0.0617$ $S=0,000348$ $\Delta x_{ср}= 0,00150$ $E_{ср}=2,42\%$
	0.0623	
	0.0611	

Количество суммы флавоноидов в анализируемом геле составило от 0,1439% до 0,1573%. В нормативной документации на настойку календулы (ФС 42 Уз-0153-2011) указано, что содержание суммы флавоноидов в настойке в пересчете на рутин должно быть не менее 0,05%, было решено оставить данный критерий и для геля по предлагаемому нами составу на основе данной настойки.

Данные, приведенные в таблице 2.3, доказывают возможность применения спектрофотометрического метода количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в разработанном геле: метод отличается достаточной чувствительностью, небольшой погрешностью и несложностью выполнения.

Выводы по главе III

1. Были приготовлены гели на 8-ми основах, составы которых широко освещены в современных научных разработках и применяются в фармацевтической практике. По результатам изучения взаимодействия компонентов гелей, два состава были исключены из дальнейших исследований.
2. Для гелей по остальным составам были проведены эксперименты по определению качественных показателей: органолептические показатели, однородность, значение pH водного извлечения, термо- и коллоидная стабильность, потеря в массе при высушивании. По полученным результатам для дальнейших исследований отобраны гели по 3-м составам.
3. Методом спектрофотометрии определено количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в анализируемом геле на основе настойки календулы, проведена метрологическая характеристика полученных данных. Доказано, что данный метод может быть использован для количественной оценки предлагаемого геля.

ГЛАВА IV. БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗРАБОТАННЫХ ГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ НАСТОЙКИ КАЛЕНДУЛЫ

1. Биофармацевтические исследования разработанных гелей на основе настойки календулы в опытах *in vitro*

Начиная с 70-гг прошлого столетия, всё большее значение приобретают исследования биофармацевтических показателей для разрабатываемых лекарственных форм препаратов. Многочисленными исследованиями доказано влияние различных факторов на биологическую доступность препаратов. Среди данных факторов необходимо отметить роль вспомогательных веществ. В связи с этим, при подборе состава и разработке технологии лекарственных средств большое внимание уделяется изучению биофармацевтических показателей в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

Для оценки биофармацевтических показателей аппликационных лекарственных форм (мази, гели) в экспериментах *in vitro* используются приборы, принцип действия которых основан на процессах распределения и диффузии [12,20,24,43,52]. На процент высвобождения активного вещества из мягких лекарственных форм оказывают влияние различные факторы, такие как способность компонентов основ-носителей высвобождать активные вещества, способность этих веществ проникать через слои кожи и распределяться по тканям и т.д. немаловажная роль при этом отводится коже, которая выполняет роль своеобразного барьера. Для проведения исследований *in vitro* для гелей на основе настойки календулы был использован наиболее широко распространенный и несложный в применении метод равновесного диализа по Л.Крувчинскому. Данные исследования были проведены для гелей 3-х составов, выбранных по результатам изучения качественных и количественных показателей.

В качестве полупроницаемой мембраны использовали целлофан с толщиной 50 мкм. Диализной средой служила вода очищенная. Чтобы предотвратить испарения диализной среды химический стакан с диализной средой закрывали. Поскольку для протекания процесса диффузии актив-

ных веществ через мембрану необходима температура равная $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$: исследования проводили при термостатировании.

Навеску гелей (1 г для всех анализируемых составов) с помощью шпателя наносили равномерно на поверхность выбранной мембраны, которую далее закрепляли неподвижно на конце диализной трубки. Диализную трубку укрепляли в химический стакан, содержащий соответствующую среду, погружая её на 2 мм в среду.

После каждого отбора проб, которые производили через 3, 6 и 9 часов, объем диализной среды восполнялся. Для определения количественного содержания суммы флавоноидов, продифундировавших в диализат использовали спектрофотометрический метод. Методика определения количественного содержания действующего вещества приведена в подглаве 3.2. Результаты исследований *in vitro* приведены в таблице 4.1 и отображены на рисунке 4.1.

Таблица 4.1

Результаты высвобождения действующего вещества из гелей на основе настойки календулы методом равновесного диализа по Л.Крувчинскому

Исследуемые гели	Количество высвободившегося активного вещества, %		
	3 ч	6 ч	9 ч
Состав №5	18,9	44,3	53,6
Состав №6	31,1	51,7	62,9
Состав №8	27,6	45,6	58,4

Данные, приведенные в таблице 3.1 и на рис. 3.1. свидетельствуют об интенсивном высвобождении активного вещества из всех анализируемых гелей. Так, за первые 3 часа из гелей по трем составам продиффундировало 27,6%, 31,1% и 18,9% для составов №5, №6 и №8, соответственно. По истечении 6-часов эксперимента данные показатели составили 45,6%, 51,7% и 44,3%. К окончанию эксперимента (через 9 часов после его начала) из всех гелей выделилось более 50% от заявленного количества действующе-

го вещества. Максимальное высвобождение наблюдалось у геля по составу №6 (гелеобразователь - карбопол в концентрации 1,5%), следующие гели по составу №8 (гелеобразователь - аэросил в концентрации 10%) и №5 (гелеобразователь - аэросил в концентрации 15%).

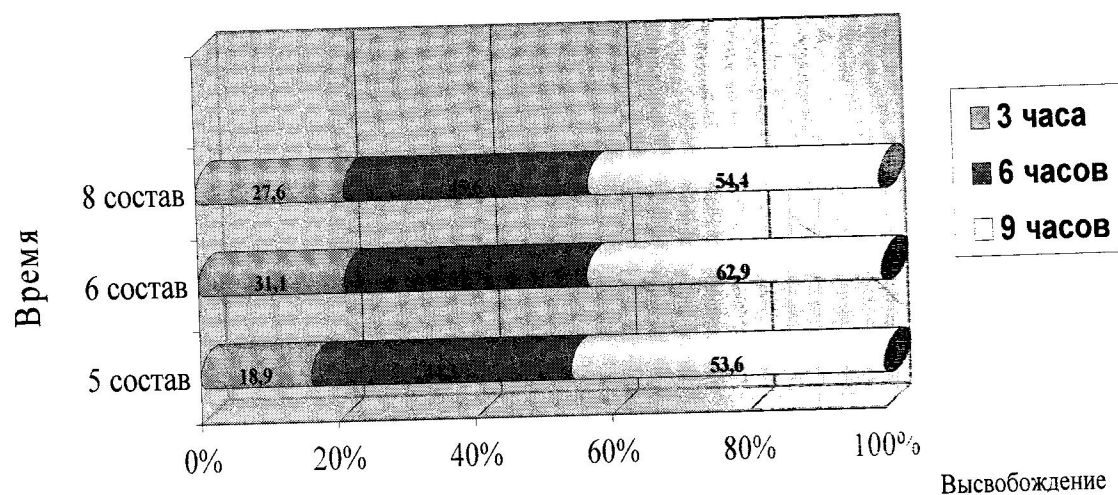


Рис.4.1. Результаты высвобождения активных веществ из анализируемых гелей на основе настойки календулы

На основании полученных данных нами был предложен следующий состав для геля, содержащего настойку календулы:

Настойка календулы - 10,0

Карбопол -1,5

Пропиленгликоль – 8,0

Глицерин - 8,0

Р-р натрия гидроксида – 0,5

Вода очищенная - до 100,0

На рисунке 4.2 приведена схема технологического процесса геля на основе настойки календулы по приведенному составу.

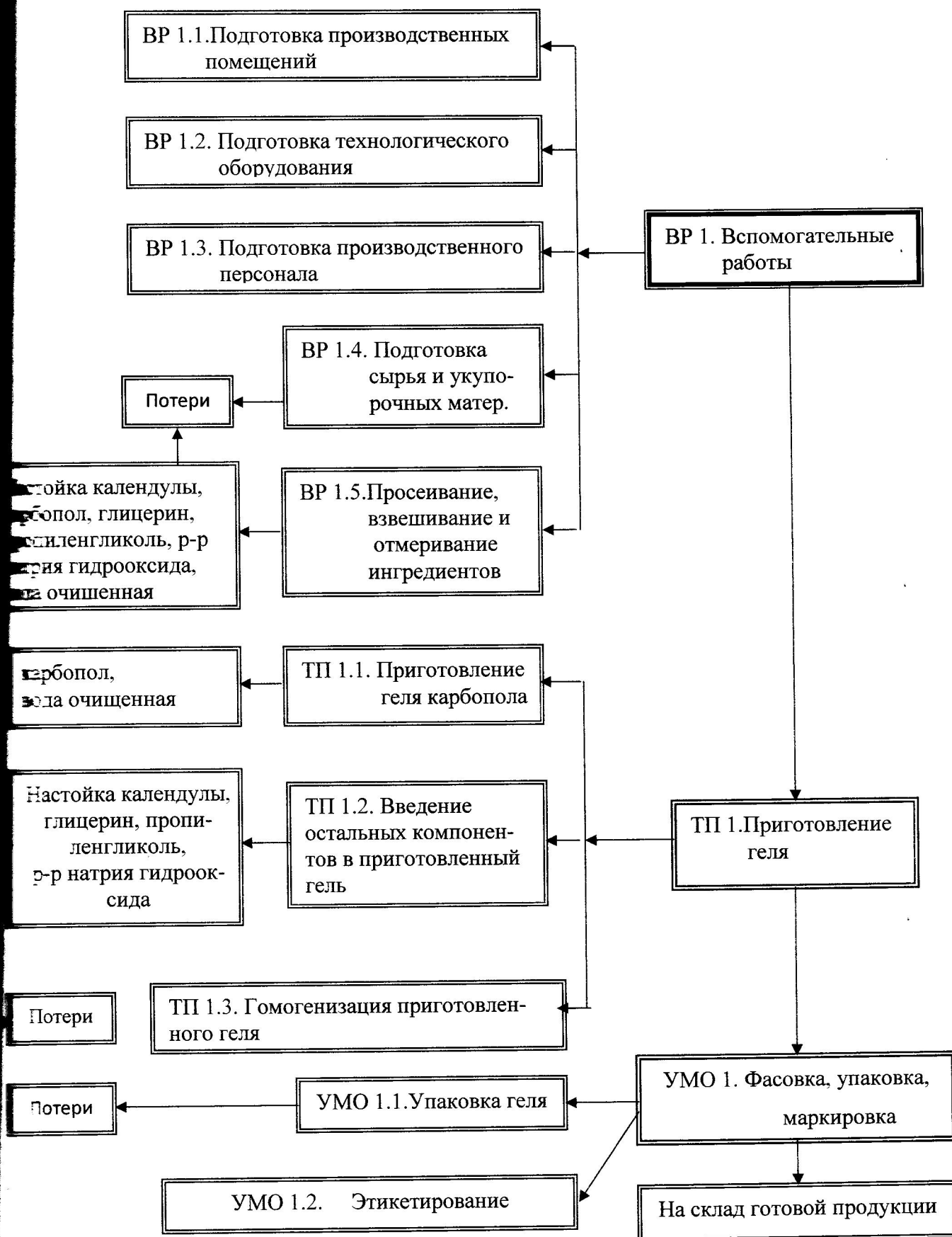


Рис. 4.2. Схема технологического процесса геля на основе настойки календулы

2. Биофармацевтические исследования предлагаемого геля в опытах *in vivo*

Как известно, разработанная лекарственная форма должна не только обеспечивать удобство применения, постоянство качественных и количественных показателей препарата, но и способствовать проявлению максимального фармакологического действия, при отсутствии или минимальном проявлении побочного действия. Целью очередных исследований явилось изучение биофармацевтических показателей разработанного геля, содержащего настойку календулы в экспериментах *in vivo*.

Как известно действие препаратов на основе вытяжек из растительного сырья определяется биологически активными веществами, входящими в состав самого растения, и, соответственно, перешедших в данные извлечения. Поскольку настойка календулы обеспечивает в основном антисептическое и местное противовоспалительное действие было решено провести исследования по изучению специфического противовоспалительного действия геля на основе вышеуказанной настойки. В качестве препарата сравнения использовали мазь Живокоста (окопника), произведенную ООО «ДКП «Фармацевтическая фабрика» (Украина) и зарегистрированную в РУз (Б-250-95 №11508, 19.11.12). Статистическую обработку полученных данных проводили с определением критерия Стьюдента с помощью статистических программ Windows Excel 2010.

Таким образом, целью очередных исследований явилось изучение влияния геля на основе настойки календулы на экссудативное воспаление вызванное введением каррагинина. Опыты проводили на крысах самцах массой тела 150 ± 15 г. Каррагинин вводили субплантарно (подподошвенно) в заднюю правую лапку по 0,1мл 1% раствора. Изучаемый гель на основе настойки календулы и мазь Живокоста (окопника) наносили на правую лапку за час до введения каррагинина и после каждого измерения. Выраженность воспалительной реакции оценивали через 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 и

24 часа после индукции воспаления по изменению объема лапы (онкометрически).

Отек выражали в процентах по отношению к исходному объему лапок до введения флогогена. Активность исследуемых препаратов определяли по их способности уменьшать развитие отека по сравнению с контролем, и выражали в процентах, что отражало степень угнетения данным веществом развития отека по отношению к контролю, где величину отека принимали за 100% .

Антиэкссудативную активность геля на основе настойки календулы определяли по их способности уменьшать развитие отека по сравнению с контролем, и выражали в процентах, что отражало степень угнетения данным веществом развития отека по отношению к контролю, где величину отека принимали за 100%.

$$A = 100\% - \frac{(V_{00} - V_{30}) * 100}{V_{0k} - V_{3k}} \quad [20].$$

Полученные данные приведены в таблицах 4.2 и 4.3.

Таблица 4.2

Влияние геля на основе настойки календулы на динамику воспаления у крыс на модели экссудативного воспаления вызванного каррагенином (прирост объема конечностей, % относительно исходного, $M \pm m$; $n=6$).

Препарат, доза	Время после инъекции, часы					
	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	24,0
Контроль, %	42±4,0 100	68±3,6 100	89±6,6 100	76±2,0 100	53±2,2 100	27±1,4 100
Гель на основе настойки календулы, %	20±1,7* 43	33±2,2* 48,5	27,0±2,0 * 30	17±1,2* 22,4	10±1,0* 18,9	20±0,1* 7,4
мазь Живокоста (окопника) %	34±3,2 81	27±2,5 40	25±2,5* 28	15±0,6* 20	10±3,5* 18,9	14±0,1* 5,2

* $P < 0,05$ по отношению к контролю.

Таблица 4.3

Антиэкссудативная активность и прирост объема лапок крыс при применении геля на основе настойки календулы ($M \pm m$; $n=6$)

Вещества	Прирост объема лапки через 3,0 часа после индукции, %	Антиэкссудативная активность, %
Контроль, %	$89 \pm 3,6$	-
Гель на основе настойки календулы, %	$27,0 \pm 2,0^*$	71
мазь Живокоста (окопника), %	$25 \pm 2,5^*$	74

* $P < 0,05$ по отношению к контролю.

Данный эксперимент дает представление о влиянии препарата на действие продуктов арахидоновой кислоты: простагландинов. Существует схема механизма развития каррагенинового отека: в первые 30-90 минут в патогенезе воспаления принимают участие гистамин и серотанин, в интервале между 1,5-2,5 ч. – кинины, а между 2,5-5,5 ч. – простагландины. Как видно из приведенных в таблице 4.2 данных в контрольной группе крыс, максимальный экссудативный эффект каррагинина проявляется через 3,0 часа после введения флогогена и равняется $98 \pm 6,6\%$.

Предварительное нанесение геля на основе настойки календулы на правую заднюю лапку за 1,0 час до введения каррагинина привело к уменьшению через 3,0 часа после введения флогогена объема лапки соответственно до $27,0 \pm 2,0\%$ или в 1,3-2,0 раза меньше, чем в контрольной группе животных. Антиэкссудативный эффект исследуемого вещества составлял 71% (таблица 4.2 и 4.3).

Снижение отека лапки крыс при нанесении препарата сравнения мазь Живокоста (окопника) через 3,0 часа после введения каррагинина было в 3,6 раза менее выражено, чем у контроля и составило соответственно $24 \pm 1,6\%$, а антиэкссудативный эффект составлял 74 %.

Согласно результатам исследований гель на основе настойки календулы обладает противовоспалительной активностью, при этом антиэкссуда-

тивный эффект на каррагениновой модели острого экссудативного воспаления составил 71%. По эффективности, гель на основе настойки календулы не отличается от препарата сравнения мази Живокоста (окопника).

Выводы по главе IV

1. Проведены исследования по изучению высвобождения активного вещества из гелей, содержащих настойку календулы по трем составам. Данные составы были отобраны на основании результатов качественного и количественного анализа. Биофармацевтические исследования *in vitro*, проведенные методом равновесного диализа по Л.Крувчинскому, показали, что наибольший процент высвобождения обеспечивает состава, в котором в качестве гелеобразователя использовался карбопол в концентрации 1,5%. (62,9% за 9 часов).
2. Экспериментами *in vivo* проведенными фармакодинамическим методом изучена специфическая противовоспалительная активность разработанного геля на каррагениновой модели острого экссудативного воспаления. Доказано, что по эффективности, гель на основе настойки календулы не отличается от препарата сравнения мази Живокоста (окопника).

ГЛАВА V. ИЗУЧЕНИЕ КОНСИСТЕНТНЫХ СВОЙСТВ И СТАБИЛЬНОСТИ РАЗРАБОТАННОГО ГЕЛЯ ПРОТИВОВОСПА- ЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ

1. Изучение консистентных свойств геля на основе настойки календулы

Консистентные свойства мягких лекарственных форм непосредственно влияют на качественные показатели, стабильность, высвобождение активных субстанций из носителей, удобство и легкость нанесения, выдавливание из туб и др. потребительские характеристики. Применение мягких лекарственных форм путем нанесения на кожу и слизистые оболочки подобен процессу, который наблюдается при сдвиге вязко-пластичной системы в ротационном вискозиметре, а затраченная сила — напряжению сдвига, определяющему сопротивляемость системы сдвиговым деформациям при определенной скорости [12,74].

Учитывая вышеизложенное, оценка консистентных свойств является важной частью исследований при разработке мягких лекарственных форм, в частности гелей [35,69,73,75]. Очередные исследования были направлены на изучение консистентных свойств разработанной гелевой композиции.

Изучение данных показателей анализируемой лекарственной формы проводили при помощи ротационного вискозиметра «Реотест-2» с использованием ячейки, состоящей из системы соосных цилиндров S/S1 с константой $Z=5,6$. Для этого навеску геля помещали в измерительное устройство и выдерживали в термостате при определенной температуре в течение получаса. Учитывая особенности климатических поясов, на территории которых расположена республика, нами были проведены исследования при 3-х температурных режимах: 25°C , 40°C , 55°C . Далее цилиндр приводили во вращение в измерительном устройстве при 16-ти увеличивающихся показателях скоростей сдвига и проводили регистрацию каждого снятого показателя индикаторного прибора. С целью разрушения структуры анализируемого геля проводили вращение цилиндра в измерительном устройстве

на максимальной скорости в течение 10-ти минут, далее, остановив вращение прибора ещё на 10 минут, записывали показания индикатора на каждой из вышеприведенных 16-ти скоростей сдвига при их уменьшении. По данным, полученным в ходе эксперимента, рассчитывали предельное напряжение сдвига и эффективную вязкость при температурах - 25⁰С, 40⁰С, 55⁰С, которые представлены в таблице 5.1.

Таблица 5.1

Результаты определения предельного напряжения сдвига и эффективной вязкости для геля, содержащего настойку календулы

Градиент скорости, с ⁻¹	Напряжение сдвига, Па	Логарифм эффективной вязкости, Па.с	Напряжение сдвига, Па	Логарифм эффективной вязкости, Па.с	Напряжение сдвига, Па	Логарифм эффективной вязкости, Па.с
	При температуре 25 ⁰ С		При температуре 40 ⁰ С		При температуре 55 ⁰ С	
1,5	134,4	4,49	100,8	4,21	61,6	3,71
2,7	150,8	4,06	113,6	3,74	78,4	3,36
3,0	155,8	3,95	115,4	3,65	77,4	3,25
4,5	163,6	3,65	128,8	3,35	100,8	3,11
5,4	173,4	3,41	133,8	3,21	99,1	2,91
8,1	196,0	3,18	151,2	2,92	117,6	2,68
13,5	218,4	2,78	162,4	2,48	128,8	2,25
24,3	231,2	2,27	179,2	1,99	151,2	1,83
27,0	235,8	2,15	171,7	1,85	140,6	1,65
40,5	253,2	1,85	201,6	1,61	173,6	1,45
72,9	271,2	1,32	224,0	1,12	193,0	0,98
121,1	284,4	0,86	235,2	0,66	196,1	0,56
145,8	289,0	0,65	228,7	0,45	212,8	0,28
218,7	302,4	0,32	252,0	0,13	235,2	0,08
364,5	313,6	-0,15	268,8	-0,30	246,4	-0,39
656	324,8	-0,69	274,4	-0,87	252,0	-0,97

Реограммы течения геля наглядно отображены на рис.5.1.

При этом напряжение сдвига (τ) рассчитывали по формуле:

$$\tau = Z * \alpha ,$$

где τ - напряжение сдвига, Па;

Z – цилиндровая постоянная, равная 8,06 Па;

α - показания измерительного прибора.

Эффективную вязкость вычисляли по формуле:

$$\eta = \frac{\tau}{\gamma},$$

где η - эффективная вязкость, Па · с;

τ - напряжение сдвига, Па;

γ - градиент скорости сдвигового течения, с⁻¹.

Согласно приведенным данным, наблюдается увеличение предельного напряжения сдвига и уменьшение эффективной вязкости под воздействием возрастающих сил деформации, что является доказательством наличия структуры в анализируемом образце геля на основе настойки календулы.

Графики, представленные на рис.5.1. отображают зависимость логарифма эффективной вязкости ($\ln \eta_{\text{эфф}}$) от градиента скорости сдвигового течения (γ).

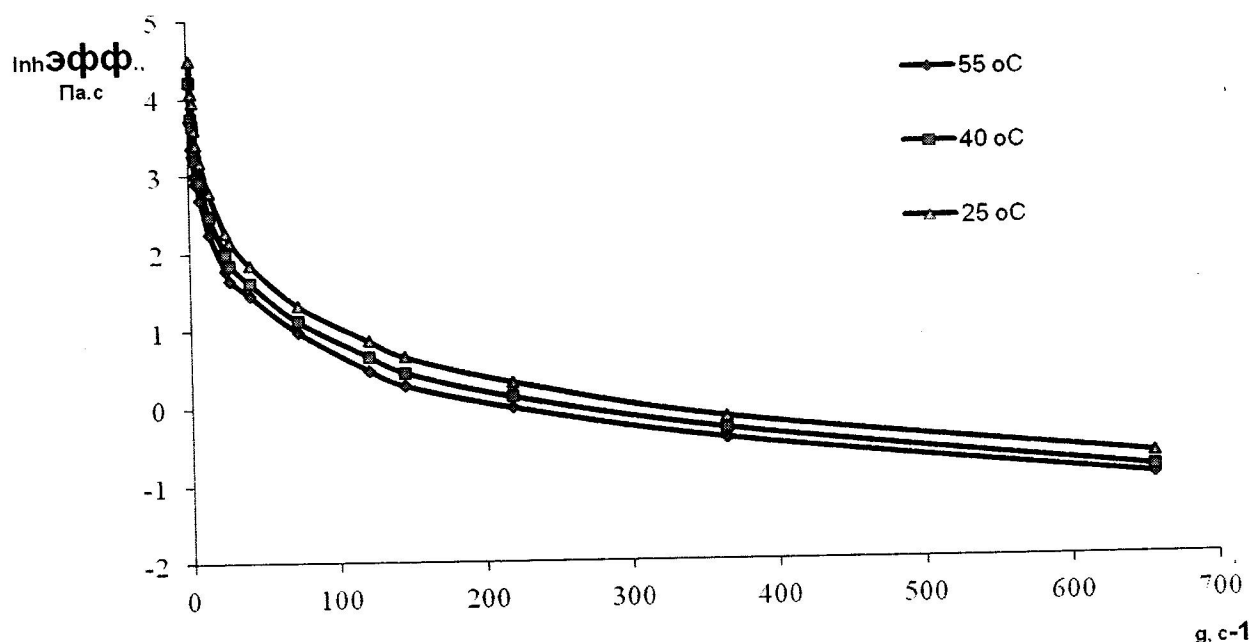


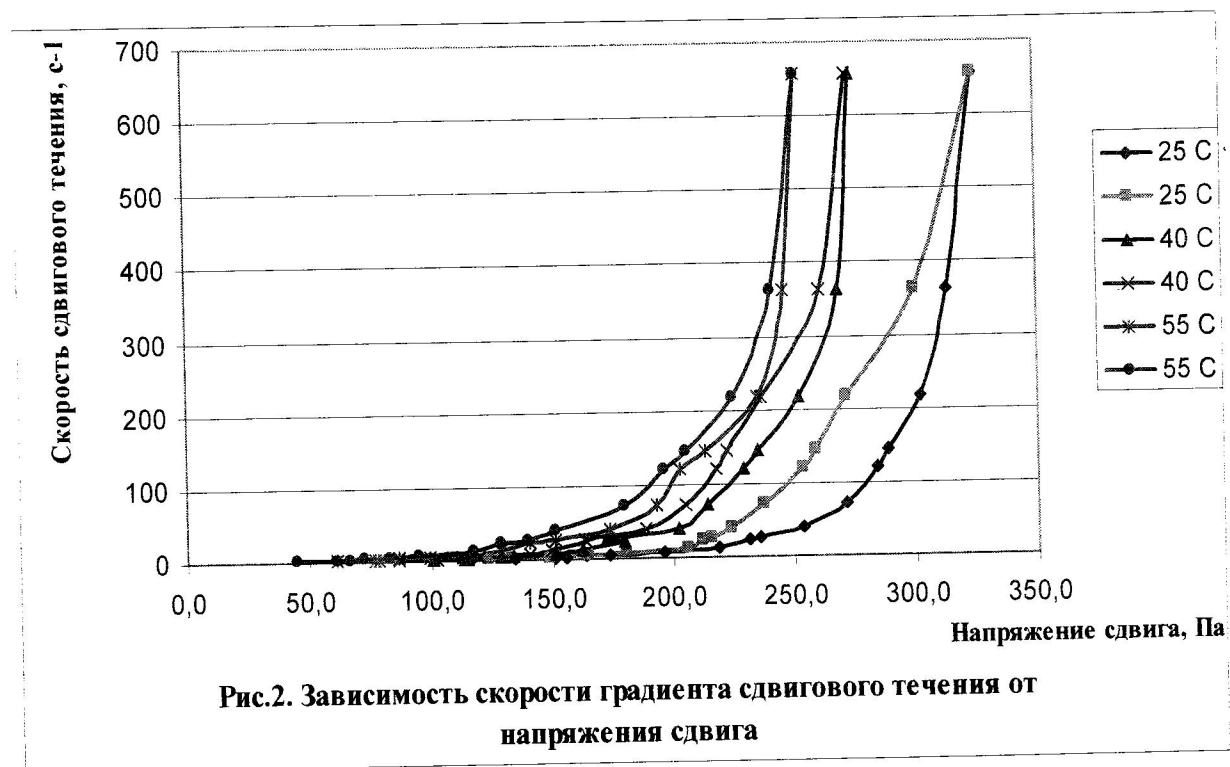
Рис.5.1. Зависимость логарифм эффективной вязкости от градиента скорости сдвигового течения

Согласно данным, приведенным на рис.5.1, рост градиента скорости сдвигового течения, т.е. скорости деформации, влечёт за собой уменьшение вязкости образцов до определенного значения: $\gamma \sim 200-300$ с⁻¹, далее

графики практически не изменяются. При этом увеличение температуры влечёт за собой смещение графиков в область малых значений вязкостей.

При изменении вязкости анализируемых образцов до $\gamma \sim 200-300 \text{ с}^{-1}$ наблюдается разрушение структуры исследуемого геля, которое происходит в результате разрыва межмолекулярных связей. Практическая неизменность значений вязкости при скорости сдвигового течения более 300 с^{-1} доказывает, что межмолекулярные связи достигают того уровня, при котором они уже не влияют на значение вязкости образцов.

Такие потребительские показатели мягкой лекарственной формы, в частности гелей, как намазываемость и экструзия из туб зависят от наличия тиксотропных свойств разрабатываемой лекарственной формы. В связи с чем, нами было решено отобразить на рис.5.2. зависимость градиента скорости сдвигового течения (γ) от напряжения сдвига (τ) для исследуемого геля при температурных факторах, равных 25^0C , 40^0C и 55^0C .



Таким образом, графики, отображенные на рис.5.2. построены для оценки гистерезисных эффектов, которые имеют место при прямом и обратном изменении градиента скорости в зависимости от напряжения сдви-

га. При этом ширина представленных гистерезисных петель является относительной оценкой степени структурообразовательных процессов, что влечет за собой повышение её стабильности [55]. Как видно, из представленных данных ширина гистерезисных петель обратно пропорционально температуре, т.е. уменьшается с возрастанием значения температурного фактора. Так, например ширина петель гистерезиса при температуре 25⁰С почти вдвое больше, чем при 55⁰С. Причиной данного явления является повышение теплового движения составляющих компонентов, т.е. снижение взаимодействий элементов в образце. Также уменьшение площади гистерезисных петель обусловлено уменьшением вязкости образцов исследуемого геля на основе настойки календулы с возрастанием температуры. Таким образом, наибольшая ширина гистерезисных петель наблюдается при температурном факторе равном 25⁰С, а при 40⁰С и 55⁰С их ширина значительно сужается.

Имеющиеся тиксотропные свойства анализируемого геля являются обратимыми, т.е. они способны восстанавливаться после разрушения системы.

В отдельной серии экспериментов была рассчитана механическая стабильность (МС) исследуемого геля на основе настойки календулы, которую вычисляли по формуле:

$$МС = \frac{\tau_1}{\tau_2}$$

где τ_1 - величина предела прочности неразрушенной структуры,

где τ_2 - величина предела прочности разрушенной структуры.

В результате проведенных исследований определено, что значение механической стабильности было равно 4,5, что также доказывает наличие тиксотропных свойств испытуемого геля. А это, в свою очередь обеспечит полное восстановление структуры после приложенных напряжений, возникающих при технологическом процессе изготовления данной гелевой лекарственной формы.

Также в ходе исследований было определено течение геля на основе настойки календулы с использованием вышеназванного ротационного вискозиметра «Реотест-2» с цилиндрическим устройством. Для этого определяли вязкость анализируемого геля при скоростях, соответствующих скорости движения ладони при распределении гелевой лекарственной формы по поверхности кожных покровов и слизистой (скорость сдвига 3,0 и 5,4 с⁻¹), а также скорости технологической обработки (скорость сдвига 27,0 и 145,8 с⁻¹), с последующим расчётом коэффициентов динамического течения геля. Данные показатели вычисляли по следующим формулам:

$$K_{d1} = \frac{\eta_{3,0} - \eta_{5,4}}{\eta_{3,0}} \times 100\%,$$

$$K_{d2} = \frac{\eta_{27,0} - \eta_{145,8}}{\eta_{27,0}} \times 100\%,$$

где η_i — эффективная вязкость при определенном значении градиента скорости сдвигового течения.

Коэффициенты динамического течения анализируемого геля при температуре 25⁰С составили $K_{d1}=38,15\%$; $K_{d2}=77,31\%$, что позволяет утверждать об удовлетворительной степени распределения системы при нанесении на кожные покровы и слизистую, а также во время технологического процесса приготовления.

Как известно, значение температуры оказывает непосредственное влияние на консистентные свойства мягких лекарственных форм, в связи с чем, в заключительной стадии исследований по определению структурно-механических показателей геля на основе настойки календулы для нахождения значений динамической вязкости была проведена экстраполяция градиента скорости сдвигового течения к нулю. Полученные данные представлены в таблице 5.2.

Определено значение динамической вязкости (η) путем проведения экстраполяции при условии $\gamma \rightarrow 0$ и $\ln \eta_{эфф} \rightarrow \ln \eta$, отсюда $\eta_{эфф} = \eta$.

Таблица 5.2.

**Результаты изучения зависимости вязкости геля на основе настойки
календулы от температурного фактора**

Значение динамической вязкости (η), Па*с	Значение температуры		
	25 ⁰ С	40 ⁰ С	55 ⁰ С
	148,4	115,6	60,3

Данные приведенные в таблице 5.2. свидетельствуют о том, что температурный фактор хоть и незначительно, но оказывает влияние на значение динамической вязкости. При этом данная зависимость является обратно пропорциональной. Так, при росте температуры в 1,6 (с 25⁰С до 40⁰С) и 2.2 (с 25⁰С до 55⁰С) раза наблюдается уменьшение значения динамической вязкости в 1,3 и в 2,5 раз, соответственно. Знание данных показателей позволяет определять требуемые условия хранения гелевой лекарственной формы, содержащей настойку календулы.

**2. Установление сроков годности и условий хранения разработанного
геля противовоспалительного действия**

Понятие "стабильности" подразумевает сохранность качественных и количественных показателей, соответственно, терапевтической активности лекарственного препарата или активной субстанции в течение определенного времени, который обозначается как срок годности. Поскольку стабильность не проверяется на каждой серии выпускаемой продукции, необходимо изучить ее в процессе разработки лекарственного препарата в той или иной лекарственной форме.

На качество лекарственного препарата в течение срока годности оказывают влияние различные факторы, такие как чистота субстанции и вспомогательных веществ, использованные технологические процессы, вид упаковочного материала, условия хранения и др.

С целью установления срока годности разработанного геля на основе настойки календулы приготовленный лекарственный препарат был расфасован в различные тароупаковочные материалы:

- тубы алюминиевые или из ламинированной полипропиленовой пленки для медицинских мазей по ТУ 64-7-678-90;
- банки по ТSh 64-17490735-01:2001;
- банки пластмассовые по ТУ 64-203636735-02-2007.

Определение стабильности проводили двумя методами: методом естественного хранения и методом ускоренного старения при температуре 30°C согласно инструкции И-42-2-82 в термостате ZDP-2080.

Для анализируемого геля на основе настойки календулы критериями качества служили: внешний вид, подлинность, масса содержимого упаковки и отклонения от средней массы, значение рН водного извлечения, однородность, коллоидная и термостабильность, количественное определение диклофенака натрия, микробиологическая чистота и др. Вышеприведенные показатели качества были определены на начальном этапе по определению стабильности и установлению сроков годности. Для этого использовали общепринятые методики, приведенные в ГФ, НД.

В ходе экспериментов данные проверяли каждые 6 месяцев при методе естественного хранения и через 92 суток (соответствует 6-ти месяцам хранения при обычных условиях) при методе «ускоренного старения».

В таблицах 5.3 и 5.4 приведены результаты изучения стабильности методом «ускоренного старения» при температуре 30°C и методом естественного хранения для образца в тубах из ламинированной полипропиленовой пленки для медицинских мазей по ТУ 64-7-678-90.

Таблица 5.3.

Результаты изучения стабильности геля на основе настойки календулы методом «ускоренного старения» при температуре 30⁰С (образцы в тубах из ламинированной полипропиленовой пленки для медицинских мазей по ТУ 64-7-678-90)

Наименование показателей	Нормативы по НТД	Результаты по датам					
		исход- ный об- разец	через 92 суток	через 184 суток	через 276 суток	через 368 суток	через 460 суток
Описание	Прозрачный гель светло-коричневого цвета с характерным запахом календулы	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
Масса содержимого упаковки	24,0-26,0 г	25,16 г	25,02 г	24,77 г	25,19 г	24,95 г	24,44 г
Отклонения от средней массы	±4%	±2,16%	±1,88%	±2,06%	±1,80%	±1,11%	±1,73%
Значение рН водного извлечения	6,0-7,5	6,30	6,45	6,26	6,52	6,65	6,48
Однородность	В трех из четырех проб не должно обнаруживаться видимых частиц	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
Коллоидная стабильность	Не должен расслаиваться при центрифугировании в теч 5 мин при 1500 об/мин	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.

Термостабильность	Не должен расслаиваться при термостатировании при $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ в теч 6 час	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	Наблюдалось расслоение
Количественное содержание	0,045-0,055 г в 1 г геля	0,0520 г	0,0497 г	0,0511 г	0,0509 г	0,0519 г	0,0489 г
Микробиологическая чистота	В 1 г препарата допускается наличие общего числа аэробных бактерий и грибов (суммарно) не более 100, не более 10 энтеробактерий, при отсутствии <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.

Таблица 5.4.

Результаты изучения стабильности геля на основе настойки календулы при естественном хранении (образцы в тубах из ламинированной полипропиленовой пленки для медицинских мазей по ТУ 64-7-678-90)

Наименование показателей	Нормативы по НТД	Результаты по датам					
		исход- ный образец	через 6 мес	через 12 мес	через 18 мес	через 24 мес	через 30 мес
Описание	Прозрачный гель светло- ко- ричневого цвета с характерным запахом календулы	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
Масса содержи- мого упаковки	24,0-26,0 г	25,16 г	25,34 г	24,80 г	24,83 г	25,29 г	24,93 г
Отклонения от средней массы	±4%	±2,16%	±2,43%	±2,33%	±1,97%	±2,61%	±1,15%
Значение pH водного извлече- ния	6,0-7,5	6,30	6,51	6,32	6,44	6,60	6,64
Однородность	В трех из четырех проб не должно обнаруживаться види- мых частиц	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.
Коллоидная ста- бильность	Не должен расслаиваться при центрифугировании в теч 5 мин при 1500 об/мин	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.

Термостабильность	Не должен расслаиваться при термостатировании при $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ в теч 6 час	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	Наблюлось расслоение.
Количественное содержание	0,045-0,055 г в 1 г геля	0,0520 г	0,0497 г	0,0511 г	0,0509 г	0,0519 г	0,0489 г	
Микробиологическая чистота	В 1 г препарата допускается наличие общего числа аэробных бактерий и грибов (суммарно) не более 100, не более 10 энтеробактерий, при отсутствии <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	

Согласно полученным данным, приведенным в табл. 5.3 и 5.4 практически все анализируемые показатели в течение 2,5 лет (при естественном хранении) и 460 суток (при методе ускоренного старения) соответствовали требованиям, предъявляемым нормативной документацией. Так, например, внешний вид образцов гелей не изменился (прозрачный гель светло-коричневого цвета с характерным запахом календулы), также сохранилась однородность гелей. Масса гелей в одной упаковке находилась в пределах 24,0-26,0 г и составила от 24,44 г до 25,19 г (при использовании метода «ускоренного старения») и от 24,80 г до 25,34 г (при естественном хранении). Отклонения в массе в одной упаковке при методе «ускоренного старения» не превысили $\pm 2,16\%$, а при естественном хранении данный показатель был не больше $\pm 2,61\%$. Значение pH водного извлечения составило от 6,26 до 6,65 (при использовании метода «ускоренного старения») и от 6,30 до 6,64 (при естественном хранении).

Микробиологическая чистота предлагаемого геля на основе настойки календулы также исследовалась в начале эксперимента и периодически в ходе проведения определения стабильности. Данные, полученные в ходе исследований, свидетельствуют о соответствии разработанного геля по данному показателю требованиям ГФ XI выпуск 2 и Изменению №2 от 2005 г. категория 2.

Количественное содержание активной субстанции в анализируемых образцах гелей не превысило допустимые нормы отклонения в течение срока наблюдения: так, при «ускоренном старении» количественное содержание суммы флавоноидов находилось в пределах 99,3-101,3% (0,0298-0,0304), а при естественном хранении - 97,8-104% (0,0489-0,0520).

По истечении 2,5 лет при естественном хранении и 460 суток при использовании метода «ускоренного старения» наблюдалось небольшое отклонение в стабильности гелей к перепадам температуры. Данные для образцов гелей, упакованных в два других тароупаковочных материала были

аналогичны, что стало основанием для установления срока годности анализируемого геля равным 2 годам.

Выводы по V главе

1. Проведены исследования по изучению консистентных показателей предлагаемого геля. Полученные данные свидетельствуют, что гель представляет собой тиксотропную систему, которая обеспечивает восстанавливаемость после нагрузок. Подтверждением этого является наличие гистерезисных петель, выявленных в результате проведенных исследований. Тиксотропность обеспечивает хорошую намазываемость геля и способность к выдавливанию его из туб. Значение механической стабильности равное 4,5 а также коэффициентов динамического течения ($Kd_1=38,15\%$; $Kd_2=77,31\%$) являются количественным подтверждением требуемой степени распределения геля при его приготовлении, а также нанесении на кожу и слизистые оболочки. Доказано уменьшение всех консистентных свойств геля, содержащего настойку календулы с повышением температуры. Полученные данные позволяют прогнозировать условия хранения разработанного геля.

2. Были определены сроки годности разработанного геля на основе настойки календулы в условиях естественного хранения и методом «ускоренного старения». Исследования стабильности методом «ускоренного старения» проводили согласно Временной инструкции по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «Ускоренного старения» при повышенной температуре, в данном случае при 30°C . Опытные образцы были упакованы в различные тароупаковочные материалы. Установлен срок годности предлагаемого геля равный 2 годам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. По результатам оценки качества разработанных гелей на 8-ми основах, а также по результатам изучения кинетики высвобождения действующего вещества методом равновесного диализа по Л.Крувчинскому научно обоснован состав и разработана технология для предлагаемого геля на основе настойки зверобоя.
2. Доказана возможность применения спектрофотометрического метода количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в анализируемом геле на основе настойки календулы.
3. Проведены исследования по изучению консистентных показателей анализируемого геля, которые подтверждают наличие тиксотропности в геле, что обеспечит восстанавливаемость после нагрузок. Подтверждением также является наличие гистерезисных петель. Значение механической стабильности равно 4,5 а также коэффициентов динамического течения ($Kd_1=38,15\%$; $Kd_2=77,31\%$) являются количественным подтверждением требуемой степени распределения геля при его приготовлении, а также нанесении на кожу и слизистые оболочки. Доказано, что с повышением температуры уменьшается вязкость анализируемого геля, содержащего настойку календулы.
4. Экспериментами *in vivo* проведенными фармакодинамическим методом изучена специфическая противовоспалительная активность разработанного геля на каррагениновой модели острого экссудативного воспаления. Доказано, что по эффективности, гель на основе настойки календулы не отличается от препарата сравнения мази Живокоста (окопника). В ходе экспериментов доказано, что данный препарат не обладает острой токсичностью и местно-раздражающим действием.
5. Установлен срок годности предлагаемого геля на основе настойки календулы, равный 2-м годам в условиях естественного хранения и методом «ускоренного старения» в трех видах тароупаковочных материалах (тубы алюминиевые или из ламинированной полипропиленовой пленки

для медицинских мазей по ТУ 64-7-678-90, банки по TSh 64-17490735-01:2001, банки пластмассовые по ТУ 64-203636735-02-2007).

1. Постановления и указы Президента Республики Узбекистан, Постановления Кабинета Министров.

1.1. Постановление Президента Республики Узбекистан ПШ-416 от 14 июля 2006 г. «О мерах по поддержке и развитию производителей лекарственных средств и изделий медицинского назначения».

2. Постановление Кабинета Министров Республики Узбекистан № 49 от 23 февраля 2011 года «О исполнении внутреннего рынка отечественными лекарственными средствами и целях дальнейшего развития фармацевтической промышленности республики».

3. Протокол Кабинета Министров Республики Узбекистан №39 от 21 апреля 2013 года «О мероприятиях по развитию производства отечественными предприятиями лекарственных средств и биологически активных добавок на основе лекарственных растений».

II. Основная литература

4. Афанасьева Т.В., Куркина В.А. Перспективы комплексного использования сырья календулы лекарственной (Calendula officinalis L.) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – том 16. – №5 (3). – С.980-982.

5. Барсегян М.А., Степанов Э.Ф., Абрамченко А.Ю. Разработка и анализирование характеристика методов количественного содержания флавоноидов в ректальных мазях с экстрактом тамариска, календулы и мята // Фундаментальная медицина. – 2011. – №10. – С.30-32.

6. Барсегян М.А., Васеева С.Б., Степанов Э.Ф. Разработка и технологические исследования растительной противогрибковой мазь с фитокомпонентами // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2010. – №22. – С.129-132.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

I. Постановления и указы Президента Республики Узбекистан, Постановления Кабинета Министров

1. Постановление Президента Республики Узбекистан ПП-416 от 14 июля 2006 г. «О мерах по поддержке отечественных производителей лекарственных средств и изделий медицинского назначения».
2. Постановление Кабинета Министров Республики Узбекистан № 49 от 25 февраля 2011 года «О наполнении внутреннего рынка отечественными лекарственными средствами в целях дальнейшего развития фармацевтической промышленности республики».
3. Протокол Кабинета Министров Республики Узбекистан №32 от 21 апреля 2015 года «О мероприятиях по развитию производства отечественными предприятиями лекарственных средств и биологически активных добавок на основе лекарственных растений».

II. Основная литература

4. Афанасьева П.В., Куркин В.А. Перспективы комплексного использования сырья календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – том 16.- №5 (2).-С.980-982.
5. Барсегян М.А., Степанова Э.Ф., Айрапетова А.Ю. Разработка и валидационные характеристики методики количественного содержания флавоноидов в ректальных мази с экстрактом гамamelиса, календулы и мяты // Fundamental research. – 2011. - №10. – С.30-32.
6. Барсегян М.А., Евсеева С.Б., Степанова Э.Ф. Разработка и технологические исследования ректальной противогемморoidalной мази с фитокомпозицией // Научные ведомости. Серия Медицина, Фармация. – 2010. - №22. – С.129-132.

7. Белов П.М., Степанова Э.Ф., Огурцов Ю.А. Разработка и исследование комбинированной мази противоревматоидного действия, содержащей ДМСО // Fundamental research.- 2013.-№6.-С.638-640.
8. Бобылев Н. Косметические средства в аптеках // Фармацевтический вестник. – 2007. - №5. – С.19.
9. Вьонг Мо, Тхань Дат, Ле Ань Туан. Вьетнамские лекарственные растения – «золотой запас» для развития фармацевтической отрасли Вьетнама // Иллюстрированный журнал Вьетнама.- 2007. -№12.-С. 55-59.
10. Гаврилин М.В., Карпеня Л.И., Ушакова Л.С. и др. Использование геля полиэтиленоксида для получения мази димексида // Хим-фарм. журнал.- Москва, 2001.- Том 35.- №5.-С.49-50.
11. Гаврилин М. В., Шаталова Т. А., Айрапетова А. Ю., Мичник Л. А., Мичник О. В., Карпеня Л.И. Изучение способов стабилизации водных извлечений из цветков ромашки, календулы и травы тысячелистника // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – том 12.- №1 (8).-С.2019-2022.
12. Гладышев В.В., Кучина Г.К., Бурлака Б.С., Бирюк И.А., Григорьева М.Ю. Изучение влияния основы носителя на биофармацевтические свойства назальной лекарственной формы дилтиазема// Запорожский медицинский журнал.- Запорожье, 2013.-№2.-С. 87-90.
13. Государственный реестр лекарственных средств РФ.-М.: Министерство здравоохранения и социального развития РФ.- М.: «Медицина», 2011. 1204 с.
14. Дашинамжилов Ж.Б., Лубсандоржиева П.Б. Гепатозащитное влияние лекарственного сбора «Календула-6» при комбинированном повреждении печени у белых крыс // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.- 2011.-№1 (77).- С. 135-137.

15. Зузук Б.М., Куцик Р.В., Калугина С.М., Гувидок Я.С., Куровець Л.М. Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.): аналитический обзор // Провизор.- 2001.-№5.-С.29-34.
16. Ишмуратова М.Ю. Интродукция календулы лекарственной в условиях Центрального Казахстана // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук.- 2011.-№8.-С.24-29.
17. Канон врачебной науки: В 3 ч.: / Сост. У. И. Каримов, Э. У. Хуршут.- М.: «Фан», 2004.
18. Киселева Т.Л., Смирнова Ю.А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества. - М.: Изд-во профессиональной ассоциации натуротерапевтов.-2009.-295 с.
19. Крепкова Л.В. Современные подходы к доклинической оценке безопасности лекарственных средств растительного происхождения// Биомедицина.-2011.-№4.-С.150-152.
20. Куринной А.В., Гладышев В.В., Скаковская О.И., Рыжов А.А. Влияние интенсивности высвобождения полигексаметиленгуанидина фосфата из различных основ-носителей инстилляционных линиментов-гелей// Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. - Запорожье, 2012.-№1.-С. 67-70.
21. Куркин В.А., Шарова О.В., Афанасьева П.В., Вельмисева Л.Е., Федоров А.В. Перспективы создания высокопродуктивной сырьевой базы календулы лекарственной // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – том 14.- №1 (9).-С.2249-2252.
22. Кусова Р.Дз. Разработка геля и эмульсионной мази с маслом лоха //Фармация.- Москва, 2006.-№6.-С.30-32.
23. Ладыгина Е.Я. Календула лекарственная // Фармация.-1992.-том 40.-№4.-С.84-86.

24. Максудова Ф.Х., Кариева Ё.С. Применение метода математического планирования для разработки технологии 5% геля диклофенака натрия // Фармацевтический журнал. – 2016. - №1. – С.62-66.
25. Моисеева А.Е., Софронова Н.А., Донцова Л.П. и др. Создание новой лекарственной формы – мази офлоксацина // Фармация.- Москва, 2001. - №4.-С.14-17.
26. Мулюгина Р.Н., Шевченко А.М. Изучение противовоспалительной активности влажных салфеток для лечения акне // Современные проблемы науки и образования. – 2012.-№1.-С.1-7.
27. Назарова З.А., Зиямухамедова М.М., Рахманова К.Ж. Изучение реологических свойств геля, содержащего жидкий экстракт ханделии вололистной // Фармацевтический журнал.- 2008.- № 2.- С. 57-59.
28. Никитюк В.Г., Козлова Н.Г. Достижения лаборатории мягких лекарственных форм ГНЦЛС и её роль в развитии отечественной фармации // Провизор.- Харьков, 2000.-№ 9.-С.11-16.
29. Орловская Т.В., Ушакова Л.С., Маринина Т.Ф. Изучение плодов календулы лекарственной с целью создания лекарственных средств // Рациональное питание, пищевые добавки и биостимуляторы.-2014.- №1.-С.34.
30. Орлин Н.А. Пищевые красители из лепестков календулы // Успехи современного естествознания.- 2010.- №6.- С. 93.
31. Ощепкова Е.В., Козлова Ж.М., Девяткина А.П. Создание ректальных суппозиторий с масляным СО₂ – экстрактом календулы // Журнал научных статей. Здоровье и образование в XXI веке. – 2007.-№1.- (Т.9).- С.67.
32. Патент РФ № 2428171, 10.09.2011.
33. Рехвиашвили Э.И., Гревцова С.А., Кабулова М.Ю., Айлярова М.К. биотехнологические аспекты производства хлеба с добавлением порошка календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) // Аграрный вестник Урала.-2014.-№1 (119).-С.63-65.

34. Рогачев И.О., Гладышев В.В., Бурлака Б.С., Кечин И.Л. Сравнительные исследования структурно-механических характеристик интраназальных мягких лекарственных форм нимодипина // Запорожский медицинский журнал. – 2011. - № 3. – С. 92-94.
35. Рюмина Т.Е., Голованенко А.Л. Изучение влияния наиболее значимых биофармацевтических факторов на высвобождение лекарственных средств из геля для реминерализации дентина // Fundamental research.-Москва, 2013.-№6.-С. 116-119.
36. Рюмина Т.Е., Голованенко А.Л. Биофармацевтические исследования плёнок лекарственных анестезирующего и реминерализирующего действия // Современные проблемы науки и образования.- 2012.-№1.- С.
37. Стоянова А., Станкова Д., Дилчева М., Дамянова С., Димитров И. Технология экстрактов из ноготков для косметики // Известия ВУЗов. Пищевая технология.-2002.-№4.-С. 74-75.
38. Стрельцов Д.А., Компанцева Е.В. Изучение мази бишофита с димексидом // Фармация.- Москва, 2004. - №2.-С.27-29.
39. Тажбаев Е.М., Пак Р.Н., Ахметова С.Б., Буркеев М.Ж. и др. Исследования сетчатых полимеров акриловой и метакриловой кислот в качестве гидрофильной мазевой основы препарата ранозаживляющего действия // Хим-фарм. журнал. – Москва, 2007.-Том 41.-№9.-С.53-56.
40. Чахирова А.А., Благоразумная Н.В., Чахирова В.А., Благоразумная Е.Ю. Разработка технологии и методик анализа косметического средства с водными извлечениями из лекарственного растительного сырья // Фармация и фармакология.- 2014.-№5. – С.46-48.
41. Шагалиева Н.Р., Куркин В.А., Авдеева Е.В., Байриков И.М., Щербовских А.Е. Актуальные аспекты разработки и стандартизации стоматологического препарата «Дентос»// Фундаментальные исследования. - 2013.-№10.-С.1490-1494.

42. Шагалиева Н.Р., Щербовских А.Е., Авдеева Е.В., Куркин В.А., Байриков И.М., Лапина А.С., Филиппова Е.А. Экспериментальная оценка высвобождения фенилпропаноидов из стоматологической повязки на основе фитопрепарата «Дентос» // Фундаментальные исследования.- 2014.- №9.- С.370-373.
43. Шараф Х., Саушкина А.С., Савченко Л.Н., Вергейчик Е.Н. Разработка технологии и изучение глазной мази сульфацил-натрия на основе геля полиэтиленоксида 1500 // Фармация.- Москва, 2001. - №5.- С.7-9.
44. Шарова О.В., Куркин В.А. Флавоноиды цветков календулы лекарственной // Химия растительного сырья.- 2007.- №1.- С.65-68.
45. Шевченко А.М., Мулюгина Р.Н., Клишина И.И., Черноусова Н.П. Разработка состава и технологии аппретированных лекарственных средств для проблемной кожи в подростковом возрасте // Сбор. науч. тр. «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». - Пятигорск. - Вып. 64.- 2009.- С.231-234.
46. Югдунова Е.Д., Николаева Г.Г., Даргаева Т.Д., Николаев С.М., Башкуева Ю.А., Маркарян А.А. Разработка способа получения сухого экстракта // Сибирский медицинский журнал.- 2004.- №5 (том 46).- С.52-54
47. Ўзбекистон Республикасида қайд этилган дори воситалари ва тиббий буюмларининг давлат Реестри.- 19 нашр.- Т.: ООО «Камрон пресс», 2015. - 712 б.
48. Chopra R.N., Nayar S.L., Chopra J.C. Glossary of Indian Medicinal Plants. New Delhi, 2006. - 329 p.
49. Dehkanova M.A., Karieva E.S. The study of the consistent properties of glycerogel containing St. John's Wort // European journal of natural history.- 2014.- №1.- P.40-42.
50. Geng J., Huand W., Ren T., Ma X. Practical Traditional Chinese and Pharmacology: Herbal Formulas.- Beijing: «New World Press», 2004.- 259p.

51. German Homoeopathic Pharmacopoeia (GHP).-Deutscher Apotheker Verlag. Stuttgart, Germany.-1993.-H.155-156.
52. Maksudova F.H., Karieva E.S. The diclofenac sodium release kinetics examination from 3% gel "in vitro" experiments// European journal of natural history.- 2014.-№2.-P.23-25.
53. Maksudova F.H. and Karieva E.S. Investigations of rheological properties of diclofenac sodium gel preparation // Medical and Health Sciences Journal.- 2013. - Vol. 14 (1).- P. 91-94.
54. Pharmacopée Française. Ministère de la Santé République Française.- Boîte postale Moulins-les-Metz.-Paris.-1989.-326 с.

III. Дополнительная литература

55. Аркуша А.А. Исследование структурно-механических свойств мазей с целью определения оптимума консистенции: автореф. дисс. канд. фармацевт. наук. – Харьков. - 1982.- 22 с.
56. Атлас лекарственных растений России.- М: ВИЛР.-2006.-С.206-207.
57. Гаммерман А.Ф., Кадаев Ф.Н., Яценко-Хмелевский А.А. Лекарственные растения (Растения-целители). -М.: «Высш. шк.», 2009. - 544 с.
58. Головкин Б.Н. Биологически - активные вещества растительного происхождения: в-3-т.-М.: «Наука», 2002. - Т.3. -216 с.
59. Горкин А.П. Лекарственные растения // Биология. Современная иллюстрированная энциклопедия. - М.: «Росмэн», 2006.- 560 с.
60. Гриневич М.А. Информационный поиск перспективных лекарственных растений (Опыт изучения традиционной медицины стран Восточной Азии с помощью ЭВМ).- Л.: «Наука», 1990.- 141 с.
61. Ишмуратова М.Ю., Нашенова Г.З., Нашенов Ж.Б. Атлас семян лекарственных и эфирно-масличных растений. – Жезказган: Изд-во Типография Ер Мура. – 2010. – 57 с.

62. Ишмуратова М.Ю., Нашенова Г.З., Нашенов Ж.Б. Рекомендации по возделыванию календулы лекарственной в Центральном Казахстане. – Жезказган: Изд-во Типография Ер Мура. – 2011. – 11 с.
63. Лавренев В.К., Лавренова Г.В. Полная энциклопедия лекарственных растений.- Спб.: «Нева», 2004. С 276-277.
64. Лисицын. Ю.П. История медицины. Глава 4. Медицина Средневековья в Византии, у народов Востока. Развитие клинического наблюдения в медицине халифатов, Киевской Руси и Московского государства: учебник для медицинских вузов. М.: «ГЭОТАР-МЕД», 2004. - 400с.
65. Лыснянский М.В. Лекарственные растения тысячелетия // Провизор. - Харьков, 2004.-№19.-С.22-28.
66. Кочетков В.Л. Лекарственные растения в традиционной китайской медицине. М.:»Медицина», 2002.-50 с.
67. Куркин В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие. - Самара: ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава».- 2009.-С.160-165.
68. Машковский М.Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей. Справочник. - М.: «Новая Волна», 2005. - 1164 с.
69. Методические рекомендации по доклиническому изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств/ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств // под ред. Миронова А.Н. 2012. - С.746-759.
70. Мирошников В.М. Лекарственные растения и препараты растительного происхождения в урологии. - М.: «МЕДпресс-информ», 2005. - 240с.
71. Пастушенков А.Л., Егорова Е.С. Фитотерапия – возможности и проблемы // Народный лекарь.-Москва, 2009.- №267 (233).- С.16.
72. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей. М.: «Медицинское информационное агентство», 2000. 976 с.

73. Тенцова А.И., Грецкий В.М. Современные аспекты исследования и производства мазей, Медицина.- М.: 1980.- С.96-141.
74. Тихонов А.И., Ярных Т.Г., Зупанец И.А., Данькевич О.С., Богуцкая Е.Е., Бездетко Н.В., Азаренко Ю.Н. Биофармация.- Харьков: изд-во НФаУ, 2003- 238 с.
75. Тихонов А.И., Богуцкая Е.Е., Ярных Т.Г., Котенко А.М. Практикум по биофармации .- Харьков: изд-во НФаУ, 2003.-96 с.
76. Чиков П.С. Лекарственные растения - путь к здоровью. - М.: «Медицина», 2007. - 489 с.
77. Шрам Г. Основы практической реологии и реометрии.- М.- 2003.- 312 с.
78. Directive 2004/24/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending, as regards traditional herbal medicinal products, Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use // Official Journal of the European Union. 30.4.2004. L 136/85-L 136/90.
79. Stuart G.A. Chinense materia medica. Shanghai, 1971.- 558 p.

IV. Интернет сайты

80. www.ayzdorov.ru
81. www.narodnue-sredstva.ru
82. www.apteka.tomsk.ru
83. www.wikipedia.ru
84. www.medbuy.ru



«Утверждаю»

Зам. директора по науке
Института ИБОХ АН РУз.

Б.Т. Сагдулаев

» _____ 2016 г

ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ ОТЧЕТ

О проведенных доклинических фармакологических исследованиях по изучению острой токсичности, местно-раздражающего действия и противовоспалительной активности нового лекарственного препарата «Гель на основе настойки календулы» в сравнении с препаратом аналогом мазью Живокоста (окопника), 40г., (Протокол №14 дата регистрации 29 августа 2012 года №10966 серия 210914 годен до 0917) ООО «ДКП «Фармацевтическая фабрика», Украина

Лаборатория фармакологии Института биоорганической химии АН РУз

г. Ташкент Мирзо-Улугбекский р-н, ул. М. Улугбека, 83., тел.262-35-40

Руководитель испытаний  Иногамов У.К. Заведующий
лабораторией фармакологии

Экспериментатор  Выпова Н.Л., к.б.н., с.н.с.
лаборатории фармакологии

ТАШКЕНТ 2016