

На правах рукописи

*Бсц* -

**Бондаренко Ольга Владимировна**

**Разработка комплексных лекарственных препаратов на основе сухих экстрактов  
семян каштана конского и травы арники облиственной**

14.04.01 – Технология получения лекарств

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва, 2016

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений»

Научный руководитель:

**Семкина Ольга Александровна** кандидат фармацевтических наук

Официальные оппоненты:

**Алексеев Константин Викторович** доктор фармацевтических наук, профессор, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», заместитель директора по инновационной деятельности, заведующий лабораторией готовых лекарственных форм

**Анурова Мария Николаевна** кандидат фармацевтических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Минздрава России, доцент кафедры фармацевтической технологии

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «06» декабря 2016 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.088.01, созданного на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (197376, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, лит. А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (197227, г. Санкт-Петербург, пр. Испытателей, д.14) и на сайте организации (<https://sites.google.com/a/pharminnotech.com/dissovet>).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 208.088.01,  
кандидат фармацевтических наук, доцент

Орлов А.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Варикозное расширение вен остается самым распространенным сосудистым заболеванием нижних конечностей, поражая от 12 до 50% взрослого населения многих (в первую очередь, развитых) стран мира. Несмотря на развитие диагностической техники и появление новых эффективных методов лечения, количество пациентов с варикозной болезнью с годами не уменьшается, даже несколько увеличивается. (Rabe, E. Bonn vein study by the german society of phlebology / E. Rabe, F. Pannier Fischer, K. Broman, K. Schuldt [etal.] // Phlebologie. – 2003. – № 32. – P. 1–14.; Савельев, В. С. Хронические заболевания вен в Российской Федерации. Результаты международной исследовательской программы VeinConsult / В. С. Савельев, А. И. Кириенко, В. Ю. Богачев // Флебология. – 2010. – Т. 4, № 3 – С. 9–12.)

С целью обоснования необходимости разработки новых лекарственных препаратов на основе экстракта семян каштана конского обыкновенного (далее по тексту экстракт каштана конского) и экстракта травы арники облиственной (далее по тексту экстракт арники) нами проведена работа по подробному изучению ассортимента фармацевтического рынка препаратов венотонизирующего действия, а также уже существующих патентов в данной области. По данным Регистра лекарственных средств (данные на 29.09.2015), на российском рынке представлено 15 лекарственных форм для наружного применения – мази, бальзамы, гели, кремы венотонизирующего действия, в состав которых входит экстракт каштана конского и экстракт арники, зарегистрированные как биологически активные добавки (БАДы). В результате патентного поиска на лекарственные средства, содержащие сухие экстракты арники и каштана выявлено, что 5 патентов выданы на косметические средства, 1 патент на гомеопатические препараты - гель и крем различного действия. Стоит отметить, что большинство препаратов, выпускаемых в Российской Федерации, производятся с использованием импортного сырья, поэтому на сегодняшний день как никогда актуальна разработка и внедрение на фармацевтический рынок препаратов отечественного производства с использованием отечественных активных субстанций и это полностью соответствует политики импортозамещения, проводимой правительством РФ («Стратегия развития фармацевтической промышленности на период до 2020 года»).

В ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» разработана технология получения сухих экстрактов каштана конского и арники:

–лабораторный регламент на производство каштана конского обыкновенного экстракта сухого (ЛР 04868244 – 01 – 07);

– опытно – промышленный регламент на производство арники облиственной экстракта сухого (ОПР 04868244 – 02 – 09).

Изучение фармакологической активности сухих экстрактов каштана конского и арники, проводимые в Центре Медицины ФГБНУ ВИЛАР, показали наличие выраженной венотонизирующей и противовоспалительной активности смеси данных экстрактов. Согласно результатам изучения биологической активности арники облиственной экстракта сухого, каштана конского обыкновенного экстракта сухого и смеси: арника+каштан (1:1) с применением специфических ферментных биотест систем установлено, что сухой экстракт семян каштана конского обыкновенного и смесь сухих экстрактов арники и каштана (1:1) оказывают активирующее влияние на глутатионредуктазу, также повышают скорость пируваткиназной реакции, проявляя тем самым венотонизирующие свойства. Противовоспалительную активность оценивали по интенсивности ингибирующего влияния на скорость iNOS – реакции *in vitro*. Исследование фармацевтического рынка доказало перспективность разработки двух лекарственных форм наружного применения – геля и крема с сухими экстрактами каштана конского и арники. Благодаря определенной комбинации вспомогательных веществ, гель на гидрофильной основе быстрее впитывается, обеспечивая высвобождение действующих веществ, то есть способствует ускоренному наступлению локального венотонизирующего и противовоспалительного эффекта. Кроме того, гель обладает эффектом легкого поверхностного охлаждения, что способствует снятию дискомфорта при воспалении кожи. Эмульсионная основы крема обеспечивает более медленное высвобождение действующих веществ, поэтому данная лекарственная форма может рассматриваться как средство для обеспечения пролонгированного действия.

#### **Степень разработанности темы исследования.**

На фармацевтическом рынке РФ отсутствуют комбинированные лекарственные препараты венотонизирующего и противовоспалительного действия с сухими экстрактами каштана конского и арники в виде мягких лекарственных форм. В результате проведенных исследований получены и изучены комплексные лекарственные препараты на основе сухих экстрактов каштана конского и арники – гель и крем.

#### **Цель и задачи исследования.**

Разработка оптимальных составов и технологии геля и крема, содержащих биологически активные вещества из сухих экстрактов каштана конского и арники, венотонизирующего и противовоспалительного действия.

**Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:**

1. Проанализировать патентные данные в области создания мягких лекарственных форм на основе каштана конского и арники;
2. Теоретически и экспериментально обосновать составы и технологию разрабатываемых геля и крема;
3. Разработать и модифицировать методики идентификации и количественного определения БАВ в разработанных мягких лекарственных формах;
4. Провести валидацию методик количественного определения основных компонентов в полученных лекарственных формах;
5. Изучить физико-химические, технологические и реологические свойства экспериментальных образцов геля и крема;
6. Изучить стабильность мягких лекарственных форм (МЛФ) в процессе хранения для обоснования срока годности.
7. Составить нормативные документы на гель и крем на основе сухих экстрактов каштана конского и арники.

#### **Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», пункт программы ФНИ государственных академий наук на 2013-2020 годы:

1. «Фундаментальные (в том числе биофармацевтические) исследования, направленные на создание инновационных лекарственных форм» № 0576-2014-0013
2. «Поисковые исследования структурно-функциональных методов анализа и контроля сохранности биологических структур; разработка и усовершенствование химических, физико-химических (в том числе термографических) методик анализа БАС лекарственного растительного сырья, стандартов, фитосубстанций, лекарственных форм» № 0576-2014-0012.

Тема утверждена на заседании ученого совета ГНУ ВИЛАР от 25 января 2012 года, протокол № 1.

#### **Научная новизна**

Впервые разработан оптимальный состав и рациональная технологическая схема производства комплексных лекарственных препаратов – геля 1% и крема 1% на основе сухих экстрактов каштана конского и арники венотонизирующего и противовоспалительного действия. Для теоретического подтверждения отсутствия

возможного взаимодействия молекул эсцина и хлорогеновой кислоты в лекарственной форме, проведено компьютерное моделирование с расчетами энергии взаимодействия, выполненное в профессиональном программном обеспечении ChemOffice 2004.

### **Практическая значимость**

Материалы диссертации использованы в учебном процессе на кафедре общей фармацевтической и биомедицинской технологии РУДН.

На основании проведенных исследований разработаны и внедрены:

1. Технология получения комплексного препарата в виде геля 1% и крема 1% (Лабораторный регламент на производство арники экстракта сухого и каштана экстракта сухого геля для наружного применения ЛР № 048682244-05-2014 и Лабораторный регламент на производство арники экстракта сухого и каштана экстракта сухого крема для наружного применения ЛР № 04868144-01-2015)
2. Нормативные документы на гель 1% и крем 1%.
3. Разработаны методики стандартизации лекарственных препаратов – гель и крем. Изучена стабильность разработанных лекарственных форм в процессе хранения, установлен срок годности – 2 года.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Результаты патентного поиска в области создания мягких лекарственных форм на основе арники и каштана
2. Результаты исследования по обоснованию предложенных составов и технологии получения геля 1% и крема 1% на основе сухих экстрактов каштана конского и арники.
3. Результаты изучения физико-химических, технологических и реологических свойств геля и крема.
4. Результаты исследования по разработке методики идентификации и количественного определения биологически активных веществ, содержащихся в исследуемых образцах.
5. Результаты изучения стабильности полученных лекарственных форм в процессе хранения.
6. Нормативные документы на мягкие лекарственные формы – гель 1% и крем 1%, с сухими экстрактами каштана конского и арники.

### **Методология и методы исследования**

Теоретическую основу исследования составили труды российских (Кедик А.С., Алексеев К.В., Азаркова А.Ф. и др.) и зарубежных исследователей (Evans C.J., Lebe B.S., Zhang Zh.), развивающие использование физико-химических исследований в создании и

стандартизации рациональных лекарственных препаратов: международная и российская нормативная документация по производству и контролю качества лекарственных форм. Методология заключалась в изучении влияния различных вспомогательных веществ на реологические свойства лекарственной формы, высвобождения биологически активных компонентов из лекарственных форм, способа введения активной субстанции в основу с последующим выбором оптимальных вспомогательных веществ и технологии их использования. При выполнении работы были использованы методы патентного анализа, SWOT – анализа; комплекс физико-химических методов, технологических и микробиологических испытаний; математические методы обработки результатов.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов подтверждается физико-химическими, технологическими и микробиологическими методами анализа. Методики идентификации и анализа биологически активных веществ в препарате воспроизводимы и однозначны.

Основные положения диссертационной работы и результаты исследований представлены и доложены на конференциях:

–международная научно-практическая конференция молодых ученых и аспирантов «Молодые ученые и фармация XXI века» 2013 г., 2014 г.

–научно-практическая конференция «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» в НИИ фармации ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, 2014 г.

–международная научно-практическая конференция «От растения к препарату: традиции и современность» (к 95 – летию со дня рождения проф. А.И. Шретера) в ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2014 г.

### **Личное участие автора**

Основная часть исследования (90%) выполнена лично автором диссертационной работы. Во всех работах, выполненных с соавторами, автору принадлежит постановка задачи, методов исследования, анализ полученных результатов, непосредственное участие автора в проведенных исследованиях.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 3 кратких сообщения в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 2 статьи в иностранных сборниках: сборник тезисов Orvos Kesztes, 2011 год (Будапешт, Венгрия), сборник тезисов IV International

Conference "Sharing the Results of Research Towards Closer Global Convergence of Scientists"  
2014 г (Монреаль, Канада).

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.01 – технология получения лекарств, а именно: пункту 1 – исследование теоретических основ фармацевтической технологии, валидации, управление рисками, перенос технологий с этапа фармацевтической разработки в серийное производство; пункту 3 - разработка технологий получения субстанции и готовых лекарственных форм; пункту 4 - исследования по изучению особенностей технологии получения готовых лекарственных форм из различных видов субстанций, сырья и вспомогательных веществ.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, методов и материалов исследования, экспериментальных глав, заключения, общих выводов, библиографии, приложения. Библиография включает 122 литературных источников, из них 20 на иностранных языках.

Работа изложена на 189 страницах машинописного текста и содержит 28 таблиц и 52 рисунка.

В обзоре литературы рассматриваются сведения об этиологии и патогенезе варикозного расширения вен, методах лечения и профилактики этого заболевания. Приведены современные данные о вспомогательных веществах, применяемых при разработке мягких лекарственных форм.

Во второй главе изложена характеристика сухих экстрактов арники и каштана конского, оборудования, использованного в процессе исследования, методов и материалов исследования.

В третьей и четвертой главах обоснована разработка мягких лекарственных форм на основании результатов патентного поиска и маркетинговых исследований, представлены экспериментальные данные по изучению геля и крема, их стандартизации, определению сроков годности данные статистической обработки методик идентификации и количественного определения биологически активных веществ в мягких лекарственных формах.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **1. Объекты и методы исследования**

В работе использованы активные субстанции, полученные в отделе фитохимии ФГБНУ ВИЛАР: сухой экстракт травы арники облиственной (проект НД), сухой экстракт семян каштана конского обыкновенного (проект НД).



В отделе экспериментальной и клинической фармакологии ФГБНУ ВИЛАР в результате изучения специфической активности субстанций установлены концентрация сухого экстракта каштана конского обыкновенного - 1% и сухого экстракта арники облиственной - 1% .

Все вспомогательные вещества, используемые в работе, удовлетворяют требованиям НД, зарегистрированы в РФ и разрешены к применению: различные марки карбополов (Carbopol EDT2020, Carbopol 940P) (EP), воск эмульсионный Polawax (ТУ 9154-003-0033813-99), диметиконы производства Dowcorning (Q-79120 20ST), ST elastomer 10, (Dimethiconblend 20) (USP), ГПМЦ (гидроксипропилметилцеллюлоза, ТУ 9197-025-00480684-09), МЦ (метилцеллюлоза, ТУ 2231-107-05742755-96), КМЦ (карбоксиметилцеллюлоза, ТУ 2231-002-50277563-2000), ПЭГ 1500 (полиэтиленгликоль 1500, ТУ 2483-167-05757587-2000), ПЭГ 6000 (полиэтиленгликоль 6000, ТУ 2481-008-71150986-2006 с Изм. 1-3) - использовались в качестве структурообразователей, полисорбат 80 (твин 80, ТУ 6-14-938-79), спен 60 (сорбитанмоностеарат ТУ 6-14-938-79) в качестве эмульгаторов и солюбилизаторов, глицерин (ФС 42-2202-99), масло вазелиновое медицинское (ГОСТ 3164-78), пропиленгликоль (ТУ 6-09-2434-81) в качестве пластификаторов и увлажняющих компонентов, натр едкий (ГОСТ 4328-77), триэтаноламин чистый (ТУ 6-09-2448-86) – нейтрализующие агенты, нипагин (ФС 42-1460-89) в качестве консерванта, растворитель – вода очищенная (ФС 42-0324-09).

Изучение растворимости сухих экстрактов проводили по методике ГФ XII (ОФС 42-0049-07). В качестве растворителей использовали воду очищенную, спирт этиловый, пропиленгликоль, димексид, ПЭГ-400, а также смеси вода: пропиленгликоль, вода: ПЭГ-400, с различными соотношениями компонентов.

Для идентификации действующих веществ в сухих экстрактах арники и каштана конского разработаны методики тонкослойной хроматографии и хроматоденситометрии. Для определения количественного содержания действующих веществ в экстрактах разработаны методики количественного определения методом спектрофотометрии. Для изучения структурно-механических свойств МЛФ с сухими экстрактами использованы реологические методы исследования с помощью ротационного вискозиметра «Reotest-2» типа RV (Германия), ГФ XII, вып. 1, ОФС 42-0038-07.

Значение pH геля и крема на основе сухих экстрактов арники и каштана конского определяли потенциометрически в соответствии требованиями (ГФ XII, вып.1, С.85-90 ОФС 42-0048-07). Для этого использовали pH-метр универсальный Sartorius professional Meter PP 20 (Германия). Высыхаемость экспериментальных образцов определяли путем



ст.«Carbomers»												
Карбопол EDT 2020 EP 2001 г. ст.«Carbomers»	-	-	-	-	-	-	0,5	1,0	<b>1,0</b>	1,5	-	
МЦ (ТУ 2231-107- 05742755 -96)	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	
ГПМЦ (ТУ 9197- 025-00480684-09)	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	
КМЦ (ТУ 2231-002- 50277563-2000)	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	
Глицерин ТУ 46- 4904560-91	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	<b>2,0</b>	2,0	2,0	
ПЭГ-6000 (ТУ 2481- 008-71150986-2006 с Изм. 1-3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Триэтаноламин (ТУ 2423-061-05807977- 2002)	0,1	0,1	0,1	-	-	-	0,1	-	<b>0,1</b>	0,1	-	
Натр едкий ГОСТ 4328-77	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	
«Лецигран М» (US pharmacopeia Part 3 supplement p.S3/31)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0
Воск эмульсионный (ТУ 9154-003- 00333813-99)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0
Нипагин (ФС 42- 1460-89)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	<b>0,3</b>	0,3	0,3	
Вода очищенная (ФС 42-0324-09)	95,1	94,6	94,1	90,7	92,3	89,7	95,1	94,6	<b>94,6</b>	94,1	75,7	

В результате проведения первичного скрининга по показателям: внешний вид, однородность, отсутствие расслоения (визуальный органолептический контроль), вязкость, микробиологическая чистота с целью изучения структурно - механических свойств отобраны образцы гелей №2, №9, №11 на основах Carbopol 940P 1%, Carbopol EDT 2020, ПЭГ 6000 (рисунки 1,2,3).

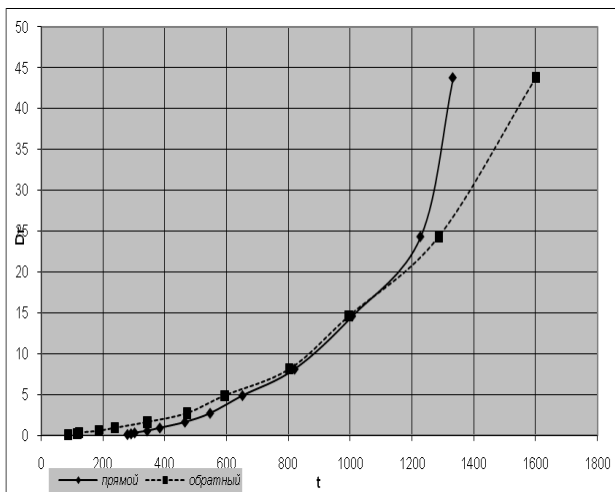


Рисунок 1 - Реограмма течения геля с сухими экстрактами каштана конского и арники на основе Карбопол 940Р 1%

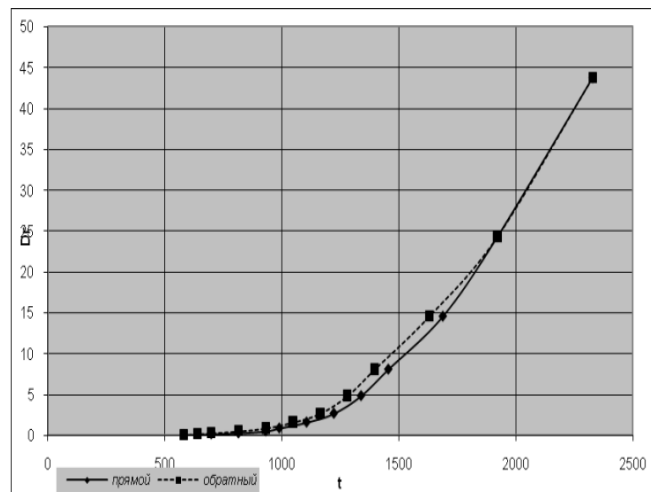


Рисунок 2 - Реограмма течения геля с сухими экстрактами каштана конского и арники на основе Карбопол EDT 2020 1%

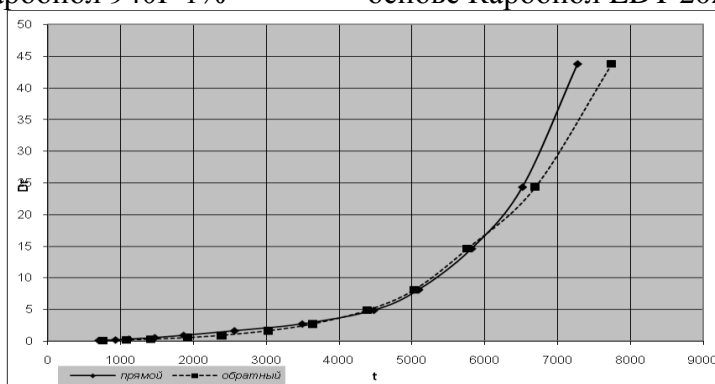


Рисунок 3 - Реограмма течения геля с сухими экстрактами каштана конского и арники на основе ПЭГ 6000.

Установлено, что исследуемые гели имеют неньютоновский тип течения, их вязкость зависит от напряжения сдвига, и реограмма течения имеет нелинейный характер. Согласно реограммам только образец на основе Карбопол EDT 2020 1% имеет характерную петлю гистерезиса. Реограммы течения гелей на основах ПЭГ 6000 и Карбопол 940Р 1% указывают на то, что данные системы не могут обрести первоначальную вязкость после периода покоя. Данные реологических исследований свидетельствуют о стабильности и пластичности системы, хорошей намазываемости на кожу и экструзии из туб.

Для подтверждения выбора системы растворителей глицерин:вода в соотношении 1:3 была получена реограмма течения основы карбопол EDT 2020 1% с различным содержанием глицерина (рисунки 4, 5).

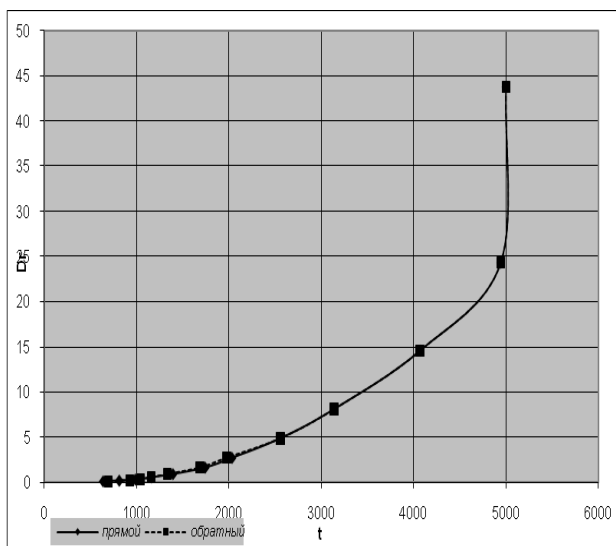


Рисунок 4 - Реограмма течения

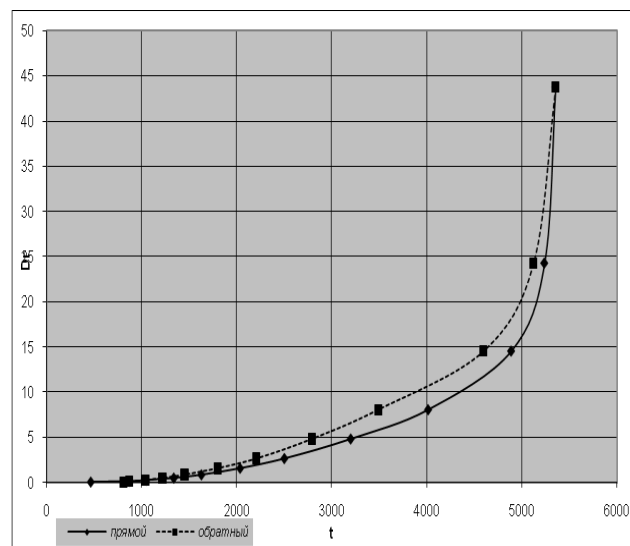


Рисунок 5 - Реограмма течения

Карбопола EDT2020 с глицерином в количестве 2%. Карбопола EDT2020 с глицерином в количестве 20%

Согласно полученным данным при изучении тиксотропных свойств данных образцов восстановление системы наблюдается в интервалах скоростей 40-45  $\text{Dc}^{-1}$  в период убывающего напряжения вязкости образца. При более низких скоростях система восстанавливалась, но значения вязкости превышали исходные, что позволяет сделать вывод о том, что состав карбопол EDT 2020 1% с глицерином в количестве 20% обладает достаточно малым временем восстановления. Изучение высыхаемости гелей, содержащих 2% и 20% глицерина, показало, что потеря массы образцов имеет близкие значения. С учетом проведенных исследований количество глицерина 2% в геле на основе карбопол EDT 2020 является оптимальным.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработан следующий состав геля на основе сухого экстракта арники 1% и сухого экстракта каштана конского 1%.

**Состав геля сухого экстракта арники 1% и сухого экстракта каштана конского 1%**

Арники экстракт сухой (НД)	1,0 г
Каштана конского экстракт сухой (НД)	1,0 г
Карбопол EDT 2020 (Европейская фармакопея 2001 г., статья «Carbomers»)	1,0 г
Глицерин (ТУ46-4904560-91)	2,0 г
Триэтаноламин (ТУ 2423-061-05807977-2002)	0,1 г
Нипагин (ФС 42-1460-89)	0,3 г
Вода очищенная (ФС 42-0324-09)	до 100 г

Идентификацию эсцина и хлорогеновой кислоты в геле проводят методом тонкослойной хроматографии и хроматоденситометрии в УФ<sub>365</sub>.

На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться пятно эсцина с Rf 0,7, окрашенное в темно-фиолетовый с синеватым оттенком цвет. В исследовании использовался прибор видеоденситометр с компьютерной программой «*Sorbifil TLC*» компании «Сорбифил» (Россия), позволяющая с максимальной точностью рассчитать площади пятен на хроматограмме. В качестве стандарта использовался 0,1% раствор хлорогеновой кислоты в 95% спирте (0,01 г в 10 мл). Полученные данные показывают, что относительная ошибка (E,%) единичного определения методики с 95% вероятностью не превышает 3,41% для определения тритерпеновых сапонинов в пересчете на эцин методом хроматоденситометрии.

На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться пятно с Rf 0,3 совпадающее по расположению и окрашиванию с пятном на хроматограмме хлорогеновой кислоты-стандарта.

Количественное содержание фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту определяли с помощью УФ-спектрофотометрии в диапазоне 328±2 нм. В качестве стандарта использовался СО хлорогеновой кислоты. (Рисунок 6)

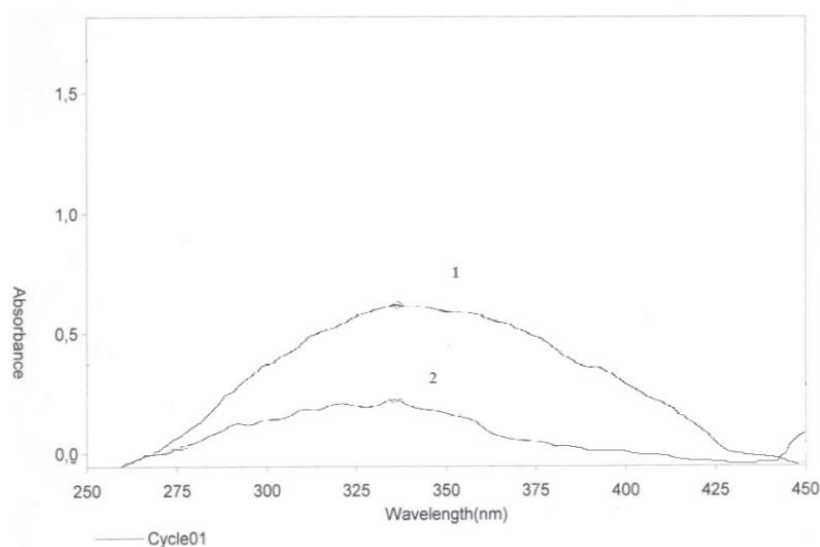


Рисунок 6 – УФ спектр поглощения извлечения из геля сухих экстрактов арники и каштана конского 1% (2), раствора СО хлорогеновой кислоты (1)

В результате установлено, что содержание фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту в геле должно быть не менее 0,22 %

Относительная ошибка (E%) единичного определения методики определения фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту в геле методом спектрофотометрии с 95% вероятностью не превышает 4,44%

Технологическая схема получения геля с сухими экстракта арники и каштана конского представлена на рисунке 7.

Рис.7 Технологическая схема производства геля на основе сухих экстрактов арники обливенной и каштана конского обыкновенного

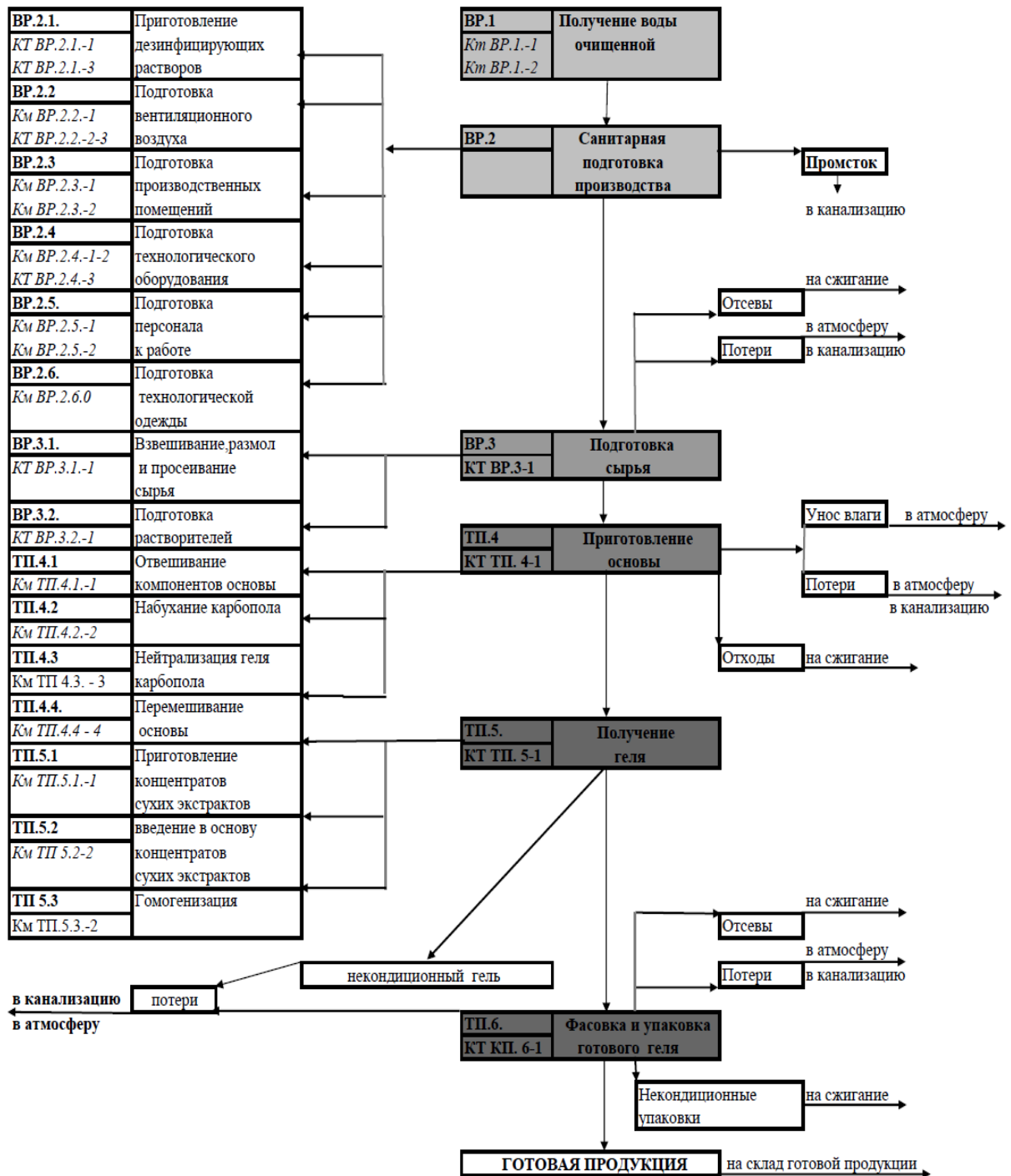


Таблица 2 – Спецификация геля на основе сухих экстрактов семян каштана конского обыкновенного и травы арники облиственной

Наименование показателя	Метод анализа	Нормы
Описание	визуальный	Однородный гель темно-коричневого цвета со слабым специфическим запахом
Подлинность	ТСХ	Основное пятно на хроматограмме раствора препарата после пробоподготовки для определения эсцина в УФ – свете при 365 нм с Rf 0,7 флюоресцирует характерным темно фиолетовым цветом.
		Основное пятно на хроматограмме раствора препарата после пробоподготовки для определения хлорогеновой кислоты в УФ свете при 365 нм с Rf 0,3 флюоресцируют характерным желтовато-голубым цветом
Вязкость	ГФ XII ОФС 42-0038-07	43,0 - 50,5 Пз
рН	ГФ XII ОФС 42-0048-07	5,5 - 6,5
Масса содержимого упаковки	ОСТ 64-492-85	В соответствии с требованиями
Микробиологическая чистота	ГФ XII	категория 2
Количественное определение	УФ спектрофотометрия	Не менее 0,22% фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту
Упаковка	По 10 г в тубы алюминиевые. Каждую тубу с инструкцией по применению помещают в пачку из картона.	
Маркировка	В соответствии с НД	
Хранение	В сухом защищенном от света месте при температуре не выше 25°C	
Срок годности	2 года	

### 3. Разработка состава и технологии арники облиственной травы и каштана конского обыкновенного семян сухих экстрактов крема 1%

С целью выбора вспомогательных веществ при получении крема были изготовлены образцы на различных основах, их составы представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Экспериментальные образцы крема на различных основах

Наименование ингредиентов	Содержание ингредиентов 100,0						
	1	2	3	4	5	6	7
Экстракт арники сухой (НД)	1,0	1,0	1,0	<b>1,0</b>	1,0	1,0	1,0
Экстракт каштана конского сухой (НД)	1,0	1,0	1,0	<b>1,0</b>	1,0	1,0	1,0



ST-Elastomer 10 (EP «Silicone Liquids»)	5,0	-	-	-	-	-	-
Dimethicone Blend (EP «Silicone Liquids»)	5,0	-	-	-	-	-	-
ST - CYCLOMETHICONE 5- NF (EP «Silicone Liquids»)	8,0	-	-	-	-	-	-
Масло вазелиновое медицинское ГОСТ 3164-78	5,0	-	5,0	<b>5,0</b>	-	5,0	5,0
EMULSIFIER 10(EP «Silicone Liquids»)	2,0	-	-	-	-	-	-
Глицерин (ГОСТ 6824-96)	3,0		2,0	<b>2,0</b>	-	2,0	-
ГПМЦ (ТУ 9197-025-00480684-09)	-	2,0	-	-	-	-	-
Спен– 60 (ГОСТ 12.1.007-76)	-	2,0	-	-	2,0	-	-
Твин 80 (полисорбат 80) (ТУ 6-14-938-79)	-	-	-	<b>4,0</b>	-	4,0	4,0
«Лецигран М» (US pharm.Part3suppl. p.S3/31)	-	-	4,0	-	-	-	-
ПЭГ 400 (ТУ 2483-167-05757587-2000)	-	2,0	-	-	2,0	-	2,0
ПЭГ 1500 (ТУ 2483-167-05757587-2000 с изм. 1)	-	-	-	-	-	5,0	-
Воск эмульсионный( ТУ 9154-003-00333813-99)	-	-	7,0	<b>7,0</b>	7,0	6,0	7,0
Нипагин (ФС 42-1460-89)	0,3	0,3	0,3	<b>0,3</b>	0,3	0,3	0,3
Вода очищенная (ФС 42-0324-09)	74,0	91,4	79,4	<b>79,4</b>	86,4	75,4	79,4
Натрия хлорид (ГОСТ 4233-77)	1,0	-	-	-	-	-	-

Оценка качества образцов крема осуществлялась по внешнему виду, а также с учетом таких характеристик, как намазываемость, высыхаемость, однородность, вязкость, значение pH. Образец №1 на основе диметиконов не соответствует ГФ XI по показателям: внешний вид, однородность, запах. Образец №2 на основе ГПМЦ не соответствует ГФ XI по показателю стабильность (образец расслоился). Образец № 6 на основе ПЭГ 1500 соответствуют ГФ XI, однако при нанесении на кожу образуется долго не исчезающая белая пленка. При намазывании требуются дополнительные усилия для втирания крема.

Таким образом, для дальнейшего изучения были отобраны образцы:

№ 3 - на основе воск эмульсионный с эмульгатором Лецигран М

№ 4 - на основе воск эмульсионный с эмульгатором твин 80 и соразтворителем глицерин

№ 5 - на основе воск эмульсионный с эмульгатором спен 60

№ 7 – на основе воск эмульсионный с эмульгатором твин 80 и соразтворителем ПЭГ 400.

Для исследования высыхаемости отобраны образцы 4 и 7 (таблица 4), т.к. в состав данных образцов входят влагосберегающие компоненты глицерин и ПЭГ 400.

Таблица 4 - Высыхаемость образцов крема с сухими экстрактами арники и каштана конского

Количество суток	Среднее значение потери в массе в %	
	Образец № 4 с глицерином m = 20,3427 г	Образец № 7 с ПЭГ 400 m = 20,1854 г
1	1,2	1,8
2	1,8	2,5
3	2,3	3,6
4	3,8	5,68
5	5,35	7,81
10	7,39	11,34
15	8,01	12,86
20	8,88	14,41
25	9,42	17,63
30	9,98	18,15

Согласно полученным данным, высыхаемость крема, содержащего в составе ПЭГ 400 выше, и на 30 – сутки составила 24%. Потеря массы образца №4 составляет 9,98%, что объясняется введением в состав прописи глицерина в количестве 2,0.

Данные изучения реологических свойств образцов крема 3, 4, 5 представлены на рисунках 8, 9, 10.

При изучении тиксотропных свойств крема, содержащего в своем составе эмульгатор твин 80 (рисунок 10) доказано, что он характеризуется плавным возрастанием напряжения сдвига с увеличением скорости сдвига до полного разрушения системы. При этом данная структура равномерно и быстро восстанавливается, что позволяет говорить о стабильности крема во всех интервалах скоростей сдвига. Таким образом, данные реологических исследований свидетельствуют о стабильности и пластичности системы, хорошей намазываемости на кожу и экструзии из туб.

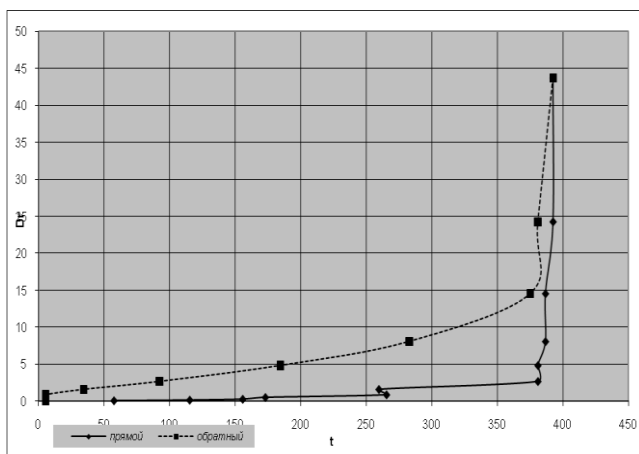


Рисунок 8 - Реограмма течения крема с сухими экстрактами каштана конского и арники с эмульгатором спен 60.

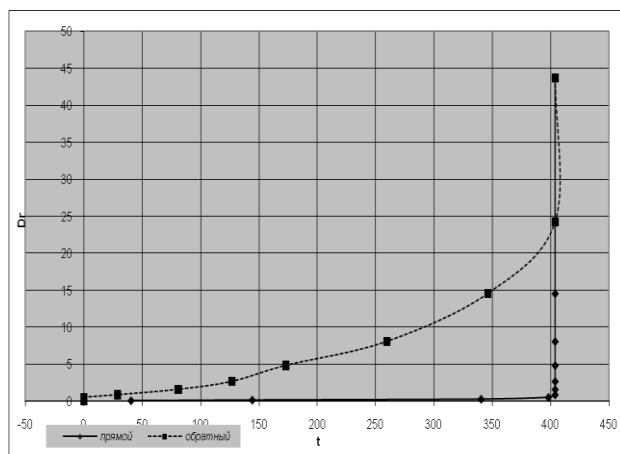


Рисунок 9 - Реограмма течения крема с сухими экстрактами каштана конского и арники с эмульгатором Лецигран М.

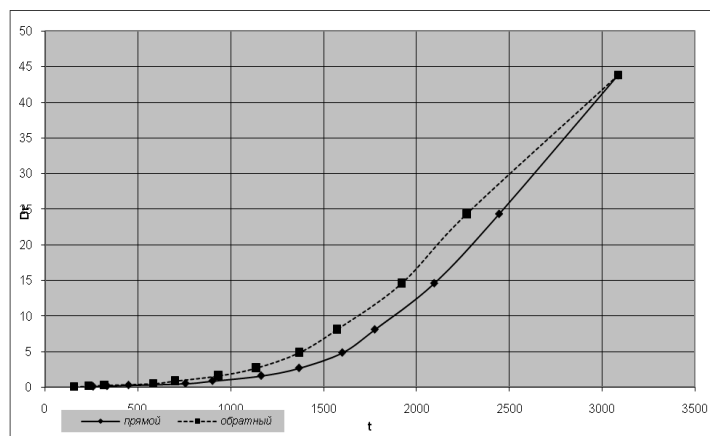


Рисунок 10 - Реограмма течения крема с сухими экстрактами каштана конского и арники с эмульгатором твин 80.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработан **состав крема сухого экстракта арники 1% и сухого экстракта каштана конского 1%**

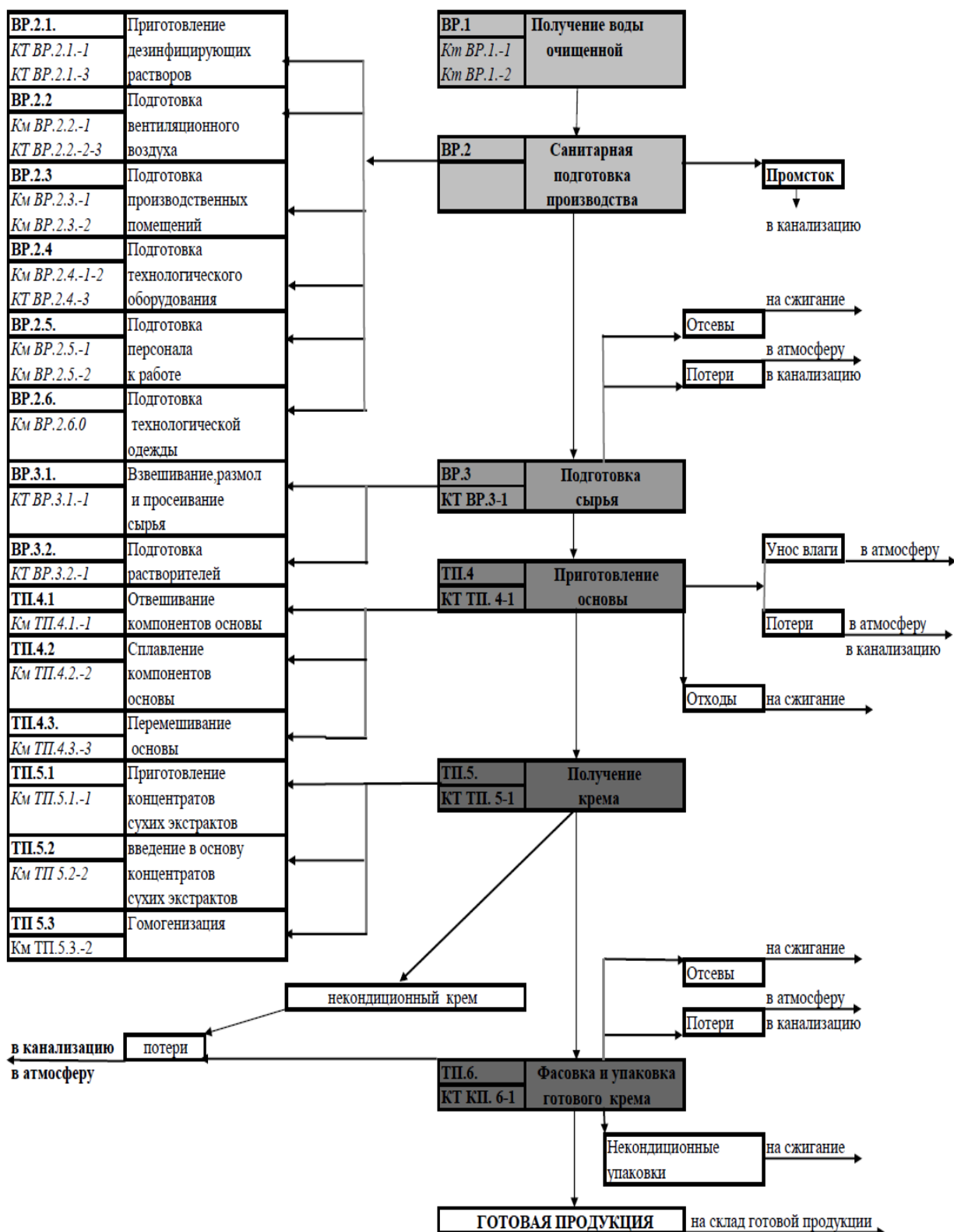
Арники экстракт сухой (НД)	1,0 г
Каштана конского экстракт сухой (НД)	1,0 г
Воск эмульсионный, POLAWAX (ТУ 9154-022-20820231-2012)	7,0 г
Глицерин (ТУ46-4904560-91)	2,0 г
Нипагин (ФС 42-1460-89)	0,3 г
Масло вазелиновое медицинское (ГОСТ 3164-78)	5,0 г
Твин -80 (полисорбат 80) (ТУ 6-14-938-79)	4,0 г
Вода очищенная (ФС 42-0324-09)	до 100 г

Технологическая схема получения крема с сухими экстракта арники и каштана конского представлена на рисунке 11.

Определение подлинности проводили методом тонкослойной хроматографии в УФ свете при 365нм. На хроматограмме испытуемого раствора должно обнаруживаться пятно хлорогеновой кислоты Rf 0,3, окрашенное в желто-голубой цвет.

Количественное содержание фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту можно определить с помощью УФ-спектрофотометрии в диапазоне 328±2нм (Рисунок 12).

Рис.11 Технологическая схема производства крема на основе сухих экстрактов арники обливенной и каштана конского обыкновенного



Относительная ошибка (E%) единичного определения методики определения фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту в геле методом спектрофотометрии с 95% вероятностью не превышает 5,06 %

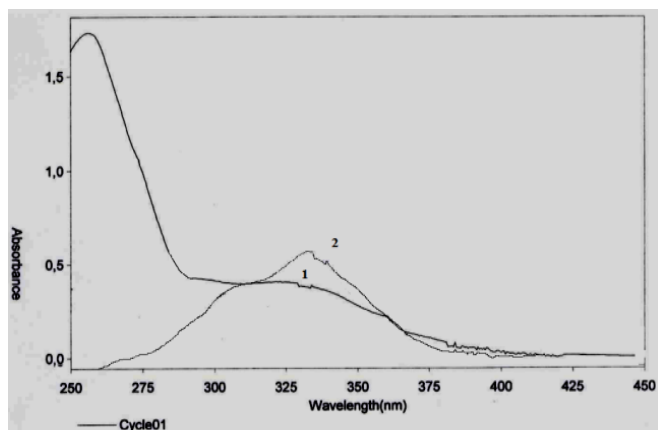


Рисунок 12- УФ спектр поглощения извлечения из крема сухих экстрактов арники и каштана конского 1% (1), раствора СО хлорогеновой кислоты (2)

Таблица 5 – Спецификация крема на основе сухих экстрактов семян каштана конского обыкновенного и травы арники облиственной

Наименование показателя	Метод анализа	Нормы
Описание	визуальный	Однородный крем светло-коричневого цвета со слабым специфическим запахом
Подлинность	ТСХ	Основное пятно на хроматограмме раствора препарата после пробоподготовки для определения хлорогеновой кислоты в УФ свете при 365 нм, Rf 0,28 флюоресцируют желтовато-голубым цветом.
Количественное определение	УФ спектрофотометрия	Не менее 0,14% фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту
вязкость	ГФ XII ОФС 42-0038-07	59,5-64,5 Пз
рН	ГФ XII ОФС 42-0048-07	5,5 – 6,5
Масса содержимого упаковки	ОСТ 64-492-85	В соответствии с требованиями
Микробиологическая чистота	ГФ XII	категория 2
Упаковка	По 10 г в тубы алюминиевые. Каждую тубу с инструкцией по применению помещают в пачку из картона.	
Маркировка	В соответствии с НД	
Хранение	В сухом защищенном от света месте при температуре не выше 25°C	
Срок годности	2 года	

Для изучения стабильности в процессе хранения изготовленные образцы геля и крема были расфасованы по 10 г в алюминиевые тубы (ТУ 64-678-90) с внутренним

лакированным покрытием на основе лака БФ-2 (ГОСТ 12-172-74). Образцы геля и крема хранили при комнатной температуре 2 года и 6 месяцев и анализировали по следующим показателям: описание, подлинность, рН, вязкость, масса содержимого упаковки, количественное содержание, микробиологическая чистота. Установлен срок годности 2 года.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

1. В результате проведения анализа патентных данных в области создания мягких лекарственных форм, на основе арники и каштана конского обоснована разработка комплексных фитопрепаратов с данными экстрактами.
2. Теоретически и экспериментально обоснованы составы и технология разрабатываемых геля и крема. В качестве структурообразователя для геля выбран карбопол EDT 2020, для крема – воск эмульсионный с эмульгатором твин 80.
3. Разработаны методики идентификации и количественного определения фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту и методики идентификации тритерпеновых гликозидов (эсцина) в полученных МЛФ.
4. Проведена валидация разработанных методик количественного определения основных компонентов в геле и креме, составлены протоколы валидации на данные методики.
5. Изучены физико-химические, технологические и реологические свойства экспериментальных образцов геля и крема;
6. Изучена стабильность в процессе хранения выбранных составов и обоснованы сроки годности ЛП по следующим показателям: внешний вид, подлинность, количественное содержание действующих веществ, значение рН, однородность, микробиологическая чистота.
7. На основании полученных результатов составлены НД на гель и крем, лабораторные регламенты на производство геля 1% и крема 1% (ЛР № 048682244-05-2014 и ЛР № 04868144-01-2015)

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Рысакова, О.В. Фармакогностическое изучение сырья арники облиственной и разработка лекарственной формы на основе сухого экстракта арники/ Рысакова О.В., Бабаева Е.Ю., Семкина О.А.// "Клинические и теоретические аспекты современной медицины", сборн. тезисов междунар. науч. конференции РУДН. – М., 2010. - С. 48
2. Рысакова, О.В. Изучение зависимости некоторых биометрических показателей арники облиственной от погодных условий/О.В. Рысакова, Е.Ю. Бабаева, О.А. Семкина, В.Б. Загуменников// Здоровье и образование в XXI веке. – М., 2010. - Т.12, Ч. 4. - С.523-524.
3. Семкина, О.В. Поиск вспомогательных веществ при разработке гелевой лекарственной формы на основе сухого экстракта арники/ О.А. Семкина, М.А. Джавахян, Е.Ю. Бабаева О.А. Рысакова// XVII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» 12-16 апреля 2010 г. – М., 2010. - С. 715
4. Рысакова, О.В. Фармакогностическое изучение арники облиственной травы и стандартизация лекарственного препарата на основе её экстракта/ О.В. Рысакова, Е.Ю. Бабаева, О.А. Семкина, Э.Г. Кравцов, А.С. Ульяновцев// Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч.Трудов. – Пятигорск, 2011. - вып. 66.- С.225
5. Rusakova, O.V. Study of microbiological purity of the gel on the basis of dry Arnica extract/ O.V.Rusakova, H.Y. Babaeva, O.A. Semkina, E.G. Kravtsov, A.C. Ulyantsev// OrvosKerzes. – Budapest, 2011. – С. 229
6. Бабаева, Е.Ю. Фармакогностическое изучение и морфометрические показатели травы арники облиственной и арники шамиссо/ Е.Ю. Бабаева, О.В. Бондаренко, А.И. Ворошилов, О.А. Семкина// XX Российский национальный конгресс Человек и лекарство: сбор.науч. трудов, 15-19 апреля 2013 г. – М., 2013. - С. 38
7. Бабаева, Е.Ю. Фармакогностическое изучение и морфометрические показатели травы арники облиственной и арники шамиссо/ Е.Ю. Бабаева, О.В. Бондаренко, А.И. Ворошилов, О.А. Семкина// Вестник Российского Университета дружбы народов, серия: Медицина. – М., 2013. - №3. - С. 78-83
8. Полякова, И.Д. Выбор вспомогательных веществ при разработке геля на основе каштана конского обыкновенного семян экстракта и арники облиственной травы экстракта/И.Д. Полякова, О.В. Бондаренко, М.А. Джавахян, О.А. Семкина// Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2013» 8-13 апреля 2013 г. – М., 2013. - С.89
9. Сокольская, Т.А. Получение и изучение стабильности гелевой лекарственной формы экстракта сухого арники облиственной/ Т.А. Сокольская, В.Ф. Охотникова, О.А.

Семкина, М.А. Джавахян, О.В. Бондаренко [и др.]// Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – М., 2013. – Т.11.- №4. - С.16-20

10. Бондаренко, О.В. Изучение физико-химических и технологических свойств сухих экстрактов из семян каштана конского обыкновенного и травы арники облиственной/О.В. Бондаренко, О.А. Семкина, М.А. Джавахян, Е.Ю. Бабаева, И.Д. Полякова//Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – М., 2013. - №5. - С.67

11. Семкина, О.А. Разработка состава и технологии получения геля на основе арники облиственной и каштана конского сухих экстрактов/ О.А. Семкина, О.В. Бондаренко, М.А. Джавахян, В.Ф. Охотникова, Е.И. Грибкова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – М., 2014. - №6. – С.62-63.

12. Бондаренко, О.В. Перспективные лекарственные формы для лечения заболеваний нижних конечностей/ О.В. Бондаренко, О.А. Семкина, Е.И. Грибкова, М.А. Джавахян, Т.А. Сокольская// Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – М., 2014. - № 11. - С. 36-40

13. Бондаренко, О.В. Разработка геля венотонизирующего действия на основе арники облиственной и каштана конского обыкновенного сухих экстрактов/ О.В. Бондаренко, О.А. Семкина, М.А. Джавахян, В.Ф. Охотникова, Е.И. Грибкова // Сеченовский вестник. – М., 2014. - №1 (15). – С. 111-112.

14. Bondarenko, O.V. Development of method for the quantitative determination of chlorogenic acid in the gel with dry extract arnica foliosa (arnica foliosanutt.) and horse chestnut (aesculushippocastanum L.)/ O.V. Bondarenko, O.A. Semkina, I.V. Zilfikarov// IV International Conference Sharing the Results of Research Towards Closer Global Convergence of Scientists. - Montreal, 2014. - С. 245

15. Бондаренко, О.В. Методики количественного определения геля на основе сухих экстрактов арники облиственной и каштана конского / О.В. Бондаренко, О.А. Семкина, И.Н. Зилфикаров// Молодые ученые и фармация XXI века: материалы второй науч. конф. ВИЛАР. – М., 2014. - С.238-242.

16. Бондаренко, О.В. Разработка состава и технологии геля на основе арники облиственной и каштана конского обыкновенного сухих экстрактов / О.В. Бондаренко, О.А. Семкина, М.А. Джавахян, Е.И. Грибкова // От растения к препарату: традиции и современность: сбор.науч. трудов. – М., 2014. - С.66-70

17. Бондаренко, О.В. Определение хлорогеновой кислоты и эсцина в мягкой лекарственной форме венотонизирующего и противовоспалительного действия /О.В. Бондарено, О.А. Семкина, И.Н. Зилфикаров // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – М., 2015. - № 4. - С.48-49