

ТАДЖИКСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК – 615. 1/4 (575.3)

На правах рукописи

Махсудов Кобилджон Саидмахдиевич

**РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ
АНТИМИКРОБНОГО И РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НА
ОСНОВЕ ШАЛФЕЯ МУСКАТНОГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В
ТАДЖИКИСТАНЕ**

**Диссертация на соискание ученой степени
доктора философии (PhD), доктора по специальности
6D110401 - Технология получения лекарств**

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук
Мусозода Сафол Мирахмад

Душанбе – 2023

Оглавление

	Стр.
Перечень сокращений и условных обозначений	5
Введение	6
Общая характеристика работы	8
Глава 1. Перспективы использования извлечений из растения рода <i>Salvia L.</i> при разработке лекарственных препаратов	13
1.1. Растения рода <i>Salvia L.</i> как перспективный источник активных фармацевтических ингредиентов при разработке лекарственных средств.....	13
1.2. Шалфей мускатный (<i>Salvia sclarea L.</i>) – состояние изучения химического состава и биологической активности.....	15
1.3. Анализ использования фитопрепаратов в терапии раневого процесса.....	23
1.4. Анализ использования глинистых минералов при разработке фармацевтических препаратов.....	26
Глава 2. Материал и методы исследования	34
2.1. Постановка концепции исследований.....	34
2.2. Объекты исследований	35
2.3. Материалы исследований.....	35
2.4. Методы исследования.....	41
2.4.1. Физико-химические и фармако-технологические методы исследования сырья шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане.....	41
2.4.2. Физико-химические и технологические методы исследования сырья бентонитовой глины Султанабадского месторождения.....	49
2.4.3 Физико-химические, технологические, биофармацевтические и микробиологические методы исследования при разработке мази с содержанием жидкого экстракта шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане	51

Глава 3. Обоснование технологии получения жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане.

Разработка состава мази с его содержанием	58
3.1. Обоснование оптимальных условий получения жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане.....	58
3.1.1. Исследование фармако-технологических свойств листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане	58
3.1.2. Выбор оптимального экстрагента, степени измельчения сырья и метода экстракции.....	61
3.2. Исследование свойств бентонитовой глины и стандартизация....	69
3.2.1. Разработка технологии очистки и механической обработки бентонитовой глины.....	70
3.2.2. Изучение физико-химических и технологических свойств бентонитовой глины и стандартизация.....	74
3.2.2.1. Разработка методики идентификации бентонитовой глины...	75
3.2.2.2. Определение физико-химических свойств бентонитовой глины.....	77
3.2.2.3. Изучение технологических свойств бентонитовой глины.....	79
3.2.3. Описание технологии подготовки бентонитовой глины к использованию в фармацевтической технологии.....	79
3.3. Разработка мази с содержанием жидкого экстракта листьев шалфея мускатного	81
3.3.1. Разработка состава мази с содержанием жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане	85
3.3.2. Биофармацевтические исследования образцов мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного.....	90
3.3.3. Изучение антимикробной активности жидкого экстракта шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане и мази с его содержанием.....	93

3.3.4. Описание технологии приготовления мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного	95
Глава 4. Разработка методик контроля качества жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане и мази с его содержанием.....	97
4.1. Обоснование методик контроля качества жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане	97
4.2. Обоснование методик контроля качества мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане.....	117
Глава 5. Исследование биологической активности мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане.....	127
5.1. Изучение ранозаживляющего (репаративного) действия мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного.....	127
5.2. Исследование антимикробной активности мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного.....	130
5.3. Изучение биологической безвредности мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного.....	132
5.3.1. Изучение острой токсичности мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного.....	132
5.3.2. Изучение хронической токсичности мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного.....	136
Глава 6. Обсуждение результатов.....	153
Выводы.....	159
Рекомендации по практическому использованию результатов.....	161
Список литературы.....	162

Перечень сокращений и условных обозначений

АФИ – активный фармацевтический ингредиент

БАВ – биологически активные вещества

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВФС – временная фармакопейная статья

ГФРФ – Государственная фармакопея Российской Федерации

ГФУ – Государственная фармакопея Украины

ЖЭЛШМ – жидкий экстракт листьев шалфея мускатного

КОЕ – колониеобразующие единицы

ЛРС – лекарственное растительное сырье

МКК – методики контроля качества

МЛФ – мягкая лекарственная форма

НД – нормативная документация

ОС – образец сравнения

ОФС – общая фармакопейная статья

РТ – Республика Таджикистан

ТСХ – тонкослойной хроматографии

ТУ – технические условия

СО – Стандартный образец

ФОС – фармакопейный образец сравнения

ФС – фармакопейная статья

ЦНС – центральная нервная система

ШМ – шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L.)

ЭКГ – Электрокардиограмма

GAS (Chemical Abstracts Service) – уникальный численный идентификатор химических соединений

ТУМС - общего числа дрожжевых и плесневых грибов

ТАМС – общего числа аэробных микроорганизмов

Введение

Актуальность предмета исследования. Народным достоянием Республики Таджикистан являются природные ресурсы в виде дикорастущих лекарственных растений и залежей минеральных руд. В настоящее время использование дикорастущих лекарственных растений в традиционной и народной медицине переживает свой новый пик признания. Благодаря благоприятным климатическим условиям видовой состав дикорастущих лекарственных растений в Таджикистане очень разнообразен и богат. По предварительному подсчету, в республике произрастает свыше 150 видов растений, применяемых или рекомендованных к применению в официальной медицине, и более 1500 видов используются в народной медицине [Мазнев Н. И. 2008; Саттаров Д. С. 2019; Чухно Т. 2007].

Шалфей мускатный (*Salvia sclarea L.*) владеет разнообразной биологической активностью (антиоксидантной, противовоспалительной, антимикробной, обезболивающей, ранозаживляющей), что обусловлено различными компонентами, входящими в состав сырья - эфирное масло, флавоноиды, алкалоиды и дубильные вещества. В силу большой вариабельности химического состава растения от условий произрастания и географической локализации актуальным является исследования, направленные на изучение состава жидкого экстракта шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане, и последующая разработка лекарственного средства для использования в дерматологической практике с противовоспалительным, антимикробным и ранозаживляющим действием. Этиология раневого процесса разнообразна, сложными являются процессы заживления и восстановления тканей, требующие комплексного воздействия лекарственных средств на процесс регенерации. Это объясняет целесообразность использования средств с полимодальным влиянием, какими являются растительные препараты. Бентонитовая глина обладает хорошими сорбционными свойствами, благодаря которым при использовании в качестве мазевой основы способна впитывать гнойный экссудат с поверхности раны.

Таким образом, разработка технологий создания лекарственного препарата с использованием природных ресурсов Республики Таджикистан является составной частью развития экономического потенциала страны.

Степень изученности научной темы. В работе представлены результаты исследования фитохимического состава сырья шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.) и его биологической активности, что показывает перспективность объекта исследования как дополнительного источника получения активных фармацевтических ингредиентов. В связи с этим, актуальным являются научные работы, посвященные разработке технологий лекарственных форм на основе отечественного сырья.

Связь исследования с программами (проектами) и научной тематикой.

Диссертационная работа выполнена инициативно во исполнение Послания Президента Республики Таджикистан, Лидера нации Эмомали Рахмона в Маджлиси Оли Республики Таджикистан от 22.12.2017 года.

Общая характеристика работы

Цель исследования. Целью диссертационной работы является разработка технологии жидкого экстракта листьев шалфея мускатного (ЖЭЛШМ), произрастающего в Таджикистане, состава и технологии мази с ЖЭЛШМ на основе бентонитовой глины, изучение биологической активности мази и ее биологической безвредности.

Задачи исследования. В соответствии с поставленной целью диссертационной работы необходимо было решить следующие задачи:

1. Провести анализ научных литературных источников относительно химического состава и медицинского использования лекарственных растений рода шалфей (*Salvia*) и бентонитовых глин ;
2. Исследовать и обосновать рациональную технологию получения ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане;
3. Разработать проект методик контроля качества на ЖЭЛШМ;
4. Экспериментально обосновать технологию очистки бентонитовых глин и ее стандартизацию;
5. Разработать состав и технологию мази с ЖЭЛШМ на основе бентонитовых глин;
6. Исследовать структурно-механические, физико-химические и биофармацевтические свойства мази;
7. Разработать проект методик контроля качества на мазь с ЖЭЛШМ и установить срок хранения лекарственной формы;
8. Исследовать биологическую безвредность и антимикробную и ранозаживляющую активность;
9. Разработать нормативно-техническую документацию – фармакопейную статью (ФС) и проект технологического регламента на лекарственную форму.

Объект исследования. Листья шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.), произрастающего в Таджикистане, ЖЭЛШМ, нативное сырье бентонитовой глины, модельные образцы мази с ЖЭЛШМ.

Предмет исследования. Фармако-технологические свойства сырья шалфея мускатного; биологически активных веществ (БАВ) листьев шалфея мускатного; антимикробная активность ЖЭЛШМ; структурно-механические, физико-химические и биофармацевтические свойства мази с ЖЭЛШМ; биологическая безвредность, ранозаживляющая и антимикробная активность мази с ЖЭЛШМ; разработка Фармакопейной статьи (ФС) и обоснование критериев стабильности препарата; разработка технологического регламента мази Салвит и его апробация в промышленных условиях, установление условий и сроков хранения, изучение специфической антидиабетической активности исследуемой лекарственной формы.

Научная новизна исследования. Научная новизна диссертационной работы заключается в разработке состава мази на основе природных ресурсов Республики Таджикистан – ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане. Новизна исследований подтверждена малым патентом Республики Таджикистан.

Положения, выносимые на защиту. Основными положениями диссертационной работы являются:

- результаты изучения фармако-технологических свойств сырья листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане;
- результаты экспериментального обоснования технологии получения ЖЭЛШМ;
- результаты стандартизации ЖЭЛШМ и установление сроков годности;
- результаты изучения антимикробной активности ЖЭЛШМ;
- результаты физико-химических, структурно-механических и биофармацевтических исследований по разработке состава и технологии мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного;
- результаты стандартизации мази и установления сроков годности;
- результаты изучения биологической безвредности мази, ранозаживляющей и антимикробной активности мази.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая

значимость диссертационной работы заключается в разработке методологии экспериментальных исследований, необходимых для получения ЖЭЛШМ как готовой лекарственной формы и мягкого лекарственного средства с содержанием ЖЭШЛМ. Научно-практическая ценность диссертационной работы заключается в получении двух лекарственных форм – ЖЭЛШМ и мази с ЖЭЛШМ, которые предложены для использования в дерматологической практике как противовоспалительные, антимикробные и ранозаживляющие средства.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Область исследования соответствует паспорту ВАК при Президенте Республики Таджикистан по специальности 6D110401 - Технология получения лекарств пунктам 1,3 и 4.

Степень достоверности результатов. При проведении экспериментальных исследований использованы сертифицированное сырье, реактивы, материалы и оборудование. Методами статистической обработки установлена воспроизводимость и значимость результатов исследований, что позволяет считать их достоверными.

Личный вклад соискателя ученой степени. Диссертационная работа является самостоятельным завершённым научным трудом, посвященным фармацевтической разработке состава и технологии мази с ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане. Лично автором проведен информационный поиск по теме диссертационной работы и анализ первоисточников, выполнен комплекс исследований по разработке технологии получения ЖЭЛШМ и его стандартизации. Автором самостоятельно выполнены исследования по разработке состава мази с ЖЭЛШМ и изучению ее физико-химических, реологических и биофармацевтических свойств.

При участии автора проведены исследования антимикробной активности ЖЭЛШМ и мази с ЖЭЛШМ, а также исследования биологическую безвредности и ранозаживляющей активности мази.

Постановка цели, задач исследования, а также обсуждение результатов и

обобщение выводов диссертационной работы осуществлены при участии научного руководителя и соавторов, совместно с которыми проводились экспериментальные исследования, являющимися соавторами научных публикаций. Из научных трудов, опубликованных в соавторстве, в диссертации приведены лишь те положения, разработки и рекомендации, которые являются результатом личных исследований автора. Личный вклад автора указывается по тексту диссертации, а также в списке публикаций автореферата.

Апробация и применение результатов диссертации. Результаты диссертационной работы обсуждались на республиканской научно-теоретической конференции, посвященной «5500-летию древнего Саразма», «700-летию выдающегося таджикского поэта Камола Худжанди» и «20-летию изучения и развития естественных, точных и математических наук в сфере науки и образования (2020-2040 годы)» (Душанбе, 20-27 апреля 2020 года); XXVII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (2020), Республиканской научно-теоретической конференции, посвященной 30-летию Государственной независимости Республики Таджикистан, 110-летию со дня рождения Народного поэта Таджикистана, Героя Таджикистана Мирзо Турсунзаде, 110 - летию со дня рождения Народного писателя Таджикистана Сотима Улугзода и «Двадцатилетию изучения и развития естественных, точных и математических наук в сфере науки и образования (2020-2040 годы)» (Душанбе, 20-27 апреля 2021 года), Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в области фармацевтической технологии» (г. Харьков, 13 октября 2021 г.), Научно-теоретической конференции фармацевтического факультета Таджикского национального университета «Фарматсияи тоҷик: имруз ва фардо» (Душанбе, 13 апреля 2022).

На основании проведенных исследований разработаны и утверждены Фармакопейным комитетом Республики Таджикистан ФС на листьях шалфея мускатного «Шалфея мускатного листа» (ФС РТ – 23–0016–19 от 03 марта 2015 года) и «Жидкий экстракт листьев шалфея мускатного» (ФС МЗиСЗН РТ 23-00-

06-22 от 16 сентября 2022 года).

Материалы исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической технологии Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибни Сино по теме «Исследование по разработке состава и технологии мази Салвит» (Акт внедрения от 29. 11. 2022 г.) и кафедр фармацевтической технологии, фармакогнозия, организация и фармацевтическая экономика, фармакология и клиническая фармакология, фармацевтическая информация НОУ «Медико-социальный институт Таджикистана» по теме «Фармацевтическая исследование листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане и технологии получения жидкого экстракта листьев шалфея мускатного» (Акт внедрения от 20.09.2021г.).

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании кафедр фармацевтической химии и управления и экономики фармации, фармакогнозия фармацевтического факультета ТНУ (протокол № 3 от 21.10.2022 г.), а также на заседании ученого совета фармацевтического факультета ТНУ (протокол № 3 от 02.12.2022 г.).

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 11 научных трудов, из них 6 - в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК при Президенте РТ, 5 тезисов докладов на научно-практических конференциях и получен малый патент на изобретение.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 180 страницах, состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, материала и методов исследования, трех глав экспериментальных исследований, заключения, списка литературы, приложений. Диссертационная работа содержит 25 рисунков и 57 таблиц. Список литературы включает 152 источника, из них 59 на иностранных языках.

Глава 1. Перспективы использования извлечений из растения рода *Salvia L.* при разработке лекарственных препаратов

1.1. Растения рода *Salvia L.* как перспективный источник активных фармацевтических ингредиентов при разработке лекарственных средств

В последние годы значительное внимание уделяется целебным свойствам растений. Многочисленные этно-фармацевтические исследования направлены на оценку их свойств и применения в фитотерапии. Изучение химического состава лекарственных растений, традиционно используемых в народной медицине, важно для прогнозирования и интерпретации их потенциальных биологических свойств с целью применения в официальной медицине в виде различных лекарственных форм широкого фармакотерапевтического спектра.

Шалфей – крупнейший род семейства губоцветных (*Lamiaceae*), насчитывающий около 1000 видов по всему миру. Основными центрами видообразования этих таксонов являются Центральная и Южная Америка, Средняя Азия, Средиземноморье, Восточная Азия. Хорошо известно, что многие факторы, такие как географические, экологические и климатические, наряду с генетическими факторами ответственны за наблюдаемую внутривидовую изменчивость химического состава сортов растений. Эти факторы существенно влияют на рост и развитие растений, пути их биосинтеза и тем самым регулируют содержание специфических химических вторичных метаболитов. Род шалфей (*Salvia*) включает однолетние, двухлетние и многолетние травы, а также древесные полукустарники, которые демонстрируют значительное разнообразие форм роста, морфологии цветков, биологии опыления и вторичных метаболитов [3,47,71].

Анализ первоисточников свидетельствует о том, что в большинстве случаев исследования растений рода шалфей сосредоточены на их эфирных маслах [16,26,51]. Однако в последние годы большое внимание уделяется и другим группам биологически активных веществ, полученным из растений рода *Salvia* [61,86,87,132]. В растениях шалфея разных видов по данным разных

источников основными вторичными метаболитами являются терпеноиды и полифенолы [114]. Основными фенольными соединениями являются розмариновая кислота, карнозиновая кислота, сальвианоловая кислота и ее производные, карнозол, розманол, эпиросманол, розмадиал и метилкарнозат. Кроме того, некоторые другие соединения были описаны учеными для многих видов шалфея: ферругинол, сальвипизон, микростегиол, кандидиссол, 2,3-дегидросальвипизон, этиопинон, 1-оксоэтиопинон, сальвинолон, критожапонол, ацетилсальвипизон и склареапинон для *S. sclarea*, этиопинон для *S. aethiopis*, 6 β -гидроксиизоопимаровая кислота и 3-ацетилвергатическая кислота для *S. caespitosa*, 11 β -гидроксиманоилоксид, 8,13-диэпиманоил оксид, спатуленол, сальвигенин, кризоэриол, диосметин, о-, п-диметоксибензойная кислота для *S. candidissima* [145].

Карнозол и карнозиновая кислота, имеющие орто-дигидроксильные группы в ароматическом кольце, обладают хорошей активностью по удалению пероксидных и гидроксильных радикалов. Согласно сальвианоловая кислота обладает способностью улавливать супероксидные анион-радикалы [135].

Шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L.) и шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) относятся к наиболее популярным видам рода *Salvia*. Шалфей лекарственный широко используется в качестве кулинарной добавки, декоративного и ландшафтного растения. Шалфей мускатный (ШМ) в основном выращивают в лечебных и косметических целях. Польза для здоровья растений шалфея известна с древних времен. Надземные части этого растения используются в качестве противодиарейных и транквилизирующих средств в народной медицине многих стран [51,79]. Растения ШМ обладают приятным сладким запахом, который помогает при лечении неврозов, стресса, страха, паранойи, тревоги и депрессии [95,99,100,103]. В традиционной фитотерапии ШМ используется как антигидротическое, спазмолитическое, антисептическое и противовоспалительное средство.

1.2. Шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L.) – состояние изучения химического состава и биологической активности

Шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L.) является одним из наиболее важных ароматических растений, культивируемых во всем мире в качестве источника эфирных масел и многих других соединений, получаемых из различных частей растения. ШМ продемонстрировал разнообразную биологическую активность, проявляемую различными компонентами (в основном эфирными маслами), что позволило использовать растительные материалы и/или экстракты во многих медицинских и фармацевтических целях [106,130]. В опубликованных исследованиях сообщается об обезболивающем, противовоспалительном [98,100,118] и антимикробном действии [99,115,122,125,129] вирусологических оценках [95,116] и генотоксических свойствах [97] растения. Сообщается также о влиянии растительных экстрактов на скелетную и гладкую мускулатуру [112], кроветворную, иммунную и ферментную системы [43,94,96].

Учеными неоднократно доказано, что химический состав эфирного масла из ШМ определяется почти исключительно географическим «источником» местообитания дикорастущего или культивируемого растения [71,90], и мало различий наблюдалось от разных частей растения (кроме листьев) или разных условий сбора и выращивания [80,125]. Кроме того, было обнаружено, что различная биоактивность масла коррелирует с его составом, особенно с основными компонентами [51].

Анализ эфирных масел соцветий и листьев *S. sclarea* проведен рядом исследователей [27,86,87,96-100,124]. Основными ингредиентами его эфирного масла оказались: камфора, сабинол, α -туйон и 1,8-цинеол, которые проявляют в основном противомикробные и антибиотические свойства [44,95,99]. ШМ содержит биологически активные соединения, такие как сальвинолон, сальвипизон, ацетилсальвипизон, склерапинон и склареол. Основными компонентами экстрактов семян обнаружены жирные кислоты: пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая, линоленовая кислоты. Эти жирные кислоты также ответственны за антиоксидантную активность [83,112,139].

Растение рода шалфей хорошо известно как природный и один из

богатейших источников антиоксидантов, его лечебная ценность напрямую связана с этим свойством [26,51,61,103,141]. Фенольные соединения обычно считают ответственными за антиоксидантные свойства растений шалфея и за их высокую и разнообразную биологическую активность. Эти природные антиоксидантные вещества обычно имеют фенольную часть в своей молекулярной структуре. Они обнаружены среди полифенольных веществ, таких как флавоноиды и дубильные вещества, токоферолов и катехинов. Органические кислоты, каротиноиды, белковые гидролизаты и дубильные вещества могут действовать как антиоксиданты или оказывать синергетическое действие при использовании вместе с фенольными антиоксидантами [25,51,85]. Поэтому особый интерес представляют антиоксиданты растительного происхождения, поскольку эти соединения играют важную роль в предотвращении заболеваний, вызванных окислительным стрессом [24,97], не говоря уже о раке [140], сердечно-сосудистых заболеваниях [150] и старении [45,48,100].

В работе авторов Jasicka-Misiak I., Poliwoda A. и соавт. [100] были проведены сравнительные исследования химического состава *S. sclarea* украинских сортов С 785 и Ай-Тодор, произрастающих в Крыму с химическим составом *S. officinalis* коммерческих сортов, имеющих на рынке Польши (образцы А и В). Исследованию подвергали водный, этанольный и метанольный экстракты из высушенных листьев шалфея, которые затем упаривали до сухого состояния. Экстракты были подвержены скринингу на содержание фенольных соединений с помощью реактива Фолина-Чокальтеу, в результате было установлено, что сорта Крымского полуострова содержат более высокий уровень фенольных соединений, причем наиболее высокий у *S. sclarea* С 785, достигая 134, мг/г экстракта, *S. sclarea* Ай-Тодор - 96.1 ± 2.6 мг/г, *S. officinalis* (А) - 93.8 ± 3.1 мг/г, *S. officinalis* (В) - 63.9 ± 2.9 мг/г.

В экстрактах *S. sclarea* и *S. officinalis* с помощью метода ВЭЖХ идентифицировано восемнадцать фенольных соединений. К ним относятся одиннадцать фенольных кислот (3,4-дигидроксибензойная кислота, 3-

гидроксибензойная кислота, эллаговая кислота, п-гидроксибензойная кислота, ванилиновая кислота, сиреневая кислота, кофейная кислота, п-кумаровая кислота, феруловая кислота, розмариновая кислота, хлорогеновая кислота,) и шесть флавоноидов (галангин, кемпферол, хризин, лютеолин, мирицетин и пиноцембрин). Полученные авторами результаты исследований, показывают, что надземные части шалфея крымских сортов содержат большее количество фенолов, чем польские. Фенольные кислоты составляют более 70% от общего количества идентифицированных фенольных соединений, присутствующих в образцах *S. sclarea*. В свою очередь экстракты *S. officinalis* содержали от 55 до 60% испытуемых фенольных кислот. Анализ состава фенольных кислот показывает преобладание кофейной и феруловой кислот у сортов *S. sclarea*, причем значительно меньшее содержание этих соединений выявлено у *S. officinalis*. В свою очередь, изопреноид-(±)-абсцизовая кислота обнаруживалась на значительно высоком уровне в двух экстрактах *S. officinalis*. Пиноцембрин оказался основным компонентом флавоноидной фракции как у *S. sclarea*, так и у *S. officinalis*. Состав флавоноидной фракции *S. officinalis* (сорт А) существенно отличается от трех остальных видов и характеризуется существенно большим содержанием мирицетина (более 14%), а также содержит кемферол, который отсутствует у других видов.

Авторы данной статьи демонстрируют вариабельность химического состава среди растений одного рода, но разных видов в зависимости от сорта селекции и географической зоны произрастания.

Согласно данным авторов Kostić M., Kitić D. относительно исследования химического состава [98] густого этанольного (80%) экстракта *S. sclarea* L., произрастающего в Сербии, общее содержание полифенолов в экстракте составило $129,87 \pm 3,25$ мг/г, что намного выше по сравнению с большинством экстрактов *S. sclarea* приведенных других исследований ($14,83 \pm 0,80$ мг/г – $97,84 \pm 1,17$ мг/г) [50,118,121,143]. Метанольные и водные экстракты греческого *S. sclarea* содержали большее количество полифенолов (169 и 242 мг/г соответственно) [115,147], а также метанольные экстракты из Ирана (268 ± 8

мг/г) [129]. Преобладающим полифенолом в экстракте была розмариновая кислота с концентрацией $165,30 \pm 0,60$ мкг/мг. Авторами было установлено противовоспалительный эффект при пародонтите, индуцированном липополисахаридами. Антиоксидантная активность экстракта была оценена двумя взаимодополняющими методами *in vitro*: моделями 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида и β -каротина/линолевой кислоты. Экстракт показал сильное антиоксидантное действие в обеих тест-системах. По предположению авторов статьи сильная антиоксидантная способность экстракта может быть связана с его противовоспалительными свойствами [113].

Авторы статьи Mervić M., Bival Štefan M. и соавт. [112] провели сравнительное исследование нескольких видов шалфея *S. fruticosa*, *S. glutinosa*, *S. nemorosa*, *S. officinalis*, *S. pratensis*, *S. sclarea*, *S. verticillata* произрастающих в Средиземноморском ареале. Изучению химического состава были подвержены этанольные экстракты листьев шалфея, в результате которых было установлено, что в листьях шалфея общее содержание флавоноидов составляет 0,37-0,90%, фенолокислот – 3,55-12,44%, дубильных веществ – 1,22-2,60% и антоцианов – 0,03-0,08%. Розмариновая кислота была преобладающей гидроксикоричной кислотой во всех исследованных растениях шалфея, в пределах от 9400 до 38800 мкг/г. Все исследуемые растения были способны удалять свободные радикалы, действовать как восстановители, хелатировать переходные металлы и ингибировать перекисное окисление липидов. На наблюдаемую биологическую активность видов *Salvia* положительно влияли в основном общие фенольные кислоты, общие дубильные вещества и розмариновая кислота, которая была идентифицирована как наиболее распространенная. Другие фенольные кислоты, такие как кофейная, хлорогеновая, п-кумаровая и феруловая, также преобладали в листьях шалфея (300 - 11600 мкг/г), в отличие от флавоноидов, представленных значительно меньше (10,82 - 306,81 мкг/г). В экстрактах шалфея идентифицированы лютеолин, апигенин, кверцетин и их гликозидные производные [104,149].

В научной работе авторов Gülçin İlhami, Uğuz Metin T. И соавт. [122]

сообщается об исследовании антиоксидантной и антимикробной активности *Salvia sclarea* L. произрастающего в Турции как перспективных консервантов в пищевой промышленности. Антиоксидантная активность была изучена на многих моделях. В работе изучались хлороформный и ацетонный экстракты сгущенные. Было установлено, что оба экстракта обладают антиоксидантной активностью, при этом хлороформный экстракт обладал более сильной общей антиоксидантной активностью, чем ацетонный экстракт, и ингибировал перекисное окисление линолевой кислоты на 93 и 68% соответственно. В качестве стандартных антиоксидантов использовали α -токоферол, кверцетин, бутилированный гидроксианизол и бутилированный гидрокситолуол. Изучение антимикробной активности проводили с помощью дисково-диффузионных методов по отношению к штаммам 11 видами микробов (*Proteus vulgaris* FMC 1, *Bacillus megaterium* NRS, *Bacillus cereus* FMC 19, *Bacillus brevis* FMC 3, *Staphylococcus aureus* FÜ, *Listeria monocytogenes* BRIE 1, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Klebsiella pneumoniae*, FMC 5, *Escherichia coli* DM, *Micrococcus luteus* LA 2971 и *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067) и 4 вида грибов (*Penicillium Freightans*, *Aspergillus candidus* *Fusarium equiseti*, и *Byssochlamys fulves*). Оба экстракта ШМ были эффективны в ингибировании роста микроорганизмов, за исключением *Escherichia coli* DM. Противогрибковая активность каждого из вышеперечисленных экстрактов ниже антимикробной активности. В данной работе было определено общее количество растворимых фенолов в обоих экстрактах ШМ, исследования проводили с помощью реактива Фолина-Чокалтеу, используя пирокатехин в качестве стандарта. Авторы связывают антимикробную и антиоксидантную активность экстрактов ШМ с наличием веществ фенольной природы.

Антимикробная активность эфирного масла *S. sclarea* была изучена в работе авторов Cui H., Zhang X. И соавт. [99] по отношению к штаммам *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus pumilus* ATCC 27142, *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Bacillus subtilis* IFO 3457, *Salmonella typhi murium* B11, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Результаты

исследования показали, что эфирное масло *S. sclarea* проявляет значительную антибактериальную активность в отношении всех семи протестированных бактериальных штаммов *in vitro*. Что доказывает, что эфирное масло *S. sclarea* обладает сильным антимикробным действием широкого спектра действия. Эфирное масло *S. sclarea* повреждает клеточную мембрану и изменяет ее проницаемость, что приводит к высвобождению материала внутри клетки, такого как макромолекулярные вещества, АТФ и ДНК. По данным авторов антимикробное действие эфирного масла *S. sclarea* не только относится к уникальному пути, но также включает ряд событий как на поверхности клетки, так и в цитоплазме, что требует проведения дальнейших экспериментов, чтобы полностью понять антимикробный механизм. Эти исследования послужили экспериментальной базой для практического применения эфирного масла *S. sclarea* в качестве природного антибактериального средства.

Эфирное масло *S. sclarea*, произрастающего в Сардинии было изучено как противовоспалительное и обезболивающее средство на моделях каррагенин-индуцированного отека и отека, вызванного гистамином [59,95]. В экспериментальных условиях эфирное масло *S. sclarea* показало противовоспалительное действие против каррагенин-индуцированного отека, эквивалентное дозе индометацина 5 мг/кг. При отеках, вызванных гистамином, действие масла *S. sclarea* было более эффективным, чем действие, полученное в тех же экспериментальных условиях с 5 мг/кг хлорфенамина. Эфирное масло продемонстрировало лишь умеренное периферическое обезболивающее действие на гипералгезию, вызванную муравьиной кислотой.

В целом, проведенный анализ первоисточников показывает, что спиртовые экстракты *S. sclarea* как и эфирное масло *S. sclarea* являются ценным источником биологически активных веществ, широкого спектра фармакотерапевтического действия. Накопленные данные о химическом составе и взаимосвязанных биологических действий позволяет использовать извлечения шалфея *S. sclarea* при создании лекарственных средств как средства с антиоксидантным, антимикробным, противовоспалительным и

обезболивающим действием. Широкопрофильный спектр фармакологической активности позволяет предположить перспективность его использования в терапии раневого процесса [29,30,54,119,133]. Ввиду большой вариабельности химического состава от географической зоны произрастания, актуальным является изучение фармацевтических извлечений из ШМ (*Salvia sclarea L.*), произрастающего в Таджикистане.

Шалфей мускатный (*Salvia sclarea L.*) содержит широкий спектр биологически активных веществ, основными группами которых являются полифенольные соединения, антоцианы и терпеноиды. Флавоноиды имеют структуру $C_6-C_3-C_6$, состоящую из двух бензольных колец, соединенных пиреновым кольцом, содержащим кислород. Они подразделяются на несколько подгрупп, включая флавонолы, флавоны, флаванолы, флаваноны и изофлавоны, основанные на дополнительном присутствии двойной связи C_2-C_3 , гидроксильных и метоксильных групп, гликозида в различных положениях молекул [9,10,123,142]. Фармакотерапевтическую активность ШМ связывают непосредственно с этими группами соединений. Ввиду того, что фенольные соединения встречаются в виде агликонов или гликозидов, в виде мономеров или представляют собой высоко полимеризованные структуры, а также в виде свободных или связанных с матрицей соединений значительно усложняется процессы их экстракции и выделения, а это означает, что нельзя рекомендовать единую стандартизованную процедуру экстракции для всех полифенольных соединений. Процедуры должны быть оптимизированы в зависимости от объекта исследования, природы сырья и целевых веществ экстракции. Экстракция считается одной из наиболее важных процедур в производстве растительных препаратов, которая влияет на активные ингредиенты в образце как качественно, так и количественно. Эффективность экстракции зависит от многих факторов, главными из которых являются растворитель для экстракции, метод экстракции и сырье (вид сырья, степень измельчения и т.д.) [65,101,131,137].

В литературе описывается экстракция ЛРС с использование разных

органических растворителей, которые обеспечивают извлечение фенольных соединений и других групп. Нами был проведен анализ первоисточников, на основании которого была составлена таблица 1.1, где представлены наиболее часто используемые растворители в технологии получения экстракционных препаратов [101,124,128,132,144].

Таблица 1.1. - Экстракция биологически активных соединений различными органическими растворителями

Биологически активное соединение	Растворитель
Фенольные кислоты, флавонолы, антоцианы	Этилацетат
антоцианы, фенольные кислоты, катехины, флаваноны, Флавоны, флавонолы, процианидины, эллаговые кислоты, рутин, хлорогеновые кислоты	Метанол и различные водные формы (50–90%)
Антоцианы, флавонолы, свободные фенольные кислоты	Этанол и различные водные формы (10–90%)
Флавонолы, свободные фенольные кислоты	Хлороформ
Флавонолы, фенольные кислоты	Диэтиловый эфир
Проантоцианидины, фенольные кислоты	Горячая вода (80–100°C)
Дубильные вещества, связанные фенольные кислоты	NaOH (2 н–10 н)
Фенольные соединения, фенольные кислоты	петролейный эфир
Флавонолы, фенольные кислоты, гидроксицинамовые кислоты, кумарины, флавонолы, ксантоны	Ацетон/вода (10–90%)
Флавонолы, фенольные кислоты, простые фенолы, антоцианы	н-гексан, изооктан, этилацетат
Полифенолы листьев оливы, олеуропеин и рутин	Ацетон, этанол и их водные формы (10–90%)
Флавонолы, кверцетин 3,40-диглюкозид и кверцетин 40-моноглюкозид	Метанол/вода 70%
Антоцианы, дубильные вещества, сапонины, терпеноиды	Вода
Дубильные вещества, полифенолы, флавонолы, терпеноиды, алкалоиды	Этиловый спирт
Антоцианы, терпеноиды, сапонины, дубильные вещества, флавоны, полифенолы	Метанол
терпеноиды, флавоноиды	Хлороформ
Терпеноиды	Дихлорметанол
Алкалоиды, Терпеноиды	Эфир
Флавоноиды	Ацетон

Экстракция липофильных и гидрофильных веществ и ароматических соединений сильно зависит от полярности растворителя. Смеси ацетона и воды являются хорошими растворителями полярных групп веществ, но могут привести к неприемлемому уровню остатка ацетона в экстрактах. Водно-спиртовые смеси этанола и воды, возможно, являются наиболее подходящими системами растворителей для экстракции ШМ различной полярности активных компонентов и приемлемости этой системы растворителей для потребления человеком [63,64,123,131,137,142].

1.3. Анализ использования фитопрепаратов в терапии раневого процесса

Кожная рана характеризуется повреждением кожи в результате травмы, разрыва, пореза, ушиба или ожога [78]. Заживление ран – это физиологический процесс, который восстанавливает целостность кожи и направлен на восстановление поврежденных тканей. К лекарственным растениям, действие которых исследовано на разных моделях повреждения ткани и которые нашли широкое применение в составе лекарственных средств, относятся алоэ вера, ромашка, облепиха, тысячелистник, календула, лапчатка, мимоза, виноград, эхинацея, женьшень, зеленый чай, жожоба, масло чайного дерева, розмарин, лимон, соя, окопник, папайя, овес, чеснок, гинкго, оливковое масло и оцимум [77,78,146,120].

Во всем мире проводятся исследования относительно фитотерапии ожоговых ран, которые принято выносить в отдельную категорию раневого процесса из-за сложных биохимических процессов, лежащих в основе патологического процесса. Ожог определяется как повреждение тканей, вызванное воздействием тепла, химических веществ, электричества, радиации и т. д.

Лекарственные растения могут действовать как ранозаживляющие средства из-за их большого разнообразия различных компонентов, таких как эфирные масла, фенольные соединения, флавоноиды, терпеноиды, дубильные вещества, сапонины, жирные кислоты и алкалоиды, которые потенциально способны улучшить процесс заживления ожоговой раны.

В статье авторов Bahramsoltani R., Farzaei M. H. И соавт. [103] приводятся обобщенные данные относительно изучения влияния лекарственного растительного сырья на стимуляцию процесса регенерации ткани при ожоге. Среди отдельных растительных препаратов наилучшую активность заживления ожоговых ран показали чеснок (*Allium sativum*), алое вера (*Aloe vera*), центелла (*Centella asiatica*) и облепиха (*Hippophae rhamnoides*). Флавоноиды, алкалоиды, сапонины и фенольные соединения были активными компонентами в указанных растениях, которые ускоряют заживление ран. Также, среди основных активных компонентов были гликозиды, включая мадекассозид и азиатикозид, а также протеолитические ферменты. Ряд исследований подтвердили противовоспалительное и антибактериальное действие геля *A. vera*. Гликозиды *C. asiatica*, включая мадекассозид и азиатикозид, показали *in vitro* и *in vivo* улучшение биохимических и гистологических маркеров ожоговой раны. Препараты разных частей *H. rhamnoides* усиливали синтез коллагена и ангиогенез. У некоторых растений, в том числе у видов *Actinidia* (под *деревянистых лиан*) и *Papaoua*, протеолитические ферменты были активными компонентами с эффектом санации. Напротив, экстракт лантаны сводчатой (*Lantana camara*) не мог значительно увеличить сокращение раны по сравнению с группой отрицательного контроля. Оносма двуцветная (*Onosma dichroanthum*) отрицательно влияла на процесс заживления ожоговой раны.

Процесс заживления раны состоит из воспаления, реэпителизации, грануляции и неоваскуляризации, что приводит к стягиванию раны. Фитохимические вещества могут влиять на различные стадии этого процесса с помощью различных механизмов. В исследованиях *in vivo* авторами Abu-Al-Basal MA [96] выявлено уменьшение воспаления, усиление стягивания раны, реэпителизация, регенерация грануляционной ткани и ангиогенез при местном нанесении эфирного масла розмарина (*R. officinalis*) на раны диабетических мышей. Эфирное масло лаванды так же продемонстрировало репаративное действие [39,148].

Фитопрепараты доказали свою положительную активность на разных

стадиях процесса заживления ран, разной этиологии по различным механизмам, включая антимикробное, противовоспалительное, антиоксидантное, стимулирующее синтез коллагена, клеточно-пролиферативное и ангиогенное действие [42,94,127,138].

Фармацевтический рынок препаратов, предназначенных для дерматологического использования разных фармакотерапевтических групп с содержанием извлечений из лекарственного растительного сырья не многочислен, что может быть обусловлено сложностью стандартизации АФИ растительного происхождения, т.е. вариабельностью химического состава от многих природных факторов произрастания растения. Имеющиеся препараты, которые имеют разрешение к реализации на рынке Таджикистана приведены в таблице 1.2. [22,37,84,92,117].

Таблица 1.2. - Ассортимент лекарственных средств местного применения с содержанием извлечений из ЛРС

Торговое название	Содержание активного вещества	Производитель, страна
Камагель	1 г геля содержит алюминия ацетотартрата 10% раствор - 0,005 г, экстракт цветков ромашки гликолевый - 0,01 г	КРКА, д.д., Ново место, Словения
Титриол	100 г мази содержит масло чайного дерева - 4,0 г	ГП "Государственный научный центр лекарственных средств", Украина
Фладекс	1 г мази содержит фладексана в пересчете на содержание суммы флавоноидов 30 % 20 мг	ООО"Фармацевтическая компания "Здоровье", Украина
Альтановая мазь	1 г мази содержит альтана, в пересчете на 100 % содержание эллаготаннинов и сухое вещество - 20 мг, диметилсульфоксида – 30 мг	ЗАО НПЦ "Борщаговский ХФЗ", Украина
Аркален	1 г мази содержит густой сложный экстракт, который состоит: из корзинок цветов арники луговой и корзинок цветов календулы аптечных (<i>Arnicae chamissonis et Calendulae officinalis anthodis</i>) (3-7:1) - 0,02 г; сухой экстракт кори каштана конского (<i>Hippocastani corticis extractum siccum</i>) (40-75:1), (что соответствует содержанию в перечислении на эскулин 0,010 г) - 0,0125 г	Познанской завод лекарственных растений "Гербаполь" А.Т., Польша

Продолжение таблицы 1.2

Вундехил	1 г мази содержит прополиса настойки (<i>Tinctura Propolis</i>) (1 : 10) (экстрагент - этанол 80 %) 50 мг, карофилену (<i>Carophyllum</i>) 30 мг, софоры японской настойки (<i>Tinctura Sophorae japonicae</i>) (1 : 2) (экстрагент - этанол 48 %) 30 мг, перстачу настойки (<i>Tinctura Potentillae</i>) (1 : 5) (экстрагент - этанол 70 %) 20 мг, тысячелистник настойки (<i>Tinctura Millefolii</i>) (1 : 5) (экстрагент - этанол 70 %) 20 мг	ООО "НПФК "Эйм", Украина
Календулы мазь	1 г мази содержит настойки цветков календулы (<i>Calendulae flores</i>) (1:10) (экстрагент - этанол 70 %) 0,1 г	
Алором	1 г линимента содержит сока листа алоэ древовидного свежего (<i>Aloe arborescens</i> Mill.) - 478 мг, экстракта жидкого (1:1) ромашки цветков (<i>Matricariae flos</i>) - 200 мг, экстракта жидкого (1:1) календулы цветков (<i>Calendulae flos</i>) - 100 мг, левомен , эвкалиптового масла - 1 мг	ПАО "Лубныфарм", Украина
Клотрекс	1 г препарата содержит: гентамицина сульфат - 1 мг, клотримазол - 10 мг, календула экстракт густой (<i>Calendulae flos extractum spissum</i>) (2 - 3 : 1) (экстрагент: этанол 70 % об/об) - 50 мг, тысячелистник густой экстракт (<i>Millefolii herba extractum spissum</i>) (3 - 8 : 1) (экстрагент: этанол 70 % об/об) - 20 мг	ЗАО НПЦ "Борщаговский ХФЗ", Украина
Бальзамический линимент (по Вишневскому)	1 г линимента содержит дегтя березового 30 мг, ксероформа 30 мг	

Таким образом, актуальным является разработка мази для терапии раневого процесса на основе бентонитовой глины с содержанием биологически активных веществ шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане.

1.4. Анализ использования глинистых минералов при разработке фармацевтических препаратов

Согласно данным научной литературы композиции на основе глинистых системы вызывают большой исследовательский интерес. Активность исследований глинистых материалов мотивирована возможностью их разностороннего применения в качестве носителей лекарственных веществ и в

качестве активных фармацевтических ингредиентов. Среди неорганических минеральных глин, разрешенных для использования в лечебных целях, широкую распространенность получила бентонитовая глина, обладающая рядом положительных свойств, в частности, набухающей и высокосорбирующей способностями [17,76,110,151]. В последние годы наблюдается растущий интерес к использованию глинистых минералов в качестве носителей для лекарств, которые могут адсорбироваться и высвободиться в более позднее время в целевых точках человеческого тела, что позволяет контролировать доставку активных ингредиентов [55,78,108,109].

Глинистые минералы представляют собой класс филлосиликатов (мелкозернистый природный материал с размером частиц < 2 мкм), которые образуются в результате химического выветривания силикатных минералов на поверхности Земли [28,66]. Глинистые минералы химически состоят из гидратированных алюмосиликатов с магнием, железом, кальцием, калием или натрием в качестве основных компонентов, организованных по-разному в виде наложенных друг на друга чередующихся слоев. В дополнение к глинистым минералам глины также могут содержать органические соединения, растворимые соли, частицы кварца, пирит, кальцит, другие неглинистые минералы и аморфные компоненты [31,58,88,89,91,151].

Структура и состав основных промышленных глин, очень различны несмотря на то, что каждая из них состоит из октаэдрических и тетраэдрических пластин в качестве основных строительных блоков. Однако расположение и состав октаэдрических и тетраэдрических листов, объясняют большинство различий в их физических и химических свойствах. Глинистые минералы классифицируются сначала на «типы слоев», различающиеся по количеству объединенных тетраэдрических и октаэдрических листов, а затем на «группы», различающиеся по видам произошедшего изоморфного катионного замещения. Таким образом, минеральные продукты для фармацевтического применения различаются по составу, кристалличности, габитусу и текстуре, что сильно влияет на их свойства. Отдельные слои глинистых минералов состоят из двух,

трех или четырех слоев. Листы образованы либо тетраэдрами $[\text{SiO}_4]^{4-}$, сокращенно «Т», либо октаэдрами, например, $[\text{AlO}_3(\text{OH})_3]^{6-}$, сокращенно «О», рисунке 1.1. [8,11,13,48,49,52,134].

Внутренняя часть тетраэдров и октаэдров содержит более мелкие катионы металлов, их вершины заняты кислородом. Все эти фундаментальные структурные элементы расположены так, что образуют шестиугольную сеть в каждом листе (рисунок 1.1).

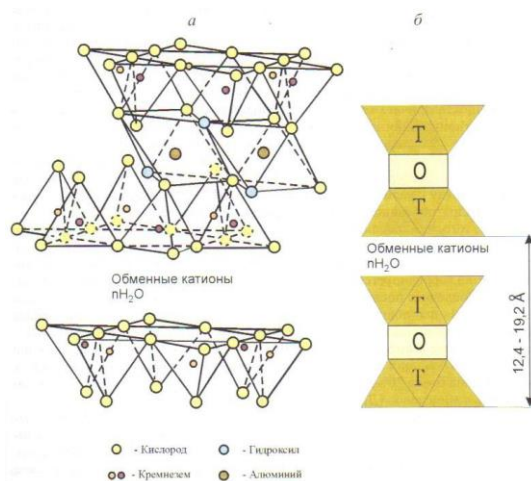


Рисунок 1.1. - Структура глинистого минерала на примере монтмориллонита

На основании количества и соотношения слоев в фундаментальном структурном слое, существующих катионных замещений в октаэдрах и тетраэдрах и на основе полученного заряда слоев классифицируют кристаллические глинистые минералы на 7 групп. Тип замещения влияет на поведение глины в отношении адсорбционной емкости и реологических свойств [32,33,38,62,68,107]. Глинистые минералы типов 1:1 и 2:1 приобретают совершенно разные конформации при диспергировании в полярных растворителях, таких как вода. Глинистые минералы состава 1:1, а также большинство глин типа 2:1, такие как тальк, пирофиллит, иллит, палыгорскит и сепиолит, не набухают при контакте с полярным растворителем, в то время как хлориты очень редко набухают, смектиты и вермикулит набухают [108,109,110,136,151]. Подробное описание химического состава различных

глинистых минералов дано в таблице 1.3.

Таблица 1.3. - Химический состав глинистых минералов

Группа	Химическая формула	Октаэдрический характер	Структура
Каолинит-серпентин	$Al_2Si_2O_5(OH)_4$	триоктаэдрический диоктаэдрический дитриотаэдрический	Двухслойные филлосиликаты, где отношение Т:О = 1:1 и заряд двухслойного слоя = 0
Пирофиллит-тальк	$Al_2Si_4O_{10}(OH)_2 \cdot Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$	триоктаэдрический диоктаэдрический	Ненабухающие трехслойные филлосиликаты, где соотношение Т:О = 2:1 и заряд трехслойного слоя = 0
Смектиты	Монтмориллонит: $(Al_{1,67}Mg_{0,33})Si_4O_{10}(OH)_{2M+0,33}$	триоктаэдрический диоктаэдрический	Сильно расширяющиеся трехслойные филлосиликаты, где отношение Т:О = 2:1 и заряд трехслойного слоя = 0,5–1,2.
	Сапонит: $Mg_3(Si_{3,67}Al_{0,33})O_{10}(OH)_{2M+0,33}$		
	Гекторит: $(Mg, Li)_3(Si, Al)_4O_{10}(OH)_{2M+0,33}$		
Вермикулит	$(Mg, Fe, Al)_3(Al, Si)_4O_{10}(OH)_2 \cdot 4H_2O$	триоктаэдрический диоктаэдрический	Расширяющиеся трехслойные филлосиликаты, где отношение Т:О = 2:1 и заряд трехслойного слоя = 1,2–1,8
Слюда/иллит	$KA_2(Si_3Al)O_{10}(OH)_2$	триоктаэдрический диоктаэдрический триоктаэдрический	Трехслойные филлосиликаты, где отношение Т:О = 2:1 и заряд трехслойного слоя ≤ 2
Хлорит	$Al_4[Si_8O_{20}] \cdot (OH)_4Al_4(OH)_{12}$	триоктаэдрический диоктаэдрический дитриотаэдрический	Силикаты четырехслойные, где соотношение Т:О:О = 2:1:1 и заряд четырехслойного слоя 1,1–3,3.
Палыгорскито-сепиолитовая группа	$(Mg, Al, Fe^{3+})_5(Si, Al)_8O_{20}(OH)_2(OH_2)_4 \cdot 4H_2O$ $Mg_8Si_{12}O_{30}(OH)_4(OH_2)_4 \cdot 8H_2O$	триоктаэдрический диоктаэдрический	Палыгорскит и сепиолит являются филлосиликатами, поскольку содержат непрерывный двумерный тетраэдрический лист; однако они отличаются от других слоистых силикатов тем, что в них отсутствуют непрерывные октаэдрические слои.

Прежде чем использовать нативное сырье глинистых минералов в процессе производства фармацевтических препаратов, они должны быть обработаны для достижения максимальной чистоты и идеального размера зерна (высушивание, измельчение, просеивание и влажное разделение глинистой фракции, стерилизация нагреванием, и др.). В некоторых случаях глинистые минералы могут быть подвергнуты химическому процессу для усиления некоторых специфических свойств. В соответствии с целью их использования глинистые минералы должны соответствовать стандартам по своим химическим, физическим и токсикологическим характеристикам, таким как: чистота, размер частиц, текстура, стабильность, химическая инертность, содержание воды, безопасность и микробиологическая чистота [4,108,109,110].

Наиболее важными свойствами, приписываемыми глинам для фармацевтических целей применений, являются:

- 1) поверхностные свойства – площадь поверхности, емкость катионного обмена, заряд слоя (нейтральный или заряженный), сорбция, диспергируемость;
- 2) реологические свойства – тиксотропность, реопектность, вязкость, пластичность;
- 3) другие физические и механические свойства – размер частиц, форма, цвет, мягкость, непрозрачность, отражающая солнечные лучи способность и так далее.

Глинистые минералы присутствуют во многих различных видах составов лекарственных средств, таких как таблетки, капсулы и порошки (пероральное применение), мази, кремы, жидкие эмульсии и суспензии (местное применение). Элементарными свойствами глинистых минералов, обуславливающие их использование в фармацевтических препаратах, являются высокая удельная площадь, сорбционная способность, благоприятные реологические свойства, химическая инертность, способность к набуханию, реакционная способность по отношению к кислотам и незначительная токсичность [7,18,35,52,72,136]. Фармацевтическая активность и механизм действия некоторых групп глинистых минералов приведено в таблице 1.4.

Таблица 1.4. - Фармацевтическая активность глинистых минералов

Группа глинистых минералов	Фармацевтическая активность	Механизм действия
Пальгорскит-сепиолит, смектиты	Язва желудка и двенадцатиперстной кишки	Н ⁺ нейтрализует способность разложения в желудочном соке и доводит рН кишечника до 6
Каолинит пальгорскит-сепиолит, смектиты	Желудочно-кишечный протектор	Высокая удельная площадь и сорбционная емкость
Пальгорскит-сепиолит, смектиты, каолинит	Противодиарейные средства	Вяжущее действие иона Ca ²⁺ , образующего нерастворимые гидратированные фосфаты.
Каолинит, тальк, смектиты	Дерматологические протекторы	Прилипают к коже, образуя пленку, которая механически защищает кожу. Адсорбирует кожные выделения и создает большую поверхность для их испарения, что способствует мягкому антисептическому действию, создавая бедную водой среду, неблагоприятную для развития бактерий.
Пальгорскит, сепиолит, каолинит, смектиты, тальк	Косметические кремы, порошки и эмульсии	Высокая сорбционная способность
Смектиты, модифицированные серебром и катионными поверхностно-активными веществами	Антибактериальная активность	Монтмориллониты, модифицированные тяжелыми металлами, обладают высокой емкостью катионного обмена, большой удельной поверхностью и коллоидными свойствами, что делает их оптимальными адсорбентами органических и неорганических веществ.

Глинистые минералы, такие как каолин, смектит и пальгорскит-сепиолит, относятся к наиболее ценным промышленным минералам в мире и имеют большое значение. Глинистые минералы группы смектита, к которым относятся бентонитовая глина, интересны для использования в фармацевтической и косметической промышленности из-за их специфических свойств, таких как их жирный вид, отсутствие запаха и цвет, который варьируется от желтого, розового до серого. Структура этого типа глины 2:1, состоит из центрального октаэдрического листа оксида алюминия, лежащего между двумя тетраэдрическими листами кремнезема. Структура допускает множественные

замены на каждом листе. Большинство технологических применений смектита связано с его высокой емкостью катионного обмена, реакциями, которые происходят в межслоевом пространстве с обменными катионами, такими как Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и Mg^{2+} , которые уравнивают отрицательный заряд. Эти группы минералов также имеют очень большую площадь поверхности. Смектитовые глины обычно гидратируются из-за полярных молекул, таких как вода, которые проникают в зазор между слоями (промежуточный слой), так что объем структуры значительно расширяется (набухает) по сравнению с сухой массой. В результате материал проявляет реологические свойства, известные как тиксотропные, что желательно для некоторых дерматологических применений. Монтмориллонит, один из минералов смектита, является наиболее распространенной глиной, используемой для синтеза органоглин из-за таких свойств, как способность к набуханию, адсорбция и большая площадь поверхности, а также высокая емкость катионного обмена (до 90-120 мг.экв/100 г сухой глины). Этот тип глины может демонстрировать высокое проникновение воды или фармацевтически активных ингредиентов между слоями. Это обеспечивает химическую стабильность, контролируемое высвобождение и фармацевтическую эффективность активных ингредиентов, содержащихся в глине [1,5,11,53,70,76].

Американские и европейские фармакопеи включают рекомендации по использованию ряда глинистых минералов в фармацевтических и дермокосметических составах, а именно каолинит, тальк, смектит, монтмориллонит, сапонит, сепиолит и палыгорскит. Существование монографических записей этих специфических глинистых минералов в фармакопеях связано не только с их широким использованием в промышленности, но и с требованием их соответствия определенным стандартам, которые необходимы для безопасного использования человеком. Фармакопейные требования к качеству смектитов приведены в таблице 1.5. [12,14,15,19,20,21,60,126].

Таблица 1.5. - Минеральное, химическое и фармацевтическое наименование некоторых смектитов и фармакопейные показатели качества

Глинистый минерал	Фармакопейное название	Фармакопейные требования	Химическое название и регистрационный номер CAS
Монтмориллонит	Бентонит (EP 4th and USP 25)	Щелочность (кислотная потребность), рН, тяжелые металлы (мышьяк, свинец), крупные частицы (тонкость порошка), гелеобразование (объем седиментации, способность к набуханию, потери при высушивании, микробное загрязнение или пределы), анализ вязкости (очищенный бентонит)	Алюмосиликат магния (1302-78-9)
Группа: смектиты Подгруппа: диоктаэдрическая	Очищенный бентонит (USP 25)		Алюмосиликат магния (12511-31-8)
Сапонит	Силикат алюминия-магния (EP 4th)	рН (от 9,0 до 10,0), мышьяк, свинец, потери при высушивании, микробное загрязнение. А также анализы алюминия и магния. Вязкость и отношение Al/Mg используются для различения подтипов.	Aluminium magnesium silicate (12511-31-8)
Группа: смектиты Подгруппа: триоктаэдрическая	Алюмосиликат магния (USP 25)		Алюмосиликат магния (1327-43-1)

Описанные выше глинистые минералы иллюстрируют, насколько разнообразны эти материалы по своим свойствам. Это богатство является следствием всех различных возможных расположений химических элементов в двух различных типах слоистых структур (2:1 или 1:1) и находит отражение в большом количестве применений глинистых минералов в фармации [34,69].

Глава 2. Материал и методы исследования

2.1. Постановка концепции исследований

Алгоритм разработки состава и технологии мази на основе бентонитовой глины с ЖЭЛШМ, произрастающего в РТ представлен в виде схемы в таблице 2.1.

Таблица 2.1. - Методология экспериментальных исследований

Этап I. ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК		
Патентный поиск	Литературный поиск	Поиск в сети Internet
Этап II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ БЛОК		
Получение жидкого экстракта шалфея мускатного	Изучение технологических свойств измельченных листьев шалфея мускатного	
	Выбор оптимального экстрагента, степени измельчения сырья и метода экстракции	
	Стандартизация жидкого экстракта шалфея мускатного	
	Изучение антимикробной активности жидкого экстракта шалфея мускатного	
Подготовка бентонитовой глины	Отмучивание глины, центрифугирование, высушивание, механическая обработка	
	Стандартизация бентонитовой глины	
Разработка состава и технологии мази	Изучение реологических свойств бентонитовой мазевой основы	
	Сравнительные исследования реологических, биофармацевтических и микробиологических свойств модельных образцов мази с жидким экстрактом	
	Стандартизация мази, установление сроков и условий хранения мази с жидким экстрактом шалфея мускатного	
Этап III. БЛОК ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ		
Изучение биологической безвредности мази	Изучение ранозаживляющей активности мази	Изучение антимикробной активности мази

2.2. Объекты исследований

Исходными объектами исследования были листья шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане и бентонитовая глина. Промежуточными объектами исследования были жидкий экстракт шалфея мускатного и модельные образцы мази на основе бентонитовой глины с содержанием жидкого экстракта шалфея мускатного.

Шалфей мускатный – *Salvia sclarea L.* – многолетнее (чаще двухлетнее) травянистое растение до 1,5 м высотой с ветвистым стеблем. Заготовку сырья производили в фазе массового цветения в июне-июле 2019 г. на Южном склоне Гиссарского хребта ущелья реки Такоб, расположенной на территории Варзобского района Республики Таджикистан на высоте 1800-2000 м над уровнем моря. Идентификацию сырья производили согласно требованиям фармакопейной статьи (ОФС) «МЗ и СЗН РТ 23-0016-19». Сушку производили в проветриваемом помещении, без попадания прямых солнечных лучей.

Отбор образцов бентонитовой глины на Султанабадском месторождении производился на площади около одного гектара. На этой территории выкапывали ямы глубиной 70–80 см, которые служили основным источником для отбора образцов на большой поверхности и достаточной глубине. Кроме этого, отбирали образцы там, где находились оползни, обнажающие большие массивы бентонитовой глины.

2.3. Материалы исследований

Вспомогательные вещества, которые использовали при разработке мази хорошо изучены в фармацевтической промышленности и уже давно используются в промышленном производстве мягких лекарственных средств, отвечают требованиям качества ГФРФ, ГФУ или мировым фармакопеям [13,14,19-21,25,126]. Используемые в работе экстрагенты, растворители и реактивы также отвечают требованиям ГФРФ, ГФУ и разрешены к использованию в медицинской и фармацевтической промышленности. Характеристика вспомогательных веществ и реактивов приведена в таблице 2.2.

Таблица 2.2. - Вспомогательные вещества и реактивы, используемые в диссертационной работе

Наименование	Характеристика применения в фармацевтической технологии	Нормативный документ
<i>Вспомогательные вещества</i>		
Этанол 96%	В фармации чаще всего используется как экстрагент при получении экстракционных фитопрепаратов, для консервирования лекарственных препаратов (эффект консервирования начинается с 15 - 18%).	CAS №64-17-5
Кремния диоксид гидрофобный коллоидный (Аэросил)	В фармации используется в качестве вспомогательного вещества, стабилизатор, гелеобразователь, адсорбент, улучшает текучесть таблетированных, мазевых, гелевых и других смесей. Иногда используется как АФИ (обладает бактерицидными свойствами).	CAS №7631-86-9
Вазелин	Вазелин используется как мазевая основа и смягчающее вещество, которое плохо абсорбируется кожей; в смягчающих кремах для местного применения используют в концентрации 10 - 30%, в эмульсиях – 4 - 25%, мазях – до 100%. Входит в состав неприлипающих марлевых лечебных повязок, содержащих активные фармацевтические ингредиенты.	ФС 2.2.0003.15 / CAS 8009-03-8
Ланолин водный	Ланолин применяют как пластификатор, эмульгатор типа в/о (при изготовлении эмульсий), а также для изготовления гидрофобных мазевых основ, суппозиториев, гелей, кремов, пластырей.	ФС.2.1.0121.18 / CAS №8006-54-0
Макроголы (Макрогол 1500, Макрогол 400)	Макрогол 400 (n от 8,2 до 9,1) используется в качестве растворителя и диспергатора; Макрогол 1500 (n от 29 до 36) - как мазевые и суппозиторные основы.	ФС.2.1.0127.18 / CAS №25322-68-3
Глицерин	Широко используют в фармацевтической практике как увлажняющий и смягчающий агент, для повышения адгезии, корректировки реологических параметров вязких систем и их влагоудерживающих свойств. Способствует улучшению проницаемости кожи. При высокой концентрации выявляют бактериостатические свойства.	ГФ online ФС.2.1.0006.15 / CAS №56-81-5
Вода очищенная	Растворитель	ГФ online ФС.2.2.0020.15 / CAS №7732-18-5

Продолжение таблицы 2.2

Натрий-КМЦ	Натрия-КМЦ широко применяется в производстве оральных фармацевтических препаратов и препаратов для наружного назначения, прежде всего для повышения их вязкости; в концентрации 4–6% входит в состав мазей, паст как гидрогелевая основа, а также препараты для парентерального применения. Натрия КМЦ используется в жидких лекарствах – как анионоактивный эмульгатор и стабилизатор эмульсий (увеличивает вязкость водной среды).	CAS №9004-32-4
Метилцеллюлоза	Метилцеллюлоза в концентрации 1 - 5% используется для создания фармацевтических препаратов в форме кремов, гелей и суспензий	CAS №9004-67-5
Пентол (пентаэритрита диолеат)	Пентол представляет собой смесь олеиновой кислоты и эфиров пентаэритрита. Применяется в эмульсионных основах как стабилизирующее поверхностно активное вещество.	CAS №78-11-5
Масло подсолнечное	Масло подсолнечное используют в составе жидких и мягких фармацевтических и косметических композиций в форме мазей, линиментов, кремов, как наполнитель, разбавитель, эмульгатор, растворитель и смягчитель.	CAS №8001-21-6
Эмульгатор № 1	Комплексный эмульгатор, чаще всего используется без применения других ПАВ. Смесь натриевых солей сернокислых эфиров высокомолекулярных спиртов (кашалотового жира или синтетических с числом атомов углерода 16 – 18) и свободных высших спиртов (цетилового, октадецилового и других этой же фракции) в соотношении 3:7.	ВФС 42-2121-92
Реактивы		
Хлористоводородная кислота концентрированная	Прозрачная, бесцветная, димящая жидкость. Легко смешивается с водой. Относительная плотность около 1.18.	ГФ online ОФС. 1.3.0001.15
Магний сульфат	Лента или стружка или проволока серебристо-белого цвета или порошок серого цвета.	ГФ XII, ч.1, ФС 42-0253-07
СО лютеолина	Желтый кристаллический порошок	с. № 11/1-15698 от 20.05.21, аттестованное содержание 100%

Продолжение таблицы 2.2

СО рутина	Желтый кристаллический порошок	кат. номер R0366, регистрационный номер GAS 250249- 75-3
СО хлорогеновая кислота	Кристаллический порошок белого цвета	кат. номер C0088, регистрационный номер GAS 327-97-9
СО кофейная кислота	Кристаллы желтого цвета	кат. номер C0063, регистрационный номер GAS 331-39-5
СО цинеол (Эвкалиптол)	Жидкость со специфическим запахом	кат. номер C0097, регистрационный номер GAS 470-82-6
СО борнеол	Бесцветные кристаллы с характерным хвойным запахом	регистрационный номер GAS 507-70-0
Соево-казеиновый бульон	Питательная среда для подготовки тест- штаммов бактерий	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Сабурозо- декстрозный бульон	Питательная среда для подготовки тест- штаммов дрожжевых и плесневых грибов	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Соево-казеиновый агар	Питательная среда для определения общего числа аэробных бактерий	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Сабурозо- декстрозный агар	Питательная среда для и определения общего числа дрожжевых и плесневых грибов	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Маннитно-солевой агар	Для испытаний на отдельные виды микроорганизмов: <i>Staphylococcus aureus</i>	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Цетримидный агар	Для испытаний на отдельные виды микроорганизмов: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Буферный раствор с натрия хлоридом и пептоном рН=7,0 5 % полисорбатом-80, 0,5 % лецитином и 0,1 % гистидина гидрохлорида	Растворитель для препарата при проведении микробиологических испытаний и приготовлении суспензий микроорганизмов	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Мясо-пептонный бульон	Для активации тест-штаммов бактерий	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Мясо-пептонный агар	Для определения антимикробной активности - испытания на бактерии	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Бульон Сабуро	Для активации тест-штаммов грибов	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15

Окончание таблицы 2.2

Агар Сабуро	Для определения антимикробной активности - испытания на грибы	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Стерильный 0,9 % раствор натрия хлорида	Для приготовления инокулятов тест-штамов бактерий и грибов	ГФ XIII online ОФС 1.2.4.0002.15
Метиленовый синий	Тригидратхлоридтетраметилентионина. Тёмнозеленые кристаллы с бронзовым блеском. Трудно растворим в воде (1:30). Водные растворы имеют синий цвет	ТУ 2463-044-0501520
Феноловый красный	Фенолсульфоталеин. Кристаллы красного цвета. Растворим в воде. Водные растворы имеют красный цвет	ТУ 6-09-5170-84
Метиловый оранжевый	Парадиметиламиноазобензолсульфокислый натрий. Кристаллы желтого цвета. Хорошо растворим в воде. Водные растворы имеют желтый цвет	ТУ 6-09-5171-84

В ходе выполнения экспериментальных исследований использовали оборудование, представленное в таблице 2.3.

Таблица 2.3. - Приборы и оборудование, используемые в диссертационной работе

Наименование оборудования	Производитель
Весы аналитические «Crystal - 200», весы электронные «Europe - 500; 1000»	фирма Gibertini, Италия
Весы аналитические «Sartorius»	фирма «SARTORIUS», Германия
Гомогенизатор лабораторный (турбинная мешалка) Polytron®System PT 3100	Kinematica AG Швейцария.
Анализатор влаги «Sartorius MA-150»	Sartorius Lab Instruments, Германия
Измельчитель для лекарственного растительного сырья Титан 80	Господар - Луцк, Украина
Лабораторная шаровая мельница	Мариупольского завода технологического оборудования, Украина
Сушильный шкаф СП-50	ТОВ "СПЕКТРО ЛАБ", Украина

Продолжение таблицы 2.3

Центрифуга лабораторная ОПН-3.02 «Дастан»	Мариупольского завода технологического оборудования, Украина
Прибор для определения сыпучести ВП12А, диаметр насадки – 10 мм	Мариупольского завода технологического оборудования, Украина
Прибор для измерения насыпного объема 545Р-АК-3	Мариупольского завода технологического оборудования, Украина
pН- метр типу «Porotrode»	METER Metrohm AG, Швейцария
Микроскоп Люмам Р1, оснащенный цифровой окулярной камерой DMC 300 и программным обеспечением ScopePhoto.	Украина
Реовискозиметр «Rheolab QC» с коаксиальными цилиндрами С-СС27 / SS.	Anton Paar, Германия
Посуда лабораторная	ООО «Торговый дом МИКРОМЕД, Украина
Пластины для ТСХ	Пластины для ТСХ Kieselgel 60 F254 (фирмы «Merck») на алюминиевой подножке
Апликатор	Микрошприц М-10Н АГАТ
Камера для ТСХ	Камера для ТСХ
Спектрофотометр	Specord 200 (Германия)
Ламинарный бокс АС2-4Е1 класса 2 (для проведение микробиологических исследований в асептических условиях)	Airstream® Esco (Сингапур)
Стерилизатор паровой ГП-20 (для автоклавирования питательных сред)	Мизма (Украина)
Баня водяная лабораторная ВБ-10 (для приготовления питательных сред и нагрева компонентов)	UOSLab (Украина)
Термостат ТС 1/80СПУ (для культивирования штаммов)	СКТБ (Россия)
Микроскоп биологический XSP-128 ULAB - (для изучения окрашенных фиксированных препаратов штаммов)	ULAB (Украина/Китай)
Весы лабораторные SPU 402 (для взвешивания компонентов среды и образцов продуктов)	Ohaus (Китай)
Микроскоп стереоскопический МБС-10 – (для изучения морфологии колоний штаммов)	ULAB (Украина/Китай)

2.4. Методы исследования

В работе использовали физико-химические, химические, технологические, микробиологические, биофармацевтические, фармакологические и статистические методы исследования.

При проведении исследований руководствовались требованиями общих статей ГФРФ, ГФУ, ГФ XI, ГФ XII.

2.4.1. Физико-химические и фармако-технологические методы исследования шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Определение удельной массы [19,77]. Около 5,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в пикнометр емкостью 100 мл, на 2/3 объема заливали очищенной водой и выдерживали на кипящей водяной бане 1,5-2 часа при периодическом перемешивании с целью полного удаления воздуха из сырья. После чего пикнометр охлаждали до температуры 20 °С, доводили объем до метки очищенной водой и определяли массу пикнометра с сырьем и очищенной водой. Предварительно определяли массу пикнометра с водой. Расчет удельной массы производили по формуле:

$$d_{\text{п}} = \frac{P \cdot d_{\text{ж}}}{P + G - F}, \text{ г/см}^3, \quad (2.1)$$

где: P – масса абсолютно сухого измельченного сырья, г;

G – масса пикнометра с водой, г;

F – масса пикнометра с водой и сырьем, г;

$d_{\text{ж}}$ – удельная масса очищенной воды, г/см³ ($d_{\text{ж}} = 0,9982$ г/см³).

Определение объемной массы [19,77]. Около 10 г (точная навеска) измельченного сырья быстро погружали в мерный цилиндр с очищенной водой и фиксировали объем. По разнице объемов в мерном цилиндре определяли объем, который занимает сырье. Расчет объемной массы производился по формуле:

$$d_0 = \frac{P_0}{V_0}, \text{ г/см}^3, \quad (2.2)$$

где: P_0 – масса измельченного сырья при природной или заданной влажности,

Г;

V_0 – объем, который занимает сырье, см^3 .

Определение насыпной массы [19,77]. В мерный цилиндр помещали измельченное сырье, слегка встряхивая его до выравнивания сырьем, и определяли полный объем занимаемого сырьем. После этого сырье взвешивали. Расчет насыпной массы производили по формуле:

$$d_n = \frac{P_n}{V_n}, \text{ г/см}^3, \quad (2.3)$$

где: P_n – масса измельченного сырьем при природной или заданной влажности,

Г;

V_n – объем, который занимает сырье, см^3 .

Определение пористости сырьем [19,77]. Пористость сырьем характеризует размер пустот внутри частиц сырьем и определяется как отношение разницы между удельной и объемной массами к удельной массе. Чем выше показатель пористости, тем больше образуется внутреннего сока при набухании сырьем. Пористость рассчитывали по формуле:

$$P_{\text{порист.}} = \frac{d_n - d_0}{d_n}, \quad (2.4)$$

где: d_n – удельная масса сырьем, г/см^3 ;

d_0 – объемная масса сырьем, г/см^3 .

Определение порозности слоя сырьем [19,77]. Порозность слоя характеризует размер полостей между кусочками измельченного растительного материала и определяется как отношение разницы между объемной и насыпной массами к объемной массе. Порозность слоя рассчитывали по формуле:

$$P_{\text{порозн.}} = \frac{d_0 - d_n}{d_0}, \quad (2.5)$$

где: d_0 – объемная масса сырьем, г/см^3 ;

d_n – насыпная масса сырьем, г/см^3 .

Определение свободного объема слоя сырьем [19,77]. Свободный объем слоя характеризует относительный объем свободного пространства в единице слоя сырьем (полости внутри частиц и между ними) и определяется как отношение разницы между удельной и насыпной массами к удельной массе. Свободный

объем слоя рассчитывали по формуле:

$$V_c = \frac{d_{\text{п}} - d_{\text{н}}}{d_{\text{п}}}, \quad (2.6)$$

где: $d_{\text{п}}$ – удельная масса сырья, г/см³;

$d_{\text{н}}$ – насыпная масса сырья, г/см³.

Определение содержания экстрактивных веществ в сырье [15].

Испытания проводили по методике ГФ XI изд., вып. 1, с. 295.

Около 1 г измельченного сырья (точная навеска), просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в коническую колбу емкостью 200-250 мл, добавляли 50 мл соответствующего экстрагента (этанол разной концентрации вода очищенная), закрывали пробкой, взвешивали (с погрешностью $\pm 0,01$ г) и оставляли на 1 час. Затем колбу соединяли с обратным холодильником, нагревали, поддерживая слабое кипение в течение 2 часов. После охлаждения колбу с содержимым снова закрывали той же пробкой, взвешивали и потерю в массе восполняли растворителем. Содержимое колбы тщательно взбалтывали и фильтровали через сухой бумажный фильтр в сухую колбу вместимостью 150-200 мл. 25 мл фильтрата пипеткой переносили в предварительно высушенную при температуре 100-105 °С до постоянной массы и точно взвешенную фарфоровую чашку диаметром 7-9 см и выпаривали на водяной бане досуха. Чашку с остатком сушили при температуре 100-105 °С до постоянной массы, затем охлаждали в течение 30 мин в эксикаторе, на дне которого находился безводный кальция хлорид, и немедленно взвешивали. Содержание экстрактивных веществ в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{m \cdot 200 \cdot 100}{m_1 \cdot (100 - W)}, \quad (2.7)$$

где: m – масса сухого остатка, г;

m_1 – масса сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Определение потери в массе при высушивании. Испытания проводили по ГФУ 1 изд., доп. 4, п. 2.2.32, с. 39-40, ГФ XI изд., Вып. 1, с. 285–286. Значение

потери в массе при высушивании лекарственного растительного сырья должно быть не более 14,0%.

По 3,0 г (с точностью до 0,01 г) препарата помещали в предварительно высушенные и взвешенные вместе с крышкой бюксы. Высушивание проводили в сушильном шкафу при температуре от 100 до 105 °С до постоянной массы. Первое взвешивание проводили через 2 часа.

Потерю в массе при высушивании (X) в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_1}, \%, \quad (2.8)$$

где: m – масса навески сырья для высушивания, г;

m₁ – масса навески сырья после высушивания, г.

Определение содержания общей золы. Исследования проводились по ОФС . 1.2.2.2.0013.15 Значение общей золы должно быть не более 15,0%.

1,0 г измельченного в порошок лекарственного растительного сырья размещали в предварительно прокаленный и взвешенный тигель и равномерно распределяли по дну тигля. Высушивали при температуре от 100 °С до 105 °С в течение 1 ч и сжигали до постоянной массы в муфельной печи при температуре 600 (±25) °С, охлаждая тигель в эксикаторе после каждого сжигания. На протяжении всей процедуры в тигли не должно появляться пламя.

Определение содержания золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты. Исследования проводили по ОФС . 1.2.2.2.0013.15.

К остатку в тигле, полученном после определения общей золы, добавляли 15 мл воды и 10 мл хлористоводородной кислоты, смесь накрывали, нагревали в течение 10 мин на кипящей водяной бане и оставляли до охлаждения. Смесь фильтровали через беззольный фильтр, остаток на фильтре промывали горячей водой до нейтральной реакции фильтрата, высушивали, сжигали при слабом красном жаре, охлаждали в эксикаторе и взвешивали. Прокаливание повторялось, пока различие в весе тигля с остатком между двумя последовательными взвешиваниями не было менее 1 мг.

Определение измельченности сырья (фракционный состав).

Определение фракционного состава измельченного растительного сырья проводили аналитическим просеиванием согласно методике, приведенной в ГФУ, 2 изд., 2.9.38, с использованием набора сит, указанных в статье. Просеивание осуществляли методом механического встряхивания (метод сухого просеивания).

Определение коэффициента набухания сырья[77]. Испытания проводили согласно ГФУ, 2 изд. (2.8.4. Показатель набухания) 1,0 г лекарственного растительного сырья, измельченного, помещают в градуированный цилиндр с притертой пробкой вместимостью 25 мл, высотой 125 ± 5 мм и ценой деления 0,5 мл. Образец смачивают 1,0 мл 96% этанола, прибавляют 25 мл воды, закрывают цилиндр, энергично встряхивают через каждые 10 мин в течение 1 ч. Затем выдерживают в течение 3 ч. Через 90 мин после начала испытания сливают максимально возможное количество жидкости вместе с частицами сырья, плавающими на поверхности, путем вращения цилиндра вокруг вертикальной оси. Измеряют объем, занимаемый сырьем, включая прилипшую слизь. Дополнительно проводили испытание показателя набухания с добавлением 25 мл 96% этанола Р вместо 25 мл воды. Коэффициентом набухания рассчитывали по формуле:

$$K_n = \frac{V_2}{V_1}, \quad (2.9)$$

где: V_1 – объем, занимаемый сырьем до набухания, мл;

V_2 – объем, занимаемый сырьем после слива экстрагента, мл.

Определение коэффициента поглощения сырья. 1 г измельченной ЛРС помещали в градуированный стеклянный цилиндр емкостью 25 мл, высотой 125 ± 5 мм и ценой отметки 0,5 мл, оснащенный притертой пробкой. К испытанному образцу добавляли 25 мл воды и закрывали цилиндр. Оставляли стоять в течение 8 часов, по истечении времени экстрагент сливали и определяли массу оставшегося сырья. Дополнительно проводили испытание показателя поглощения с добавлением 25 мл 96% этанола. Коэффициент поглощения определяли по формуле:

$$K_{\Pi} = \frac{m_2}{m_1}, \quad (2.10)$$

где: m_1 – масса сырья до набухания, г;

m_2 – масса сырья, после слива экстрагента, г;

Коэффициент поглощения экстрагента характеризует количество растворителя, заполняющего межклеточные поры, вакуоли, воздушные полости в растительном материале и не извлекается из шрота. Коэффициент поглощения рассчитывали по разнице объема экстрагента, которым залили известную навеску сырья, и объему, полученному после слива, отжав шрот.

Расчет объема, который будет занимать сырье в экстракторе после набухания, производили по формуле:

$$V_{с.экстр.} = m \cdot K_{\Pi}, \text{ мл} \quad (2.11)$$

где m – масса загруженного сырья в экстрактор, г;

K_{Π} – коэффициент набухания сырья

Расчет объема экстрагента, остающегося в сырье (шроте) после сливания экстракта, производили по формуле (3.2):

$$V_{э.шрот} = m \cdot K_{\Pi}, \text{ мл} \quad (2.12)$$

где m – масса загруженного сырья в экстрактор, г;

K_{Π} – коэффициент поглощения сырья.

Расчет объема экстрагента необходимого для получения соответствующего количества жидкого экстракта в соотношении сырье : готовый продукт – 1 : 1 производили по формуле:

$$X = n \cdot V + m \cdot K_{\Pi}, \text{ мл} \quad (2.13)$$

где V – требуемое количество жидкого экстракта, мл;

n – число объёмов экстрагента, необходимое для полного истощения сырья

m – масса лекарственного растительного сырья, г;

K_{Π} – коэффициент поглощения сырья.

Исследование динамики экстрагирования растительного сырья.

Определение содержания сухого остатка A_n в отдельных порциях жидких экстрактов V_n , полученных при соответствующем DER , г. Расчет содержания сухого остатка A_n проводили по формуле:

$$A_n = \frac{\omega_n \times V_n}{100} (2.14)$$

где V_n - объем отдельно собранной порции жидкого экстракта полученного с шагом соотношения DER 1:1, мл;

ω_n - сухой остаток в отдельно собранной порции жидкого экстракта n , %.

Определение содержания сухого остатка B в суммарных экстрактах V_{n+1} , полученных при соответствующем DER на стадии, г.

Расчет содержания сухого остатка B_n в суммарных экстрактах V_{n+1} полученных на стадии проводили по формуле:

$$B_n = \sum_{n=1}^n A_n \quad (2.15)$$

где A_n - сухой остаток в отдельно собранной порции экстракта V_n , г.

$$B_{n1} = \sum_{n=1}^n 3.05 = 3.05 \quad (2.16)$$

Определение содержания сухого остатка C_n в суммарных экстрактах V_{n+1} , полученных при соответствующем DER на стадии, %.

Расчет содержания сухого остатка C_n в суммарных экстрактах V_{n+1} полученных на стадии проводили по формуле:

$$C_n = \frac{B_n}{V_{n+1}} \times 100 \quad (2.17)$$

где V_{n+1} - объем суммарного экстракта на стадии, мл;

B_n - содержание сухого остатка в суммарных экстрактах V_{n+1} , г.

Определение выхода экстрактивных веществ (абсолютно сухого экстракта) D_n с экстрагирования сырья на каждой из стадий экстрагирования при соответствующем DER , %

Расчет выхода экстрактивных веществ (абсолютно сухого экстракта) D_n проводим по формуле:

$$D_n = \frac{B_n}{m_c} \times 100 (2.18)$$

где m_c - масса растительного сырья использованной для извлечения, г;

B_n - содержание сухого остатка в суммарных экстрактах V_{n+1} , г.

D_n - выход экстрактивных веществ из экстрагированной сырья, на каждой из стадий экстрагирования при соответствующем DER

Определение сухого остатка жидких экстрактов проводили согласно

методике ГФУ 1 изд., доп. 1, п. 2.8.16 N, с. 63-64.

5 мл жидкого экстракта помещали во взвешенный бюкс, выпаривали на водяной бане, сушили при температуре от 100 °С до 105 °С в течение 3 ч, затем охлаждали в эксикаторе в течение 30 мин и взвешивали. Результат выражали в весовых процентах.

Методика определения количественного содержания флавоноидов в пересчете на кверцетин. Количественное содержание суммы флавоноидов в шалфее мускатном проводили по методике, описанной в ГФ XI вып.2, в частной статье «Трава горца перечного (водяного перца)».

Около 0,500 г ЖЭЛШМ помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяют в 50 мл спирта 50%, доводят тем же растворителем до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 25,0 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, 2,0 мл 2 % спиртового раствора алюминия хлорида, и доводят объем раствора спиртом 96% до метки. Через 20 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 430 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл испытуемого раствора, доведенного до метки в мерной колбе вместимостью 25,0 мл этанолом 95 % (об/об).

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 100,0 \cdot 25,0 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m_{\text{н}} \cdot 1,0} \quad (2.19)$$

где A – оптическая плотность исследуемого раствора;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ - удельный показатель поглощения комплекса кверцетина с алюминия хлоридом при 430 нм, который равен 764,6;

$m_{\text{н}}$ – масса навески ЖЭЛШМ в граммах;

Содержание суммы флавоноидов в ЖЭЛШМ рассчитывали в процентах методом удельного показателя поглощения. Полученные результаты и метрологические характеристики методики приведены в таблице 2.4.

Таблица 2.4. - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в ЖЭЛШМ в пересчете на кверцетин $P(t,v) = 2,5706$

n	x	x_{cp}	S^2	S	S_{xcp}	Δx	$\varepsilon, \%$
6	0,2327	0,2395	$2,15 \cdot 10^{-5}$	0,0046	0,0019	0,0119	4,98
	0,2356						
	0,2389						
	0,2417						
	0,2431						
	0,2448						

2.4.2. Физико-химические и технологические методы исследования сырья бентонитовой глины Султанабадского месторождения

Методика определения адсорбционной активности [74]. Точную навеску (около 0,1 г) бентонита помещается в колбы на 50 мл с притёртой крышкой. В колбу с навеской бентонита добавляется 25 мл исходного раствора метиленового синего (0,15% водный раствор) и перемешивали на автоматическом встряхивателе со скоростью 80 кол/мин в течении 30 мин. Для разделения фаз суспензию фильтровали через бумажный фильтр (белая лента на воронке Бюхнера с диаметром 7,5 см). Полученные фильтраты центрифугировали. Раствором сравнения служил исходный раствор метиленового синего (неосветлённый раствор). По 5 мл испытуемого раствора и раствора сравнения перенесли в колбы вместимостью 50 мл и до метки доводили дистиллированной водой. И снимали спектр поглощения осветленного и неосветленного растворов метиленового синего в кювете толщиной 10 мм при длине волны 396 нм. По оптической плотности, находили остаточную массовую концентрацию метиленового синего в разбавленном растворе.

Определение емкости катионного обмена проводили по методике, описанной в ГОСТ 21283-93. Методика: определяли адсорбционную активность с использованием метиленового синего. Емкость катионного обмена глины (мг-экв на 100 г сухой глины) рассчитывали по формуле (2) [7]:

$$E = \frac{A \cdot 100}{319,9}, \quad (2.20)$$

где E – емкость катионного обмена, мг-экв на 100 г сухой глины;

A – адсорбционная активность, мг/г;

319,9 – миллиграмм-эквивалентная масса метиленового синего, мг

Определение минералогического состава глины проводили методом М. Ф. Викуловой и Н. В. Логвиненко [7]. Методика: навеску глины массой 0,5 г замачивали в воде очищенной. Через сутки воду сливали, глину переносили в пробирку и заливали водой, взмучивали переворачиванием и оставляли на сутки. Через сутки верхнюю часть суспензии высотой 7 см переливали в 2 пробирки поровну. В первую пробирку добавляли 0,001 % раствор, во вторую – 0,001 % раствор МС и одну-две капли насыщенного раствора калия хлорида. По результатам изменения окраски и характера осадка, которые регистрировали визуально через сутки, определяли предположительный минеральный состав.

Определение гелеобразующей способности или объем осадка [88, 89]. Навеска бентонита 6,0 г помещается в колбу вместимостью 250 мл и прибавляется 200 мл воды очищенной, смесь перемешивается в установке для встряхивания колб в течении 1 часа. Затем 100 мл образовавшегося геля переносится в мерный цилиндр вместимостью 100 мл и оставляется на 48 ч. Количество жидкости, отслоившейся над гелем в верхней части цилиндра, и количество образовавшегося осадка под гелем являются показателем устойчивости геля. Чем они меньше, тем устойчивее гель, то есть гелеобразующая способность глины большая.

Способность к набуханию (степень набухания), это кажущийся объемы осадка в суспензиях 2 г бентонита в 100 мл количественно определяли через 2 часа [88, 89].

Сыпучесть бентонита. Испытания проводили согласно методике,

приведенной в ГФУ 2 изд., ст. 2.9.16., с. 425. Сыпучесть оценивали по способности бентонитовой глины сыпаться в вертикальном направлении при заданных условиях. Определение проводили методом неподвижной воронки. Текучесть выражали в секундах и десятых частях секунды, отнесенных к 100 граммам образца бентонита.

Насыпной объем, насыпная плотность и плотность после усадки.

Испытания проводили согласно методике, приведенной в ГФУ. Насыпной объем определяли путем свободной засыпки 100 г (m - масса навески в граммах) исследуемого вещества в градуированный стеклянный цилиндр, который закрепляли на соответствующем приборе. Фиксировали насыпной объем V_0 . Проводили 10, 500, 1250 соскоков цилиндра и фиксировали объемы V_{10} , V_{500} , V_{1250} с точностью до ближайшей отметки, и определяли:

- а) насыпной объем до усадки – V_0 , мл и после усадки – V_{1250} , мл;
- б) способность к усадке: разность объемов V_0 , мл – V_{1250} , мл;
- в) насыпную плотность до усадки – m/V_0 , г/мл и после усадки – m/V_{1250} , г/мл.

2.4.3. Физико-химические, технологически, биофармацевтические и микробиологические методы исследования при разработке мази с содержанием жидкого экстракта шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Структурно-механические (реологические) свойства образцов определяли с помощью ротационного вискозиметра «Rheolab QC» фирмы Anton Paar (Германия) с коаксиальными цилиндрами C-CC27 / SS.

Навеску мази около 15,0 ($\pm 0,5$) г помещали в емкость внешнего неподвижного цилиндра. С помощью термостата устанавливали необходимую температуру, после этого с помощью программного обеспечения устанавливали необходимые условия эксперимента (градиент скорости сдвига, количество точек на кривой течения образца и продолжительность измерения на каждой точке кривой).

Ход эксперимента управлялся при помощи программного обеспечения RheoPlus. Измерения реологической кривой проводили в три этапа:

а) линейное увеличение скорости сдвига от $0,1 \text{ с}^{-1}$ до 350 с^{-1} 115 точками измерения и длительностью измерения точки 1 с;

б) постоянный сдвиг при скорости сдвига 150 с^{-1} , одна точка измерения длительностью 1 с;

в) линейный спад скорости сдвига от 350 с^{-1} до $0,1 \text{ с}^{-1}$ 115 точками измерения и длительностью измерения точки 1 с.

Определение величины рН водного раствора мази. 2,5 г мази вносили в химический стакан вместимостью 100 мл и растворяли в 47,5 мл воды очищенной при перемешивании стеклянной палочкой в течение 10 минут, оставляли на 10 минут для осаждения нерастворимых компонентов, фильтровали, после чего определяли величину рН полученного водного раствора потенциометрически.

Методика микроскопических исследований. Для анализа микроскопии мази использовали микроскоп Люмам Р1, оснащенный цифровой камерой DMC 300 и программным обеспечением ScorePhoto. Просмотр образцов выполнялся с помощью объектива с 20-кратным увеличением и промежуточным увеличением 1,6 раза. Образцы просматривались в свете от галогеновой лампы.

Определение абсорбционной (осмотической) активности образцов мази. Осмотические свойства мази определяли методом диализа через полупроницаемую мембрану. Диализатор состоит из диализационной камеры и внутреннего цилиндра, дном которого является полупроницаемая мембрано-целлофановая пленка. В предварительно взвешенный внутренний цилиндр отвешивали 3,0 г мази, равномерным слоем распределяли по поверхности полупроницаемой мембраны площадью 2000 мм^2 и подогревали до температуры $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. В диализационную камеру (рисунок 2.1) помещали 70 мл 10% изотонического раствора натрия хлорида и внутренний цилиндр с исследуемым образцом, наносили отметку уровня воды и устанавливали камеру в термостат.

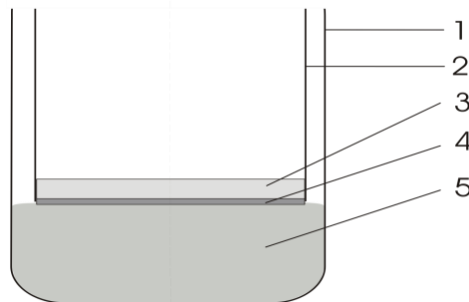


Рисунок 2.1. - Схема диализатора

Примечание: 1 – диализационная камера; 2 - внутренний цилиндр; 3 - навеска образца; 4 - полупроницаемая мембрана; 5 - раствор натрия хлорида.

Через равные промежутки времени (1 час.) внутренний цилиндр вынимали из диализационной камеры, осторожно, с помощью фильтровальной бумаги просушивали внешнюю поверхность и определяли массу цилиндра. По разнице между полученным и предыдущим результатом определяли количество поглощенной жидкости.

Исследование динамики высвобождения биологически активных веществ из модельных образцов мази. В чашки одинакового диаметра заливали агарный гель, к которому были добавлен реактив: 10% раствор калия гидроксида для выявления фенольных соединений, содержащихся мази, таким образом, чтобы после охлаждения образовался шар застывшего геля толщиной 0,5-1 см. После застывания на нем размещали на равном расстоянии друг от друга цилиндрики с нержавеющей стали диаметром 8 мм, и заливали расплавленный и охлажденный до 45°C верхний слой агарового геля с внесенным в него соответствующим реактивом. После застывания слоя, из него вынимали цилиндрики, а в образовавшиеся лунки вносили по 0,2 грамма опытных образцов мази. Чашки Петри выдерживали в термостате при 37±0,5°C.

Определение коллоидной стабильности образцов мази. Для проведения теста применялась лабораторная центрифуга с набором пробирок, ртутный термометр с интервалом измеряемых температур от 0 до 100°C и ценой деления 1°C, а также водяная баня и секундомер. Пробирки наполнялись исследуемыми образцами на 2/3 объема (примерно 9 г) таким образом, чтобы массы пробирок с

препаратами не отличались больше чем на 0,02 г, после чего взвешивались с точностью до 0,01 г. Затем пробирки были размещены на водяной бане при температуре $(42,5 \pm 2,5)$ °C на 20 мин., после чего насухо вытирались с наружной стороны и помещались в гнезда центрифуги. Центрифугировались в течение 5 мин. со скоростью 6000 об/мин.

Образцы считались стабильными, если после центрифугирования в пробирках не наблюдалось расслаивание. Если расслаивание образца или выделение осадка наблюдалось хотя бы в одной из пробирок, анализ производился повторно с новыми порциями. Образец считался нестабильным, если при повторном тесте оказалась хотя бы одна пробирка с расслоением.

Определение термостабильности образцов мази. Для проведения теста использовали 5-6 стеклянных пробирок диаметром 15 мм и высотой 150 мм. Пробирки наполняли 8-10 мг исследуемых образцов и помещали в термостат марки ТС-80М-2 с температурой $(42,5 \pm 2,5)$ °C на 7 суток. Затем образцы переносили на 7 суток в холодильник с температурой (6 ± 2) °C, после чего в течение 3 суток выдерживали при комнатной температуре. Стабильность определялась визуально: образец считался стабильным, если расслаивание не наблюдалось ни в одной пробирке.

Изучение антимикробной активности модельных образцов мази.

Метод диффузии в агар. Как тест-культуры для проведения микробиологических исследований были использованы эталонные штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 10261, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 7241, относящихся к грамположительным и грамотрицательным бактериям.

Изучение антимикробного действия модельных образцов мазей проводили *in vitro* методом диффузии в агар в модификации «колодцев». Микробная нагрузка расплавленной питательной среды составляли $1:10^7$ КОЕ/мл. По 20 мл контаминированной микроорганизмами среды выливали в чашки Петри, и оставляли до затвердевания среды. В слое питательного агара готовили лунки с

помощью стерильного пробойника диаметром 8 мм. Испытуемые образцы мазовой массы предварительно расплавляли при температуре 45⁰С, вносили по 0,2 мл в лунки с помощью стерильных одноразовых шприцов. После внесения препаратов чашки Петри выдерживали при комнатной температуре (20-22⁰С) в течение одного часа, а затем помещали в термостат и инкубировали в течение 18-24 часов при температуре 35⁰С. После окончания инкубации измеряли диаметр зоны отсутствия роста колоний микроорганизмов вокруг лунок с препаратом.

Изучение микробиологической чистоты субстанций и препарата.

Анализ микробиологической чистоты образцов проводили согласно ГФУ 2.4 статьи 5.1.4. Согласно требованиям этой статьи критерии приемлемости микробиологической чистоты нестерильных лекарственных форм для кожного применения следующие: общее число аэробных микроорганизмов (ТАМС) не должно превышать 10² КОЕ (колониобразующие единицы) /г или КОЕ/мл, общее число дрожжевых и плесневых грибов (ТУМС) - 101 КОЕ/г или КОЕ/мл; отдельные виды микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*) в 1 г или 1 мл отсутствуют.

Определение числа микроорганизмов при испытании микробиологической чистоты образцов проводили согласно методам, приведенным в ГФУ 2.0 статьи 2.6.12, испытания на отдельные виды микроорганизмов – в ГФУ 2.0 статьи 2.6.13.

При подготовке к проведению испытаний и собственно испытаниях использовали среды, рекомендованные ГФУ:

- для подготовки тест-штаммов бактерий и тест-штаммов грибов – соево-казеиновый бульон и Сабуро-декстрозный бульон, соответственно;
- для определения ТАМС и ТУМС – соево-казеиновый бульон и Сабуро-декстрозный бульон, соответственно
- для испытания на отдельные виды микроорганизмов *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* - маннитно-солевой агар и цетримидный агар соответственно.

Согласно требованиям ГФУ проводили проверку стерильности питательных сред, растворителя, ростовых свойств питательных сред и проверку пригодности методики определения общего числа жизнеспособных клеток.

Контролем при определении ростовых свойств среды служит стандартная среда с гарантированными ростовыми качествами, на которой верно проявляется количественный и качественный рост микробов (морфология колоний).

Перед началом исследований проводили проверку ростовых свойств питательных сред. Питательные среды отвечали ростовым свойствам и выдерживали испытания на стерильность согласно требованиям ГФУ 2.0, п. 2.6.12, а тест-микроорганизмы соответствовали таксономической характеристике - морфология колоний на средах и морфология клеток при микроскопировании были типичными для соответствующего штамма.

Проверка пригодности методики определения общего числа жизнеспособных клеток состоит в сравнении результатов подсчета числа тест-микроорганизмов, полученных в присутствии испытуемого препарата и на контрольных посевах. Антимикробную активность препарата устраняли путем разведения. Проверку пригодности методики определения общего числа жизнеспособных микроорганизмов осуществляли для испытуемых образцов препарата в разведении 1:10 растворителем буферным раствором с хлоридом натрия и пептоном рН=7,0 с 5% полисорбата-80, 0,5% лецитина и 0,1% гистина.

Питательные среды инокулировали небольшим количеством соответствующих тест-штаммов микроорганизмов (10^1 - 10^2 КОЕ/мл): *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404. Для тестирования использовали рабочие суспензии микроорганизмов, которые выращивали каждый по отдельности на соответствующей питательной среде. Для приготовления рабочих суспензий тест-микроорганизмов использовали буферный раствор с хлоридом натрия и пептоном рН 7,0, достигая соответствующей нагрузки (10^1 - 10^2 КОЕ/мл) методом последовательных кратных разведений. Использовали по две чашки Петри для каждого тест-

штамма, инкубировали чашки при температуре 30-35 °С для бактерий и 20-25 °С для грибов, подсчитывали число колоний тест-штаммов, вычисляли среднее арифметическое значение числа колоний и определяли число КОЕ в 1 мл образца.

При испытании микробиологической чистоты исследуемого образца использовали метод поверхностного посева в чашки Петри с соево-казеиновым агаром (для ТАМС) и Сабуро-декстрозным агаром (для ТУМС). Готовили испытанный образец, используя методику, пригодность которой была доказана. Для каждого разведения образца готовили по 2 чашки Петри с соответствующей питательной средой. Чашки с соево-казеиновым агаром инкубировали при температуре 30-35 °С 3-5 суток, чашки с Сабуро-декстрозным агаром инкубировали при температуре 20-25 °С 5-7 суток. Для каждой питательной среды вычисляли среднее арифметическое значение числа колоний и определяли число КОЕ в 1 мл образца.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Нормальность распределения выборок оценивали по критериям Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Результаты полученных данных обработаны статистически с расчетом средних значений и их стандартных ошибок или максимального и минимального значений. При сравнении количественных показателей между двумя независимыми группами использовался критерий Манна-Уитни, между зависимыми группами – Т-критерий Вилкоксона. При множественных сравнениях количественных показателей между независимыми группами использовался Н-критерий Крускала-Уоллиса, между зависимыми группами – ANOVA Фридмана. Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3. Обоснование технологии получения жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане. Разработка состава мази с его содержанием

3.1. Обоснование оптимальных условий получения жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Лекарственные растения составляют основу «фармакопеи народной медицины» и являются проверенным источником активных фармацевтических ингредиентов. Целью научной работы являлась разработка оптимальной технологии получения жидкого экстракта листьев шалфея мускатного (*Salvia sclarea L.*), произрастающего в Таджикистане как готовой лекарственной формы и для последующего его использования в качестве активного ингредиента при разработке мази, предназначенной для фармакотерапии раневого процесса и воспалительных дерматологических заболеваний.

В качестве основы мази по результатам анализа первоисточников предполагается использование бентонитовой глины. Анализ первоисточников относительно исследований бентонитовых глин Республики Таджикистан указывает на перспективность использования глины Султанабадского месторождения в фармацевтических целях [34,35,70,88,89]. Бентонитовые глины данного месторождения отличаются наличием комплекса полезных физико-химических, механических, биологических свойств, обуславливающих образование устойчивой, однородной дисперсной системы, что максимально приближает их к идеальной основе. Особый интерес бентонит вызвал у фармацевтов и медиков за счет таких свойств, как индифферентность к другому сырью, его способность образовывать гель достаточной вязкости уже при небольших концентрациях.

3.1.1. Исследование фармако-технологических свойств листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Растительное сырье имеет многокомпонентный химический состав и

сложную морфологическую структуру, которые существенно влияют на эффективность процесса экстракции. Экстрагирование биологически активных соединений из природного сырья зависит от многих условий и факторов, поэтому экспериментальные работы по разработке фитопрепаратов целесообразно начинать с изучения физико-химических и фармако-технологических свойств растительного сырья. Для повышения эффективности процесса экстракции и определения расходных норм сырья и экстрагента необходимо знать свойства лекарственного растительного сырья, к которым относятся: содержание в сырье влаги, а также действующих и экстрактивных веществ, удельная, объемная и насыпная масса, пористость, порозность и свободный объем слоя сырья, степень измельчения, удельная поверхность частиц, коэффициент поглощения сырьем экстрагента, коэффициент набухания сырья и др[77]. Поэтому нами были проведены экспериментальные исследования по определению основных физико-химических и фармако-технологических свойств измельченных листьев шалфея мускатного (ШМ), произрастающего в Таджикистане. Размер частиц испытуемого сырья на предварительном этапе исследования составлял 1-3,5 мм, поскольку это наиболее приемлемая степень измельчения для этого вида сырья. Измельчение листьев ШМ осуществляли с помощью лабораторной роторной ножевой мельницы (Титан 80) с последующим фракционированием при помощи набора сит.

Удельная, объемная и насыпная масса, пористость и порозность, степень набухания сырья и коэффициент поглощения экстрагента во многом зависят от морфологической структуры самих листьев и необходимы при математических расчетах процесса экстракции [147]. Результаты определения физико-химических и фармако-технологических свойств измельченных листьев ШМ, произрастающего в Таджикистане, приведены в таблице 3.1. При определении физико-химических и фармако-технологических свойств использовали общепринятыми методики, приведенными в разделе 2. [19].

Таблица 3.1. - Физико-химические и фармако-технологические свойства сырья шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Фармако-технологический параметр	Результаты определений
Содержание влаги (потеря в массе при высушивании), %	9,90±0,06
Зола общая, %	10,56±0,09
Размер частиц, мм	1,0-3,5
Содержание экстрактивных веществ, %	30,32±0,89
Удельная масса, г/мл	1,95±0,027
Объемная масса, г/мл	0,34±0,001
Насыпная масса, г/мл	0,56±0,002
Пористость слоя сырья	0,82±0,02
Порозность сырья	0,7151±0,0083
Свободный объем слоя сырья	0,71±0,04
Коэффициент набухания ЛРС в воде (Кн)	9,5
Коэффициент набухания ЛРС в этаноле (96 %) (Кн)	8,0
Коэффициент поглощения ЛРС в воде (Кп)	6,0
Коэффициент поглощения ЛРС в этаноле (96%) (Кп)	3,5

На основе средних значений физико-химических и фармако-технологических свойств листьев ШМ, производились расчеты технологических параметров процесса экстракции сырья, а именно: объем, который будет занимать ЛРС в экстракторе до и после набухания; объем экстрагента, остающийся в сырье (шроте) после сливания вытяжки; объем экстрагента, необходимого для получения соответствующего количества жидкого экстракта с учетом требуемого соотношения сырье: экстрагент в готовом продукте как 1 : 1 [63,65,81].

Значения физико-химических и технологических свойств листьев ШМ, произрастающего в Таджикистане так же важны при масштабировании технологии экстракции от лабораторных условий до условий промышленных фармацевтических предприятий.

3.1.2. Выбор оптимального экстрагента, степени измельчения сырья и метода экстракции

В виду большой зависимости химического состава растительного сырья и в частности, ШМ, произрастающего в Таджикистане, от условий произрастания, рационален индивидуальный подход к обоснованию условий экстракции. С этой целью в работе исследовали влияние параметров экстракции, таких как концентрация водно-этанольного раствора, степень измельчения сырья, температура, метод экстракции на выход экстрактивных веществ и суммы флавоноидов.

В многочисленных публикациях [86,89,124,144] указывается на использование водно-этанольного раствора при экстракции разных видов шалфея, концентрация которого варьируется в пределах 30% - 95%. С целью изучения извлекающей способности водно-этанольной смеси разной концентрации были проведены исследования по определению выхода экстрактивных веществ из листьев ШМ, произрастающего в Таджикистане. Водно-этанольную смесь использовали в концентрации 30%, 40%, 50%, 60%, и 70%. Определение содержания экстрактивных веществ в сырье проводили по методике ГФ XIV. Результаты зависимости количества извлеченных экстрактивных веществ от концентрации водно-этанольной смеси приведены на рисунке 3.1.

Как видно из рисунка 3.1, максимальный выход экстрактивных веществ из листьев ШМ, произрастающего в Таджикистане, в количестве 32,6% наблюдается при использовании в качестве экстрагента 50%-ю водно-этанольную смесь. Полученные данные коррелируют с литературными данными авторов [138], в этих работах представлено изучение влияния концентрации этанольного раствора на извлечение карнозиновой кислоты, которая наиболее широко представлена во всех видовых представителях рода шалфея. Нгуен и др. изучали экстракцию карнозиновой кислоты из шалфея лекарственного и сделали вывод, что предпочтительна водно-спиртовая смесь, содержащая 40–60% этанола, которая дает не менее 75% извлечения доступной карнозиновой

кислоты. Экстракция карнозиновой кислоты была неэффективной при концентрации этанола менее 40%.

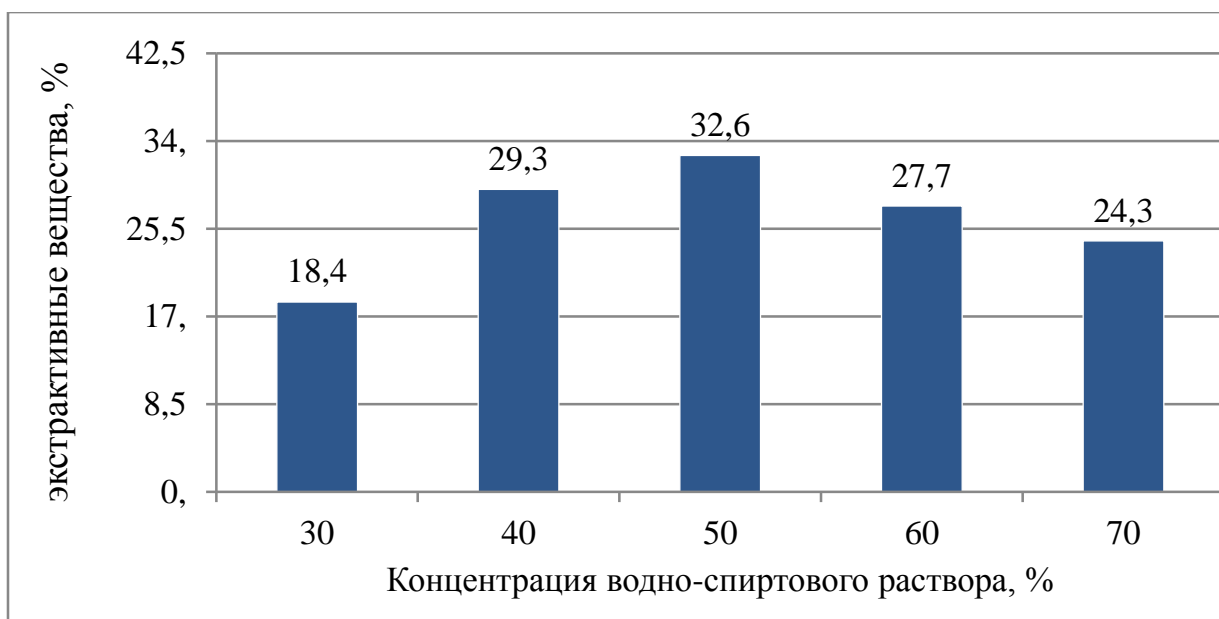


Рисунок 3.1. - Выход экстрактивных веществ в зависимости от концентрации водно-этанольного раствора

Также были проведены исследования извлекающей способности воды очищенной как экстрагента БАВ. Результаты определения выхода экстрактивных веществ в результате экстрагирования водой очищенной так же представлены на рисунке 3.1.

Как видно, вода очищенная обеспечивает достаточно высокий уровень извлечения суммарных экстрактивных веществ, но не превышающий результатов экстракции 50% водно-этанольным раствором.

В разработке технологии экстракции при получении жидких экстрактов не менее важно определить количество экстрагента необходимое для полного истощения сырья. Согласно определению, жидкие экстракты – это жидкие концентрированные водно-этанольные извлечения из ЛРС, получаемые в соотношении 1 : 1. Поскольку жидкие экстракты являются концентрированными извлечениями, то для максимального извлечения БАВ используется заведомо избыточное количество экстрагента, которое затем необходимо упаривать до соотношения 1 : 1. С целью определения числа n – количества объемов экстрагента, необходимое для полного истощения сырья и которое учитывается

в формуле для расчета количества экстрагента для процесса экстракции были проведены исследования динамики процесса экстракции. Используемая методика исследования динамики экстрагирования растительного сырья приведена в разделе 2, метод экстракции – перколяция.

При изучении динамики процесса экстракции методом классической перколяции были рассчитаны такие критерии характеризующие процесс экстракции, как: содержание сухого остатка в отдельно собранных объемах жидкого извлечения (отпусках) и в суммарных извлечениях, собранных на каждой следующей ступени экстракции (C_n , %), содержание экстрактивных веществ в суммарных извлечениях (D_n ,%) на каждой ступени экстракции. Результаты исследования динамики процесса экстракции представлены на рисунке 3.2 и рисунке 3.3.

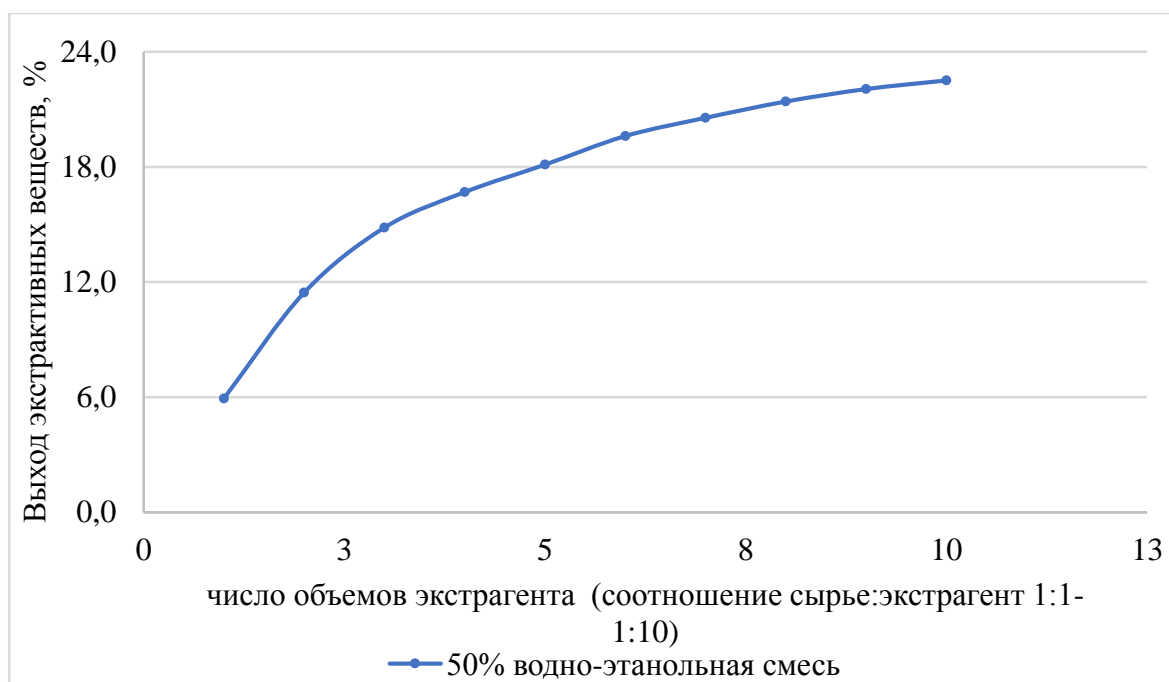


Рисунок 3.2. - Динамика выхода экстрактивных веществ в жидких извлечениях (отпусках)

В эксперименте использовали измельченные листья ШМ размером 1-3,5 мм. Скорость перколяции составляла 1 капля – 1 сек. В процессе перколяции осуществляли последовательный сбор извлечений (отпусков) в количестве 100 мл, равном массе сырья (100 г), т. е. в соотношении 1:1 (массо-объемное соотношение).

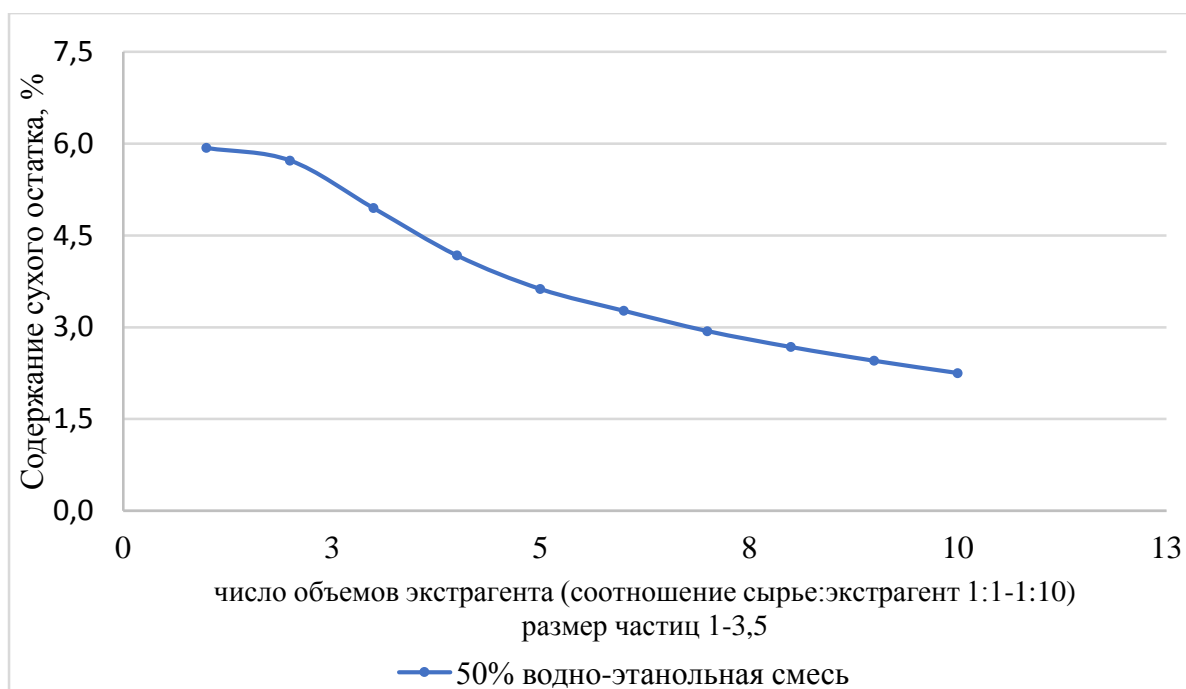


Рисунок 3.3. - Динамика уменьшения сухого остатка в жидких извлечениях (отпусках)

Исходя из данных представленных на рисунке 3.2 и рисунке 3.3 видно, что при соотношении сырье : экстрагент от 1:1 до 1:6 на каждой ступени экстракции происходит существенное увеличение количества выхода экстрактивных веществ. Последующее увеличение числа объемов экстрагента выше 6 в незначительной степени увеличивает выход биологически активных веществ.

Таким образом, рационально использовать соотношение сырье : экстрагент как 1:6 при перколяции, т. е. число объемов экстрагента, необходимое для истощения сырья равно 6.

Не менее важным технологическим фактором, который существенно влияет на эффективность экстракции, является размер частиц растительного сырья. При измельчении сырье приобретает определенные характеристики, такие как, размер частиц, поверхность частиц, количество разрушенных клеток. Сырье, клеточная структура которого разрушена больше, экстрагируется быстрее вследствие его большей поверхности и увеличения процесса вымывания веществ из разрушенных клеток [77, 147].

Для изучения влияния размера частиц сырья листьев ШМ на выход БАВ измельченное сырье просеивали сквозь распределительные решетки с

определенным размером отверстий, фракции измельченного растительного сырья собирали до получения пробы массой 50 г.

Жидкие экстракты из фракционированного сырья листьев ШМ, произрастающего в Таджикистане, получали методом реперколяции (в батарее перколяторов состоящей из 3-х диффузоров), как экстрагент использовали 50% водно-этанольную смесь. Результаты изучения влияния степени измельчения листьев шалфея мускатного на выход флавоноидов и экстрактивных веществ приведены в таблице 3.2.

Таблица 3.2. - Количество извлекаемых БАВ в зависимости от степени измельчения листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Размер частиц сырья, мм	Содержание экстрактивных веществ, %	Содержание флавоноидов, %
1,0-2,5	32,37 ± 0,05	0,21 ± 0,01
2,5-5	26,37 ± 0,05	0,24 ± 0,02
5-7,5	25,04 ± 0,02	0,22 ± 0,02
7,5-10,0	21,02 ± 0,03	0,19 ± 0,04
10,0-15,0	19,08 ± 0,05	0,18 ± 0,01
p	<0,05	<0,05

Примечание: p – статистическая значимость различия показателей (по H-критерию Крускала-Уоллиса)

Количественное определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин в жидких экстрактах листьев шалфея мускатного, проводили по методике, описанной в разделе 2.

Как видно из данных в таблице 3.2, степень измельчения листьев ШМ, оказывает влияние на высвобождение БАВ из сырья. С фракции ЛРС размером 1,0-2,5 мм экстрагируется 32,37% экстрактивных веществ и 0,21 % флавоноидов, что несколько ниже фракции 2,5-5 мм, где экстрагируется 0,24% веществ.

Высокое содержание экстрактивных веществ в фракции сырья 1,0-2,5 мм может наблюдаться в следствии экстракции балластных веществ, которые при

низкой степени измельчения вымываются из растительной клетки. Высокая степень извлечения сопутствующих веществ на стадии экстракции может усложнить процесс очистки жидкого экстракта. Исходя из полученных данных, рационально использовать фракцию сырья 1,0-5,0 мм для процесса экстракции.

Следующий этап исследований был направлен на обоснование оптимального метода экстракции БАВ из листьев ШМ, произрастающего в Таджикистане. Для исследований были выбраны самые распространенные классические методы экстрагирования: мацерация с принудительной циркуляцией экстрагента, перколяция и реперколяция. Данные методы широко используются в фармацевтической промышленности, что позволит внедрить разрабатываемую технологию экстракции листьев ШМ без дополнительных материальных затрат, связанных с оснащением производства.

Кроме метода экстракции, переменным фактором так же была используемая концентрация водно-этанольного раствора. Для получения жидких экстрактов использовали 6 объемов экстрагента, т.е. в соотношении сырье:экстрагент 1:6. Полученные жидкие извлечения затем упаривали до соотношения 1:1, таким образом из 100 г сырья получали 100 мл жидкого экстракта. Экстрагирование методом мацерации проводили в течение 18 ч, с циркуляцией экстрагента через каждые 3 ч в течение 10-15 мин. При использовании методов перколяции и реперколяции время настаивания на каждой стадии экстракции составляло 24 ч. Реперколяцию с законченным циклом проводили в батарее из 3-х перколяторов. В эксперименте использовали фракцию измельченных листьев шалфея мускатного размером 1,0-5,0 мм. Полученные вытяжки сливали, отстаивали при температуре 8-10°C в течении суток, фильтровали методом декантации и определяли содержание флавоноидов в пересчете на кверцетин. Результаты исследований приведены в таблице 3.3.

Как видно из данных таблицы 3.3, метод экстрагирования и концентрация водно-этанольного раствора существенно влияют на экстракцию БАВ из листьев ШМ.

Таблица 3.3. - Количество извлекаемых БАВ в зависимости от метода экстракции листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Метод экстракции	Экстрагент	Содержание экстрактивных веществ, %	Содержание флавоноидов, %
Мацерация с принудительной циркуляцией	Вода	21,3 ± 0,03	0,08 ± 0,002
	Этанол 30%	16,7 ± 0,05	0,11 ± 0,010
	Этанол 50%	26,05 ± 0,015	0,19 ± 0,050
	Этанол 70%	17,9 ± 0,004	0,07 ± 0,012
Перколяция	Вода	28,9 ± 0,05*	0,09 ± 0,031*
	Этанол 30%	18,01 ± 0,007	0,12 ± 0,020*
	Этанол 50%	30,6 ± 0,02	0,21 ± 0,010*
	Этанол 70%	22,01 ± 0,03*	0,18 ± 0,030*
Реперколяция	Вода	29,09 ± 0,05*	0,10 ± 0,002*.#
	Этанол 30%	18,4 ± 0,06	0,15 ± 0,040*.#
	Этанол 50%	32,6 ± 0,04*.#	0,23 ± 0,020*.#
	Этанол 70%	24,31 ± 0,04*	0,20 ± 0,03*.#

Примечание: * $p < 0,05$ – статистическая значимость различия показателей при сравнении с таковыми при методе Мацерация с принудительной циркуляцией; # $p < 0,05$ при сравнении с таковыми показателями при перколяции (по U-критерию Манна-Уитни)

Независимо от метода экстракции максимальное извлечение флавоноидов обеспечивает использование 50% водно-этанольного раствора, что коррелируется из количеством извлеченных суммарных экстрактивных веществ из сырья. Модифицированный метод мацерации уступает по эффективности экстракции методам перколяции и реперколяции. Метод реперколяции с делением сырья на равные части в батарее из 3-х перколяторов является наиболее эффективным, обеспечивая максимальное извлечение БАВ, что обуславливается поддержанием высокой разности концентрации БАВ в сырье и экстрагенте как основной движущей силы процесса экстракции [77,143,147].

На основании полученных данных была разработана технологическая схема получения жидкого экстракта листьев ШМ, произрастающего в Таджикистане, приведенная на рисунке 3.4.

Исходное сырье, материалы	Изготовление ЖЭЛШМ	Контроль в процессе производства
Листья шалфея мускатного	Стадия 1 Подготовка сырья Траворезка, сито, весы	Соответствие МКК, масса, степень измельчения сырья 1,0-5,0 мм
Вода очищенная, этанол 96%	Стадия 2 Подготовка экстрагента Мерник	Концентрация водно-этанольного раствора 50%
Сырье шалфея мускатного со стадии 1	Стадия 3 Экстракция Батарея перколяторов (3 шт)	Масса сырья, объем, концентрация экстрагента, время настаивания, скорость перколяции
	Стадия 4 Очистка Сборник, друк-фильтр	Время отстаивания, температура, давление
	Стадия 5 Сгущение жидкого извлечения Роторно-вакуумный испаритель	Объем жидкого извлечения, температура, вакуум
	Стадия 6 Объединение отпусков и получение жидкого экстракта 1:1 Сборник, мерник	Объем, контроль качества согласно МКК
Флаконы (тара in balk), крышки, этикетки	Стадия 7 Фасовка in balk или во флаконы Фасовочный автомат	Объем наполнения, правильность маркировки
Коробки гофрокартон, этикетки	Стадия 8 Укладка в групповую тару	Комплектность, правильность маркировки
	Карантинный склад	Контроль качества согласно МКК
	Склад готовой продукции	

Рисунок 3.4. - Технологическая схема получения ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане

Таким образом, проведено изучение физико-химических и технологических свойств измельченных листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане. Комплексно изучено влияние условий экстракции на степень извлечения биологически активных веществ. Установлено, что использование 50% водно-этанольной смеси обеспечивает максимальное извлечение флавоноидов не зависимо от используемого метода экстракции. Реперколяция с делением сырья на равные части является наиболее эффективным методом экстракции среди исследуемых [63,65].

3.2. Исследование свойств бентонитовой глины и стандартизация

Изучение месторождений бентонитовых глин и организация промышленной переработки для потребности разных отраслей является одним из приоритетных направлений научно-исследовательских работ Республики Таджикистан. На территории Таджикистана находится более 30 месторождений глинистых минералов, качество которых по технологическим параметрам в несколько раз превосходит зарубежные аналоги [1, 5, 34, 88, 89]. К числу таких месторождений относятся: Богджидинское, Султанабадское, Топкокское, Туюнтауское, Ходжаказианское, Даштимиронское, Шаршарское, Каратагское, Даштибедское, Даганинское и др.

Сфера практического применения бентонитовых глин целиком зависит от состава и технологических свойств, которые отражают качество сырья и пригодность для той или иной отрасли народного хозяйства. Излучением возможности применения минеральных глин таджикостанского месторождения занимались ученые Халифаев Д.Р., Исупов С.Д., Мусозода С.М., Кариев А.Р., Холназаров Б.М. в работах которых представлена разработка лекарственных препаратов на основе бентонитов и лекарственного растительного сырья, произрастающего в Таджикистане [88, 89]. Учеными было экспериментально установлено, что бентонит Султанабадского месторождения имеет высокое качество данного минерала для целей фармацевтического производства благодаря высоким значениям степени набухания и ёмкости катионного обмена.

(что является следствием содержания в нём катионов натрия) [88].

3.2.1. Разработка технологии очистки и механической обработки бентонитовой глины

Бентонитовые глины рассматриваются учеными со стороны их адсорбционных свойств и использования как энтеросорбентов при интоксикациях организма, так и со стороны их гелеобразующей способности и использования их в качестве вспомогательных веществ при создании лекарственных форм. При терапии раневого процесса бентонитовые глины выступают не только как носители активных веществ, но и как среда, способная очищать рану от раневого экссудата. Прежде чем приступить к разработке мягкой лекарственной формы с содержанием ЖЭЛШМ, предназначенной для лечения раневого процесса на основе бентонитовой глины, первоочередным является разработка методики очистки и активации минеральной руды. В публикациях уделяется большое внимание вопросу активации бентонита путем отмучивания и/или обработки неорганическими кислотами или солями [1, 55, 60, 70].

В работе использовали очистку и активацию бентонита методом отмучивания с последующей механической обработкой [70]. Предварительно очищенное от механических примесей и измельченное минеральное сырье бентонитовой глины загружается в емкость для приготовления суспензии путем смешивания ее с очищенной водой в соотношении 1:10, содержимое перемешивается в течение часа с последующим отстаиванием в течение 24 час. За время отстаивания глина набухает и вода равномерно распределяется в массе глины. По истечении суток масса перемешивается в течение 10 минут. Для осаждения неглинистых твердых веществ смесь отстаивается в течение 1 часа. Средний коллоидной слой суспензии глины после ее отстаивания декантируется сифонированием, для чего погружается трубка в суспензию не глубже 1 см и отбирается таким образом тонкая фракция. К осадку добавляется еще вода, после перемешивания повторяется декантирование. Декантирование проводится до

просветления воды над осадком, контроль освобождения от песчаных примесей определяли растиранием между двумя покровными стеклами. Далее сырье подается на центрифугу (3000 об/мин, 5 минут), после чего твердая фаза чистой глины подвергается сушке в сушильном шкафу в режиме 120°C. Процесс отмучивания проводили три раза.

После проведения обогащения глины методом трехкратной очистки и высушивания была проведена механическая обработка бентонита на шаровой лабораторной мельнице. Конечными критериями контроля качества измельчения были размер частиц бентонита и адсорбционная активность. Скорость вращения шаровой мельницы была постоянной и составляла 150 об/мин, переменным фактором было время измельчения. Степень измельчения определяли с помощью вибрационного грохота Analysette 3 PRO (Fritsch, Германия), результаты представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4. - Фракционный состав бентонита в зависимости от длительности механической обработки

Время измельчения, мин	Фракция, мкм					
	< 20	20-32	32-40	40-50	50-63	> 60
15	0,53 %	24,35 %	51,21 %	18,31 %	4,05 %	1,55 %
30	15,47 %	73,56 %	5,03 %	2,81 %	2,71 %	0,42 %
45	77,59 %	19,05 %	2,54 %	0,57 %	0,25 %	-
60	79,32 %	19,29 %	1,23 %	0,11 %	0,05 %	-

Одной из важных природных особенностей минеральных глин является их дисперсность. Дисперсность имеет большое значение для глинистых материалов с адсорбционными свойствами, так как при увеличении степени измельчения происходит повышение удельной поверхности и соответственно адсорбционной активности. Однако при очень тонком измельчении может изменяться форма частиц твердого тела в виде накопления дефектов на поверхности, что может приводит к изменению реакционной способности глинистых частиц природного алюмосиликата [11, 66, 74].

Из данных табл. 3.4 видно, что механическая обработка в шаровой мельнице уже через 15 минут обеспечивает 51,21% фракции размером 32-40 мкм. Через 30 мин достигается измельчение до 20-32 мкм в количестве 73,56%, через 45 минут фракция размера меньше 20 мкм составляет 77,59 %. Дальнейшая механическая обработка до 60 мин приводит к увеличению мелкой фракции на 2,18%. При измельчении свыше 60 мин наблюдается агрегирование частиц бентонита, что может косвенно служить о изменении формы частиц в сторону пластинчатой формы с шероховатой поверхностью. Таким образом, механическая обработка бентонита с помощью шаровой мельницы обеспечивает тонкую и однородную степень измельчения за 45 минут.

Адсорбционная активность (сорбционная емкость) является основной количественной характеристикой функциональной активности сорбентов, в частности глинистых материалов и определяется количеством вещества (реагента, красителя), которое может поглотить сорбент на единицу своей массы. Из анализа литературы, установлено, что практически все методы изучения адсорбционной активности основаны на адсорбции реагента (красителя) единицей массы препарата до полного насыщения при взаимодействии в течение определенного времени с последующим определением избытка не адсорбированного реагента спектрофотометрически [53, 74].

Адсорбционные свойства медицинских сорбентов имеют разную поверхность с разнообразной структурой и величиной пор в зависимости от природы сырья, из которого изготавливаются [1, 8, 49]. Поры диаметром меньше 0,4 нм называют субмикropорами, размером 0,4-2 нм – микropорами, 2-50 нм – мезопорами, диаметром более 50 нм – макropорами. Макropоры выполняют роль каналов для проникновения веществ внутрь сорбента. Мезопоры значительно меньше макropор, радиус их кривизны от 2 до 50 нм, что значительно больше, чем размеры адсорбируемых молекул. Микropоры особенно хорошо адсорбируют молекулы небольшого размера, а мезопоры более крупные органические молекулы. Согласно источникам литературы, бентонит, состоящий из 80% монтмориллонита представляет собой комбинированный

мезо-макро-микропористый адсорбент с преобладанием мезопор [53, 70, 108, 109].

Адсорбционную активность проводили по методике ОФС.1.2.3.0021.15 - Адсорбционная активности энтеросорбентов. В качестве маркера, позволяющего определять эффективность действия сорбентов в отношении среднемолекулярных веществ, использовали краситель метиленовый синий. Так как сорбционная активность является взаимосвязанной с удельной поверхностью частиц, то исследованию подвергали все полученные фракции бентонита. Результаты представлены на рисунке 3.5.

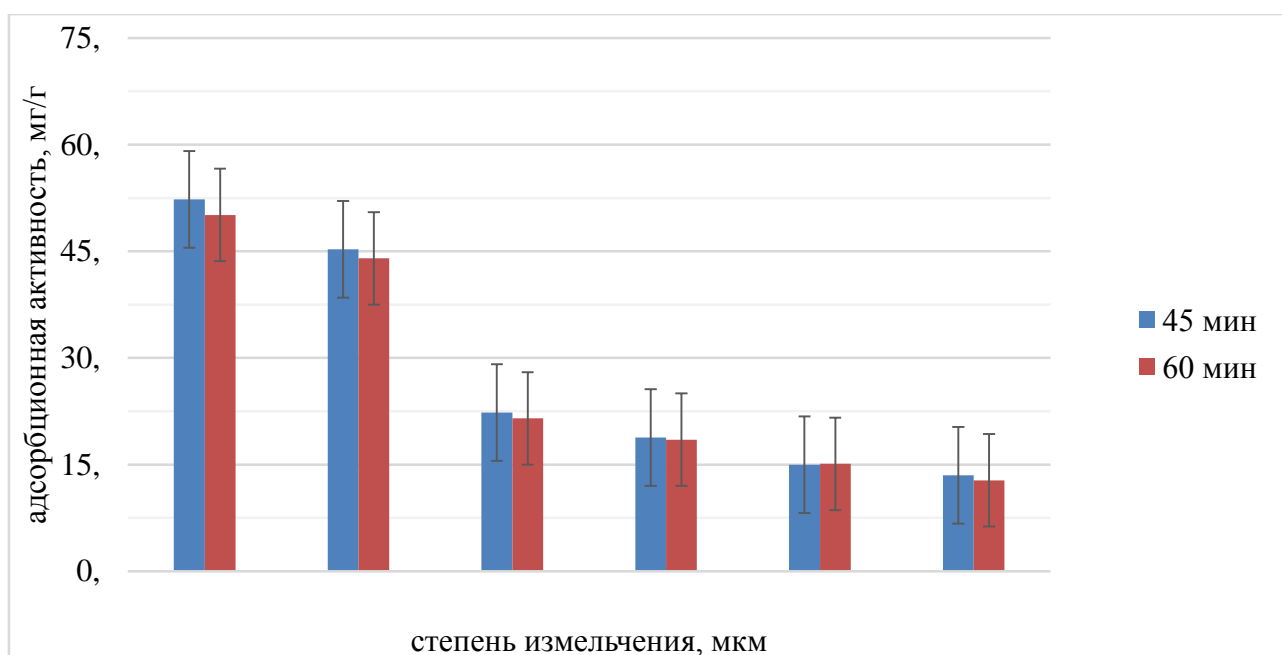


Рисунок 3.5. - Динамика изменения адсорбционной активности

Как следует из диаграммы, адсорбционная активность фракций разного размера не имеет значимых отличий от времени механической обработки и находится на одном уровне для фракций, полученных при 45 и 60 минут обработки. На наш взгляд, наиболее оптимальное время механической обработки – 45 минут.

Глинистые минералы обладают способностью сорбировать некоторые анионы и катионы и удерживать их в обменном состоянии, т.е., они могут быть заменены на другие катионы и анионы при погружении глинистых минералов в водный раствор, содержащий такие ионы (обменные реакции могут иногда

протекать и не в водной среде). Обменные катионы представляют собой в основном ионы натрия и кальция, а их соотношение зависит от источника бентонитов. В научных работах авторов [28, 52, 53] экспериментально доказано, что обменные катионы бентонита месторождения Султанабад исключительно состоят из ионов натрия, в то время как для монтмориллонита из месторождения Даштибед, в основном, состоят из ионов кальция. Для характеристики ионообменной (катионообменной) способности бентонитов мы определили их общую обменную ёмкость, т.е. сумму всех обменных катионов (рисунке 3.6).

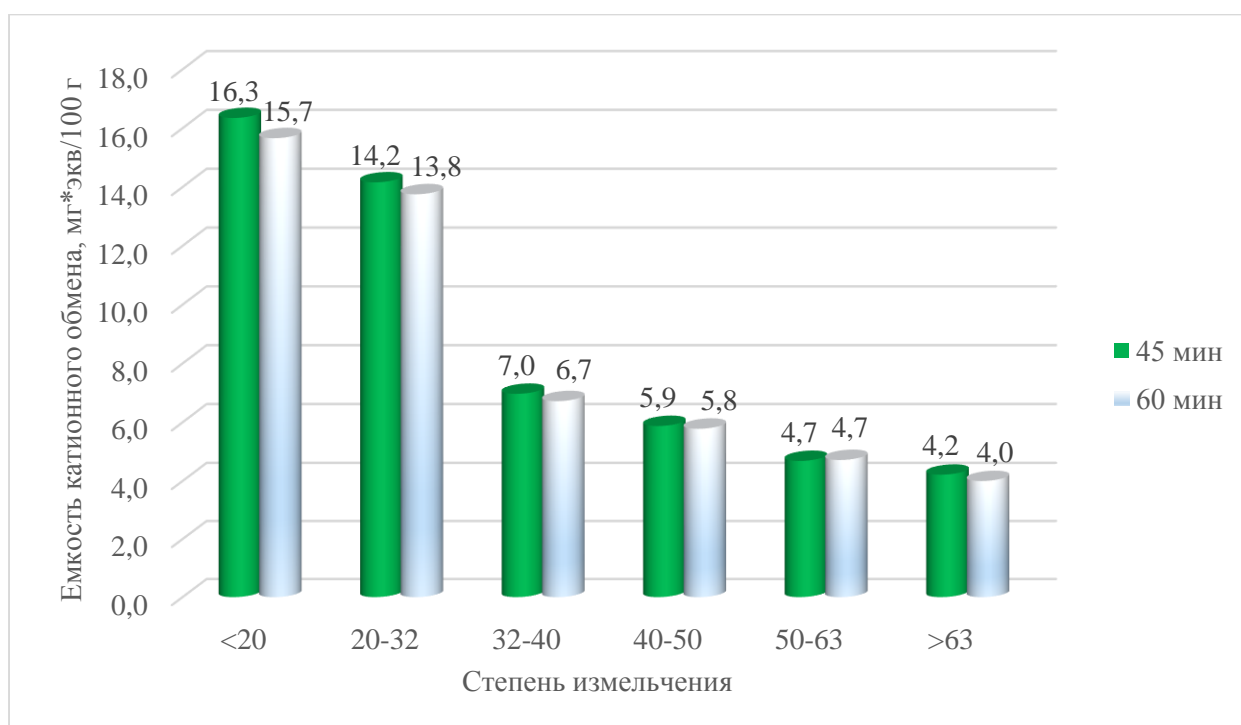


Рисунок 3.6. - Динамика изменения емкости катионного обмена

Ёмкость катионного обмена находится в прямой взаимосвязи с адсорбционной активностью минеральных сорбентов. Полученные результаты изучения катионной ёмкости бентонита коррелируют с данными литературы [7, 49, 53].

3.2.2. Изучение физико-химических и технологических свойств бентонитовой глины и стандартизация

Минеральные глины нашли широкое применение в составе в фармацевтических и косметических средствах, а возможности современных

технологий вывели на новый уровень их изучение. Допуском к использованию минеральных глин в составе фармацевтических препаратов является соответствие фармакопейным статьям. Бентонит описан в фармакопеях Японии (JP XV), Европейской Фармакопеи (PhEur 6.4) и монографии США (USP32–NF27). Таким образом изучение физико-химических и технологических свойств бентонитовой глины осуществлялось в пределах показателей на соответствие фармакопейной статье PhEur 6.4.: описание, идентификация, микробиологическая чистота, рН, потеря в массе при высушивании, объем осадка (объем седиментации), способность к набуханию, дисперсность порошка, крупные частички.

3.2.2.1. Разработка методики идентификации бентонитовой глины

Минеральные глины могут представлять собой породы, состоящие из минералов, это могут быть гидрослюда, каолинитовая глина, биотит, нонтронит, санонит, палыгорскит, сениолит и др. Бентонит фармакопейного качества должен содержать не менее 80% монтмориллонита, его идентификация позволяет отличить бентонитовую руду от других.

Изучение минералогического состава глины проводили при помощи метода окрашивания Викуловой М.Ф. и Логвиненко Н.В. [11, 28, 31]. Метод основан на взаимодействии катионного красителя метиленового синего с отрицательно заряженной поверхностью глинистых минералов. Результаты изучения минералогического состава представлены в таблице 3.5. Методика - в разделе 2.

Сорбция метиленового синего происходит благодаря изоморфному замещению атомов с низшей валентностью в тетраэдрических слоях структуры кристаллической решетки глинистых минералов. Количество активных адсорбируемых центров зависит от особенностей строения кристаллической решетки глинистых минералов.

Связь метиленового синего с активным адсорбируемым центром происходит через его аминогруппу или центральный атом азота [31, 52, 53].

Указанные процессы сопровождаются изменением цвета используемого реактива. Дополнительно использовали реакцию с хризоидином, описанным в литературе.

Таблица 3.5. - Идентификация монтмориллонита в составе бентонитовой глины

Тип глины	Отношение к воде	Метиленовый синий 0,01%-ный р-р (стандартное окрашивание)	Метиленовый синий 0,01%-ный р-р (контрольное окрашивание, цвет в высушенной капле)	Метиленовый синий 0,01%-ный р-р с добавлением насыщенного р-ра КСl	Хризоидин 0,01%-ный р-р	Бензоидин, 0,01%-ный р-р
<i>результат</i>						
Каолинит	Малопластичная масса, не набухает	фиолетовый	Фиолетовый, но более светлый или приобретает голубовато-фиолетовый тон	фиолетовый	Желтый	-
	<i>отрицательный</i>	<i>положительный</i>	<i>отрицательный</i>	<i>отрицательный</i>	<i>отрицательный</i>	-
Гидрослюда	Малопластичная масса, не набухает	Фиолетово-синий, синий	После высыхания гидрослюда имеет или прежний цвет, но более светлый или приобретает голубовато-фиолетовые окраски	Фиолетово-синий, синий	Интенсивный желтый	-
	<i>отрицательный</i>	<i>положительный</i>	<i>отрицательный</i>	<i>отрицательный</i>	<i>отрицательный</i>	-
Монтмориллонит	Высокопластичная масса, сильно набухает	Фиолетовое, фиолетово-синее	Зеленый или голубовато-зеленый	Голубой или голубовато-зеленый	Кирпично-красны, желто-красный	Интенсивно-синий
	<i>положительный</i>	<i>положительный</i>	<i>положительный</i>	<i>положительный</i>	<i>положительный</i>	<i>положительный</i>

В результате применения метода окрашивания установлено, что нативная глина состоит из минералов монтмориллонита. Результаты нашего эксперимента совпадают с результатами, полученными данными ученых, исследовавших бентонитовую глину Султанабадского месторождения [88, 89].

3.2.2.2. Определение физико-химических свойств бентонитовой глины

Благодаря своей специфической слоистой структуре, при которой связи между слоями слабые, бентонитовая глина обладают высокой степенью набухания и диспергирования в водных растворах. Обменные катионы влияют на процессы структурообразования водных дисперсий бентонита. Если монтмориллонит набухает и в межплоскостное пространство внедряются молекулы полярных веществ, то расстояние между пакетами расширяется [48, 69]. Поэтому были изучены их набухаемость и гелеобразование, которые служат не только для характеристики свойств бентонита, но также являются показателями качества лекарств на их основе. Результаты приведены в таблице 3.6.

Таблица 3.6. - Гелеобразующая способность и степень набухания бентонита

Фракция бентонита, мкм	Гелеобразующая способность (3 г / 100 мл), мл	Степень набухания (2 г / 100 мл), мл
< 20	30,20 ± 0,05	99,80 ± 0,05
20-32	29,81 ± 0,05	99,51 ± 0,05
32-40	29,15 ± 0,05	99,52 ± 0,05
40-50	28,52 ± 0,05	99,34 ± 0,05
50-63	28,63 ± 0,05	99,23 ± 0,05
> 60	27,10 ± 0,05	98,54 ± 0,05

Как видно из данных таблице 3.6, гелеобразующая способность возрастает с уменьшением дисперсности частичек порошка. В то время как степень набухания не имеет существенных различий от степени дисперсности бентонитовой глины. Это объясняется использованием разных методик для

определения этих критериев.

Фармакопейным показателем качества бентонита является рН водной дисперсии (2 г/50 мл), который измеряется после 2-минутного непрерывного перемешивания. Результаты представлены в таблице 3.7.

Таблице 3.7. - Фармакопейные показатели качества бентонитовой глины

Наименование	Требования PhEur 6.4	Показатель
описание		Порошок светло-серого цвета, без запаха, практически не растворим в воде и в органических растворителях
идентификация	+	+
микробиологическая чистота	$\leq 10^3$ КОЕ/г	Общее число аэробных бактерий - 50 КОЕ/г, общее число дрожжей и грибов меньше - 10 КОЕ/г.
рН (2% суспензия)	9.0–10.5	$7,5 \pm 0,05$
потеря в массе при высушивании	$\leq 15\%$	$8,1 \pm 0,05$
объем осадка (объем седиментации)	≤ 2 мл	0,2-0,5 мл
способность к набуханию	≥ 22 мл	29,8-30,2 мл
тонкость порошка (измельченность)	+	<32 мкм (фракция)
крупные частички	$\leq 0.5\%$	< 0,5%

В таблице 3.7 представлены показатели качества бентонитовой глины Султанабадского месторождения в соответствии с PhEur 6.4.

3.2.2.3. Изучение технологических свойств бентонитовой глины

При разработке технологии промышленного производства мягкой лекарственной формы для сыпучих материалов важны показатели насыпной плотности, сыпучести и угла естественного уклона порошка. Методики определения фармако-технологических свойств порошка описаны в разделе 2, результаты представлены в таблице 3.8.

Таблица 3.8. - Технологические характеристики бентонитовой глины

Наименование	Показатель
Основная фракция	Менее 0,1 мм – 95 %
Макс. насыпная плотность, г/мл	0,820±0,050
Сыпучесть, г/с	3,50±0,05
Угол естеств. откоса, °	36-45
Адсорбционная активность, мг/г	62,0±0,2
Емкость катионного обмена, мг×экв	19,4

Эти значения учитываются при расчете и подборе технологического оборудования, расчете объема серии, производимого на определенной единице оборудования.

3.2.3. Описание технологии подготовки бентонитовой глины к использованию в фармацевтической технологии

На основании результатов экспериментальных исследований сырья бентонитовой глины Султанабадского месторождения была составлена технологическая схема получения бентонита фармакопейного качества, представленная на рисунке 3.7.

Технологическая схема отражает последовательность выполнения операций, необходимого оборудования и контролируемые показатели на каждой

стадии, что обеспечивает качество получаемого продукта.

<i>Исходное сырье, материалы</i>	<i>Изготовление бентонита фармацевтического качества</i>	<i>Контроль в процессе производства</i>
Сырье бентонитовой глины, вода очищенная	Стадия 1 Подготовка сырья Весы, мерник	Входной контроль, Соотношение бентонит : вода (1:10)
Вода очищенная	Стадия 2 Отмучивание Реактор	Время, прозрачность надосадочной жидкости
	Стадия 3 Центрифугирование Центрифуга	Скорость, время
	Стадия 4 Сушка Полочный сушильный шкаф	Температура, время, влажность
	Стадия 5 Механическая обработка Шаровая мельница	Скорость, время, размер частиц порошка
	Стадия 6 Просеивание Вибрационное сито	Время, масса, размер частиц
Тара in balk, этикетки	Стадия 7 Фасовка, упаковка, маркировка	Масса, правильность маркировки, комплектность
	Карантинный склад	Контроль качества согласно МКК

Рисунок 3.7. - Технологическая схема промышленного производства бентонита фармакопейного качества

3.3. Разработка мази с содержанием жидкого экстракта листьев шалфея мускатного

Основывались на литературным данным и принимая во внимание результаты научных исследований кафедры фармацевтической технологии и фармакологии Таджикского национального университета, нами были проведена исследований на установлено пригодности бентонитовых глин Таджикистана в качестве носителя жидкого экстракта листьев шалфея мускатного в форме мази.

Бентонитовые глины, независимо от места происхождения, характеризуются высокой водопоглощаемостью или влагоёмкостью по сравнению с другими типами глин. Это объясняется структурой монтмориллонита, из которого на 80% и более состоят бентонитовые глины. Характерная особенность монтмориллонитовой структуры заключается в том, что молекулы воды и других полярных жидкостей, такие как некоторые органические молекулы, могут входить в межслоевые пространства, вызывая набухание решётки. Между силикатными слоями находятся обменные катионы и межплоскостные расстояния полностью дегидратированного монтмориллонита в некоторой степени зависят от размеров межслоевых катионов. Экспериментально установлено учеными Таджикистана, что обменные катионы бентонита месторождения Султанабад исключительно состоят из ионов натрия [88, 89].

Значительная набухающая способность бентонитовой глины используется как натуральная минеральная основа при разработке мягких лекарственных средств или как модификатор реологии в комбинации с другими структурообразующими веществами [73, 82, 83]. Введение бентонитовой глины в небольших количествах к эмульсионным основам позволяет снизить концентрацию поверхностно-активных веществ, а введение к жидким суспензиям позволяет достичь физической стабильности [25].

С целью равномерного распределения бентонита в объеме дисперсной системы, целесообразно вводить его предварительно приготовив суспензию-концентрат. Для определения дисперсионной среды готовили суспензии

бентонита в глицерине, макрогол 400 и пропиленгликоле, приготовленных в соотношении 1:1. Результаты микроскопических исследований представлены на рисунке 3.8.

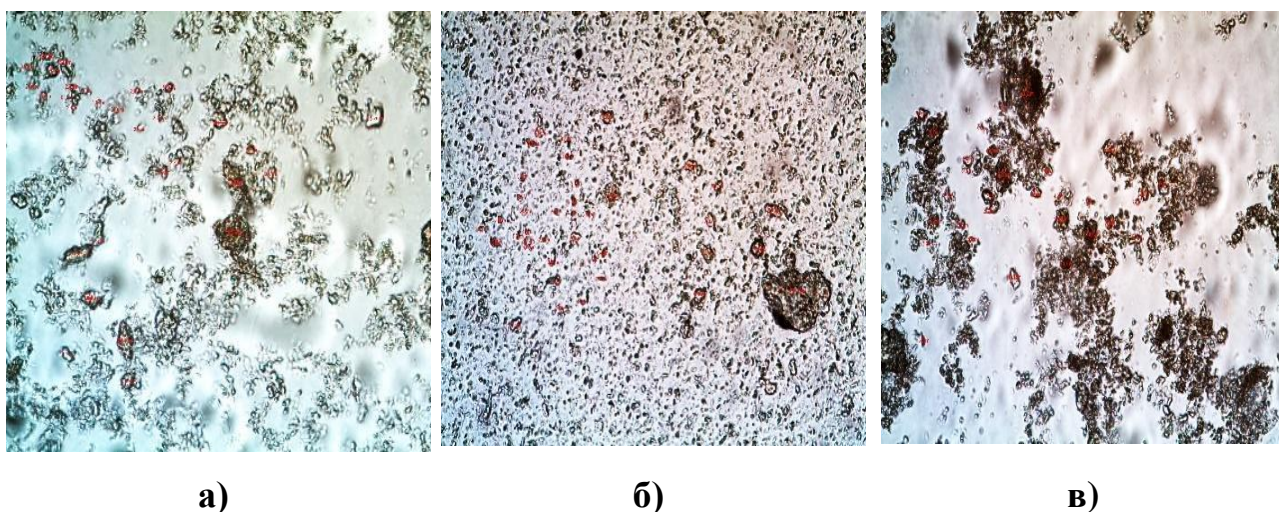


Рисунок 3.8. - Микрофотографии суспензий бентонита. а) в макрогол 400; б) в глицерине; в) в пропиленгликоле

Как видно на рисунке 3.8, бентонит набухает в предложенных растворителях в разной степени. Равномерное распределение частиц бентонита по всему объему дисперсионной среды наблюдается в глицерине. Частички имеют практически одинаковый размер, но при этом встречаются одинокие крупные агломераты. В макрогол 400 и пропиленгликоле наблюдаются скопления частичек бентонита, что может быть следствием низкой набухающей способности в предложенных растворителях и меньшей по сравнению с глицерином (1,49 Па·с) вязкостью самих растворителей макрогол 400 (0,12 Па·с) и пропиленгликоля (0,054 Па·с) [25, 126].

Таким образом, с целью разработки мази на основе бентонитовой глины с содержанием ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане, были приготовлены суспензии бентонитовой глины, состав которых приведен в таблице 3.9.

Мягкие лекарственные формы должны иметь определенные структурно-механические характеристики определяющие их адгезивные свойства на поверхности нанесения, намазываемость и т.д.

Таблица 3.9. - Состав суспензий бентонита

Компонент	Состав, %			
	№1	№2	№3	№4
Бентонитовая глина	10,0	15,0	20,0	25,0
Глицерин	25,0	25,0	25,0	23,0
Вода очищенная	65,0	60,0	55,0	52,0

Структурно-механические параметры исследуемых суспензионных гелей проводили с помощью реовискозиметра Rheolab QC (Anton Paar, Германия) с использованием системы коаксиальных цилиндров C-CC27/SS. Реометр Rheolab QC оснащен программным обеспечением RheoPlus, позволяющим устанавливать необходимые условия эксперимента (диапазон градиента скорости смещения, количество точек измерения и продолжительность измерения одной точки). Результаты представлены на рисунках 3.9 и 3.10.

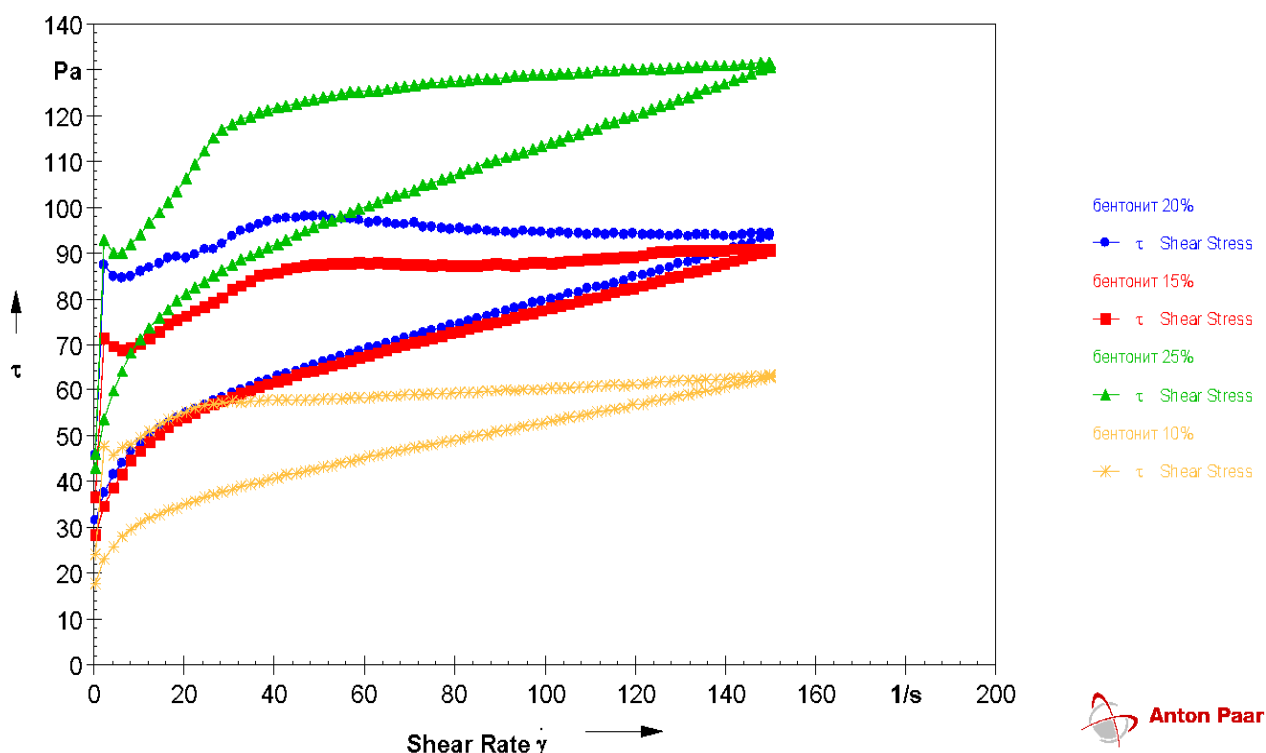


Рисунок 3.9. - Зависимость напряжения сдвига (τ , Па) от градиента скорости сдвига ($\dot{\gamma}$, s⁻¹) суспензионных гелей бентонита

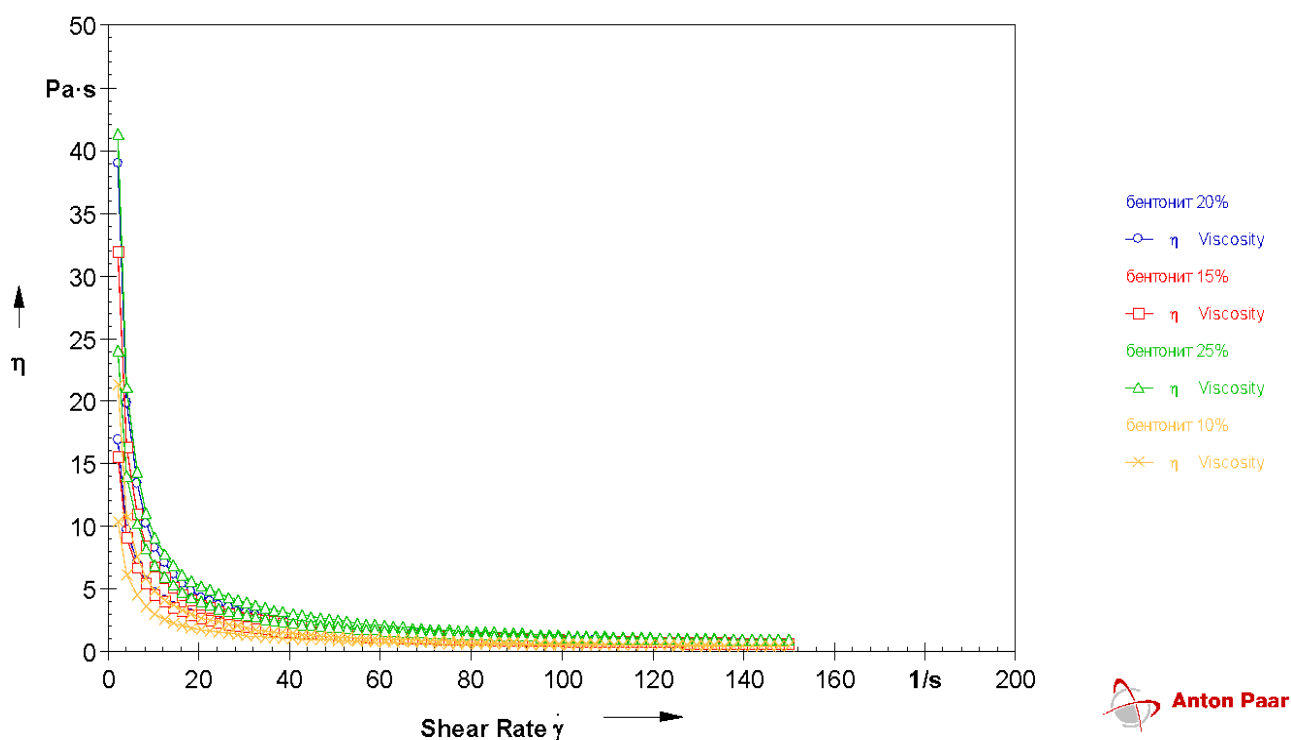


Рисунок 3.10. - Зависимость структурной вязкости (η , Pa·s) от градиента скорости сдвига (γ , s⁻¹) гелей бентонита

Бентонит, набухая в водно-глицериновой среде, образует вязкую суспензию, которую можно отнести к неньютоновским жидкостям согласно данным рисунку 3.9, 3.10 и таблице 3.10, 3.11. Все исследуемые образцы имеют предел течения, т.е. системы не являются произвольно текущими и сохраняют физическую стабильность. Для них характерны петли гистерезиса и соответственно тиксотропные свойства. Увеличение концентрации бентонита сопровождается возрастанием структурно-механических свойств [33].

Таблица 3.10. - Значение напряжения сдвига и структурной (динамической) вязкости гелей бентонита в порядке увеличения / уменьшения градиента скорости сдвига

Градиент скорости сдвига, (γ , s ⁻¹)	Гель бентонита, %			
	10	15	20	25
Напряжение сдвига (τ , Pa) при увеличении / уменьшении градиента скорости сдвига (γ , s ⁻¹)				
3,4	47,7 / 23,1	71,3 / 34,5	87,4 / 37,6	92,8 / 53,5

Продолжение таблицы 3.10

10,2	49,5 / 37,1	70,2 / 46,6	86 / 48,5	94 / 71
27,2	56,9 / 31	79 / 56,9	90,9 / 57,6	115 / 85
150	63,1 / 62,8	90,9 / 90,4	94,2 / 93,5	131 / 131
Структурная (динамическая) вязкость (η, Pa·s) при увеличении / уменьшении градиента скорости сдвига (γ, s⁻¹)				
3,4	21,3 / 10,4	31,9 / 15,5	39 / 16,9	41,3 / 24
10,2	4,8 / 3,0	6,8 / 4,52	8,33 / 4,7	9,1 / 6,8
27,2	2,2 / 1,4	2,9 / 2,14	3,4 / 2,2	4,3 / 3,2
150	0,4 / 0,4	0,6 / 0,6	0,7 / 0,7	0,9 / 0,9

Таблица 3.11. - Рассчитанные структурно-механические показатели гелей бентонита

Показатель	Гель бентонита, %			
	10	15	20	25
Площадь петли гистерезиса, Pa/s	1665	2292	3300	2865
Предел течения по Кассону τ_0 , Pa	617,5	1350	795	2432,7
Коэффициент динамического разжижения K_{d1} , %	77,5	78,7	78,7	77,9
Коэффициент динамического разжижения K_{d2} , %	81,8	79,3	79,4	79,1
Механическая стабильность МС при γ 3,4s ⁻¹	2,1	2,1	2,3	1,7

По совокупности значений структурно-механических показателей, представленных на рисунке 3.9, 3.10 и в таблице 3.10, 3.11. исследуемые суспензионный гели бентонитовой глины в водно-глицериновом растворе обладают необходимыми свойствами, характерными для мягких лекарственных средств как носитель АФИ.

3.3.1. Разработка состава мази с содержанием жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

В аптечной и промышленной технологии лекарств существуют рецептуры

классических мазевых основ, которые используют при разработке лекарств разных фармакотерапевтических групп. Для сравнительных исследований возможности применения бентонитовой основы для разработки лекарств нами были выбраны такие основы, состав которых приведен в таблице 3.12.

Таблица 3.12. - Состав исследуемых мазей

Наименование вспомогательных веществ	Модельный образец мази (№ п/п), количество веществ, %								
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9
<i>ЖЭЛШМ</i>	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Вазелин	90	54			34				
Ланолин		36						5	
Бентонитовая глина				25					
Макрогол 400			72						
Макрогол 1500			18						
Натрий карбоксиметилцеллюлоза						5			
Метилцеллюлоза							6		
Пентол					2				
Аэросил									7,2
Масло подсолнечное									82,8
Глицерин				23		6	20	5	
Эмульгатор №1								15	
Вода очищенная				42	54	79	64	65	

К основам вводили 10% ЖЭЛШМ стандартизированного. Концентрация ЖЭЛШМ была обоснована на основе проведенных исследований антимикробной активности и теоретически на основании анализа первоисточников по изучению фармакологической активности растений рода шалфей. В публикациях авторов Кошевой О.Н., Мига М.М. и др. приводятся данные по изучению противовоспалительной активности сухого экстракта шалфея лекарственного [26,72,86,87,149]. В результате установлено, что экстракт в дозе 50 мг/кг проявляет выраженную противовоспалительную активность, полученные результаты антиэкссудативной активности сравнимы с

препаратом сравнения диклофинаком натрия в дозе 8 мг/кг [26,61,64].

Образцы готовили с учетом физико-химических свойств веществ и с соблюдением всех правил смешения фаз, гомогенизацию мазей выполняли на лабораторном гомогенизаторе. Приготовленные образцы, после их структурирования в течении суток, подвергались реологическим исследованиям, результаты представлены на рисунке 3.11, таблице 3.13 и 3.14.

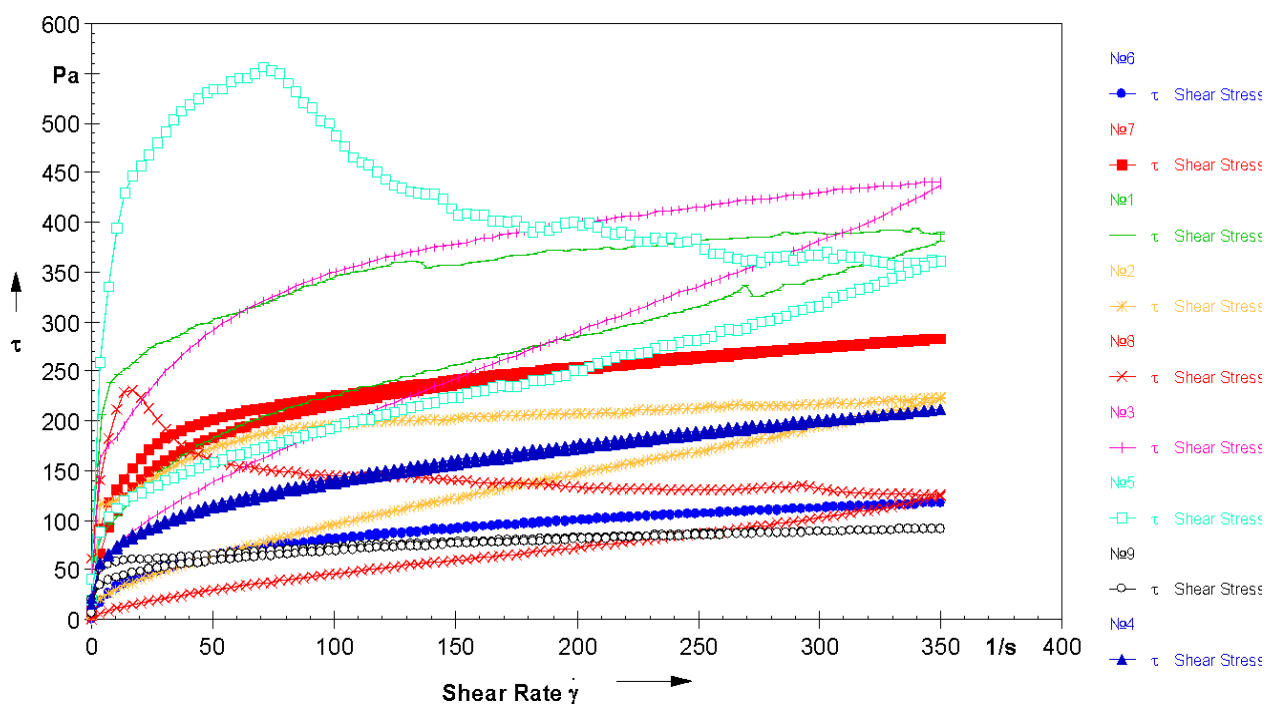


Рисунок 3.11. - Реограммы течения мазей с содержанием жидкого экстракта шалфея мускатного

Как видно из приведенных данных, образцы мази отличаются профилем реологического поведения что обусловлено их физико-химическими свойствами коагуляционной структуры. Среди 9 образцов мази представлены липофильные, гидрофильные и эмульсионные дисперсные системы, реологическое поведение которых кардинально отличается. Так образцы №1 и №2 относятся к липофильным системам, имеют высокие структурно-механические свойства, которые выражаются в значительной площади петли гистерезиса и предела течения [64].

Такие системы в большей степени подвержены динамическому разжижению, так как нисходящая кривая находится на отдаленном расстоянии

от восходящей кривой.

Таблице 3.13. - Значение напряжения сдвига и структурной (динамической) вязкости масел в порядке увеличения / уменьшения градиента скорости сдвига

Градиент скорости сдвига, (γ, s^{-1})	Образец мази								
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9
Напряжение сдвига (τ, Pa) при увеличении / уменьшении градиента скорости сдвига (γ, s^{-1})									
3,4	207 / 84,6	115 / 20,5	27,2 / 50,4	56,8 / 55,8	259 / 88,1	18,7 / 15,9	90,4 / 66,4	140 / 5,4	52 / 34,1
10,2	246 / 105	119 / 30	184 / 73,3	71,2 / 74,1	394 / 112	33 / 30,4	130 / 110	211 / 10,5	57,4 / 41,7
27,2	278 / 148	149 / 46,1	239 / 105	92,5 / 96,2	480 / 136	51,1 / 48,1	177 / 155	202 / 19,3	61 / 51,3
155	358 / 258	203 / 124	379 / 247	157 / 162	409 / 227	92,7 / 91,6	243 / 237	140 / 59,9	78,2 / 76,2
Структурная (динамическая) вязкость ($\eta, Pa \cdot s$) при увеличении / уменьшении градиента скорости сдвига (γ, s^{-1})									
3,4	47,3 / 19,5	33,9 / 6,1	280 / 14,6	16,4 / 16,1	74 / 25,4	5,4 / 4,5	26,4 / 19,2	40,1 / 1,55	14,8 / 9,8
10,2	22,2 / 9,5	11,8 / 2,9	17,9 / 3,9	6,9 / 7,3	38,5 / 11	3,2 / 2,9	12,8 / 10,8	20,6 / 1,03	5,6 / 4,1
27,2	9,9 / 5,3	4,9 / 1,7	8,9 / 3,9	3,4 / 5,6	17,8 / 5,1	1,6 / 1,8	6,6 / 5,7	7,5 / 0,7	2,3 / 1,9
155	2,3 / 1,7	1,3 / 0,8	2,6 / 1,6	1,1 / 1,1	2,6 / 1,5	0,6 / 0,5	1,6 / 1,5	0,9 / 0,4	0,5 / 0,4

Подробными реологическими свойствами обладает образец №3, который представляет собой гидрофильную макрогальную дисперсную систему. Образцы №5 и №8 являются эмульсионными гетерогенными дисперсными системами, масляная фаза которых отличается как качественно, так и количественно, что и обуславливает их реологический профиль. Образцы №6, №7 и №9 представляют гелевые дисперсные системы, образцы №6 и №7 –

гидрогели, образец № 9 – олеогель. Характерной особенностью реологического поведения гелей является незначительная площадь петли гистерезиса, т. е. восходящие и нисходящие кривые практически накладываются друг на друга. Образец №4, приготовленный на основе бентонита по совокупности структурно-механических свойств, занимает промежуточное положение между гидрофобными мазями и гелевыми образцами [68,82,83].

В таблице 3.14 представлены коэффициенты динамического разрежения (течение), определенные при скоростях сдвига 3,4 и 10,2 s^{-1} , соответствующих скорости сдвига ладони при распределении мягкой лекарственной формы по поверхности и вязкости системы при скоростях сдвига 27,2 и 155 s^{-1} , соответствующие скоростям при технологической обработке в процессе ее изготовления. Рассчитанные коэффициенты указывают на то, что системы достаточно легко распределяются по поверхности при их использовании, но при этом будут устойчивы к действию механической обработки в процессе технологической обработки при производстве. Наиболее механически стабильными являются гелевые дисперсные системы.

Таблица 3.14. - Рассчитанные структурно-механические показатели мазей

Показатель	Образец мази								
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9
Площадь петли гистерезиса, Pa/s	30528	23032	37225	1234	63782	469,1	2370	27319	993
Предел течения по Кассону τ_0, Pa	112,4	20,5	35,8	41,5	81,1	0,8	17,8	0,9	28,3
Коэффициент динамического разжижения $K_{d1}, \%$	53,1	65,2	93,6	57,9	47,9	40,8	51,5	48,6	62,2
Коэффициент динамического разжижения $K_{d2}, \%$	76,8	73,5	70,8	67,7	85,4	62,5	75,8	88,0	78,3
Механическая стабильность МС при $\gamma 3,4s^{-1}$	2,4	5,6	0,5	1,1	2,9	1,2	1,4	25,9	1,5

Для полной характеристики физической стабильности исследуемых образцов мази были проведены тесты коллоидной и термической стабильности. Методики приведены в разделе 2, результаты представлены в таблице 3.15.

Таблица 3.15. - Термическая и коллоидная стабильность мазей

Стабильность	Образец мази								
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9
Коллоидная	-	+	+	+	-	+	+	+	-
Термическая	-	+	+	+	-	+	+	+	-

Как видно из представленных результатов, образцы № 1, №5 и №9 не прошли тест, что является следствием разной полярности компонентов основы и ЖЭЛШМ. Остальные образцы мази изучались на предмет их биофармацевтических свойств.

3.3.2. Биофармацевтические исследования образцов мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного

При разработке мягких лекарственных форм имеет значение не только консистентные свойства и физическая стабильность мази, но и биофармацевтические свойства, т.е. насколько основа способна быстро и полно высвободить действующие вещества, оказывать смягчающее или наоборот подсушивающее действие с учетом медико-биологических требований к терапии патологического процесса. Для этих целей используют методы, как *in vivo*, так и *in vitro*. Частыми в использовании на этапе фармацевтической разработки состава являются исследования динамики высвобождения через полупроницаемую мембрану или диффузию в агаровый гель [29,32]. В работе была использована модифицированная методика агаровых пластинок, основанная на физико-химическом определении диффузии веществ в агаровый гель, к которому добавляли реактив (раствор КОН с соединениями флавоноидов образует окрас желтого цвета) с целью прогнозирования биодоступности [79]. Результаты исследований представлены в таблице 3.16.

Результаты высвобождения БАВ указывают на то, что высвобождение веществ флавоноидов происходит с разной интенсивностью из мазей, что обусловлено сродством гидрофильного характера мазей и агарового геля. Мазь на основе бентонита (образец №4) по интенсивности БАВ сопоставима с мазью на макрогальной основе (образец №3).

Таблица 3.16. - Динамика высвобождения биологически активных веществ

Номер образца	Время, час					
	0,5	1,0	2,0	3,0	6,0	24,0
	Диаметр окрашенных зон, мм					
2	0	8,1±0,1	9,8±0,1	16±0,1	19,1±0,1	19,1±0,1
3	0	9,1±0,1	10,0±0,1	18,2±0,1	20,5±0,1	22,5±0,1
4	0	9,5±0,1	10,3±0,1	18,8±0,1	21,3±0,1	22,5±0,1
6	0	9,6±0,1	10,5±0,1	18,3±0,1	19,4±0,1	20,0±0,1
7	0	9,2±0,1	10,1±0,1	17,5±0,1	19,1±0,1	20,0±0,1
9	0	9,3±0,1	10,5±0,1	17,6±0,1	19,5±0,1	21,0±0,1
p		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Примечание: p – статистическая значимость различия показателей между образцами (по H-критерию Крускала-Уоллиса)

Одним из биофармацевтических показателей качества мягких лекарственных форм является исследование дегидратирующих свойств, то есть способность «оттягивать» физиологические жидкости (раневого экссудат) из очага воспалительного процесса [29]. Эту способность следует сравнивать с медико-биологическими требованиями к средствам, предназначенным для лечения раневого процесса с учетом фазности протекания [42]. Результаты исследований приведены на рисунке 3.12. Дегидратирующая активность мази должна сопоставляться с фазой раневого процесса, так как для первой фазы

необходимо интенсивное подсушивание раны путем оттягивания раневого экссудата из глубины раны мазевой основой, нанесенной на бинтовую повязку. В то же самое время, интенсивная дегидратирующая активность на второй и третьей фазе раневого процесса может приводить к дегидратирующему шоку клеток грануляционной траки при регенерации раны [93].

При исследовании дегидратирующей активности мазей с ЖЭЛШМ (рисунок 3.12) было установлено, что образец мази №3, изготовленный на макрогальной основе, имеет 474% осмотической активности на 6-й час эксперимента, что является особенностью макроголов [29,68]. Мази на макрогальной основе преимущественно используются на первой фазе раневого процесса, к таким мазям относятся хорошо известные «Левосин» и «Левомеколь».

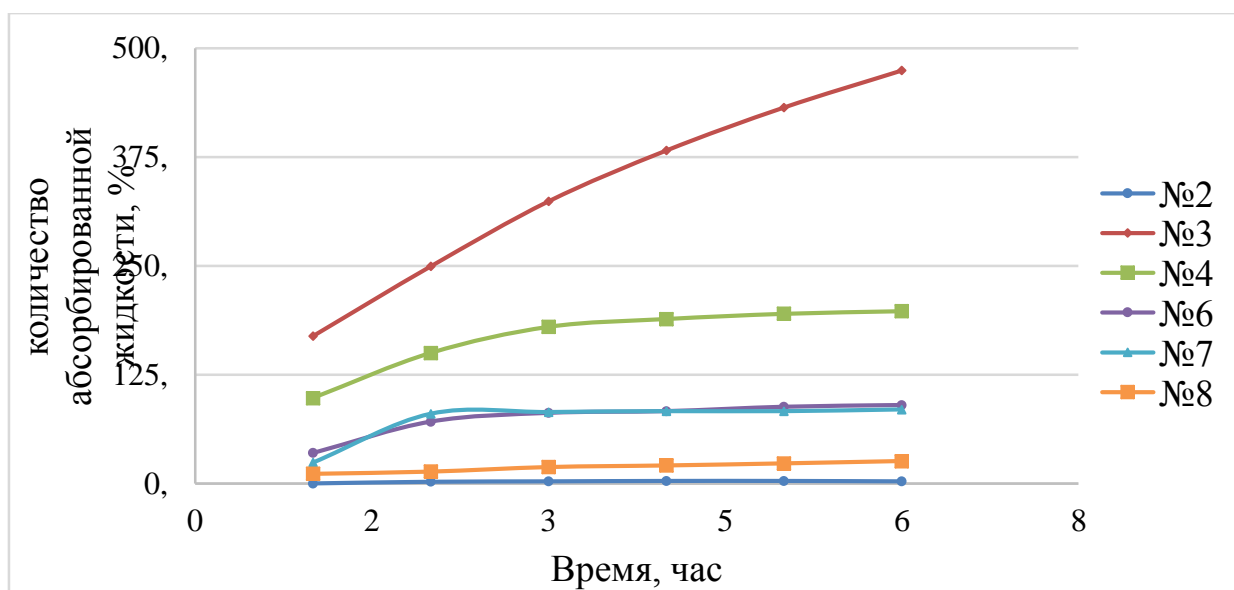


Рисунок 3.12. - Исследование динамики дегидратирующих свойств мазей с ЖЭЛШМ

Мазь на основе бентонитовой глины (образец №4) имеет умеренную дегидратирующую активность, что позволяет ее использовать на 2-й и 3-й фазе раневого процесса, в том числе и при ожоговых ранах.

Таким образом, комплекс проведенных экспериментальных исследований по сравнительным исследованиям реологических и биофармацевтическим свойств мазей с ЖЭЛШМ, позволяет предложить мазь на основе бентонитовой

глины для дальнейших фармакологических и микробиологических исследований.

3.3.3. Изучение антимикробной активности жидкого экстракта шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане и мази с его содержанием

С целью определения концентрации ЖЭЛШМ в составе мази была изучена его антибактериальная активность. При анализе литературных данных и собственных предварительных исследований остановились на предполагаемом диапазоне концентраций ЖЭЛШМ от 5 до 15 % в составе разрабатываемой мази. Исследуемые образцы были проверены в отношении широкого спектра микроорганизмов, рекомендованных ВОЗ при анализе антимикробной активности: *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653.

Антимикробную активность ЖЭЛШМ проводили в условия *in vitro* методом диффузии в агар (метод «колодцев»). Показателем антимикробной активности является размер зоны задержки роста тест-микроорганизмов, которая образуется в агаризованной питательной среде на чашках Петри. Диаметр зон задержки роста с учетом диаметра лунки измеряли с точностью до 1 мм, при этом ориентировались на полное отсутствие видимого роста.

В результате проведения исследований по изучению антимикробной активности ЖЭЛШМ и мази с его содержанием в отношении разных культур микроорганизмов были получены следующие данные (таблице 3.17).

Микробиологические исследования показали умеренный и высокий уровень антимикробной активности выбранных концентраций ЖЭЛШМ в отношении тест-штаммов грамположительной культуры *Staphylococcus aureus*, споровой культуры *Bacillus subtilis*, грамотрицательной культуры *Escherichia coli* и отсутствие антимикробной активности в отношении бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus vulgaris*, и грибов *Candida albicans*.

С увеличением концентрации жидкого экстракта шалфея мускатного

(образцы №1-3) происходило существенное повышение антимикробного действия по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, при отсутствии задержки роста *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* и *Candida albicans*.

Таблице 3.17. - Результаты изучения микробиологической активности жидкого экстракта шалфея мускатного

Образец (концентрация ЖЭЛШМ)	Культура микроорганизмов					
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>
	Диаметр зоны задержки роста микроорганизмов (среднее значение и стандартное отклонение), мм					
ЖЭЛШМ	21,0±0,7	22,9±0,5	20,5±0,3	-	-	-
№1 (5 %)	13,2±0,4	13,0±0,6	-	-	-	-
№2 (7,5 %)	16,4±0,7	16,8±0,5	17,0±0,4	-	-	-
№3 (10 %)	20,0±0,4	20,4±0,5	19,5±0,6	-	-	-
№4 (12,5 %)	20,5±0,5	21,3±0,4	19,5±0,5	-	-	-
№5 (15 %)	20,9±0,7	22,8±0,5	20,0±0,3	-	-	-
p	<0,001	<0,001	<0,05			

Примечание: p – статистическая значимость различия показателей между образцами (по H-критерию Крускала-Уоллиса); * - «-» - зона задержки роста микроорганизма отсутствует

Результаты исследования свидетельствуют, что образец №3 проявляет выраженную антимикробную активность в отношении *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*. Повышение концентрации жидкого экстракта шалфея мускатного (образцы № 4-5) не приводит к существенному увеличению антимикробной активности. Таким образом, в качестве действующей концентрации ЖЭЛШМ, предполагаемой для введения в состав разрабатываемой лекарственной формы, остановились на концентрации 10 %.

3.3.4. Описание технологии приготовления мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного

В результате теоретических и экспериментальных исследований, представленных в разделах диссертационной работы обосновано состав мази с ЖЭЛШМ для лечения раневого процесса на 2-й и 3-й фазах. Состав мази, под условным названием «Салвит» [58] представлено в таблице 3.18.

Таблица 3.18. - Состав мази Салвит

Наименование компонентов	Состав, %	Функциональное назначение ингредиентов
ЖЭЛШМ	10,0	Активный ингредиент, оказывающий противовоспалительное, антимикробное, ранозаживляющее, слабое обезболивающее действие
Бентонитовая глина	25,0	Вспомогательное вещество, придающее консистентные свойства и дегидратирующую активность мази
Глицерин	23,0	Вспомогательное вещество, регулятор вязкости с антисептическими свойствами
Вода очищенная	42,0	Вспомогательное вещество, дисперсионная среда мази

Порядок смешивания ингредиентов и контрольные параметры приведены в виде схемы технологического процесса на рисунке 3.13.

Технологическая схема отображает последовательность выполнения операций, порядок смешивания и контролируемые критерии на каждой стадии производства, что гарантирует качество мази Салвит.

<i>Исходное сырье, материалы</i>	<i>Изготовление мази с ЖЭЛШМ</i>	<i>Контроль в процессе производства</i>
ЖЭЛШМ, бентонитовая глина, глицерин, вода очищенная	Стадия 1 Подготовка сырья Весы, сборник, сито, мерник	Соответствие МКК, масса
Бентонитовая глина, глицерин, вода очищенная со стадии 1	Стадия 2 Приготовление основы Реактор	Масса, время, скорость, температура
ЖЭЛШМ со стадии 1	Стадия 3 Приготовление мази Реактор	Масса, время, скорость, соответствие МКК, температура
	Фасовка, упаковка, маркировка	
Мазь Салвит со стадии 3, тубы, бушоны, этикетки	Стадия 4 Дозирование мази в тубы Фасовочный автомат	Масса, номер серии, правильность маркировки
Пачки, инструкции	Стадия 5 Фасовка туб в пачки Полуавтомат фасовки	Комплектность, правильность маркировки
Картонные коробки, этикетки для групповой тары	Стадия 6 Укладка пачек в групповую тару Стол для упаковки	Комплектность, правильность маркировки
	Карантинное хранение	Контроль качества согласно МКК
	Склад готовой продукции	

Рисунка 3.13. - Технологическая схема изготовления мази с ЖЭЛШМ

Глава 4. Разработка методик контроля качества жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане и мази с его содержанием

4.1. Обоснование методик контроля качества жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Многолетнее использование в официальной медицине шалфея лекарственного [13,19,20] за счет наличия значительного количества биологически активных веществ, представленных в основном полифенолами и такими вторичными метаболитами, как терпеноиды, обуславливают антиоксидантные, вяжущие, противовоспалительные, нейропротекторные, анальгетические, антимикробные и другие фармакологические свойства растения [16,51].

Разрабатываемый жидкий экстракт листьев шалфея мускатного (ЖЭЛШМ) предлагается как конечный готовый лекарственный препарат и для последующего применения в мягкой лекарственной форме для дифференцированной местной терапии гнойно-воспалительных заболеваний и раневого процесса, фармакологические свойства которого обусловлены наличием полифенольных соединений и терпеноидов [51]. Экспериментально доказано, что наибольшую способность экстрагировать полифенольные соединения из сырья этого растения обладают экстрагенты с разной полярностью, такие как метанол, этанол и их смеси с водой [140], поэтому именно эти растворители использовали в технологии получения ЖЭЛШМ [63].

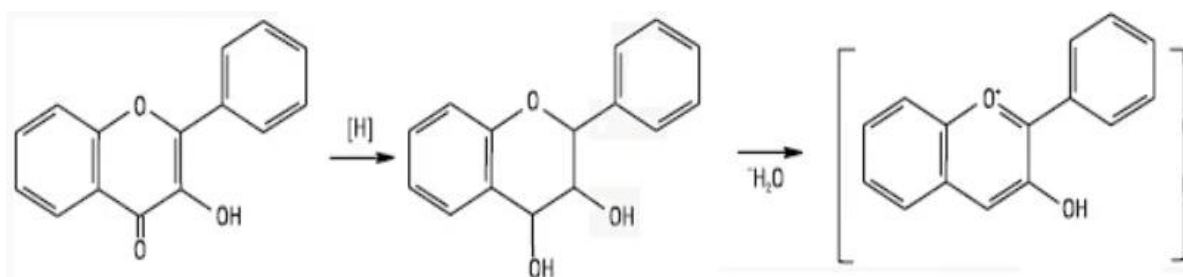
При разработке методик контроля качества фитопрепарата целесообразно обращать внимание на способ получения жидкого экстракта, внешний вид, определить наличие биологически активных соединений, отвечающих за фармакологический эффект будущего препарата.

Целесообразно было стандартизировать исследуемый жидкий экстракт листьев шалфея мускатного, полученный путем реперколяции 50% этиловым

спиртом в соотношении сырье – экстрагент 1:1, на наличие веществ флавоноидного строения и терпеноидов [16].

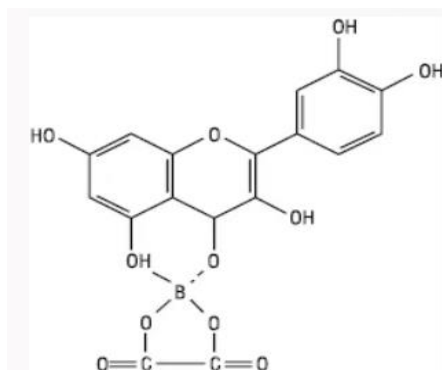
По внешнему виду жидкий экстракт листьев шалфея мускатного представляет собой жидкость коричневого цвета с характерным запахом.

Для идентификации суммы флавоноидов проводили специфическую реакцию на флавоноиды цианидиновую пробу, суть которой заключается в образовании продуктов восстановления водородом при взаимодействии металлического магния и концентрированной хлоридной кислоты, в результате чего образуются окрашенные антоцианидины:



Методика проведения реакции: 0,50 мл экстракта взбалтывают с 10 мл спирта этилового до полного растворения. К 2 мл полученного спиртового раствора экстракта прибавляют 2-3 капли кислоты хлористоводородной концентрированной и металлический магний; образуется розовое окрашивание.

Следующая реакция с борной кислотой обусловлена наличием в 5 положении флавоноидов свободной гидроксильной группы. Из литературы известно [84], что 5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы с борной кислотой в присутствии лимонной или щавелевой кислот образуют комплекс ярко-желтого цвета с желто-зеленой флуоресценцией:



Методика проведения реакции: К 2 мл, полученного в предыдущей реакции, спиртового раствора экстракта прибавляют 2 мл раствора, содержащего 25.0 г/л борной кислоты, 20.0 г/л щавелевой кислоты в муравьиной кислоте безводной; образуется яркое желтое окрашивание.

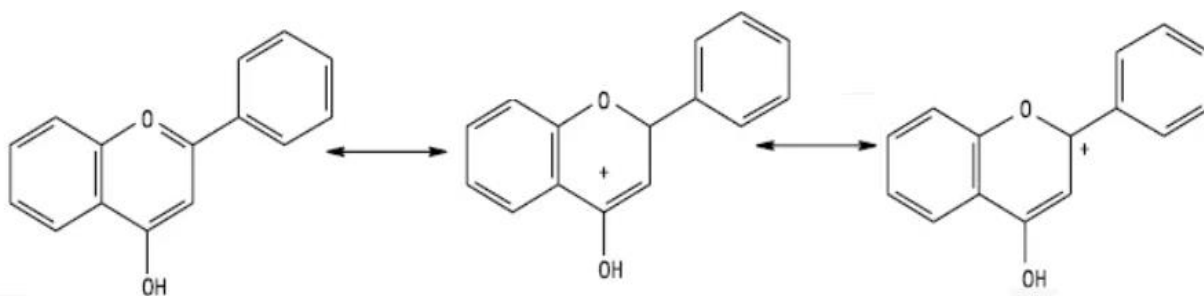
Флавоноиды образуют комплексные соединения с раствором алюминия хлорида. Реакцию образования окрашенных соединений проводили в кислой среде и использовали для идентификации биологически активных веществ этой структуры.

Методика проведения реакции: К 2 мл, полученного в первой реакции, спиртового раствора экстракта прибавляют 1 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида; образуется яркое зеленовато-желтое окрашивание.

Кислотные свойства фенольных гидроксиллов доказывали реакцией со спиртовым раствором калия гидроксида.

Методика проведения реакции: К 2 мл, полученного в первой реакции, спиртового раствора экстракта прибавляют 0,5 мл 10% спиртового раствора калия гидроксида; раствор постепенно окрашивается в желтый цвет.

Характерной реакцией для суммы флавоноидов являются реакции с минеральными кислотами. При проведении реакции жидкого экстракта с концентрированной серной кислотой образовывалось малиновое окрашивание, что вероятно обусловлено образованием оксониевой (флавилиевой) соли:



Методика проведения реакции: К 2 мл, полученного в первой реакции, спиртового раствора экстракта аккуратно по каплям по стенкам пробирки прибавляют концентрированную серную кислоту. На границе двух слоев постепенно образуется малиновое окрашивание.

Для предварительного доказательства наличия терпеноидов в анализируемом жидком экстракте, проводили извлечение хлороформом веществ терпеноидной структуры и после удаления органического слоя, проводили реакцию с концентрированной серной кислотой.

Методика проведения реакции: 0,5 мл жидкого экстракта взбалтывают с 2 мл хлороформа, хлороформный слой выпаривают досуха на водяной бане при температуре не выше 40°C. К остатку прибавляют 2 мл концентрированной серной кислоты и нагревают в течение 2 минут; образуется сероватое окрашивание.

Таким образом, проведенные химические реакции позволяют предварительно подтвердить в исследуемом жидком экстракте листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане наличие веществ терпеноидного и флавоноидов.

В настоящее время для идентификации индивидуальных химических соединений и суммы биологически активных веществ растительного происхождения используют хроматографические методы исследования, одним из которых является метод тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Для идентификации веществ терпеноидной структуры использовали метод тонкослойной хроматографии, рекомендованный для идентификации лекарственного растительного сырья шалфея листья и шалфея настойка Государственной Фармакопеей Украины [21]. Определение проводили на тонкослойных пластинках ТСХ Kieselgel 60 F254 (фирмы «Merck») на алюминиевой подложке, подвижная фаза – смесь этилацетата с толуолом (95:5), детектирование проводили раствором фосфорномолибденовой кислоты при нагревании. В качестве маркеров использовали стандартные образцы (СО) цинеола и борнеола. На хроматограммах обнаружены хорошо разделяемые зоны СО цинеола и борнеола, в исследуемом жидком экстракте обнаружена зона, которая совпадает по окраске и по положению зоне раствора сравнения цинеола (рисунка 4.1).

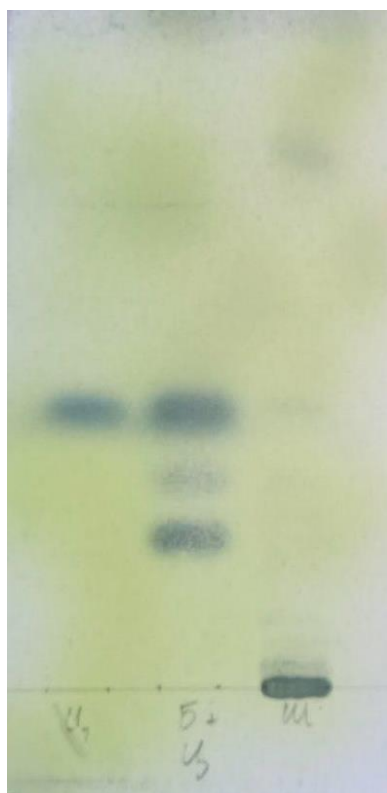


Рисунок 4.1. - Хроматограмма определения веществ терпеноидного строения

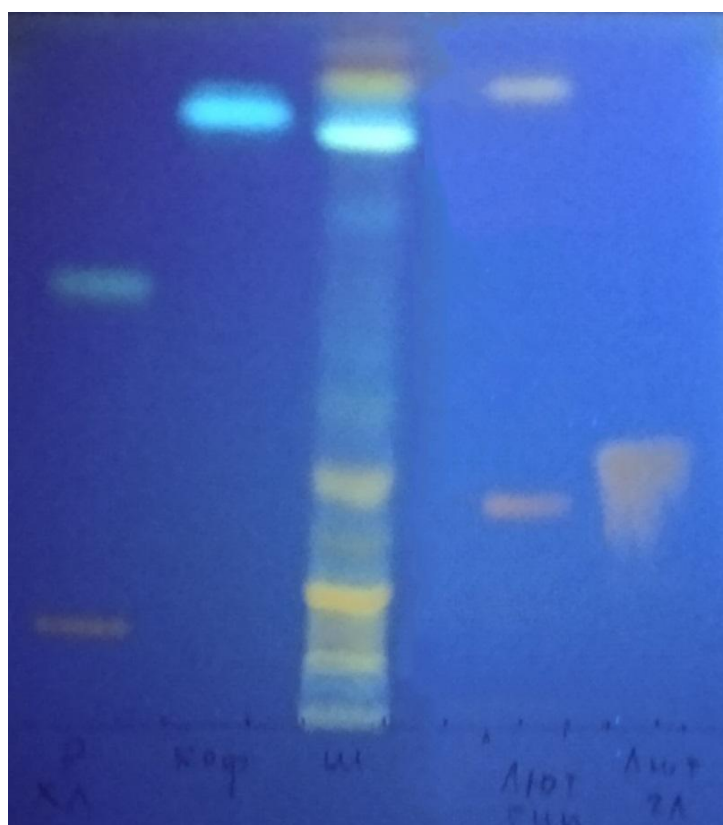


Рисунок 4.2. - Хроматограмма веществ флавоноидной природы

Для идентификации веществ флавоноидного строения и гидроксикоричных кислот использовали метод ТСХ с использованием маркеров флавоноидов: рутин, лютеолин, гиперозид и гидроксикоричных кислот: хлорогеновая и кофейная. Определение проводили на тонкослойных пластинках ТСХ Kieselgel 60 F254 (фирмы «Merck») на алюминиевой подложке, подвижная фаза – муравьиная кислота безводная – уксусная кислота ледяная – вода – этилацетат (11:11:27:100). Детектирование хроматографических пластинок проводили после высушивания и нагревания пластинок раствором аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты в метаноле. Результаты наблюдали через 30 минут. На хроматограммах раствора сравнения и испытуемого раствора обнаружены зоны, которые по положению и окраске соответствуют зонам растворов сравнения СО лютеолина и СО кофейной кислоты что свидетельствует о наличии веществ флавоноидного строения и гидроксикоричных кислот в исследуемом ЖЭЛШМ (рисунке 4.2).

Исходя из условий процесса производства для экстрактов могут быть проведены испытания на микробиологическую чистоту, тяжелые металлы, конкретно для жидких экстрактов обязательным является определение относительной плотности, содержание этанола, метанола и 2-пропанола и сухого остатка [19].

После проведенных испытаний установили, что относительная плотность ЖЭЛШМ составляет от 0.950 г/см³ до 0.975 г/см³, содержание этанола, найденное пикнометрическим методом должно быть не менее 41%, содержание метанола и 2-пропанола, найденное методом газовой хроматографии, составляет не больше регламентированных фармакопеей количеств (не более 0,05% (об/об)); количество примесей тяжелых металлов не превышает рекомендуемые нормы (не более 0,01% (100 ppm) и сухой остаток не должен превышать 10% (таблица 4.1).

Количественное определение биологически активных веществ в ЖЭЛШМ проводили по наличию эфирного масла, содержание которого определяли методом отгона, и наличию суммы флавоноидов.

Таблица 4.1. - Результаты определения сухого остатка в весовых процентах

Навеска экстракта, г	Сухой остаток, %	Среднее значение
0,1823	7,5	7,7 %
0,1521	7,9	

Для количественного определения эфирного масла использовали методику, рекомендуемую монографией Государственной Фармакопеи Украины «Шалфея настойка» [19], которая заключается в комбинации метода отгона с последующим извлечением эфирного масла пентаном, удалением органического слоя и гравиметрическом определении полученного остатка.

Полученные результаты количественного определения эфирного масла в ЖЭЛШМ и метрологические характеристики полученных результатов приведены в таблице 4.2.

Таблица 4.2. - Результаты количественного определения эфирного масла в ЖЭЛШМ и метрологические характеристики

№ серии	Содержание эфирного масла, %	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\epsilon}, \%$	$\epsilon, \%$
1	0,1055	$1,44 \cdot 10^{-5}$	0,0038	0,0015	0,0097	0,0040	3,71	9,09
2	0,1027							
3	0,1103							
4	0,1079							
5	0,1038							
6	0,1124							

Верификацию методики проводили, изучая такие валидационные характеристики, как специфичность, линейность, правильность (точность) и прецизионность. Специфичность данной аналитической процедуры доказывалась путём определения массы весовой формы исследуемого ЖЭЛШМ и растворителя (50% спирт этиловый). Установили, что растворитель не влияет на результаты определения, так как разница между массой навески колбы и

массой навески колбы после проведения испытания с 50% спиртом этиловым практически не изменилась.

При определении линейной зависимости между концентрацией эфирных масел в ЖЭЛШМ и массой весовой формы установили, что коэффициент корреляции составляет 0,9999. Результаты исследований зависимости концентрации эфирного масла в ЖЭЛШМ от массы весовой формы приведены в таблице 4.3 и на рисунке 4.3.

Таблица 4.3. - Результаты исследования зависимости концентрации эфирного масла в ЖЭЛШМ от массы весовой формы

% от рабочей концентрации	Масса навески жидкого экстракта, г	Масса весовой формы, г
80	24,0009	0,02532
85	25,4823	0,02690
90	27,0012	0,02849
95	28,5450	0,03007
100	30,0004	0,03165
105	31,5102	0,03323
110	33,0209	0,03482
115	34,5877	0,03639
120	36,2006	0,03798

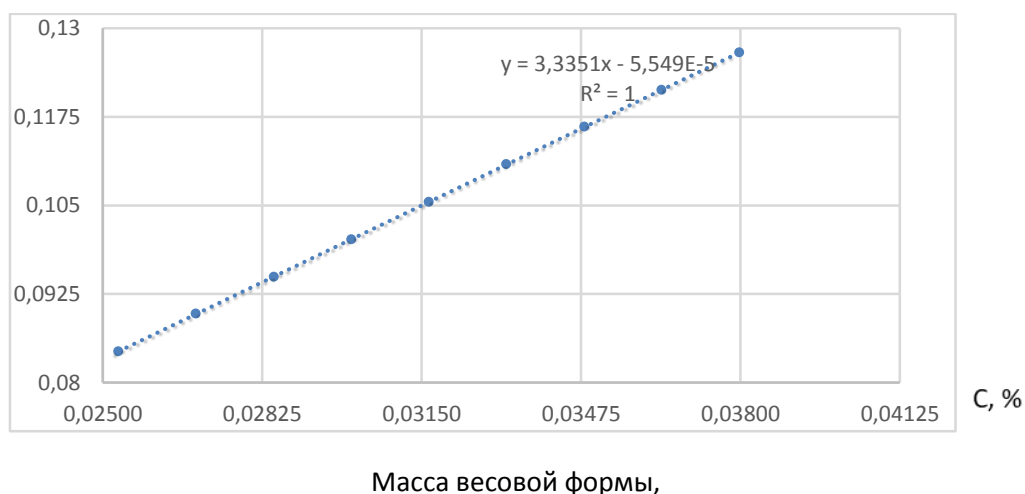


Рисунок 4.3. - Градуировочный график зависимости концентрации эфирного масла в ЖЭЛШМ от массы весовой формы

Методика количественного определения эфирного масла в исследуемом жидком экстракте линейна, так как полученный коэффициент корреляции 0,9999 свидетельствует об использовании методики даже при допусках $\pm 5\%$.

Прецизионность и правильность методики количественного определения эфирного масла находили из данных, полученных при изучении линейности и они приведены в таблице 4.4.

Таблица 4.4. - Результаты исследования прецизионности и правильности методики количественного определения эфирного масла

Параметр	Значение		Критерий 1	Критерий 2	Вывод
Прецизионность	ΔZ	0,64	$\leq 1,60$		Методика корректна по первому критерию
Правильность	$ Z_{\text{ср}} - 100 $	0,12	$\leq 0,51$		

Установили, что предложенная методика является правильной, так как отклонение Z от 100% не превышает свой доверительный интервал. Методика является точной на уровне сходимости, так как односторонний интервал отдельного значения (ΔZ) не превышает максимально допустимую неопределенность (ΔA_s) – 1,60%. [19].

В ходе эксперимента использовали спектрофотометр Specord 200 (Германия), весы аналитические “Sartorius” (фирма “SARTORIUS”, Германия), мерная посуда класса А, соответствующая требованиям фармакопеи [19]. ФСО лютеолина (№ 11/1-15698 от 20.05.21, аттестованное содержание 100%). Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии со статьей ГФУ «Статистический анализ результатов химического эксперимента».

Для количественного определения суммы флавоноидов использовали метод спектрофотометрии в видимой области (ГФУ, 2.2.25). Спектры поглощения записывали на спектрофотометре Evolution 60s (Thermo Fisher

Scientific, USA). В ходе эксперимента использовали весы аналитические AXIS, мерную посуду класса А, отвечающую требованиям ГФУ [19]. ФСО лютеолина (№ 11/1-15698 от 20.05.21, аттестованное содержание 100%). Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии со статьей ГФ «Статистический анализ результатов химического эксперимента».

Для разработки методики количественного определения суммы флавоноидов проводили реакцию комплексообразования спиртового раствора ЖЭЛШМ с реактивом алюминия хлорид в уксуснокислой среде и сравнивали положение максимума с такими маркерами флавоноидов, как кверцетин, рутин и лютеолин (рисунок 4.4).

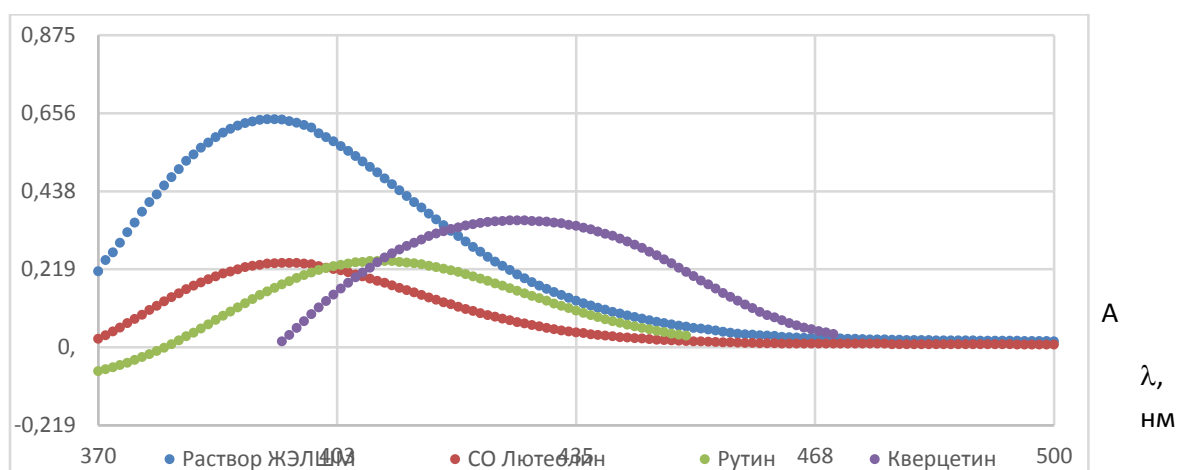


Рисунок 4.4. - Спектр продукта реакции с реактивом алюминия хлорида: 1 – ЖЭЛШМ; 2 – СО лютеолина; 3 – СО рутина; 4 – СО кверцетина

Установили, что спектр поглощения окрашенного раствора ЖЭЛШМ после реакции с алюминия хлоридом характеризуется наличием максимума поглощения при 394 нм, который практически совпадает с спектром лютеолина, полученного в тех же условиях (396 нм), что позволяет стандартизировать ЖЭЛШМ по наличию флавоноидов в пересчете на лютеолин (рисунок 4.4).

Использование методики количественного определения для стандартизации готовой продукции предусматривает изучение комплекса валидационных характеристик.

Согласно требованиям фармакопеи проводили валидацию методики количественного определения суммы флавоноидов в ЖЭЛШМ методом

спектрофотометрии в видимой области для дальнейшего включения в аналитическую документацию. Валидацию методики проводили методом математической статистики по следующим показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность [19].

Валидации была подвергнута следующая методика:

Исследуемый раствор: 0,500 г (точная навеска) жидкого экстракта помещают в мерную колбу на 25,0 мл, прибавляют 10 мл *спирта (70% об/об) Р*, доводят объем тем же растворителем до метки и перемешивают (исходный раствор).

5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу объемом 25,0 мл, прибавляют 2,0 мл *5% раствора алюминия хлорида в 70% этаноле*, доводят объем раствора *5% (об/об) раствором ледяной уксусной кислоты в спирте (70%, об/об) Р* до метки и перемешивают.

Компенсационный раствор. 5,0 мл исходного раствора помещают в мерную колбу объемом 25,0 мл, доводят объем раствора *5% (об/об) раствором ледяной уксусной кислоты в спирте (70%, об/об) Р* до метки и перемешивают.

Раствор сравнения. 0,100 г ФСО лютеолина растворяют в 50 мл 96% спирта и доводят объем раствора тем же растворителем до 100,0 мл. К 2,0 мл полученного раствора прибавляют 2,0 мл реактива алюминия хлорида *Р* и доводят объем раствора *5% (об/об) раствором ледяной уксусной кислоты в спирте (70%, об/об) Р* до 25,0 мл.

Компенсационный раствор. 2,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу объемом 25,0 мл, объем раствора *5% (об/об) раствором ледяной уксусной кислоты в спирте (70%, об/об) Р* до метки и перемешивают.

Через 30 мин измеряют оптическую плотность исследуемого раствора и раствора сравнения по длине волны 396 нм относительно компенсационных растворов.

Содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте листьев шалфея мускатного в процентах (х) в пересчете на лютеолин рассчитывают по формуле:

$$x = \frac{A \cdot m_0 \cdot V_2 \cdot V_4 \cdot V_6 \cdot 100 \cdot \% \text{ФСЗ}}{A_0 \cdot m \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot V_5 \cdot 100},$$

где A – оптическая плотность исследуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора ФСО лютеолина;

m_0 – масса навески ФСО лютеолина, г;

m – масса навески жидкого экстракта;

V_1 – объем мерной колбы (100,0 мл) для приготовления раствора ФСО лютеолина, мл;

V_2 – объем пипетки (1,0 мл) полученного раствора ФСО лютеолина, мл;

V_3 – объем мерной колбы (25,0 мл) для разведения раствора ФСО лютеолина, мл;

V_4, V_6 – объем мерных колб (25,0 мл) для приготовления исследуемого раствора, мл;

V_5 – объем пипетки (5,0 мл) для приготовления исследуемого раствора, мл;

$\% \text{ФСЗ}$ – процентное содержание лютеолина в ФСО.

Специфичность данной методики подтверждали путем сравнения положения максимумов поглощения спектра испытуемого спиртового раствора жидкого экстракта листьев шалфея мускатного и раствора сравнения фармакопейного стандартного образца (ФСО) лютеолина после реакции комплексообразования с раствором хлорида алюминия в кислой среде (рисунок 4.5).

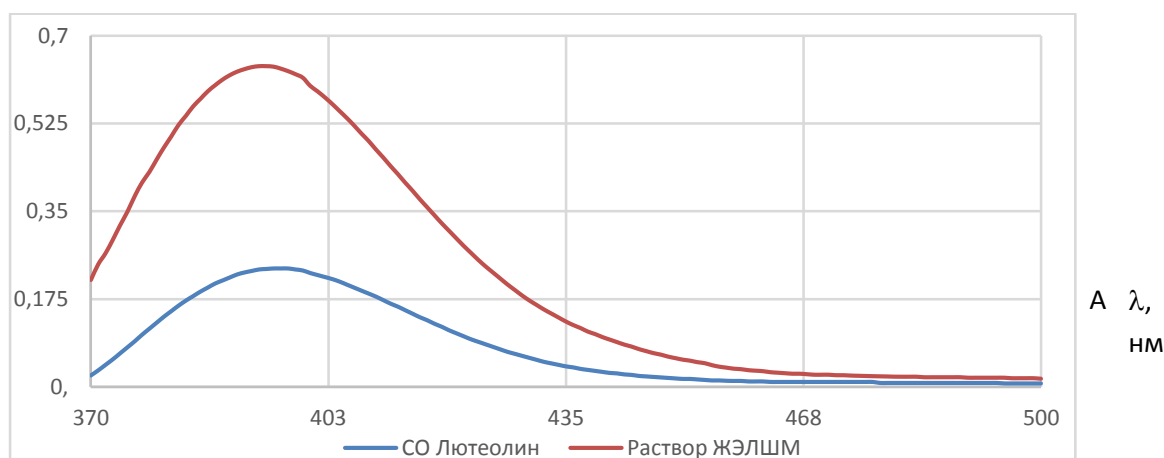


Рисунок 4.5. - Спектр продукта реакции с реактивом алюминия хлорида: 1 – ЖЭЛШМ; 2 – СО лютеолина

При изучении робастности методики изучали влияние фонового поглощения на оптическую плотность окрашенных растворов. Установили, что влияние фонового поглощения (0,001) в условиях методики является статистически незначимым, так как составит $0.16\% \leq 0.51\%$.

При изучении линейности методики определяли такие параметры как диапазон линейных концентраций и коэффициент корреляции.

В ходе определения линейности методики готовили 9 окрашенных растворов комплекса лютеолина с реактивом алюминия хлорида в пределах концентраций от 80% до 120% от выбранной и измеряли их оптическую плотность при длине волны 396 нм. (таблица 4.5).

Таблица 4.5. - Результаты изучения линейности модельных растворов

№ модельного раствора	Введено, %i (xi,%)	Оптическая плотность Ai (Ast=0,367)	$y_i\%=(A_i/A_{st})\cdot 100$	Значение
1	80	0,315	80,56	
2	85	0,334	85,42	
3	90	0,356	91,05	
4	95	0,372	95,14	
5	100	0,395	101,02	
6	105	0,414	105,88	
7	110	0,433	110,74	
8	115	0,452	115,60	
9	120	0,465	118,93	
Угловой коэффициент линейной зависимости b				0,9804
Sb				0,0164
Свободный член линейной зависимости a				2,4439
Sa				1,6545
Остаточное стандартное отклонение So=				0,6355
Коэффициент корреляции методики r				0,9990
Критическое значение остаточного стандартного отклонения, RSD				13,6931
Критерий линейного коэффициента корреляции Rc				0,9989
Sb ²				0,0003
Sa ²				2,2374

Установлено, что график зависимости имеет линейный характер в области концентрации от 0,002 мг/мл до 0,01 мг/мл, а коэффициент корреляции близок к единице (0,9999). Это свидетельствует о линейной зависимости значения оптической плотности от концентрации действующего вещества в сырье в данном диапазоне концентраций.

Как видно из данных таблицы 4.5, в данном случае выполняются требования к линейности, т.е. линейность методики подтверждается на всем диапазоне концентраций 80-120 %. В ходе работы была проверена стабильность комплексов раствора жидкого экстракта листьев шалфея мускатного с раствором алюминия хлорида. Измерение оптической плотности проводили через 30, 35, 40, 45, 50, 55 и 60 минут после прибавления реактива алюминия хлорида, поскольку известно, что в течение первых 30 минут комплексы флавоноидов с раствором алюминия хлорида неустойчивы. Результаты проведенных исследований приведены в таблице 4.6.

Таблица 4.6. - Результаты определения стабильности приготовленных растворов

	Время исследования стабильности, мин							Среднее	RSDt,%	t,%	max δ,%
	30	35	40	45	50	55	60				
A	0,398	0,399	0,399	0,398	0,398	0,397	0,395	0,398	0,2369	0,5050	1,54
A ₀	0,367	0,367	0,368	0,369	0,368	0,367	0,366	0,367	0,2542	0,5419	1,54

Для проверки диапазона использования методики (правильность (сходимость) и прецизионность) определяли сумму флавоноидов в ЖЭЛШМ по приведенной методике в том же диапазоне концентраций (80-120 % от номинальной концентрации) (таблица 4.7).

Экспериментальные результаты определения прецизионности методики характеризуются допустимым разбросом значений относительно среднего и,

относительно, низким стандартным отклонением на всем диапазоне изучаемых концентраций.

Таблица 4.7. - Правильность (сходимость) и прецизионность аналитической методики

Объем аликвоты, мл	Введено в % к концентрации 100% (Xi факт%)	Оптические плотности Ai	Найдено в % к концентрации 100% раствора (Yi%)	Найдено в % к введенному Zi=100 (Yi/Xi)
8,0	80	0,312	80,21	100,26
8,5	85	0,332	85,35	100,41
9,0	90	0,354	91,00	101,11
9,5	95	0,371	95,37	100,39
10,0	100	0,391	100,51	100,51
10,5	105	0,409	105,12	95,56
11,0	110	0,430	110,54	96,12
11,5	115	0,448	115,17	95,97
12,0	120	0,464	119,28	99,40
Среднее Z%				98,86
Относительное стандартное отклонение, Sz%				2,28
Относительный доверительный интервал as%=t(95%)*Sz				4,24
Критическое значение для сходимости результатов as%				2,24
Систематическая погрешность δ				-1,14
Критерий неопределенности систематической погрешности				0,24
Общий вывод о методике				корректная

Как альтернатива математической оценке линейности, на рисунке 4.6 приведено графическое изображение регрессионной прямой для анализируемого образца. Согласно полученным результатам установлено, что в выбранном диапазоне применения методики имеется прямо пропорциональное соотношение между концентрацией флавоноидов в определяемой пробе и оптической плотностью. Все линейные зависимости характеризуются высокими коэффициентами корреляции ($r = 0.9999$), что считается приемлемым для

установления строгой линейности. Полученные данные подтверждаются и графическим представлением регрессионных прямых.

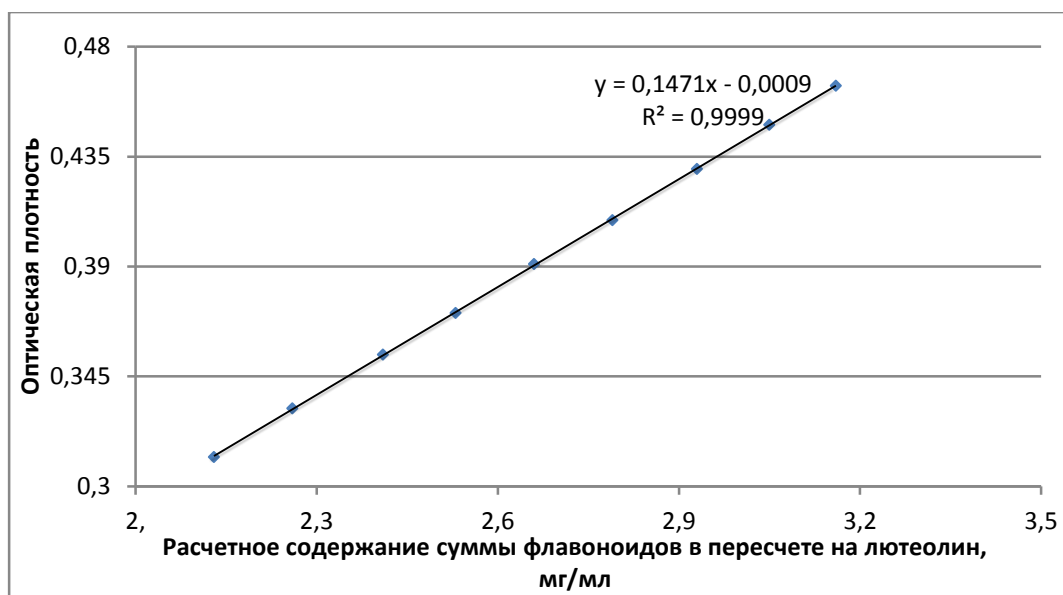


Рисунок 4.6. - График линейной зависимости между оптической плотностью и содержанием суммы флавоноидов в пробе

Воспроизводимость методики проверяли на шести образцах ЖЭЛШМ. Содержание флавоноидов в ЖЭЛШМ рассчитывали в процентах методом стандарта. Полученные результаты и метрологические характеристики методики приведены в таблице 4.8.

Таблица 4.8. - Метрологические характеристики методики определения суммы флавоноидов в ЖЭЛШМ в пересчете на лютеолин $P(t,y) = 2,5706$

n	x	$x_{\text{ср}}$	S^2	S	$S_{\text{ср}}$	Δx	$\varepsilon, \%$
6	0,2563	0,2582	$5,13 \cdot 10^{-6}$	0,0023	0,0009	0,0058	2,25
	0,2551						
	0,2577						
	0,2603						
	0,2592						
	0,2608						

Таким образом, в ходе проведенного исследования изучены валидационные характеристики разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов: специфичность, линейность, правильность и прецизионность, что позволяет сделать вывод о ее корректности и включить методики контроля качества на жидкий экстракт листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане.

Разработана спецификация на ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане (таблица 4.9), разработаны методики контроля качества ЖЭЛШМ (приложение 1) и изучена стабильность ЖЭЛШМ при хранении (таблице 4.10) на основании которых был установлен срок годности 2 года.

Таблица 4.9. - Спецификация качества на жидкий экстракт листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Показатель качества	Норма отклонений	Метод испытаний
Описание	Жидкость тёмно-коричневого цвета с характерным запахом.	Органолептически
Относительная плотность	От 0.950 г/см ³ до 0.975 г/см ³	ГФУ, т. 1, 2.2.5
Тяжелые металлы	Не более 0,01% (100 ppm)	ГФУ, т. 1, 2.4.8, <i>метод А</i>
Содержание метанола и 2-пропанола	Не более 0,05% (об/об) Не более 0,05% (об/об)	ГФУ, т. 1, 2.9.11
Содержание этанола	Не менее 41%	ГФУ, т. 1, 2.9.10 ^N , <i>пикнометрический метод</i>
Сухой остаток	Не более 10,0%	ГФУ, т. 1, 2.8.16
Идентификация: терпеноиды	На хроматограмме исследуемого раствора должна наблюдаться зона на уровне зоны СО цинеола	ГФУ, т. 1, 2.2.27, Тонкослойная хроматография
флавоноиды	На хроматограмме исследуемого раствора должны наблюдаться зоны на уровне зон СО рутина и СО кверцетина	ГФУ, т. 1, 2.2.27, Тонкослойная хроматография

Продолжение таблицы 4.9

<p>Микробиологическая чистота</p>	<p>Препарат должен соответствовать ГФУ 2.4, 5.1.8</p> <p>В 1 г субстанции допускается наличие не более:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 10⁴ КОЕ (колониеобразующих единиц) общего числа аэробных микроорганизмов (ТАМС), - 10² КОЕ общего числа дрожжевых и плесневых грибов (ТУМС), - 10² КОЕ толерантных к желчи грамотрицательных бактерий. <p>Не допускается наличие:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Escherichia coli</i> в 1 г субстанции, - <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г субстанции, - <i>Salmonella</i> в 25 г субстанции. 	<p>ГФУ 2.0, т. 1, 2.6.12, 2.6.13</p>
<p>Количественное определение:</p> <p>-эфирного масла</p> <p>-флавоноидов</p>	<p>Не менее 0,10 %</p> <p>Не менее 0,25 %</p>	<p>ГФУ, т. 1, 2.8.12, Метод I Перегонка с водяным паром,</p> <p>ГФУ, т. 1, 2.2.25, Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра</p>
<p>Объем содержимого упаковки</p>	<p>Объем содержимого должен быть не менее 50 мл</p>	<p>В соответствии с МКК</p>
<p>Срок хранения</p>	<p>2 года</p>	<p>В соответствии с МКК</p>
<p>Основное фармакологическое действие</p>	<p>Противовоспалительное, антимикробное наружное средство</p>	

Таблица 4.10. - Результаты анализа ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане при хранении

Номер серии	Дата анализа и пере-контроля	Описание	Идентификация		Относительная плотность	Содержание этанола	Содержание метанола и 2-пропанола	Тяжелые металлы	Сухой остаток	Объем содержимого флакона	Микробиологическая чистота	Количественное содержание в 1 мл ЖЭЛШМ		Срок хранения	Вывод
			Терпеноиды	Флавоноиды								Эфирное масло	Флавоноиды		
Требования проекта МКК	Жидкость тёмно-коричневого цвета с характерным запахом.	На хроматограмме исследуемого раствора должна наблюдаться зона на уровне зоны СО цинеола	На хроматограмме исследуемого раствора должны наблюдаться зоны на уровне зон СО рутина и СО кверцетина	От 0.950 г/см ³ до 0.975 г/см ³	Не менее 41%	Не более 0,05% (об/об) Не более 0,05% (об/об)	Не более 0,01% (100 ppm)	Не более 10,0%	От 99,1 мл до 109,0 мл	ТАМС ≤10 ⁴ КОЕ/г. ТУМС ≤ 10 ² КОЕ/г. Отсутствие Staphylococcus aureus и Escherichia coli в 1 г и Salmonella в 25 г субстанции.	Не менее 0,10 %	Не менее 0,25 %	2 года		
011019	20.10.19 25.04.20 27.10.20 20.04.21 24.10.21 25.01.22	Соответ-т "- "- "- "- "-	Положит-на "- "- "- "- "-	Положит-на "- "- "- "- "-	Соответ-т "- "- "- "- "-	Соответ-т "- "- "- "- "-	Соответ-т "- "- "- "- "-	Соотве-т-т "- "- "- "- "-	Соотв-ет-т "- "- "- "- "-	Соответ-т "- "- "- "- "-	Соответ-т "- "- "- "- "-	Соответ-т "- "- "- "- "-	Соответ-т "- "- "- "- "-	- 6 мес. 1 год 1 г 6 м 2 года 2 г 3 м	Пригодн. "- "- "- "- "-

Продолжение таблицы 4.10

021019	20.10.19	Соответ-т	Положительн	Положительн	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	Соотве	Соотв	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	-	Пригодн.	
	25.04.20	„-“	а	а	„-“	„-“	„-“	т-т	ет-т	„-“	„-“	„-“	„-“	6 мес.		„-“
	27.10.20	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	1 год		„-“
	20.04.21	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	1 г 6 м		„-“
	24.10.21	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	2 года		„-“
	25.01.22	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	2 г 3 м		„-“
031019	20.10.19	Соответ-т	Положительн	Положительн	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	Соотве	Соотв	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	-	Пригодн.	
	25.04.20	„-“	а	а	„-“	„-“	„-“	т-т	ет-т	„-“	„-“	„-“	„-“	6 мес.		„-“
	27.10.20	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	1 год		„-“
	20.04.21	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	1 г 6 м		„-“
	24.10.21	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	2 года		„-“
	25.01.22	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	2 г 3 м		„-“
041019	20.10.19	Соответ-т	Положительн	Положительн	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	Соотве	Соотв	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	-	Пригодн.	
	25.04.20	„-“	а	а	„-“	„-“	„-“	т-т	ет-т	„-“	„-“	„-“	„-“	6 мес.		„-“
	27.10.20	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	1 год		„-“
	20.04.21	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	1 г 6 м		„-“
	24.10.21	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	2 года		„-“
	25.01.22	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	2 г 3 м		„-“
051019	20.10.19	Соответ-т	Положительн	Положительн	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	Соотве	Соотв	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	Соответ-т	-	Пригодн.	
	25.04.20	„-“	а	а	„-“	„-“	„-“	т-т	ет-т	„-“	„-“	„-“	„-“	6 м.		„-“
	27.10.20	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	1 год		„-“
	20.04.21	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	1 г 6 м		„-“
	24.10.21	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	2 года		„-“
	25.01.22	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	„-“	2 г 3 м		„-“

Примечание. ЖЭЛШМ произрастающего в Таджикистане хранился в стеклянных флаконах из темного стекла при температуре не выше 25 С

4.2. Обоснование методик контроля качества мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

Для внедрения новой мягкой лекарственной формы в медицинскую практику необходимым условием является разработка методик контроля качества, которые доказывают качественные и количественные составляющие действующих веществ и фармако-технологические характеристики лекарственной формы. Учитывая технологию изготовления и условия хранения мягких лекарственных форм, целесообразно стандартизировать мазь по таким показателям, как внешний вид, идентификация, микробиологическая чистота и количественное определение.

Исследованию подвергалась мягкая лекарственная форма под условным названием «Салвит» следующего *состава*:

Жидкий экстракт шалфея мускатного – 10%

Бентонит – 25%

Глицерин – 23%

Вода очищенная до 100%

При разработке методик контроля качества мази с ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане, идентификацию и количественное определение проводили на наличие веществ, отвечающих за фармакологический эффект, а именно суммы эфирных масел и флавоноидов.

Для идентификации эфирных масел и суммы флавоноидов ЖЭЛШМ в мази использовали метод тонкослойной хроматографии. Испытания проводили аналогично методикам определения эфирных масел и полифенольных соединений в ЖЭЛШМ, описанным в разделе 2.

На хроматограммах испытуемого раствора и растворов сравнения обнаруживались основные пятна на уровне пятен на хроматограмме растворов сравнения СО цинеола, соответствующие по окрашиванию (рисунке 4.7).

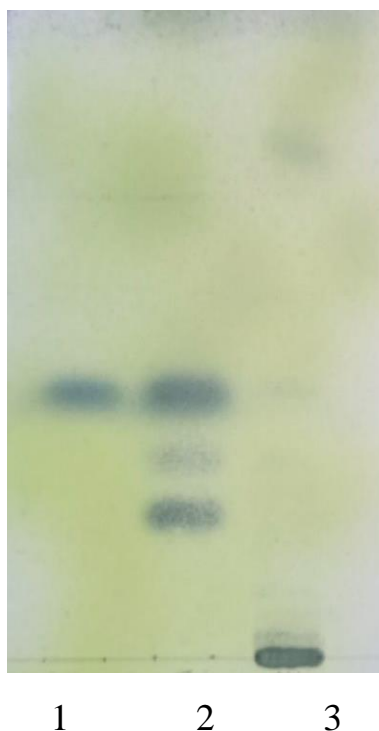


Рисунок 4.7. - Хроматограмма определения веществ терпеноидного строения в мази Салвит

На хроматограммах раствора сравнения и испытуемого раствора обнаружены зоны, которые по положению и окрашиванию соответствуют зонам растворов сравнения СО лютеолина, СО гиперозида и СО кофейной кислоты, что свидетельствует о суммыв флавоноидов и гидроксикоричных кислот в исследуемом ЖЭЛШМ (рисунок 4.8).

Количественную оценку мази проводили методом спектрофотометрии по содержанию суммыв флавоноидов. Использовали методику определения данной группы БАВ в ЖЭЛШМ. Оценка робастности проводили путем определения факторов, влияющих на величину оптической плотности, а именно: количество вспомогательных веществ и основы лекарственного препарата. Установили, что после извлечения спиртом из мази экстракта листьев шалфея мускатного, проведения реакции с раствором алюминия хлорида в уксуснокислой среде, спектр поглощения характеризуется наличием максимума поглощения при длине волны 394 нм, который совпадает с наличием абсорбции в ЖЭЛШМ, полученной аналогичным способом (рисунок 4.8).

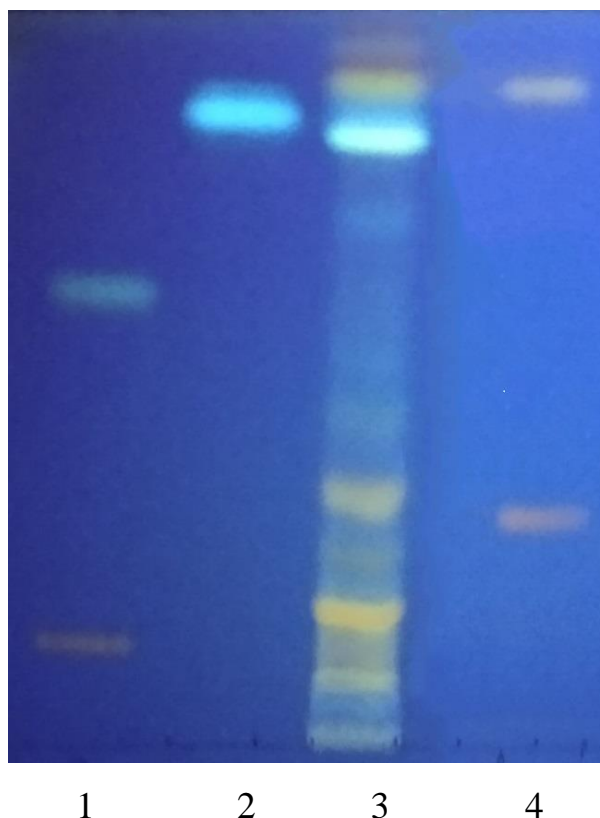


Рисунок 4.8. - Хроматограмма веществ флавоноидной природы в мази Салвит

Специфичность устанавливали путем сравнения результатов, полученных с использованием аналитической методики для определения суммы флавоноидов в образце мази (модельная смесь), со стандартным образцом и плацебо (рисунок 4.9).

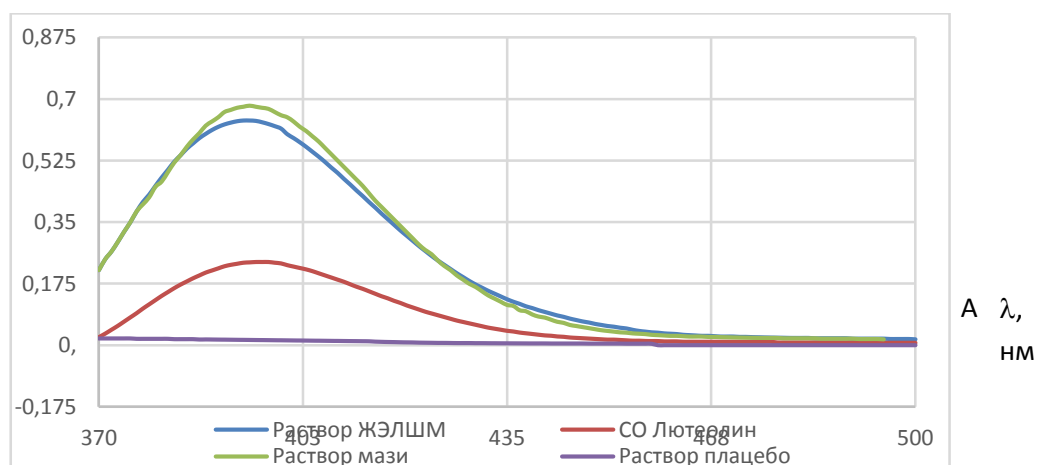


Рисунок 4.9. - Спектры продуктов реакции с реактивом алюминия хлорида: 1 – спиртового извлечения из мази; 2 – ЖЭЛШМ; 3 – СО лютеолина; 4- плацебо

Оптическая плотность плацебо составляет 0,002. Таким образом, влияние плацебо составляет:

$$\frac{A_{\text{плацебо}}}{A_{\text{stand.}}} = \frac{0,002}{0,397} \times 100 = 0,50\%$$

Выполняется соотношение: $\frac{A_{\text{blank}}}{A_{\text{st}}} \cdot 100 = 0,50\% \leq 0,51\%$

Для подтверждения корректности предлагаемой методики при воспроизведении в другой лаборатории рассчитывали прогноз полной неопределенности результатов анализа согласно требованиям ГФУ [ГФУ, т.1].

Прогнозируемую полную неопределенность результатов анализа проводили в сравнении для допусков содержания биологически активных веществ в мази $\pm 5\%$ ($\max \Delta_{As} \leq 1,60\%$). Полную прогнозируемую неопределенность рассчитывали, как корень квадратный из суммы квадратов неопределенности пробоподготовки и конечной аналитической операции по формуле:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2}$$

Неопределенность конечной аналитической операции в спектрофотометрии зависит от неопределенности оптической плотности и находится по соотношению:

$$\Delta_{FAO} = 1,65 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot s^2}{3}} = 0,70\%, \text{ где } s=0,52\%$$

Неопределенность пробоподготовки рассчитывали исходя из расчетной формулы методики анализа и используя подход к предельным неопределенностям мерной посуды, приведенным в ГФУ (таблица 4.11) [ГФУ, т.1]:

$$x = \frac{A \cdot m_o \cdot V_2 \cdot V_4 \cdot V_6 \cdot 100}{A_o \cdot m \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot V_5}$$

Такое распределение составляющих неопределенности пробоподготовки приводит к получению следующего результата:

$$\begin{aligned} \Delta_{sp} &= \sqrt{\sum_i \Delta_{sp}^2} = \sqrt{0,2^2 + 0,12^2 + 0,61^2 + 0,23^2 + 0,004^2 + 0,23^2 + 0,37^2 + 0,23^2} \\ &= 0,85\% \end{aligned}$$

Рассчитанная суммарная полная неопределенность методики анализа составляет:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} = \sqrt{0,85^2 + 0,70^2} = 1,10\% \leq \max \Delta_{As} = 1,60\%$$

Таблица 4.11. - Расчет неопределенности пробоподготовки количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин

Операция пробоподготовки	Параметр формулы расчета	Неопределенность
<i>Раствор сравнения</i>		
1. Взятие навески СО лютеолина	m_o	$0,2 \text{ мг}/100 \text{ мг} \cdot 100\% = 0,2\%$
2. Доведение до объема в мерной колбе 100,0 мл	100,0	0,12%
3. Взятие пипеткой объема 2,0 мл	2,0	0,61%
4. Доведение до объема в мерной колбе 25,0 мл	25,0	0,23%
<i>Испытуемый раствор</i>		
5. Взятие навески мази	m_n	$0,2 \text{ мг}/5000 \text{ мг} \cdot 100\% = 0,004\%$
6. Доведение до объема в мерной колбе 25,0 мл	25,0	0,23%
7. Взятие пипеткой объема 5,0 мл	5,0	0,37%
8. Доведение до объема в мерной колбе 25,0 мл	25,0	0,23%

Таким образом, несмотря на незначительное влияние пробоподготовки на результаты анализа ($0,85\% > 0,51\%$), полная неопределенность результатов данной методики количественного определения ($1,10\%$) не превышает критического значения ($1,60\%$), то есть методика будет давать корректные результаты в других лабораториях.

Линейность методики изучали на 9 концентрациях, равномерно изменяющихся в пределах диапазона применения методики модельного раствора и охватывающих диапазон 80% , 85% , 90% , 95% , 100% , 105% , 110% , 115% , 120% от номинальной навески. Для каждой навески измеряли оптическую плотность полученных растворов трижды с выниманием кюветы. В результате получали по 3 значения оптической плотности для каждого из 9 модельных

растворов. Рассчитывали отношение средних значений оптической плотности для каждого из 9 растворов к среднему значению оптической плотности для раствора сравнения.

Методом наименьших квадратов рассчитывали зависимость отношения оптической плотности от отношения концентраций. Результаты расчетов величин b , s_b , a , s_a , (остаточное стандартное отклонение) и r (коэффициент корреляции) представлены в таблице 4.12, а полученная в нормализованных координатах прямая – на рисунке 4.10.

Таблица 4.12. - Метрологические характеристики линейной зависимости суммы флавоноидов в мази

Наименование величины	Значение	Критерий	Вывод (соответствует или нет)
b	0,9911	-	-
s_b	0,0089	-	-
a	0,7177	1) $\leq 1,8595 * s_a$; 2) если не выполняется 1), то $\leq 1,60$	соответствует
s_a	0,9009	-	-
r	0,9997	$\geq 0,9981$	соответствует

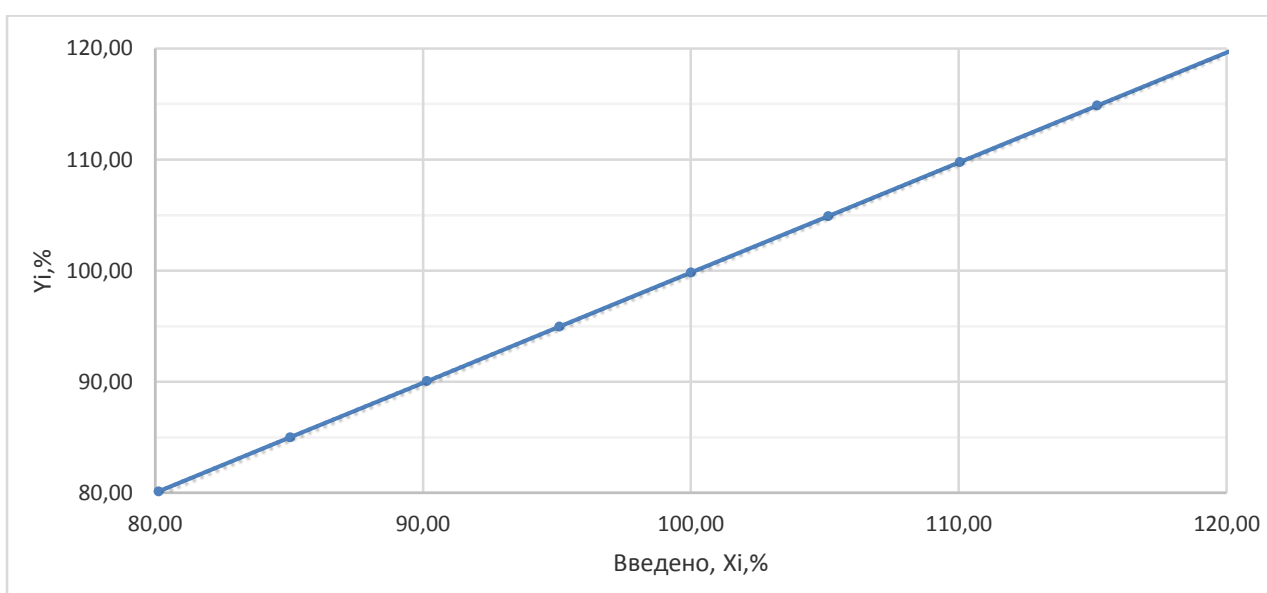


Рисунок 4.10. - Линейная зависимость оптической плотности от концентрации суммы флавоноидов в нормализованных координатах

Правильность и прецизионность методики устанавливали по результатам, полученных при изучении линейности. Установили, что методика анализа характеризуется достаточной сходимостью и правильностью во всем диапазоне концентраций от 80 до 120% (таблица 4.13).

Таблица 4.13. - Результаты анализа модельных смесей и их статистическая обработка

№ модельного раствора	Введено в % к концентрации раствора сравнения (X _{факт} %)	Оптическая плотность A _i (A _{ст} =0,397)	Найдено в % к концентрации раствора сравнения (Y _i %)	Найдено в % к введенному Z _i =100(Y _i /X _i)
1	80,13	0,326	80,11	99,97
2	85,04	0,344	84,53	99,40
3	90,15	0,367	90,18	100,03
4	95,10	0,388	95,34	100,26
5	100,01	0,407	100,01	100,00
6	105,13	0,426	104,68	99,57
7	110,05	0,448	110,08	100,04
8	115,17	0,469	115,17	100,00
9	120,08	0,485	119,18	99,24
среднее Z%				99,83
относительное стандартное отклонение, Sz%				0,34
относительный доверительный интервал Δ _{As} % = t(95%,8)* Sz				0,65
критическое значение для сходимости результатов Δ _{As} %				1,60
систематическая ошибка δ				0,17
критерий неопределенности систематической ошибки				0,51
общий вывод о методике				корректная

Как видно из данных таблицы 4.13, методика является прецизионной, так как найденное значение относительного доверительного интервала меньше критического значения для сходимости результатов: Δ_{As} % = 0,65 ≤ 1,60 (систематическая погрешность методики существенно меньше регламентированных допусков содержимого). Выполняется критерий

незначимости систематической погрешности $\delta \leq 0,17$, следовательно, методика верна.

Воспроизводимость методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в мази Салвит проверяли на шести исследуемых образцах. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в мази рассчитывали в процентах методом стандарта. Полученные результаты и метрологические характеристики метода приведены в таблице 4.14.

Таблица 4.14. - Метрологические характеристики методики определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в мази Салвит $P(t, \nu) = 2,5706$

n	x	\bar{x}	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	Δx	$\varepsilon, \%$
6	0,0265	0,0262	$1,20 \cdot 10^{-7}$	0,0003	0,0001	0,0009	3,42
	0,0258						
	0,0261						
	0,0263						
	0,0259						
	0,0267						

Таким образом, стандартизировать мазь Салвит рекомендовано по количественному содержанию суммы флавоноидов методом спектрофотометрии методом стандарта. Изучены такие валидационные характеристики методики, как специфичность, линейность ($a = 0,72 \leq 1,60$; $r = 0,9997 \geq 0,9981$), прецизионность и правильность ($\Delta A_s \% = 0,65 \leq 1,60\%$; $\delta = 0,17 \leq 0,51\%$). Изучение валидационных характеристик свидетельствует о возможности применения методики для изучения стабильности и стандартизации лекарственного препарата.

На основании полученных результатов анализа была разработана спецификация на мазь Салвит, произрастающего в Таджикистане (таблица 4. 15), разработаны методики контроля качества мази Салвит (приложение 2) и изучена стабильность препарата при хранении (таблица 4.16) на основании результатов которых установлен срок годности 2 года.

Таблица 4.15. - Спецификация качества на препарат Салвит, мазь для наружного применения

Показатель качества	Норма отклонений	Метод испытаний
Описание	Мазь светло коричневого цвета	Визуально
Однородность	Мазь должна быть однородной	ГФУ2001, с. 511, визуально
Идентификация: терпеноиды	На хроматограмме исследуемого раствора должна наблюдаться зона на уровне зоны СО цинеола	ГФУ, т. 1, 2.2.27, Тонкослойная хроматография
флавоноиды	На хроматограмме исследуемого раствора должны наблюдаться зоны на уровне зон СО лютеолина, СО гиперозида и СО хлорогеновой кислоты	ГФУ, т. 1, 2.2.27, Тонкослойная хроматография
pH	От 6,0 до 7,0	ГФУ I изд., 2.2.3, потенциметрически
Масса содержимого упаковки	Масса содержимого каждой тубы должен быть от 14,40 г до 15,60 г. Средняя масса содержимого десяти туб должна быть от 14,80 г до 15,20 г.	весовой метод
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать ГФУ 2.4, 5.1.4 В 1 г субстанции допускается наличие не более: - 10 ² КОЕ (колониеобразующих единиц) общего числа аэробных микроорганизмов (ТАМС), - 10 ¹ КОЕ общего числа дрожжевых и плесневых грибов (ТУМС). Не допускается наличие <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Не допускается наличие <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г.	ГФУ 2.0, т. 1, 2.6.12, 2.6.13
Количественное определение: флавоноидов	Не менее 0,025 %	ГФУ, т. 1, 2.2.25, Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра
Хранение	При температуре не выше 25 °С	В соответствии с МКК
Срок годности	2 года	В соответствии с МКК
Основное фармакологическое действие	Противовоспалительное, антимикробное, ранозаживляющее	

Таблица 4.16. - Результаты анализа мази Салвит при хранении

Номер серии	Дата анализа и переконтроля	Описание	Идентификация		Однородность	Масса содержимого тубы	Микробиологическая чистота	Количественное содержание в 1 г мази	Срок хранения	Выводы
			терпеноиды	флавоноиды						
Требования проекта МКК		Мазь светло-коричневого цвета мази подобной консистенции	На хроматограмме исследуемого раствора должна наблюдаться зона на уровне зоны СО цинеола	На хроматограмме исследуемого раствора должны наблюдаться зоны на уровне зон СО лютеолина, СО гиперозида и СО хлорогеновой кислоты	Мазь должна быть однородной	От 14,4 г до 15,6 г	ТАМС ≤10 ² КОЕ/г. ТУМС ≤10 ¹ КОЕ/г. Отсутствие <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г препарата.	Не менее 0,025 %	2 года	
15012 0	20.01.20	Соответст-т	Положит-а	Положит-а	Соответст-т	Соответст-т	10 бактерий, менее 10 грибов; отсутствие <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i>	Соответст-т	-	Пригодн . - - - - -
	15.06.20	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	6 мес.	
	18.01.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 год	
	22.06.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 г 6 м	
	24.01.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 года	
	25.06.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 г 3 м	
16012 0	20.01.20	Соответст-т	Положит-а	Положит-а	Соответствут	Соответствует	20 бактерий, менее 10 грибов; отсутствие <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i>	Соответст-т	-	Пригодн . - - - - -
	15.06.20	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	6 мес.	
	18.01.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 год	
	22.06.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 г 6 м	
	24.01.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 года	
	25.06.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 г 3 м	
17012 0	20.01.20	Соответст-т	Положит-а	Положит-а	Соответст-т	Соответствует	10 бактерий, менее 10 грибов; отсутствие <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i>	Соответст-т	-	Пригодн . - - - - -
	15.06.20	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	6 мес.	
	18.01.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 год	
	22.06.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 г 6 м	
	24.01.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 года	
	25.06.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 г 3 м	
18012 0	20.01.20	Соответст-т	Положит-а	Положит-а	Соответст-т	Соответствует	10 бактерий, менее 10 грибов; отсутствие <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i>	Соответст-т	-	Пригодн . - - - - -
	15.06.20	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	6 мес.	
	18.01.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 год	
	22.06.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 г 6 м	
	24.01.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 года	
	25.06.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 г 3 м	
19012 0	20.01.20	Соответст-т	Положит-а	Положит-а	Соответст-т	Соответствует	15 бактерий, менее 10 грибов; отсутствие <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i>	Соответст-т	-	Пригодн . - - - - -
	15.06.20	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	6 м.	
	18.01.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 год	
	22.06.21	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	1 г 6 м	
	24.01.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 года	
	25.06.22	-"-	-"-	-"-	-"-	-"-		-"-	2 г 3 м	

Примечание. Препарат Салвит хранился в тубах алюминиевых для медицинских целей, с мембраной и с латексным кольцом по при температуре не выше 25 °С.

Глава 5. Исследование биологической активности мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане

5.1. Изучение ранозаживляющего (репаративного) действия мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного

Исследование фармакологического действия мази Салвит было проведено на экспериментальной модели трафаретных ран. Изучение ранозаживляющего действия мази с жидким экстрактом шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане на модели полнослойных трафаретных ран [120] позволяет в короткий срок оценить влияние средства на скорость формирования грануляционной ткани и эпителизации раны [45].

Исследования были проведены на крысах. Животные содержались в виварии в соответствии с действующими правилами по устройствам, оборудованию и содержанию вивариев. Животные получали стандартное питание в соответствии с действующими нормами [41,111]. С животными обращались согласно требованиям «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986 г.) [23,50].

Перед проведением эксперимента животные прошли акклиматизацию в течение 7 суток. В течение периода акклиматизации проводили ежедневное наблюдение за животными для выявления возможных случаев заболеваемости и смертности [28].

Опыты проведены на 18 крысах самках массой 180-200 г. Раны наносили крысам на предварительно депилированные участки кожи в области лопаток по трафарету 1,0×1,0 см с помощью ножниц и пинцета в модификации Л.В. Яковлевой и соавт. [93]. Операцию проводили под наркозом (тиопентал натрия в дозе 38 мг/кг, внутривенно). После операции сразу накладывали марлевую салфетку с 3% перекисью водорода на открытую раневую поверхность. Первичная площадь раны составила 100,0 мм².

Всех прооперированных животных разделили на группы по 6 особей в каждой: 1 – контрольная патология (КП), животным второй группы на раневую поверхность наносили исследуемую мазь Салвит, животным третьей группы – препарат сравнения мазь календулы (производства ЧАО Фармацевтическая фабрика «Виола», Украина, состав: настойки календулы 10 г/100 г эмульсии вода/вазелин) с выраженными антисептическими, противовоспалительными и репаративными свойствами [37]. Исследуемые мази наносили тонким слоем на прилегающие к ране участки 1 раз в сутки (доза 1,5 г/кг) [29,120] до полного выздоровления. Лечение исследуемыми препаратами начинали через 2 часа после операции и в дальнейшем один раз в сутки до полного заживления ран.

Эффективность исследуемых объектов оценивали по планиметрическим показателям: измеряли площадь ран на 5, 8, 10 и 12 сутки и рассчитывали скорость заживления ран (V) по формуле:

$$V = S_{\text{заж.}} / n, \text{ где}$$

$S_{\text{заж.}}$ – площадь заживления ($S_{\text{заж.}} = S_{\text{исход.}} - S_t$),

n – количество суток лечения.

Оценку интенсивности репаративных процессов (ИРП) в ране проводили в динамике с использованием площади ран по формуле:

$$\text{ИРП, \%} = (S_{\text{max}} - S_t) / S_{\text{max.}} \cdot 100\%, \text{ где}$$

$S_{\text{max.}}$ – площадь раны сразу после моделирования,

S_t – площадь раны в день измерения, мм².

Результаты. Анализ полученных результатов показал, что раны у животных группы КП через 5, 8, 10 и 12 дней заживали со скоростью 0,93; 1,77; 2,13 и 2,61 мм²/сутки соответственно. Интенсивность репаративных процессов (ИРП) относительно исходных данных в динамике увеличивалась на 5, 14, 21 и 31%. Полное заживление ран зафиксировано на 18 день (таблице 5.1).

Установлено, что после моделирования полнослойных трафаретных ран у животных, которым наносили мазь Салвит и мазь календулы, наблюдали улучшение состояния раневой поверхности: края раны и собственно рана были чистыми, аккуратными, площадь ран была меньше, чем у животных с группы

контрольной патологии.

Активно процесс эпителизации и рубцевания происходил у животных, леченных мазью Салвит. В первые 5 суток скорость заживления ран в 6,0 раз превышала группу КП ($p < 0,05$), ИРП составила 28%. В последующие сроки наблюдения скорость, с которой уменьшалась площадь ран в 3-3,5 раза достоверно превышала скорость заживления в группе КП. На 8-й день ИРП превосходила исходные данные на 50%, на 10 день – на 74%, на 12-й день – на 94%. Полное заживление зафиксировано на 13-й день опыта.

У животных, леченных мазью календулы, на 5-й день площадь ран достоверно уменьшилась на 16% относительно исходных данных; на 8-й день наблюдали уменьшение ран на 27%, на 10 и 12 день – на 63 и 79% соответственно. Скорость эпителизации в группе животных, леченных мазью календулы, превосходила группу КП в 2-3,3 раза ($p < 0,05$). Полное заживление ран в данной группе животных произошло на 15-й день эксперимента.

Анализ исследуемых планиметрических показателей у крыс с трафаретными ранами показал, что к одиннадцатым суткам наблюдения при нанесении новой исследуемой мази Салвит значительно уменьшалась площадь раневой поверхности по сравнению с аналогичным показателем в группе контрольной патологии (таблице 5.1), а средняя скорость заживления ран под действием новой исследуемой мази была достоверно выше по сравнению со скоростью заживления ран под действием препарата сравнения мази календулы.

Таблица 5.1. - Динамика планиметрических показателей у крыс с трафаретными ранами при лечении мазью Салвит в сравнении с мазью календулы, ($M \pm m$), $n=6$

Срок наблюдения	Экспериментальные группы					
	Контрольная патология		Мазь Салвит с ЖЭЛШМ		Мазь календулы	
	S, мм ²	V, мм ² /сутки	S, мм ²	V, мм ² /сутки	S, мм ²	V, мм ² /сутки
5 сутки	95,33 (92÷99)	0,93 (0,20÷1,60)	72,17 (65÷86) */**	5,57 (2,8÷7,0)*/**	84,50 (79÷91)*	3,10 (1,8÷4,2)*
ИРП, %	5 %	-	28 %	-	16 %	-

Продолжение таблицы 5.1

8 сутки	85,83 (79÷90)	1,77 (1,25÷2,63)	50,33 (42÷63)*/**	6,21 (4,63÷7,25)*/ **	72,67 (66÷81)*	3,42 (2,38÷4,25)*
ИРП, %	14	-	50	-	27	-
10 сутки	78,67 (66÷86)	2,13 (1,40÷3,40)	26,17 (17÷35)*/**	7,38 (7,50÷8,30)*/ **	37,17 (31÷46)*	6,28 (5,40÷6,90)*
ИРП, %	21	-	74	-	63	-
12 сутки	68,67 (58÷77)	2,61 (1,92÷3,50)	6,50 (0÷13)*/**	7,79 (7,25÷8,33)*/ **	20,67 (13÷36)*	6,61 (5,33÷7,25)*
ИРП, %	31	-	94	-	79	-
Полное заживление	18 сутки	-	13 сутки	-	15 сутки	-

Примечание: 1. * – отличия статистически значимые по отношению к группе КП, $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни); 2. ** – отличия статистически значимые по отношению к группе животных, леченных мазью Календулы, $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни); 3. n – количество животных в каждой группе; 4. S – площадь ран, мм²; 5. V – скорость заживления ран, мм²/сутки, 5. ИРП – интенсивность репаративных процессов, %.

Таким образом, на модели трафаретных ран у крыс установлено выраженное репаративное (ранозаживляющее) действие новой исследуемой мази Салвит; ежедневное накожное использование новой исследуемой мази в течение 12 дней приводило к полному заживлению трафаретных ран у крыс; на модели трафаретных ран новая исследуемая мазь Салвит значительно превосходит по эффективности мазь календулы.

5.2. Исследование антимикробной активности мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного

Антибактериальную активность мази Салвит проводили в условия *in vitro* методом диффузии в агар (метод «колодцев») [59]. Данный метод основан на способности активнодействующих веществ диффундировать в агар, который предварительно засеян культурами микроорганизмов. В качестве тест-культур

использовали чистые культуры из Американской коллекции культур (АТСС): грамположительные микроорганизмы *Staphylococcus aureus* АТСС 25293; споровую культуру *Bacillus subtilis* АТСС 6633 и грамотрицательную культуру *Escherichia coli* АТСС 25922. Антифунгальную активность определяли по отношению к дрожжеподобному грибу рода кандиды *Candida albicans* АТСС 885-621 53.

Показателем антимикробной активности является размер зоны задержки роста тест-микроорганизмов, которая образуется в агаризованной питательной среде на чашках Петри. Диаметр зон задержки роста с учетом диаметра лунки измеряли с точностью до 1 мм, при этом ориентировались на полное отсутствие видимого роста.

В результате проведения исследований по изучению антимикробной активности образцов мазей в отношении разных культур микроорганизмов были получены следующие данные (таблица 5.2).

Таблица 5.2. - Данные микробиологической активности

Образец	Культура микроорганизмов			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
	Диаметр зоны задержки роста микроорганизмов, мм			
Основа	-	-	-	-
Мазь Салвит	19,2±0,7	19,6±0,5	19,2±0,4	-
Мазь календула	18,0±0,4	17,8±0,8	17,8±0,6	-
Мазь с феноловым гидрофобным препаратом прополиса	18,6±0,3	18,7±0,4	17,9±0,5	-
p	<0,05	<0,05	<0,05	

Примечание: p – статистическая значимость различия показателей между образцами (по Н-критерию Крускала-Уоллиса); * - «-» - зона задержки роста микроорганизма отсутствует

Микробиологические исследования подтвердили высокий уровень антимикробной активности мази Салвит в отношении тест культур *Staphylococcus aureus* (диаметр задержки роста микроорганизмов - 19,2±0,7 мм), *Bacillus subtilis* (19,6±0,5 мм) и *Escherichia coli* (19,2±0,4 мм). Как видно из таблице 5.2, зоны задержки роста всех трех штаммов микроорганизмов при

использовании мази Салвит превосходят известный аналог – мазь «Календулы» на 8%.

Как видно таблице 5.2, зоны задержки роста всех трех штаммов микроорганизмов при использовании мази Салвит с ЖЭЛШМ превосходят известных аналогов – мази «Календулы» и «ФГПП». Диаметр зоны задержки роста штамма *S. aureus* при использовании мази Салвит составляет $19,2 \pm 0,7$ мм., что на 7 % и 4% больше, чем при использовании аналогов.

Зона задержки роста *B. subtilis* при использовании мази Салвит составляет $19, \pm 0,5$, что на 9 % и 5 % соответственно превосходить указанных штампов.

Исследуемый показатель для *E. coli* составляет $19,2 \pm 0,4$ мм. Зона задержки *E. coli* при использовании мази «Календулы» составляет $17,8 \pm 0,6$ мм и при использовании мазь с феноловым гидрофобным препаратом прополиса $17,9 \pm 0,5$ мм. Преимущества заявленного состава по сравнению с аналогами составляет 8 % и 7,5 % соответственно.

5.3. Изучение биологической безвредности мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного

5.3.1. Изучение острой токсичности мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного

Целью работы явилось изучение параметров острой и хронической токсичности мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного на лабораторных крысах (самцы, самки) при кожном нанесении. В задачи исследования входило: установить среднелетальные дозы мази, оценить выраженность ее токсического действия, переносимость при однократном кожном нанесении, зарегистрировать сроки развития интоксикации и гибели животных с подробным описанием наблюдаемой клинической картины, определить класс токсичности.

Исследования проводили на 24 белых беспородных крысах (самцах и самках) массой 180–200 г. Возраст животных на момент начала эксперимента составил 3,5-4 месяца. Животные содержались в виварии в соответствии с

«Принципами надлежащей лабораторной практики» [23,50,93].

Исследования проводили с соблюдением правил "Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей" (Страсбург, 1986 г.) [23].

Действие мази Салвит на организм экспериментальных животных оценивали в динамике в течение 2 недель. Определяли массу тела (исходное состояние, на 3, 7 и 14 сутки), оценивали общее состояние животных после нанесения мази (внешний вид, дыхание, слюноотделение, мочеиспускание и дефекация) [24,29]. Наблюдали за выживанием и клиническими признаками, по состоянию кожи (эритема, некроз, струп, отек) в течение 14 суток. После окончания эксперимента всех крыс, выживших после нанесения токсической дозы мази, выводили из эксперимента путем декапитации под легким хлороформным наркозом и проводили макроскопический осмотр внутренних органов (печени, сердца, легких, почек, надпочечников, тимуса, семенников, селезенки), определяли абсолютную и относительную массу (коэффициент массы) внутренних органов (КМ,%), последнюю рассчитывали по формуле: $КМ = (\text{масса органа} / \text{масса животного}) \times 100\%$.

Всех животных распределяли на 2 группы по 12 в каждой (6 самцов, 6 самок): первая – интактная группа, вторая – группа животных, которым наносили мазь в дозе 22610 мг/кг (доза, которая соответствует 6 классу токсичности [36]). Группы были сформированы методом рандомизации случайного отбора с использованием массы тела, как главного признака (отклонение массы животных между и внутри групп не превышало $\pm 10\%$).

Мазь наносили тонким слоем на выстриженный участок кожи животным в дозе 22610 мг/кг в два приема. Промежуток между нанесениями составлял 3 часа. Доступ животных к воде был свободен, кормили – сразу после нанесения мази, с целью предотвращения/предупреждения слизывания с кожи [56].

Результаты полученных данных обработаны статистически с расчетом средних значений и их стандартных ошибок ($M \pm m$) или максимального и минимального значений ($M (M_{min} \div M_{max})$). Для оценки межгрупповых различий

применены параметрические методы анализа (однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, критерий Ньюмена-Кейлса) и непараметрические методы анализа (критерий Крускала-Уоллиса, Манна-Уитни) в соответствии с характером распределения. Принят уровень значимости $p < 0,05$ [36,41]. Использован стандартный пакет программ STATISTICA 6.

Как показали проведенные исследования нанесение мази Салвит в дозе 22610 мг/кг не вызывает у опытных животных признаков интоксикации и летальности. Шерсть крыс имела опрятный вид, была блестящей, без очагов облысения. Аппетит у животных был удовлетворительным. Кожа и подкожная клетчатка в месте нанесения мази изменений не представляли, кожа в местах нанесения мази оставалась без раздражений и отеков. Ежедневные наблюдения за животными экспериментальных групп свидетельствуют о том, что они были активными, опрятными, имели удовлетворительный аппетит, нормально реагировали на звуковые и световые раздражители, процессы мочеиспускания и дефекации были в норме, нарушения дыхания и судорог не наблюдали.

Таблица 5.3. - Влияние мази Салвит на массу тела (г) животных, ($M \pm m$), $n=6$

Группа животных	Динамика наблюдения, сутки				ANOVA Фридмана
	Исходное состояние	3 сутки	7 сутки	14 сутки	
самцы					
Интактная группа	211±3	215±3	228±5	235±5	<0,05
Группа животных, которым наносили мазь с экстрактом Шалфея	210±3	212±3	220±4	225±3	<0,05
p	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	
самки					
Интактная группа	163±2	170±4	175±4	183±2	<0,05
Группа животных, которым наносили мазь с экстрактом Шалфея	165±3	170±3	174±3	184±2	<0,05
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	

Примечание: p – статистическая значимость различия показателей между группами (по U-критерию Манна-Уитни)

В течение срока наблюдения животные экспериментальных групп не отличались от контрольных – имели удовлетворительный аппетит, пищу употребляли хорошо.

Оценку возможного токсического влияния мази Салвит при однократном нанесении на организм животных проводили на основе интегрального показателя физиологического состояния животных – массы тела.

В соответствии с полученными данными масса животных, как самцов, так и самок, варьировала в пределах значений группы интактного контроля (таблица 5.3).

Динамика прироста массы тела после нанесения мази как у самцов, так и у самок не отличалась от таковой в группе интактных животных, что свидетельствует об отсутствии токсического влияния исследуемой мази на общетрофические процессы в организме крыс.

Через 14 дней животные всех экспериментальных групп были выведены из эксперимента путем декапитации под легким хлороформным наркозом.

Макроскопическое исследование. Все экспериментальные животные имели анатомически правильное расположение внутренних органов, видимых изменений не обнаружено. По результатам макроскопического исследования различий между группами не установлено.

Вскрытие опытных животных не выявил структурных изменений, гемодинамических нарушений и воспалительной реакции в головном мозге, внутренних органах и тканях, а также в брюшной, грудной и окологрудной полостях.

Расчет и последующий анализ показателей массовых коэффициентов внутренних органов животных приведен в таблице 5.4. Исследование массовых коэффициентов внутренних органов в группах как самцов, так и самок крыс показало, что применение мази не повлияло на КМ внутренних органов животных. Их значения находились в пределах значений группы интактного контроля.

Таблица 5.4. - Влияние мази Салвит на относительные коэффициенты массы внутренних органов крыс, ($M (M_{min} \div M_{max})$), $n=6$

Группа животных	Коэффициент массы внутренних органов, %							
	Печень	Почки	Сердце	Легкие	Селезенка	Надпочечники	Тимус	Семенники
самцы								
Интакт	3,06 (2,55÷3,68)	0,64 (0,58÷0,75)	0,32 (0,28÷0,38)	0,57 (0,50÷0,65)	0,46 (0,37÷0,55)	0,018 (0,012÷0,026)	0,147 (0,090÷0,215)	1,31 (1,17÷1,67)
Мазь Салвит	2,98 (2,73÷3,451)	0,69 (0,62÷0,77)	0,33 (0,30÷0,364)	0,62 (0,50÷0,75)	0,43 (0,39÷0,48)	0,019 (0,016÷0,022)	0,135 (0,099÷0,153)	1,36 (1,26÷1,51)
p	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
самки								
Интакт	3,29 (3,04÷3,51)	0,75 (0,61÷0,87)	0,35 (0,31÷0,38)	0,70 (0,59÷0,80)	0,53 (0,41÷0,71)	0,038 (0,033÷0,045)	0,224 (0,1561÷0,275)	-
Мазь Салвит	3,21 (2,97÷3,45)	0,69 (0,60÷0,75)	0,34 (0,29÷0,40)	0,72 (0,56÷0,88)	0,46 (0,33÷0,571)	0,035 (0,029÷0,038)	0,1983 (0,148÷0,290)	-
p	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	

Примечание: p – статистическая значимость различия показателей между группами (по U-критерию Манна-Уитни)

Таким образом, в результате исследования установлено, что нанесение мази Салвит в максимальной дозе 22610 мг/кг, которая соответствует шестому классу токсичности, не приводит к гибели животных, не оказывает отрицательного влияния на массу животных: наблюдается положительный прирост массы тела как у самцов, так и у самок, отличия от группы интактных животных отсутствуют. Значимых отклонений КМ не установлено. Мазь Салвит можно классифицировать как «относительно безвредное» средство.

5.3.2. Изучение хронической токсичности мази Салвит с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного

Целью данной работы было изучить безвредность мази с ЖЭЛШМ при накожном нанесении крысам (самцам, самкам) с целью выявить физиологические и патологоанатомические изменения, вызванные повторным длительным применением исследуемого объекта, и для определения зависимости этих изменений от дозы препарата.

Исследование организованы и проведены в соответствии с требованиями Надлежащей лабораторной практики [16] и соответствующих методических рекомендаций [11,17]. Исследования проведены с соблюдением правил «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986 г.) [111].

Исследования проведены на беспородных половозрелых крысах. Для эксперимента использовали крыс самцов и самок с массой тела 150-180 г, возраст животных на момент начала эксперимента составил 3-3,5 месяца. В эксперименте использовано 36 крыс (18 самцы, 18 самки), которые были получены из вивария.

После акклиматизации животных разделили на группы методом рандомизации случайного отбора с использованием массы тела, как главного признака (отклонение массы животных между и внутри групп не превышало $\pm 10\%$). Дизайн исследования приведен в таблице 5.5.

Таблица 5.5. - Дизайн исследования

Группа животных	Доза, мг/кг	Количество животных в группе	
		самцы	самки
Интактный контроль (ИК)	-	6	6
Мазь Салвит	1500	6	6
Мазь Салвит	2800	6	6

Хроническую токсичность мази Салвит изучали при накожном нанесении лабораторным животным, как предусмотрено применением в клинической практике и в соответствии с требованиями методических рекомендаций при его доклиническом исследовании.

Оптимальное количество нанесения мази определено экспериментальным путем и составляет 10 мг/см^2 для крыс. Площадь для аппликаций должна составлять не менее 10% общей поверхности тела, которая рассчитывается исходя из массы животного [50]. Для крысы массой 200 г (общая площадь поверхности тела 304 см^2) площадь нанесения мази составляет $\sim 31 \text{ см}^2$, на которую нужно нанести мазь в количестве 310 мг ($31 \text{ см}^2 \times 10 \text{ мг/см}^2 = 310 \text{ мг}$). Расчет на 1 кг массы крыс: $310 \text{ мг} \times 1000 \text{ г} / 200 \text{ г} \text{ животное} = 1550 \text{ мг/кг}$ или 1500 мг/кг. Эта доза принята за условно-терапевтическую (УТД). Мазь в дозе 1500 мг/кг наносили ежедневно один раз в сутки в течение 30 дней.

По условиям проведения токсикологических исследований максимальная доза должна составлять 10 УТД. Для гелей/мазей это технически невыполнима процедура. Авторы [29,46,93] предлагают, что максимальная доза не может превышать дозу IV класса токсичности, т.е. 2810 мг/кг. Таким образом была выбрана максимальная доза 2800 мг/кг. Чтобы не вызывать у животных большого стресса относительно нанесения мази на площадь 19%, что соответствует 58 см^2 для крысы массой 200 г, нами была использована следующая схема – исследуемую мазь наносили ежедневно дважды в сутки по 1400 мг/кг с интервалом 3 часа в течение 30 дней.

Продолжительность нанесения мази составила 30 дней (1 месяц), что обосновано предполагаемой длительностью применения в клинической практике (7 дней) [50].

Оценку токсического действия мази проводили в конце эксперимента на основании изменений показателей, характеризующих состояние периферической крови, функциональное состояние печени, почек, центральной нервной системы (ЦНС) и сердечно-сосудистой систем (ССС). Состояние общетрофических процессов в организме животных оценивали по динамике массы тела животных и относительной массе их внутренних органов (коэффициентов массы (КМ) [50]

В течение всего периода эксперимента ежедневно наблюдали за реакцией кожи в местах нанесения мази. Местнораздражающее действие оценивали в

баллах по таким клиническим признакам: наличие эритемы, некроза, струпьев, отека [50].

Регистрацию массы тела животных проводили в динамике: исходное состояние, 7, 14, 21 и 30 день. Оценку влияния исследуемого средства на состояние ЦНС крыс проводили с использованием метода «открытого поля» в конце срока нанесения (30 дней) [54].

Электрокардиограмму (ЭКГ) регистрировали у животных в состоянии легкого хлороформного наркоза во II стандартном отведении [54]. Анализировали продолжительность интервалов RR, PQ, QRS и QT, а также амплитуды зубцов P, R, и T; определяли частоту сердечных сокращений (ЧСС). При расшифровке электрокардиограмм учитывали следующие показатели: RR – длительность полного сердечного цикла; длительность интервала PQ, характеризующего время распространения возбуждения по предсердиям; длительность желудочкового комплекса QRS и электрической систолы желудочков – интервала Q-T; вольтаж зубцов P, T и R; рассчитывали частоту сердечных сокращений ($60/RR$, уд/мин), систолический показатель (СП, QT/RR , %), характеризующий сократительную функцию миокарда [39]. Изучение влияния мази на состояние сердечно-сосудистой системы (ССС) животных проводили в конце срока введения (30 день) с помощью электрокардиографа ЕК1Т-03 М2.

В периферической крови определяли концентрацию гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов, подсчитывали процентное соотношение различных форм лейкоцитов (лейкоцитарную формулу). Кровь у крыс брали из хвостовой вены в конце введения на 30 день. Концентрацию гемоглобина в крови определяли гемоглобинцианидным методом (набор фирмы "Филисит-Диагностика", Украина), эритроциты определяли колориметрическим методом [2], лейкоциты – в камере Горяева, подсчет лейкоцитарной формулы проводили с помощью счетчика форменных элементов СЛ-01 общепринятым методом [6], время свертывания крови – методом Альтгаузена [2].

Оценку влияния исследуемого средства на функциональное состояние

печени и метаболические процессы проводили по ряду биохимических показателей крови в конце срока наблюдения (30 дней) [50]. С помощью наборов «PLIVA-Lachema Diagnostica sro» (Чехия) измеряли активность аланин- и аспартатаминотрансферазы (АЛАТ и АсАТ) в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином; ферментативно-фотометрическими методами определяли содержание холестерина (ДДС, Россия). С помощью наборов "Филисит-Диагностика" (Украина) определяли концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом, содержание общего белка – биуретовым методом, концентрацию мочевины – уреазным методом, концентрацию креатинина – по реакции с пикриновой кислотой (метод основан на реакции Яффе).

Для оценки секреторной функции канальцев почек использовали 2,5 % нагрузку водой [6]. После внутрижелудочного введения воды (2,5 мл/100 г массы тела) крыс помещали на 3 часа в индивидуальные обменные клетки для сбора мочи. Количество мочи в мл, которое выделилось за 3 часа, рассчитывали на 100 г массы животных. Определяли реакцию мочи с помощью диагностической полоски, плотность мочи – весовым методом. В моче определяли концентрацию мочевины уреазным методом, креатинина – по реакции Яффе. Содержание мочевины и креатинина рассчитывали с учетом объема собранной мочи за 3 часа и массы тела животных (мкмоль/3 часа/100 г).

На 30-й день животных выводили из эксперимента под легким хлороформным наркозом. После этого проводили вскрытие животных [40], оценивали макроскопическое состояние внутренних органов (сердце, легкие, печень, почки, селезенка, надпочечники, семенники, тимус, кожу), определяли абсолютную массу внутренних органов (сердце, легкие, печень, почки, селезенка, надпочечники, семенники, тимус) для дальнейших расчетов коэффициентов массы (КМ) по формуле:

$$\text{КМ органа, \%} = \text{масса органа (г)} / \text{масса животного (г)} \times 100 \text{ \%}.$$

Полученные данные представляли как среднее значение и его ошибку ($M \pm m$) или минимальное и максимальное значения (M ($Min \div Max$)). Для выявления различия между экспериментальными группами использовали

однофакторный дисперсионный анализ ANOVA или тест Краскела-Уоллисса, в качестве post-hoc метода для определения различий между отдельными группами с нормальным распределением был применен тест Ньюмена-Кейлса, с ненормальным распределением – использовали критерий Манна-Уитни [41]. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для расчетов применяли стандартный пакет программ «Statistica 6.0» и MS Excel 2007 [50].

Результаты. *Влияние мази на летальность и интоксикацию крыс.* Накожное нанесения мази в дозе 1500 мг/кг и 2800 мг/кг не вызывало у подопытных животных признаков интоксикации и летальных эффектов. Не отмечалось значимых нарушений общего состояния и поведения животных, ежедневные наблюдения за животными всех экспериментальных групп свидетельствуют о том, что они были активными, подтянутыми, имели удовлетворительный аппетит, нормально реагировали на звуковые и световые раздражители, процессы мочеиспускания и дефекаций были в норме, нарушение дыхания и судорог не наблюдали. В течение всего срока наблюдения животные экспериментальных групп не отличались от контрольных.

Влияние мази на массу тела животных. После 30 дней исследования (таблица 5.6) в группе самцов интактного контроля отмечено увеличение массы тела крыс относительно исходного значения на 18%, в группах, которым наносили мазь в дозах 1500 и 2800 мг/ кг – на 15 и 17% соответственно. Результаты статистического анализа не выявили достоверных различий в отношении группы интактного контроля.

Полученные данные и их статистическая обработка в группах самок (таблица 5.6), которым наносили мазь, не выявили значимых отклонений в отношении группы ИК, прирост в которой составил 15%, в экспериментальных группах прирост колебался в пределах 14-15%.

Таким образом, исследуемые группы животных имели положительную динамику прироста массы тела относительно исходных значений как у самцов, так и у самок. Статистические отклонения относительно группы ИК

отсутствовали. Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное нанесения мази самцам и самкам не вызывает токсического воздействия на общетрофические процессы в организме животных.

Таблица 5.6. - Влияние исследуемой мази Салвит на динамику массы тела (г) крыс в течение 30 дней ($M \pm m$), $n=6$

Срок исследования	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
Самцы			
Исходные данные	154±2	158±3	155±2
1 неделя	166±2*	162±4	169±2*
2 неделя	178±3 *	180±4*	183±1*
3 неделя	193±3 *	194±4*	198±2*
30 дней	210±4*	209±4*	211±3*
р	<0,05	<0,05	<0,05
Самки			
Исходные данные	154±2	156±2	153±1
1 неделя	160±3	161±2	159±2
2 неделя	165±2 *	165±3*	166±3*
3 неделя	168±2 *	170±3*	174±4*
30 дней	177±2*	181±2*	183±5*
р	<0,05	<0,05	<0,05

Примечание: р – статистическая значимость различия показателей между сроками исследования (по критерию Фридмана), * – отличия статистически значимы относительно исходных данных (по Т-критерию Вилкоксона)

Влияние мази на показатели функционального состояния ЦНС.

Проведенное тестирование на крысах (самцах, самках) после 30 дней нанесения мази в дозах 1500 и 2800 мг/кг представлено в таблице 5.7.

Результаты свидетельствуют об отсутствии достоверно значимых различий показателей функционального состояния ЦНС относительно значений группы ИК у крыс самцов. Поведенческие реакции животных (двигательная,

ориентировно-исследовательская активности) статистически достоверно не отличались от показателей соответствующей группы ИК. Колебания показателя «сумма эмоциональной активности» находились в пределах колебаний показателя соответствующего контроля. Статистически значимых различий интегрального показателя «общая сумма активностей» относительно значений контрольной группы не обнаружено.

Таблица 5.7. - Влияния мази Салвит на показатели функционального состояния ЦНС у крыс при кожном нанесении в течение 30 дней, M (Min÷Max), n=6

Показатели	Группы животных		
	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
самцы			
Количество пересечений	10,3 (3-20)	10,67 (8-12)	8,33 (3-13)
Количество вертикальных стоек	1,50 (0-4)	0,83 (0-2)*	2,67 (1-5)*
Количество заглядываний в норки	3,50 (0-6)	2,67(0-8)	4,00 (2-6)
Количество дефекаций	3,00 (0-8)	1,67 (0-4)*	1,50 (0-4)*
Количество уринаций	0,33 (0-2)	0,67 (0-3)	0,33 (0-1)
Количество умываний	0,17 (0-1)	0,00 (0-0)	0,00 (0-0)
Сумма эмоциональной активности	3,50 (0-8)	2,33 (0-5)*	1,83 (0-5)*
Сумма всех активностей	18,83 (7-34)	16,50 (13-21)	16,83 (11-25)
самки			
Количество пересечений	9,67 (5-16)	10,83 (5-23)	12,00 (3-18)
Количество вертикальных стоек	2,67 (1-4)	1,50 (0-3)*	3,50 (0-6)
Количество заглядываний в норки	7,33 (3-9)	5,33 (3-9)	5,17 (3-7)*
Количество дефекаций	1,17 (0-4)	0,67 (0-2)*	0,17 (0-1)*
Количество уринаций	0,67 (0-3)	0,0 (0-0)	0,0 (0-0)
Количество умываний	1,17 (0-3)	1,17 (0-4)	0,50 (0-2)*
Сумма эмоциональной активности	3,00 (1-6)	1,83 (0-4)*	0,67 (0-2)*
Сумма всех активностей	22,67 (12-34)	19,50 (12-34)	21,33 (6-32)

Примечание: 1. * – отличия статистически значимы относительно группы интактного контроля (по U-критерию Манна-Уитни); 2. n – количество животных в каждой группе

В группе крыс самок, которой наносили мазь в дозе 1500 мг/кг, значимых отличий от группы контроля не отмечено. В группе самок, которой наносили мазь в дозе 2800 мг/кг, было отмечено снижение ориентировочно-исследовательской активности (количество заглядываний в норки, $0,05 < p < 0,100$) и статистически значимое снижение значения суммы эмоциональной активности ($p < 0,05$). В целом, отмеченные колебания не повлияли на интегральный показатель «общая сумма активностей».

Итак, длительные накожное нанесение мази Салвит в течение 30 дней не вызывают изменений в поведении животных (самцов и самок), что свидетельствует об отсутствии нейротоксического действия мази на функциональное состояние ЦНС.

Влияние мази на гематологические показатели. Оценку влияния мази на показатели крови у крыс изучали через 30 дней от начала нанесения исследуемого объекта. Полученные данные представлены в таблице 5.8.

Таблица 5.8. - Влияния мази Салвит на гематологические показатели у крыс при накожном нанесении в течение 30 дней, $M \pm m$, M (Min÷Max), n=6

Показатель	Группа животных		
	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
самцы			
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,43±0,18	6,53±0,21	6,28±0,09
Гемоглобин, г/л	139,88±7,53	144,38±5,23	136,31±2,85
Лейкоциты, $10^9/л$	13,04±2,03	14,71±2,64*	14,38±1,36*
Лейкоцитарная формула, %			
Палочкоядерные нейтрофилы	0,67 (0-2)	0,33 (0-1)*	0,33 (0-1)*
Сегментоядерные нейтрофилы	17,00 (12-20)	23,50 (13-37)*	17,83 (7-27)
Эозинофилы	1,33(0-3)	1,33 (0-3)	3,16 (0-7)*
Моноциты	0,50 (0-2)	0,33 (0-2)	0,33 (0-1)
Лимфоциты	80,50 (76-87)	74,50 (61-86)	78,33 (71-1)

Продолжение таблицы 5.8

самки			
Эритроциты, 10 ¹² /л	6,57±0,10	6,39±0,10	6,38±0,04
Гемоглобин, г/л	145,51±2,21	142,21±2,64	130,78±3,27*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	14,75±1,05	13,50±1,07*	13,54±1,131*
Лейкоцитарная формула, %			
Палочкоядерные нейтрофилы	0,50(0-2)	0,67(0-3)	1,00(0-2)*
Сегментоядерные нейтрофилы	22,83(10-30)	18,67(15-25)	22,00 (19-27)
Эозинофилы	2,00(0-4)	1,83(0-3)	1,33(0-3)*
Моноциты	0,33(0-2)	0,17(0-1)	0,67(0-2)*
Лимфоциты	74,33(68-90)	78,67(74-82)	75,00(72-78)

Примечания: 1. * – отличия статистически значимы относительно группы интактного контроля (по U-критерию Манна-Уитни); 2. n – количество животных в каждой группе

Из приведенных данных видно, что у крыс (самцов, самок) после длительных накожных аппликаций не возникало изменений указанных показателей относительно группы ИК. Показатели лейкоформулы у подопытных крыс не отличались от значений в группе ИК. Патологических сдвигов в лейкоцитарной формуле не отмечено. Таким образом, мазь Салвит на систему лейко- и эритропозу негативного влияния не оказывает.

Влияние мази на показатели коагуляционного гемостаза. Для более углубленной характеристики состояния общетрофических процессов исследовали показатели коагуляционного гемостаза с помощью общих (время свертывания) и локальных методов (определение количества фибриногена и протромбинового времени), которые дают интегральную картину возможных изменений в системе коагуляционного гемостаза при длительном применении препарата. Это позволяет предположить тенденцию к гипер- или гипокоагуляции целом. Анализ полученных результатов представлен в таблице 5.9. Установлено, что длительное нанесение мази не удлиняет время свертывания крови как у самцов, так и у самок.

Таблица 5.9. - Результаты изучения влияния мази Салвит на показатели гемостаза крови у крыс при кожном нанесении в течение 30 дней ($M \pm m$), $n=6$

Показатель	Группа животных		
	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
самцы			
Время свертывания, с	150±7,53	153±11,78	156±12,61
Фибриноген, г/л	2,15±0,21	2,29±0,27	1,92±0,15
Протромбиновое время, с	14,00±0,55	13,37±0,34*	13,25±0,33*
самки			
Время свертывания, с	148±6,16	150±10,49	148±13,65
Фибриноген, г/л	1,85±0,14	1,70±0,21	1,77±0,16
Протромбиновое время, с	11,72±0,97	12,07±0,71	10,67±0,64*

Примечание: 1. * – отличия статистически значимы относительно группы интактного контроля (по U-критерию Манна-Уитни); 2. n – количество животных в каждой группе

Факторы свертывания крови (фибриноген и протромбиновое время) оставались в пределах физиологических значений как у самцов, так и у самок: числовые значения не имели статистических отклонений и не выходили за рамки принятого уровня значимости, что свидетельствует об отсутствии какого-либо влияния на образование фибринового сгустка.

Итак, длительное применение мази не влияло на показатели коагуляционного гемостаза у крыс.

Влияние мази на биохимические показатели сыворотки крови. В таблица 5.10 представлены результаты исследования влияния мази Салвит с ЖЭЛШМ на основные биохимические показатели крови белых крыс. Колебания значений всех биохимических показателей в сыворотке крови крыс самцов после 30 дней аппликаций мази находились в пределах диапазона колебаний соответствующей контрольной группы. Это свидетельствует об отсутствии токсического действия

на показатели метаболизма в организме самцов.

Таблица 5.10. - Динамика биохимических показателей сыворотки крови у крыс, которым на кожу наносили мазь в течение 30 дней, $M \pm m$, $n=6$

Показатель	Группы животных		
	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
самцы			
Общий белок, г/л	66,89±2,94	68,92±1,91	63,54±2,57
АлАТ, мккат/л	0,49±0,04	0,50±0,02	0,49±0,02
АсАТ, мккат/л	0,77±0,04	0,82±0,05	0,81±0,04
Мочевина, ммоль/л	8,68±0,44	8,50±0,30	8,38±0,54
Креатинин, ммоль/л	0,132±0,006	0,141±0,003	0,145±0,006*
Холестерин, ммоль/л	1,33±0,13	1,57±0,08	1,55±0,05
Глюкоза, ммоль/л	4,51±0,23	4,47±0,18	4,372±0,35*
самки			
Общий белок, г/л	61,28±2,43	66,26±1,89*	66,67±1,88*
АлАТ, мккат/л	0,51±0,03	0,52±0,02	0,52±0,03
АсАТ, мккат/л	0,78±0,03	0,76±0,03	0,72±0,04
Мочевина, ммоль/л	8,35±0,61	8,28±0,90	7,93±0,89
Креатинин, ммоль/л	0,146±0,007	0,137±0,006*	0,132±0,004*
Холестерин, ммоль/л	1,45±0,14	1,28±0,10*	1,15±0,08*
Глюкоза, ммоль/л	5,56±0,28	5,37±0,28	5,45±0,12

Примечания: 1. * – отличия статистически значимы относительно группы интактного контроля (по U-критерию Манна-Уитни); 2. n – количество животных в каждой группе

В экспериментальных группах крыс самок после 30 дней аппликаций мази в дозах 1500 и 2800 мг/кг дисперсионный анализ в отношении группы ИК статических различий не зафиксировано. Таким образом, этот факт указывает на отсутствие токсического воздействия препарата.

Таким образом, исследуемый объект не оказывает токсического воздействия на биохимические показатели сыворотки крови у крыс самцов и самок).

Влияние мази на функцию почек. Оценку функциональной активности

почек изучали через 30 дней после начала нанесения мази. Результаты представлены в таблице 5.11. Результаты статистического анализа указывают на отсутствие каких-либо изменений со стороны выделительной функции почек животных. Все исследуемые показатели мочи находились в пределах физиологических колебаний как у самцов, так и у самок.

Таблица 5.11. - Динамика биохимических показателей мочи у крыс, которым накожно наносили мазь Салвит в течение 30 дней (M±m), n=6

Показатель	Группа животных		
	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
самцы			
Диурез, мл/100 г	0,84±0,13	0,77±0,07	0,84±0,04
pH мочи, ед. pH	6,33±0,21	6,66±0,21	6,17±0,31
Плотность мочи, г/мл	1,023±0,003	1,022±0,003	1,024±0,005
Мочевина в моче, мкмоль/(л*ч)	70,77±19,45	60,61±14,09*	62,77±13,78*
Креатинин, мкмоль/(л*ч)	1,55±0,49	0,95±0,12	1,52±0,29
самки			
Диурез, мл/100 г	1,27±0,07	1,01±0,15	1,23±0,36
pH мочи, ед. pH	6,50±0,22	6,33±0,33	6,33±0,21
Плотность мочи, г/мл	1,022±0,004	1,024±0,004	1,025±0,002
Мочевина в моче, ммоль/(л*ч)	104,77±24,40	77,19±14,41*	120,84±22,85*
Креатинин, ммоль/(л*ч)	2,95±0,40	2,39±0,31	2,84±0,64

Примечания: 1. * – отличия статистически значимы относительно группы интактного контроля (по U-критерию Манна-Уитни); 2. n – количество животных в каждой группе

Итак, длительное накожное нанесение мази в разных дозах не нарушало азотвыделительную функцию почек крыс (самцов, самок), что свидетельствует о ее безвредности.

Влияние мази на ЭКГ параметры. Данные о влиянии мази на частоту сердечных сокращений и характер электрокардиограммы представлены в таблице 5.12. Во всех экспериментальных животных сохранялся правильный

синусовый ритм сердцебиения – во II-м стандартном отведении постоянно присутствует положительный зубец Р перед характерным желудочковым комплексом QRS.

Электрокардиографических признаков нарушения внутрисердечной проводимости у крыс самцов (таблице 5.12) не выявлено. Все показатели ЭКГ-исследования находились в пределах значений групп ИК.

Таблица 5.12. - Влияние мази Салвит на показатели ЭКГ крыс при накожном нанесении в течение 30 дней ($M \pm m$), $n=6$

Показатель	Группа животных		
	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
самцы			
ЧСС, уд/мин	448,17±17,27	465,17±17,51	413,17±19,19*
СП,%	44,83±1,64	46,50±1,74	42,67±2,34
PQ, с	0,049±0,001	0,051±0,002	0,049±0,001
QRS, с	0,012±0,001	0,014±0,001	0,013±0,002
QT, с	0,060±0,001	0,060±0,001	0,062±0,002
R, мВ	0,47±0,02	0,48±0,03	0,52±0,11
P, мВ	0,10±0,003	0,11±0,003	0,11±0,008
T, мВ	0,11±0,02	0,12±0,01	0,12±0,01
самки			
ЧСС, уд/мин	436,67±30,25	446,50±25,24	460,83±21,87*
СП,%	45,00±3,78	47,33±3,21	46,17±2,24
PQ, с	0,048±0,001	0,046±0,003	0,048±0,002
QRS, с	0,011±0,001	0,012±0,001	0,014±0,002
QT, с	0,062±0,002	0,063±0,002	0,060±0,001
R, мВ	0,44±0,04	0,46±0,07	0,52±0,07
P, мВ	0,10±0,01	0,13±0,01	0,11±0,01
T, мВ	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,02

Примечание: 1. * – отличия статистически значимы относительно группы интактного контроля (по U-критерию Манна-Уитни); 2. n – количество животных в каждой группе

Из представленных данных в таблице 5.12 видно, что исследуемая мазь Салвит не вызывала значимых изменений и у самок. Все показатели варьировались в пределах значений группы ИК.

Таким образом, все вышеизложенное указывает на то, что исследуемая мазь не проявляет кардиотоксического влияния.

Макроскопические исследования. При внешнем осмотре у крыс после аппликаций мази в дозах 1500 и 2800 мг/кг шерстный покров был опрятным, слизистые оболочки природных отверстий без изменений. Подкожные лимфатические узлы обычные по размеру. У всех экспериментальных животных анатомически правильное расположение внутренних органов, видимых изменений не обнаружено. При вскрытии не найдено признаков гипо- или гипертрофии органов, нарушений кровообращения, воспаления, опухолевого роста. При осмотре полостей тела не обнаружено наличия патологического содержимого, спаек. По результатам макроскопического исследования различий между группами не установлено.

Местнораздражающее действие. Оценку местнораздражающего действия на крысах изучали в условиях хронической токсичности при ежедневном нанесении мази в дозах 1500 и 2800 мг/кг в течение 30 дней (таблица 5.13).

Таблица 5.13. - Влияние мази на кожные покровы у крыс при накожном нанесении в течение 30 дней ($M \pm m$), n=6

Показатель	Группа животных		
	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
Самцы, самки			
эритема	-	отсутствуют	отсутствуют
некроз	-	отсутствуют	отсутствуют
струпь	-	отсутствуют	отсутствуют
отек	-	отсутствуют	отсутствуют

Как показали результаты исследований (таблица 5.13) на депилированных

участках кожи в местах аппликаций мази целостность кожного покрова сохранена, на коже отсутствуют признаки шелушения, гиперкератоза, эритематозных высыпаний, геморрагий, припухлости, явлений депигментации или других видимых следов поражения.

Таким образом, длительные аппликации исследуемой мази не оказывали раздражающего действия на кожу: эритема, некроз, струп, отек отсутствовали.

Влияние мази на массовые коэффициенты внутренних органов крыс.

После окончания исследования, животных подвергли эвтаназии для последующего патоморфологического осмотра внутренних органов. Была определена абсолютная масса внутренних органов для расчета их массовых коэффициентов. В таблице 5.14 представлены данные о влиянии мази на массовые коэффициенты органов белых крыс всех экспериментальных групп.

Расчет и последующий анализ показателей МК внутренних органов животных показал, что при длительном (30 дней) нанесении мази в дозе 1500 и 2800 мг/кг самцам и самкам не повлекли значимых отклонений в МК внутренних органов. Все показатели находились в пределах значений соответствующих контрольных групп, что свидетельствует об отсутствии токсического воздействия мази на внутренние органы животных.

Таким образом, накожные аппликации мази в течение 30 дней в дозах 1500 и 2800 мг/кг не влияют на внешний вид, общее состояние и поведение животных, не оказывают негативного влияния на гематологические параметры крови и основные физиологические функции организма, не вызывают видимых нарушений внутренних органов, что свидетельствует о хорошей переносимости и безвредности исследуемого объекта.

Результаты исследования показали, что мазь Салвит с ЖЭЛШМ в дозах 1500 и 2800 мг/кг при длительном нанесении на кожу крысам (самцам, самкам)

- не вызывает в местах нанесения раздражающего действия,
- не влияет на общее состояние и поведение животных,
- не вызывает у животных признаков интоксикации,
- не оказывает влияние на общетрофические процессы, клинические и

биохимические показатели крови и показатели функционального состояния почек, ЦНС и ЭКГ-параметры.

Таблица 5.14. - Влияние мази Салвит на коэффициенты масс внутренних органов (%) самцов и самок крыс при накожном нанесении в течение 30 дней, М (Min÷Max), n=6

Показатель	Группа животных		
	Интактный контроль	Мазь, 1500 мг/кг	Мазь, 2800 мг/кг
самцы			
Печень	3,72 (2,93-4,07)	3,91 (3,52-4,44)	3,80 (3,39-4,26)
Почки	0,66 (0,61-0,69)	0,68 (0,63-0,720)	0,68 (0,56-0,75)
Сердце	0,33 (0,29-0,37)	0,33 (0,30-0,36)	0,34 (0,29-0,39)
Легкие	0,77 (0,60-0,88)	0,85(0,62-1,20)	0,80 (0,66-0,94)
Селезенка	0,38 (0,31-0,43)	0,39 (0,33-0,48)	0,40 (0,34-0,45)
Надпочечники	0,018 (0,012-0,025)	0,020 (0,014-0,023)	0,019 (0,016-0,024)
Тимус	0,135 (0,098-0,195)	0,132 (0,108-0,168)	0,131 (0,082-0,156)
Семенники	1,46 (1,24-1,69)	1,41 (1,27-1,52)	1,49 (1,46-1,82)
самки			
Печень	3,55 (3,22-3,99)	3,48 (2,96-4,26)	3,18 (2,96-3,45)
Почки	0,64 (0,60-0,69)	0,60 (0,49-0,66)	0,62 (0,48-0,73)
Сердце	0,31 (0,26-0,34)	0,30 (0,28-0,30)	0,30 (0,26-0,34)
Легкие	0,71 (0,65-0,78)	0,75 (0,65-0,81)	0,75 (0,61-1,05)
Селезенка	0,38 (0,32-0,46)	0,36 (0,31-0,41)	0,39 (0,35-0,45)
Надпочечники	0,028 (0,024-0,034)	0,030 (0,026-0,038)	0,030 (0,021-0,044)
Тимус	0,167 (0,140-0,191)	0,146 (0,097-0,177)	0,145 (0,099-0,242)*

Примечание: 1. * – отличия статистически значимы относительно группы интактного контроля (по U-критерию Манна-Уитни); 2. n – количество животных в каждой группе

Таким образом, на основании проведенного комплекса токсикологических исследований можно утверждать об отсутствии токсического действия мази Салвит с ЖЭЛШМ при длительном (30 дней) нанесении на кожу на состояние органов и систем самцов и самок крыс.

Глава 6. Обсуждение результатов

В результате проведенного анализа первоисточников установлено, что многолетнее использование в официальной медицине шалфея мускатного обуславливается его антиоксидантным, вяжущим, противовоспалительным, нейропротекторным, анальгетическим, антимикробным и другими фармакологическими свойствами растения за счет наличия значительного количества биологически активных веществ, представленных в основном полифенолами и такими вторичными метаболитами, как терпеноиды[3,80,81].

Установлено, что в последние годы наблюдается растущий интерес к использованию глинистых минералов в качестве носителей лекарственных средств[7,8,35]. Среди неорганических минеральных глин, разрешенных для использования в лечебных целях, широкую распространенность получила бентонитовая глина, обладающая рядом положительных свойств[5,52]. На основании проведенного анализа литературы актуальным является направление научных исследований по разработке мази с использованием природных ресурсов РТ, а именно разработке технологий получения жидкого экстракта из листьев ШМ, произрастающего в РТ и бентонитовой глины из месторождений РТ[34,69].

С целью обоснования выбора экстрагента для получения ЖЭЛШМ были проведены исследования по изучению извлекающей способности БАВ водно-этанольной смеси разной концентрации (30%, 40%, 50%, 60%, и 70%) и воды очищенной, критерием оценки был выход экстрактивных веществ. В результате было установлено, что максимальный выход экстрактивных веществ из листьев ШМ в количестве 32,6% наблюдается при использовании в качестве экстрагента 50%-ю водно-этанольную смесь. Так же было изучено влияние размера частиц сырья ШМ на извлечение суммы флавоноидов, по результатам которых установлено, что с фракции ЛРС размером 1,0-2,5 мм экстрагируется 32,37% экстрактивных веществ и 0,21 % суммы флавоноидов, что несколько ниже фракции 2,5-5 мм, где экстрагируется 0,24% суммы флавоноидов. Исходя из

полученных данных, рекомендовано использовать фракцию сырья 1,0-5,0 мм для процесса экстракции. С целью определения количества объемов экстрагента, необходимое для полного истощения сырья были проведены исследования динамики процесса экстракции. Исходя из данных, установлено оптимальное соотношение сырья: экстрагент как 1:6 необходимое для полного истощения сырья. Следующий этап исследований был направлен на обоснование оптимального метода экстракции БАВ из листьев ШМ. Кроме метода экстракции (мацерация с принудительной циркуляцией экстрагента, перколяция и реперколяция), переменным фактором так же была используемая концентрация водно-этанольного раствора. Было установлено, что не зависимо от метода экстракции максимальное извлечение суммы флавоноидов обеспечивает использование 50% водно-этанольного раствора. Модифицированный метод мацерации уступает по эффективности экстракции методам перколяции и реперколяции. Метод реперколяции с делением сырья на равные части в батарее из 3-х перколяторов является наиболее эффективным.

Для идентификации суммы флавоноидов в ЖЭЛШМ проводили специфические реакции на флавоноиды: цианидиновую пробу (образуется розовое окрашивание), реакция с борной кислотой (образуется яркое желтое окрашивание), с раствором алюминия хлорида (образуется яркое зеленовато-желтое окрашивание), со спиртовым раствором калия гидроксида (окрашивается в желтый цвет), с концентрированной серной кислотой (малиновое окрашивание). Для предварительного доказательства наличия терпеноидов в анализируемом жидком экстракте, проводили извлечение хлороформом веществ терпеноидной структуры и после удаления органического слоя, проводили реакцию с концентрированной серной кислотой (образуется сероватое окрашивание).

Для идентификации веществ терпеноидной структуры использовали так же метод тонкослойной хроматографии, в качестве маркеров использовали СО цинеола и борнеола. На полученных хроматограммах обнаружена зона, которая совпадает по окраске и по положению зоне раствора сравнения цинеола. Для

идентификации суммы флавоноидов и гидроксикоричных кислот использовали метод ТСХ с использованием маркеров флавоноидов: рутин, лютеолин, гиперозид и гидроксикоричных кислот: хлорогеновая и кофейная. На хроматограммах раствора сравнения и испытуемого раствора обнаружены зоны, которые по положению и окраске соответствуют зонам растворов сравнения СО лютеолина и СО кофейной кислоты что свидетельствует о наличии суммы флавоноидов и гидроксикоричных кислот в исследуемом ЖЭЛШМ.

Количественное определение биологически активных веществ в ЖЭЛШМ проводили по наличию эфирного масла, содержание которого определяли методом отгона. Для количественного определения суммы флавоноидов использовали метод спектрофотометрии в видимой области. Проводили реакцию комплексообразования спиртового раствора ЖЭЛШМ с реактивом алюминия хлорид в уксуснокислой среде и сравнивали положение максимума с такими маркерами флавоноидов, как кверцетин, рутин и лютеолин.

Были произведены исследования по подготовке сырья бентонитовой глины Султанабадского месторождения к использованию в фармацевтических целях как основа-носитель при разработке мази с ЖЭЛШМ. Производили обогащение глины методом трехкратной очистки по методу Д.П. Сала, конечными критериями контроля качества были размер частиц бентонита, адсорбционная активность и катионная емкость. В качестве маркера, позволяющего определять эффективность действия сорбентов в отношении среднемолекулярных веществ, использовали краситель метиленовый синий. Для характеристики ионообменной (катионообменной) способности бентонитов определяли их общую обменную ёмкость, т.е. сумму всех обменных катионов. Установлено, что фракция бентонитовой глины менее 20 мкм имеет адсорбционную активность 62,0 мг/г и емкость катионного обмена 19,4 мг×экв. Емкость катионного обмена находится в прямой взаимосвязи с адсорбционной активностью минеральных сорбентов. Обменные катионы влияют на процессы структурообразования водных дисперсий бентонита, поэтому были изучены их набухаемость и гелеобразование: гелеобразующая способность (3 г / 100 мл)

составляет $30,20 \pm 0,05$ мл, степень набухания (2 г / 100 мл) $99,80 \pm 0,05$ мл для фракции размером менее 20 мкм. Идентификация монтмориллонита в составе бентонитовой глины проводили при помощи метода окрашивания Викуловой М.Ф. и Логвиненко Н.В. Метод основан на взаимодействии катионного красителя метиленового синего с отрицательно заряженной поверхностью глинистых минералов. Стандартизацию бентонитовой глины осуществляли в пределах показателей фармакопейной статьи PhEur 6.4.: описание, идентификация, микробиологическая чистота, рН, потеря в массе при высушивании, объем осадка (объем седиментации), способность к набуханию, дисперсность порошка, крупные частички.

Ввиду необходимости наличия для МЛФ определенных консистентных свойств изучали реологические свойства геля бентонита разной концентрации (10%, 15%, 20%, 25%). Все исследуемые образцы имеют предел течения, т.е. системы не являются произвольно текущими и сохраняют физическую стабильность. По результатам исследования обосновано использование 25%-го геля бентонитовой глины для разработки мази с ЖЭЛШМ. Для сравнительных исследований возможности применения бентонитовой основы для разработки МЛФ были произведены экспериментальное изучение модельных образцов мази с ЖЭЛШМ (10%) на предмет их реологических, биофармацевтических и физико-химических свойств. Было установлено, что по профилю реологического течения исследуемые образцы мази отличаются ввиду их разной природы растворимости (гидрофильные, гидрофобные, дифильные) и строению коагуляционной структуры. Не все образцы прошли испытания теста на коллоидную и термическую стабильность. Результаты высвобождения БАВ из физически стабильных мазей, продемонстрировали, что высвобождение суммы флавоноидов происходит с разной интенсивностью. Мазь на основе бентонита по интенсивности высвобождения БАВ сопоставима с мазью на макрогальной основе. При исследовании дегидратирующей активности мазей с ЖЭЛШМ было установлено, что мазь на основе бентонитовой глины имеет умеренную дегидратирующую активность, что позволяет ее использовать на 2-й и 3-й фазе

раневого процесса, в том числе и при ожоговых ранах. Таким образом, комплекс проведенных экспериментальных исследований по сравнительным исследованиям реологических и биофармацевтическим свойств мазей с ЖЭЛШМ, позволяет предложить мазь на основе бентонитовой глины для дальнейших фармакологических исследований.

Результаты исследования антимикробной активности мази на бентонитовой основе от вариации концентрации ЖЭЛШМ (5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%), свидетельствуют о выраженной антимикробной активности мази в отношении *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*. Таким образом, в качестве действующей концентрации ЖЭЛШМ, предполагаемой для введения в состав разрабатываемой лекарственной формы составляет 10 %.

При разработке методик контроля качества мази с ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане, идентификацию и количественное определение проводили на наличие веществ, отвечающих за фармакологический эффект, а именно суммы эфирных масел и флавоноидов. Для идентификации эфирных масел и суммы флавоноидов ЖЭЛШМ в мази использовали метод тонкослойной хроматографии. Испытания проводили аналогично методикам определения эфирных масел и полифенольных соединений в ЖЭЛШМ. Количественную оценку мази проводили методом спектрофотометрии по содержанию суммы флавоноидов. Использовали методику определения данной группы БАВ в ЖЭЛШМ. На основании полученных результатов анализа была разработана спецификация на мазь под условным названием Салвит с ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане, разработаны методики контроля качества мази Салвит и изучена стабильность препарата при хранении.

Исследование фармакологического действия мази Салвит с ЖЭЛШМ было проведено на экспериментальной модели трафаретных ран. Изучение ранозаживляющего действия мази с ЖЭЛШМ на модели полнослойных трафаретных ран позволяет в короткий срок оценить влияние средства на скорость формирования грануляционной ткани и эпителизации раны. В результате установлено, что мазь Салвит имеет выраженное репаративное

(ранозаживляющее) действие, на модели трафаретных ран мазь Салвит значительно превосходит по эффективности мазь «Календулы».

Микробиологические исследования подтвердили высокий уровень антимикробной активности мази Салвит в отношении тест культур *Staphylococcus aureus* (диаметр задержки роста микроорганизмов - $19,2 \pm 0,7$ мм), *Bacillus subtilis* ($19,6 \pm 0,5$ мм) и *Escherichia coli* ($19,2 \pm 0,4$ мм). Зоны задержки роста всех трех штаммов микроорганизмов при использовании мази Салвит с ЖЭЛШМ превосходят известных аналогов – мази «Календулы» и «ФГПП».

На основании проведенного комплекса токсикологических исследований можно утверждать об отсутствии токсического действия мази Салвит с ЖЭЛШМ при длительном (30 дней) нанесении на кожу. Результаты исследования показали, что мазь Салвит с ЖЭЛШМ в дозах 1500 и 2800 мг/кг при длительном нанесении на кожу крысам (самцам, самкам)

- не вызывает в местах нанесения раздражающего действия,
- не влияет на общее состояние и поведение животных,
- не вызывает у животных признаков интоксикации,
- не оказывает влияние на общетрофические процессы, клинические и биохимические показатели крови и показатели функционального состояния почек, ЦНС и ЭКГ-параметры[6].

Таким образом, проведенный комплекс исследований по фармацевтической разработке мази с ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане, позволяет предложить к использованию в практической медицине отечественный препарат, отвечающий всем стандартам качества и способствующий импортозамещающей политике МЗСЗНРТ.

Выводы

1. По результатам проведенного анализа первоисточников установлено, что растения рода шалфей обладают широким терапевтическим потенциалом в силу разнообразного химического состава, который зависит от климатических условий произрастания лекарственного растения. Показана актуальность разработки технологии получения ЖЭЛШМ, произрастающего в Таджикистане как источника АФИ и как готовой лекарственной формы [1-А, 3-А, 5-А, 8-А].
2. Растущий интерес к использованию глинистых минералов в качестве носителей АФИ и наличие месторождений бентонитовых глин в РТ создает предпосылку разработки технологий рационального использования природного достояния страны [4-А].
3. Проведены исследования по изучению физико-химических и технологических свойств сырья листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане. Комплексно изучено влияние условий экстракции (концентрация водно-этанольного раствора, степень измельчения сырья, метод экстракции) на степень извлечения биологически активных веществ. Установлено, что использование 50% водно-этанольной смеси обеспечивает максимальное извлечение флавоноидов не зависимо от используемого метода экстракции. Реперколяция с делением сырья на равные части является наиболее эффективным методом экстракции среди исследованных [2-А, 3-А, 5-А, 9-А].
4. Проведены исследования по идентификации полифенольных и терпеновых соединений в ЖЭЛШМ с помощью качественных реакций и ТСХ, разработаны методики количественного определения данных групп БАВ. Разработаны методики контроля качества и спецификация на ЖЭЛШМ, изучена стабильность экстракта при хранении [5-А, 9-А].
5. Проведены исследования на соответствие бентонитовой глины Султонободского месторождения фармакопейным показателям качества [7-

А].

6. Проведены комплексные исследования по разработке состава и технологии мази с ЖЭЛШМ, изучено структурно-механические, физико-химические и биофармацевтические свойства мази, на основании которых было проанализировано поведение мази на бентонитовой основе в сравнении с традиционными носителями гидрофильного, гидрофобного и дифильного характера. На основании изучения антимикробной активности мази была обоснована концентрация ЖЭЛШМ в количестве 10,0% [4-А, 7-А, 12-А].
7. Разработаны методики идентификации терпеноидов и флавоноидов, методы количественного обнаружения флавоноидов в составе мази, проведена валидация аналитических методик. Разработана спецификация на препарат «Салвит» и проект методик контроля качества. Изучено стабильность мази при хранении и установлено срок годности 2 года [13-А].
8. Исследована биологическая безвредность мази Салвит, изучение репаративной активности свидетельствует о интенсификации скорости формирования грануляционной ткани и эпителизации раны при ее использовании на этапе доклинических лабораторных исследований. Микробиологические исследования свидетельствуют о высокой активности в отношении культур *S. aureus*, *B. subtilis*, и *E. Coli* [6-А, 12-А].
9. На основе проведенных физико-химических, химических, фармако-технологических, биофармацевтических и биологических исследований разработана и утверждена ФС и технологический регламент. Технологический регламент апробирован в промышленных условиях.

Рекомендации по практическому использованию результатов

Разработанная жидкая лекарственная форма и мази Салвит могут быть зарегистрированы как лекарственный препарат, а разработанная технология ЖЭЛШМ и мази Салвит может представлять интерес для производителей лекарственных препаратов из растительного сырья. Разработанные методики могут быть использованы в лабораториях для обнаружения и количественного определения БАВ в растительном сырье листьев шалфея мускатного и лекарственных препаратов из этого ЛРС [12-А].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список использованной литературы

1. Адсорбционные свойства бентонитовых и палыгорскитовых глин Таджикистана [Текст]/ Н. Б. Сахибов [и др.] // Известия академии наук Республики Таджикистан отделение физико–математических, химических, геологических и технических наук. – 2011. – № 4 (145). – С. 110–115.
2. Альтгаузен, А. Я. Лабораторные клинические исследования [Текст] / А. Я. Альтгаузен. – Москва: Медицина, 1964. – 331 с.
3. Мусозода С. М. Анатомическое строение ассимиляционного аппарата шалфея мускатного (*Salvia sclareae* L.), произрастающего в таджикистане [Текст] / С. М. Мусозода, А. У. Рахмонов, К. С. Махсудов, О. С. Шпичак, Р. С. Мусоев, Ш. С. Холова, Г. Н. Эргашева // Наука и инновация. – 2019. – № 4. – С. 134–140.
4. Буханов В. Д. Антибактериальные свойства монтмориллонит содержащих сорбентов [Текст]/ В. Д. Буханов [и др.] // Научные ведомости. Серия Естественные науки. – 2011. – № 21 (116), вып. 17. – С. 57–63.
5. Белоусов, П. Е. Бентонитовые глины России и стран ближнего зарубежья [Текст] / П. Е. Белоусов, В. В. Крупская // Георесурсы. – 2019. – № 21 (3). – С. 79–90.
6. Берхин, Е. Б. Методы изучения новых химических соединений функции почек [Текст] / Е. Б. Берхин // Химико–фармацевтический журнал. – 1977. – Т. 11, № 5. – С. 3–11.
7. Бондарев, А. В. разработка состава и технологии гранулированной лекарственной формы с адсорбционным действием на основе монтмориллонитовой глины [Текст] / А. В. Бондарев. – Белгород, 2015. – 138 с.
8. Веденеева, Н. Е. Метод исследования глинистых минералов с помощью красителей (спектрофотометрический анализ) [Текст]/ Н. Е. Веденеева, М. Ф. Викулова. – Львов: Изд–во Львовс. гос. ун–та, 1956. – 96 с.
9. Георгиевский, В. П. Физико–химические и аналитические характеристики

- флавоноидных соединений [Текст]/ В. П. Георгиевский, А. И. Рыбаченко, А. Л. Козаков. – Ростов: Изд-во Ростовского ун-та, 1988. – 131 с.
10. Георгиевский, В. П. Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения [Текст]/ В. П. Георгиевский, Н. А. Казаринов, М. О. Каррыев. – Ашхабад: Илым, 1976. – 240 с. 23.
11. Глинистые минералы: смектиты, смешанослойные образования [Текст] / сост. В. А. Дриц, А. Г. Клессовская. – М.: Наука, 1990. – 214 с.
12. Государственная фармакопея XIII I . ФС.2.5.0051.15. *Salviae officinalis folia*. Взамен ГФ XI. – Киев, 2014. – Вып. 2. – С. 254.
13. Государственная фармакопея Республики Беларусь: 3 т. Т. 2. Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного сырья / УА «Центр экспертиз и испытания в здравоохранении; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: «Типография «Победа», 2008. – 472 с.
14. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIII издание. М., 2015. – 1102 с.
15. Государственная фармакопея СССР. Вып.2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
16. Гудзь, Н. І. Шавлія лікарська (*Salvia officinalis* L.): перспективи використання сировини як джерела рослинних препаратів антиоксидантної та антимікробної дії [Текст]/ Н. І. Гудзь, М. І. Шанайда, Р. Є. Дармограй // Вестник фармації. – 2020. – № 2 (100). – С. 11–19.
17. Гылымхан, Н. Т. Возможности использования бентонитовых глин в медицине [Текст]/ Н. Т. Гылымхан, Ш. Н. Жумагалиева, Ж. А.Абилов // Доклады Национальной Академии Наук Республики Казахстан. – 2016. – № 4. – С. 24–33.
18. Деньга, О. В. Применение комбинации эфирных масел и бентонитовой глины в комплексном лечении детей с хроническим катаральным гингивитом [Текст]/ О. В. Деньга, Ж. А. Довбня, Г. Г. Головская // Медицинские новости. – 2015. – № 1. – С. 49–52.
19. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство

- «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2–е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
20. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармацевтичний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармацевтичний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 2. – 724 с.
21. Державна.; Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2–е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – 732 с.;
22. Державний реєстр лікарських засобів України. – Режим доступа: <http://www.drlz.com.ua>. – Дата обращения: 14.04.2010. – Загл. с экрана.
23. Директива Совета ЕС о сближении законов, постановлений и администрирование положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС) // Надлежащая производственная практика лекарственных средств [Текст] / под ред. Н. А. Ляпунова, В. А. Загория, В. П. Георгиевского, Е. П. Безуглой. – Киев: Морион, 1999. – С. 508–545.
24. Стефанова А. В. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. Рек. [Текст]/ под ред. проф. А. В. Стефанова. – Киев: Авиценна, 2001. – 527 с.
25. Перцев І. М. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність: навч. посіб. для студентів вищ. фармац. навч. закл. / авт.–уклад.: І. М. Перцев [та ін.]; за ред. І. М. Перцева. – Харків: Золоті сторінки, 2010. – 600 с.
26. Верховодова Ю. В. Дослідження антиексудативної активності екстрактів з листя *Salvia officinalis* [Текст]/ Ю. В. Верховодова [та ін.] // Медична та клінічна хімія. – 2019. – Т. 21, № 4. – С. 54–60.
27. Дослідження ізопреноїдного складу та антимікробної активності густого

екстракту листя шавлії лікарської [Текст]/ О. М. Кошовий [та ін.] // Клінічна фармація – 2011. – Т. 15, № 1. – С. 26–29.

28. Дриц, В. А. Глинистые минералы: смектиты, смешанослойные образования [Текст]/ В. А. Дриц, А. Г. Кроссовская. – М.: Наука, 1990. – 176 с.

29. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран: метод. рек. [Текст]/ Л. В. Яковлєва [та ін.]–Харків: Вид–во НФаУ, 2013. – 52 с.

30. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів: метод. рек. [Текст]/ В. М. Коваленко [та ін.]. – Київ, 2000. – С. 74–97.

31. Зеленцов, В. И. Электрообработка природных сорбентов [Текст]/ В. И. Зеленцов, Т. Я. Дацко / Институт прикладной физики АН РМ. – М., 2006. – 36 с.

32. Изучение реологических свойств геля альгоколь [Текст]/ М. Г. Подорожная [и др.] // Рецепт. – 2019. – Т. 22, № 6. – С. 851–860.

33. Махсудов К. С. Изучение структурно–механических свойств мази с жидким экстрактом листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане [Текст]/ К. С. Махсудов, А. У. Рахмонов, С. М. Мусозода, О. С. Шпичак // Наука и инновация. – 2020. – № 4. – С. 82–86.

34. Кариев, А. Р. Бентониты Таджикистана, их классификация, генезис и применение в народном хозяйстве [Текст]/ А. Р. Кариев. – Душанбе: Дониш, 2001. – 233 с.

35. Кариев, А. Р. Место и роль бентонитовых глин в Медицинских Трудах и Трактатах ИБН СИНУ / А. Р. Кариев, И. С. Соатов // Известия Академии Наук Республики Таджикистан, Отделение физико–математических, химических и геологических наук. – 2006. – № 3–4 (125). – С. 88–97.

36. Коваленко, В. М. Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів: метод. рек. [Текст]/ В. М. Коваленко, А. Г. Ципкун. – Київ, 2007. – 54 с.

37. Компендиум 2017 – лекарственные препараты [Текст]/ под ред. В. Н. Коваленко. – Киев: Морион, 2018. – 2560 с.

38. Кухтенко, Г. П. Исследование реологических свойств эмульсионных

- систем в зависимости от состава эмульгирующей смеси и технологии изготовления [Текст]/ Г. П. Кухтенко // Рецепт. – 2015. – № 5 (103). – С. 85–89.
39. Лабораторные исследования в клинике [Текст]/ под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.
40. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием Excel [Текст]/ С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев: Морион, 2001. – 320 с.
41. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика. – Київ: Міністерство охорони здоров'я України, 2009. – 27 с.
42. Любарский, М. С. Сочетанная лимфотропная и сорбционная терапия гнойных ран [Текст]/ М. С. Любарский, А. Ю. Летягин, В. Х. Габитов. – Бишкек–Новосибирск: «Илим», 1995. – 134 с.
43. Мазнев, Н. И. Золотая книга лекарственных растений [Текст]/ Н. И. Мазнев. – 15–е изд., доп. – М.: ООО «ИД РИПОЛ Классик», ООО Издательство «ДОМ. XXI век», 2008. – 621 с.
44. Малый патент на изобретение ТЈ 1063 Республика Таджикистан. Состав для лечения воспалительных заболеваний ЛОР органов / Рахмонов А. У., Махсудов К. С., Мусоев Р. С, Мусозода С. М., Давроншозода Ф. Д, Шпичак О. С., Давтян Л. Л. – № 1901381; заявл. 30.12.19; опубл. 17.02.20.
45. Махсудов, К. С. исследование биологической безвредности мази Салвит [Текст]/ К. С. Махсудов // Наука и инновация. – 2021. – № 2. С. 29–41.
46. М. М. Коноплева Фармакологические свойства травы трясушки средней [Текст] / М. М. Коноплева, В. К. Садикова// Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 67-й науч. сес. сотр. ун-та, Витебск, 2-3 февр. 2012 г. - Витебск, 2012. - С. 285-286.
47. Микроскопическое исследование листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане [Текст]/ С. М. Мусозода, О. С. Шпичак, А. У. Рахмонов, Р. С. Мусоев, К. С. Махсутов, М. В. Марченко // Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології: зб. наук. пр. – Харків: НФаУ, 2019. - Вип. 6. – С. 351–352.

48. Мирзакулов, У. Д. Изучение набухания полимерных композиционных гелей на основе полиакриловой кислоты и бентонитовых глин в водных растворах [Текст]/ У. Д. Мирзакулов, Ш. Э. Очилов, М. А. Махкамов // *Universum: химия и биология*. – 2020. – № 1 (79). – С. 14–19.
49. Мосталыгина, Л. В. Кислотная активация бентонитовой глины [Текст]/ Л. В. Мосталыгина, Е. А. Чернова, О. И. Бухтояров // *Вестник ЮУрГУ*. – 2012. – № 24. – С. 57–61.
50. Науково–практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [Текст]/ Ю. М. Кожем`якін [та ін.] – Київ: Авіцена, 2002. – 156 с.
51. Ніженковська, І. В. Шавлія лікарська – сучасні аспекти застосування (Огляд літератури) [Текст]/ І. В. Ніженковська, Цуркан, К. В. Седько // *Фітотерапія. Часопис*. – 2014. – № 2. – С. 58–61.
52. Новые данные об адсорбционных свойствах монтмориллонитовых (бентонитовых) и палыгорскитовых глин Таджикистана [Текст]/ М. Ю. Юнусов [и др.] // *Доклады Академии Наук Республики Таджикистан*. – 2011. – Т. 54, № 2. – С. 145–148.
53. Определение абсорбционной активности энтеросорбентов [Текст]/ Е. П. Герникова [и др.] // *Ведомости НЦЭСМП. Ежеквартальный рецензируемый научно–практический журнал*. – 2013. – № 4. – С. 47–50.
54. Определение количества эритроцитов в крови крыс с помощью фотоэлектроколориметра [Текст]/ В. А. Лутов [и др.] // *Гигиена труда и профессиональные заболевания. Медицина*. – 1976. – № 10–12. – С. 57–58.
55. Оптимизация процесса активации цеолитов типа X для адсорбционного разделения воздуха [Текст]/ М. Б. Алехина [и др.] // *Химическая промышленность сегодня*. – 2011. – № 5. – С. 29–37.
56. О.В. Афонькина комплексный подход к изучению фармакологических веществ *in vitro*, *ex vivo*, *in vivo* [Текст]/ А.И. Селезнева, А.В. Калатанова, О.В. Афонькина // *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2015. – №6.
57. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований [Текст]/ Прозоровский В.Б. // *Актуальные*

проблемы фармакологии. –2007. Т.7 №3-4 – С. 2090–2120.

58. Патент на корисну модель 142132 Україна. МПК51 А61К 9/20. Склад для лікування запальних оториноларингологічних захворювань у форми таблеток / Махсудов К. С., Мусоев Р. С., Мусозода С. М., Давроншозода Ф. Д, Шпичак О. С., Давтян Л. Л., Рахмонов А. У.; заявник і патентовласник Шпичак О. С. – № и 202000230; заявл. 15.01.2020; опубл. 12.05.2020, Бюл. № 9. – С.4

59. Певнев А. А. Результаты микробиологического мониторинга лечения гнойных ран в условиях общехирургического стационара [Текст] / Бесчастнов В. В., Певнев А. А., Малахова Н. И., Московская А. Е. // Современ. технол. мед.. 2009. №2 – С. 52-56

60. Оспанова А. К. Получение высокопористого каолина путем термической и кислотной активации [Текст] / А. К. Оспанова [и др.] // Горение и плазмохимия. – 2021. – № 19. – С. 199–207.

61. Мига М. М. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу [Текст] / М. М. Мига [та ін.] // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т. 13, №1 (32). С. 61–71.

62. Касанов К. Н. Разработка монтмориллонит содержащей матрицы биоактивного сорбирующего раневого покрытия [Текст] / К. Н. Касанов [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета, серия: Естественные науки. –2011. – Т. 14, № 3. – С. 168–173.

63. Махсудов К. С. Разработка технологии жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане [Текст] / К. С. Махсудов, А. У. Рахманов, Ф. И. Наджмидинов, С. М. Мусозода, Ф. Д. Давроншозода // Наука и инновация. – 2021. – № 1. – С. 44–50.

64. Махсудов К. С. Разработка технологии и биофармацевтическое исследование мази на основе густого экстракта шалфея мускатного [Текст] / С. М. Мусозода, О. С. Шпичак, К. С. Махсудов, А. У. Рахмонов, Ф. Д. Давроншозода, Р. С. Мусоев // Наука и инновация. – 2020. – № 1. – С. 55–60.

65. Махсудов К. С. Разработка технологии получения жидкого экстракта листьев шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.), произрастающего в Таджикистане [Текст]/ К. С. Махсудов, А. У. Рахмонов, С. М. Мусозода, Ф. Д. Давроншозода, О. С. Шпичак // Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів: зб. наук. пр. – Харків: Вид-во НФаУ, 2020. С. 98–100.
66. Разработка технологии получения и стандартизация монтмориллонитовой глины для применения per os [Текст]/ А. В. Бондарев [и др.] // Научный результат. Медицина и фармация. – 2016. – Т. 2, № 4. С. 54–65.
67. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica [Текст]/ О. Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
68. Кухтенко Г.П. Реологические исследования мягких лекарственных средств [Текст]/ Г. П. Кухтенко [и др.] – Медицина. – 2014. – № 1 (139). – С. 6-9.
69. Сакипова, З. Б. Бентонитовые глины как основа для лекарственных форм: автореф. док. фарм. наук. / З. Б. Сакипова. – М., 2010. – 45 с.
70. Сало, Д. П. Высокодисперсные минералы в фармации и медицине [Текст]/ Д. П. Сало, Ф. Д. Овчаренко, Н. Н. Круглицкий. – Киев: Наука думка, 1969. – 164 с.
71. Саттаров, Д. С. Биоразнообразие и ресурсы дикорастущих лекарственных растений в некоторых районах центрального Таджикистана: автореф. дис. ... д-ра биолог наук / Д. С. Саттаров. – Новосибирск, 2019. – 36 с.
72. Семененко, М. П. Фармакология и применение бентонитов в ветеринарии: автореф. дис. ... д-ра ветеринарных наук / М. П. Семененко. – Краснодар, 2008. – 48 с.
73. Кухтенко Г.П. Сравнительный анализ карбомерных полимеров для фармацевтической и косметической практики [Текст]/ Г. П. Кухтенко [и др.] Запорожский медицинский журнал. – 2020. – № 3. – С. 431–436.
74. Степанова, А. В. Адсорбционная активность ягеля и комплексов на его основе по отношению к метиленовому синему [Текст]/ А. В. Степанова, А. С.

Шарина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – № 6. – С. 125–129.

75. Сумароков, А. Б. Клиническая электрокардиология [Текст]/ А. Б. Сумароков, А. А. Михайлов. – М.: Медицина, 1975. – 224 с.

76. Терентьев, А. Н. Бентонит и возможное его применение в медицине [Текст]/ А. Н. Терентьев. – Ашхабад, 1994. – 274 с.

77. Технологія ліків промислового виробництва: підруч. для студентів вищ. навч. закл.: у 2 ч. [Текст]/ В. І. Чуєшов [та ін.] 2-ге вид., переробл. і допов. – Харків: НФаУ: Оригінал, 2012. – Ч. 2. – 638 с.

78. Толстых, М. П. Теоретические и практические аспекты заживления ран [Текст]/ М. П. Толстых, О. Э. Луцевич. – М.: Дипак, 2007. – 96 с.

79. Фармакогнозія: базовий підруч. для студентів вищ. фармац. навч. закл. (фармац. ф-ів) IV рівня акредитації [Текст]/ В. С. Кисличенко [та ін.]; за ред. В. С. Кисличенко. – Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2015. – 736 с.

80. Махсудов К. С. Фармакогностическое исследование растений рода *salvia* L., произрастающих в Таджикистане и перспективы их использования в фармации [Текст]/ А. У. Рахмонов, Р. С. Мусоев, С. М. Мусозода, О. С. Шпичак, К. С. Махсудов // Наука и инновация. – 2019. – № 3. – С. 86–92.

81. Махсудов К. С. Фармако–технологические исследования листьев шалфея мускатного (*folia Salvia sclarea* L.), произрастающего в Таджикистане [Текст]/ К. С. Махсудов, А. У. Рахманов, Р. С. Мусоев, С. М. Мусозода, М. Н. Саидова, О.С. Шпичак // Наука и инновация. – 2019. – № 4 – С. 68–71.

82. Караубаева А. А. Фармацевтическая разработка вульвосорбцеонного геля на основе каолина [Текст]/ А. А. Караубаева [и др.] // Вестник Алматинского технологического университета. – 2017. – № 1 (114). – С. 74–78.

83. Кухтенко Г. П. Фармацевтические исследования по разработке геля вентонического действия на основе растительного экстракта [Текст]/ Г. П. Кухтенко [и др.] // Рецепт. – 2019. – Т. 22, № 1. – С. 34–42.

84. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради та автор передмови [Текст] В. П. Черних. – 2-ге вид., переробл. і доповн. – Київ: "МОРІОН", 2010. – 1632 с.

85. Фармацевтична хімія: підруч. для студентів вищих фармац. навч. закладів і фармац. ф–тів вищих мед. закладів III –IV рівня акред. / за заг. ред. проф. Безуглого П. О. – Вид. 3–тє, випр., доопрац. – Вінниця: Нова Книга, 2017. – 465 с.
86. Вовк Г. В. Фітохімічне та фармакологічне дослідження дистиляційної витяжки з листя шавлії лікарської [Текст]/ Г. В. Вовк [та ін.] // Український біофармацевтичний журнал. – 2016. – № 1 (42). – С. 51–54.
87. Мига М. М. Фітохімічний профіль та протизапальна активність сухих екстрактів з листя шавлії лікарської [Текст]/ М. М. Мига [та ін.] // Фітотерапія. Часопис. – 2019. – № 4. – С. 38–42.
88. Халифаев, Д. Р. Создание лекарственных форм на основе бентонитовых глин и эфирных масел: дис. д–ра фармац. наук [Текст]/ Д. Р. Халифаев. – Душанбе, 2004. – 175 с.
89. Холназаров, Б. М. Разработка и исследование мази из эфирного масла душицы мелкоцветковой на основе бентонита: дис. канд. фармац. Наук [Текст] / Б. М. Холназаров. – М., 2004. – 146 с.
90. Чухно, Т. Большая энциклопедия лекарственных растений [Текст]/ Т. Чухно. – М.: Эксмо, 2007. – 1024 с.
91. Шпичак, О. С. Застосування бентонітових глин як гідрофільних основ для створення лікарських і косметичних засобів [Текст]/ О. С. Шпичак, О. І. Тихонов, С. М. Мусозода // Косметологія та аромологія: етапи становлення і майбутнє: матеріали Міжнар. наук. - практ. конф., приуроченої до 20-річчя спец. «Технології парфюмерно-косметичних засобів», м. Харків, 22-23 лют. 2018 р. – Харків, 2018. – С. 21–25.
92. Энциклопедия лекарств РЛС® [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/> – Дата обращения: 15.08.2021. – Загл. с экрана.
93. Яковлева, Л. В. Оптимізація доклінічного вивчення ефективності та нешкідливості лікарських засобів у формі мазей та гелів: інформ. лист № 101–2008/ Л. В. Яковлева, І. Г. Бутенко, К. П. Бездітко. – Київ, 2008. – 5 с.
94. A poly–herbal formulation accelerates normal and impaired diabetic wound

- healing [Text]/ A. Gupta [et al.] // Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society. – 2008. – Vol. 16 (6). – P. 784–790.
95. A Study on Anti–Inflammatory and Peripheral Analgesic Action of *Salvia sclarea* Oil and Its Main Components [Text]/ Mario D. L. Moretti [et al.] // Journal of Essential Oil Research. – 1997. – Vol. 9:2. – P. 199–204.
96. Abu–Al–Basal MA: Healing potential of *Rosmarinus officinalis* L. on full–thickness excision cutaneous wounds in alloxan–induced diabetic BALB/c mice [Text]/ Abu–Al–Basal // J Ethnopharmacol. – 2010. – Vol. 131. – P. 443–450.
97. Anti–inflammatory and Antioxidant Agents from *Salvia* Genus (Lamiaceae): An Assessment of the Current State of Knowledge [Text]/ M. Bonesi [et al.] // Anti–Inflammatory & Anti–Allergy Agents in Medicinal Chemistry. – 2017. – Vol. 16 (2).
98. Anti–inflammatory effect of the *Salvia sclarea* L. ethanolic extract on lipopolysaccharide–induced periodontitis in rats [Text]/ M. Kostić [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2017. – Vol. 199. – P. 52–59.
99. Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil [Text]/ H. Cui [et al.] // Botanical Studies. – 2015. – Vol. 56 (1). – P. 1–8.
100. Antioxidant Phenolic Compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. [Text]/ I. Jasicka–Misiak [et al.] // Ecological Chemistry and Engineering S. – 2018. – Vol. 25 (1). – P. 133–142.
101. Avinash, K. J. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review [Text]/ K. J. Avinash, S. Nandan // Trends in Food Science & Technology. – 2022. – Vol. 119. – P. 579–591.
102. Babahoum, N. Characterization and purification of Algerian natural bentonite for pharmaceutical and cosmetic applications [Text]/ N. Babahoum, M. Ould Hamou // BMC Chemistry. – 2021. – Vol. 15. – P. 50.
103. Bahramsoltani, R. Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: an integrative review [Text]/ R. Bahramsoltani, M. H. Farzaei, R. Rahimi // Archives of dermatological research. – 2014. – Vol. 306 (7). – P. 601–617.

104. Bandoniene, D. Determination of rosmarinic acid in sage and borage leaves by high-performance liquid chromatography with different detection methods [Text]/ D. Bandoniene, M. Murkovic, P. R. Venskutonis // *J. Chromatogr. Sci.* – 2005. – Vol. 43. – P. 372–376.
105. Biopharmaceutical and rheometric studies in the development of a gel composition with dimethindene maleate [Text]/ T. Popova, [et al.] // *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* – 2021. – Vol. 3 (31). – P. 11–18.
106. Brem, H. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes [Text]/ H. Brem, M. Tomic-Canic // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117. – P. 1219–1222.
107. Budovsky, A. Effect of medicinal plants on wound healing [Text]/ Budovsky, A., Yarmolinsky, L., Ben-Shabat, S. // *Wound Repair and Regeneration.* – 2015. – Vol. 23 (2). – P. 171–183.
108. Carretero, M. I. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical industry [Text]/ M. I. Carretero, M. Pozo // *Applied Clay Science.* – 2009. – Vol. 46 (1). – P. 73–80.
109. Characterisation of northern Patagonian bentonites for pharmaceutical uses [Text]/ C. V. Iborra [et al.] // *Applied Clay Science.* – 2006. – Vol. 31(3–4). – P. 272–281.
110. Clay minerals: Properties and applications to dermocosmetic products and perspectives of natural raw materials for therapeutic purposes—A review [Text]/ J. D. D. Moraes [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics.* – 2017. – Vol. 534 (1–2). – P. 213–219.
111. Commission of the European Communities: Council Directive of 18 December 1986 on the Laws, regulating the Application of Principles of Good Laboratory Practice and the Verification of Their Applications for Tests on Chemical Substances (87/18/EEC) // *The Rules Governing Medicinal Products in the European Community.* – 1991. – Vol. 1. – P. 145–146.
112. Comparative Antioxidant, Anti-Acetylcholinesterase and Anti- α -Glucosidase Activities of Mediterranean Salvia Species [Text]/ M. Mervić [et al.] // *Plants.* – 2022. – Vol. 11 (5). – P. 625.

113. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays [Text]/ S. Dudonne [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – Vol. 57. – P. 1768–1774.
114. Constituents from *Salvia* Species and Their Biological Activities [Text]/ Y.–B. Wu [et al.] // *Chemical Reviews.* – 2012. – Vol. 112 (11). – P. 5967–6026.
115. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species [Text]/ D. Stagos [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2012. – Vol. 50. – P. 4115–4124.
116. Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities and phenolic contents of eleven *Salvia* species from Iran [Text]/ O. Firuzi [et al.] // *Iran. J. Pharm. Res.* – 2013. – Vol. 12. – P. 801–810.
117. Drugs. com. Know more. Be sure [Electronic resource]. – Access mode: <https://www.drugs.com/international/ruscogenin.html>. (Date of access: 02.11.2017). – The name from the screen.
118. Effects of collection time on biological activity of Clary sage (*Salvia sclarea*) [Text]/ E. Tulukcu [et al.] // *J. Appl. Bot. Food Qual.* – 2009. – Vol. 83. – P. 44–49.
119. Eming, S. A. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration [Text]/ S. A. Eming, T. A. Wynn, P. Martin // *Science.* – 2017. – Vol. 9, № 356 (6342). – P. 1026–1030.
120. Eming, S. A. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation [Text]/ S. A. Eming, P. Martin, M. Tomic–Canic // *Sci Transl Med.* – 2014. – Vol. 6 (265). – P. 265sr6.
121. Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity in some medicinal herbs cultivated in Iran [Text]/ Z. Derakhshani [et al.] // *Botanica Serbica.* – 2012. – Vol. 36. – P. 117–122.
122. Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.) [Text] / İ. Gülçin [et al.] // *Turkish Journal of Agriculture and Forestry.* – 2004. – Vol. 28, № 1, Article 4.
123. Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent trends / C. M. Ajila [et al.] //

- Critical Reviews in Biotechnology. – 2010. – Vol. 31 (3). – P. 227–249.
124. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures [Text]/ N. Durling [et al.] // Food Chemistry. – 2007. – Vol. 101 (4). – P. 1417–1424.
125. Flavonoids and phenolic acids of sage: influence of some agricultural factors [Text]/ F. Areias [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2000. – Vol. 48. – P. 6081–6084.
126. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 8th ed. [Text]/ eds. P. J. Sheskey, W. G. Cook, C. G. Cable. London: American Pharmacists Association, Pharmaceutical Press, 2017. – 1216 p.
127. Herman, A. Herbal Products in Postsurgical Wound Healing – Incision, Excision and Dead Space Wound Models [Text]/ Herman, A., Herman, A. P. // Planta Medica. – 2020. – Vol. 86 (11). – P. 732–748.
128. Hypoglycaemic activity of *Bixa orellana* extract in the dog [Text]/ K. R. Russell [et al.] // Methods and findings in experimental and clinical pharmacology. – 2008. – Vol. 30 (4). – P. 301–305.
129. In vitro antimicrobial study of new modifications of *salvia officinalis* extracts [Text]/ Y. V. Verkhovodovoda [et al.] // Annals of Mechnikov Institute. – 2019. – № 1. – P. 31–35.
130. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study [Text]/ S. Asadi [et al.] // Food Chem. Toxicol. – 2010. – Vol. 48. – P. 1341–1344.
131. Jones, W. P. Extraction of Plant Secondary Metabolites [Text]/ W. P. Jones, A. D. Kinghorn // Methods Mol Biol. – 2012. – Vol. 864. – P. 341–366.
132. Ko, M.–J. Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE) [Text]/ M.–J. Ko, C.–I. Cheigh, M.–S. Chung // Food Chemistry. – 2014. – Vol. 143. – P. 47–155. doi:10.1016/j.foodchem.2013.07.104
133. Kováč, I. Fytoterapia kožných rán – prehľad experimentálnych a klinických štúdií v prvom decéniu 21. storočia [Phytotherapy of skin wounds – overview of experimental and clinical studies in the first decennium of the 21st century] [Text]/ I.

Kováč, P. Gál, J. Mojžiš // *Casopis lekaru ceskych.* – 2012. – Vol. 151 (9). – P. 423–427.

134. López-galindo, A. *Pharmaceutical and Cosmetic Applications of Clays* [Text]/ A. López-galindo, C. Viseras // *Clay Surfaces – Fundamentals and Applications.* Amsterdam, 2004. – P. 267–289.

135. Lu, Y. Salvianolic acid L. a potent phenolic antioxidant from *Salvia officinalis* [Text]/ Y. Lu, L. Y. Fo // *Tetrahedron Letters.* – 2001. – Vol. 42. – P. 8223–8225.

136. Multifaceted role of clay minerals in pharmaceuticals [Text]/ I. S. Khurana [et al.] // *Future science OA.* – 2015. – Vol. 1 (3). – P. FSO6.

137. Osorio-Tobón, J. F. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds [Text]/ J. F. Osorio-Tobón // *J Food Sci Technol.* – 2020. – Vol. 57. – P. 4299–4315. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04433-2>.

138. Patent No. EP 0605509. C09K 15/34, A23L 1/221, A23L 3/3463 Antioxidant oleoresin compositions and a process for their production [Text]/ Nguyen, U. Y., Frakman, G., Evans, D. A. M. D. G. – № 92919648.3; appl. 16.09.92; publ. 20.12.95, Bulletin 95/51.

139. Patent No. US 4363823 C11B 5/00 Method of frying foods in the presence of a spice antioxidant [Text]/ Kimura Y., Kanamori T. – № 207932; appl. Nov. 18, 1980; publ. Dec. 14, 1982.

140. Phytochemical study and biological activity of sage (*Salvia officinalis* L.) [Text]/ M. Abdelkader [et al.] // *Journal of Bioengineering and Life Sciences.* – 2014. – Vol. 8 (11). – P. 1253–1257.

141. Phytochemical study of *salvia grandiflora* and *salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice [Text]/ M. Myha [et al.] // *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* – 2020. – № 1 (23). – P. 23–28.

142. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts [Text]/ A. Altemimi [et al.] // *Plants.* – 2017. – Vol. 6 (4) – P. 42.

143. Research of *Vitis Vinifera* leaves extraction process on timatic laboratory

- extractor [Text]/ D. Soldatov [et al.] // Scripta Scientifica Pharmaceutica. – 2019. – Vol. 6 (1). – P. 36–43.
144. Ross, K. A. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods [Text] / K. A. Ross, T. Beta, S. D. Arntfield // Food Chemistry. – 2009. – Vol. 113 (1). – P. 336–344.
145. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey / B. Tepe [et al.] // Food Chemistry. – 2006. – Vol. 95 (2). – P. 200–204.
146. Skin Wound Healing and Phytomedicine: A Review / N. Pazyar [et al.] [Text]// Skin Pharmacology and Physiology. – 2014. – Vol. 27 (6). – P. 303–310.
147. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review [Text]/ J. Azmir [et al.] // Journal of Food Engineerin. – 2013. – Vol. 117 (4). – P. 426–436.
148. The Effects of Lavender Essential Oil on Wound Healing: A Review of the Current Evidence [Text]/ R. Samuelson [et al.] // Journal of alternative and complementary medicine. – 2020. – Vol. 26 (8). – P. 680–690.
149. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine [Text]/ O. Koshovyi [et al.] // Journal of Applied Biology & Biotechnology. – 2020. – Vol. 8 (03). – P. 29–36.
150. Topical treatment of standardised burns with herbal remedies in model rats [Text]/ F. Becić [et al.] // Bosnian journal of basic medical sciences. – 2005. – Vol. 5 (4). – P. 50–57.
151. Williams, L. B. Evaluation of the medicinal use of clay minerals as antibacterial agents [Text]/ L. B. Williams, S. E. Haydel // International geology review. – 2010. – Vol. 52 (7/8). – P. 745–770.
152. World life expectancy [Electronic resource]. – Access mode: <http://www.worldlifeexpectancy.com> (Date of access: 02.11.2021). – The name from the screen

Список научных публикаций соискателя ученой степени

Статьи в рецензируемых журналах

[1-А]. Махсудов К.С. Фармакогностическое исследование растений рода *SALVIA L.*, произрастающего в Таджикистане и перспективы их использования в фармации [Текст] / К.С. Махсудов, А.У. Рахмонов, Р.С. Мусоев, С.М. Мусозода, О.С. Шпичак // Наука и инновация. – 2019. - №3. – С.86-92.

[2-А]. Махсудов К.С. Фармако-технологического исследования листьев шалфея мускатно (*folia Salvia sclarea L.*) произрастающего в Таджикистане [Текст] / К.С. Махсудов, А.У. Рахмонов, Р.С. Мусоев, С.М. Мусозода, М.Н. Саидова, О.С. Шпичак // Наука и инновация. – 2019. - №4. – С.68-72.

[3-А]. Махсудов К.С. Анатомического строение ассимиляционного аппарата шалфея мускатного (*Salvia sclarea L.*), произрастающего в Таджикистане [Текст] / С.М. Мусозода, А.У. Рахмонов, К.С. Махсудов, О.С. Шпичак, Р.С. Мусоев, Ш.С. Холова, Г.Н. Эргашова // Наука и инновация. – 2019. - №4. – С.134-140.

[4-А]. Махсудов К.С. Изучение структурно-механических свойств мази с жидким экстрактом шалфей мускатного, произрастающего в Таджикистане / [Текст] / К.С. Махсудов, А.У. Рахмонов, С.М. Мусозода, О.С. Шпичак // Наука и инновация. – 2020. - №4. – С.82-86.

[5-А]. Махсудов К.С. Разработка технологии жидкого экстракта листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане [Текст] / К.С. Махсудов, А.У. Рахмонов, Ф.И. Наджмидинов, С.М. Мусозода, Ф.Д. Давроншозода // Наука и инновация. – 2021. - №1. – С.44-51.

[6-А]. Махсудов К.С. Исследование биологической безвредности мази Салвит [Текст] / К.С. Махсудов // Наука и инновация. – 2021. - №2. - С.29-41.

Статьи и тезисы в сборниках конференций

[7-А]. Махсудов К.С. Разработка состава мази с жидким экстрактом шалфея мускатного [Текст] / К.С. Махсудов, А.У. Рахмонов, С.М. Мусозода //

Материалы республиканский научно- теоретической конференции, посвященной «5500-летию древнего Сарказма», «700-летию выдающегося таджикского поэта Камила Худжанда» и «20-летию изучения и развития естественных, точных и математических наук в сфере науки и образования (2020-2040)». - Душанбе, 2020. – С.218.

[8-А]. Махсудов К.С. Фотохимические исследование шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане [Текст] / К.С. Махсудов, Р.С. Мусоев, А.У. Рахмонов // Материалы республиканский научно- теоретической конференции, посвященной «5500-летию древнего Сарказма», «700-летию выдающегося таджикского поэта Камила Худжанда» и «20-летию изучения и развития естественных, точных и математических наук в сфере науки и образования (2020-2040)». - Душанбе, 2020. – С.216.

[9-А]. Махсудов К.С. Разработка технологии получения жидкого экстракта листьев шалфея мускатного (*salvia sclarea* L.), произрастающего в Таджикистане [Текст] / К.С. Махсудов, А.У. Рахмонов, С.М. Мусозода, Ф.Д. Давроншозода, О.С. Шпичак // Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів. – Харьков, 2020 – С. 98-101.

[10-А]. Махсудов К.С. Микроскопическое исследование листьев шалфея мускатного, произрастающего в Таджикистане [Текст] / К.С. Махсудов, С.М. Мусозода, О.С. Шпичак, А.У. Рахмонов, Р.С. Мусоев, М.В. Марченко // Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології, IV Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції. - Харьков, 2019. – С.351 - 352.

[11-А]. Махсудов К.С. Анализ рынка лекарственных средств ранозаживляющего действия в Республика Таджикистан [Текст] / К.С. Махсудов, А.У. Рахмонов, С.М. Мусозода, Давтян Л.Л., О.С. Шпичак // Сборник материалов XXVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов (6-9 апреля 2020 года). - Видокс, 2020. – С. 65.

Патенты

[12-А]. Малый патент на изобретение ТҶ 1094 Республика Таджикистан. «Антибактериальный мазь» / Махсудов К.С., Рахмонов А.У., Мусоев Р.С, Мусозода С.М., Давроншозода Ф.Д, Рахимова М.Х, № 2001418; заявл. 17.03.2020; опубл. 04.06.2020.