

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ  
КАЗАХСТАН**

**КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ С.Д. АСФЕНДИЯРОВА**

УДК 615.242:615.454.1:615.012/.014: [547.913-582.475.2] На правах рукописи

**АЮПОВА РИЗВАНГУЛЬ БАГДАУЛЕТОВНА**

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА АНТИФУНГАЛЬНОГО  
СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ С ЭФИРНЫМ МАСЛОМ ИЗ *ABIES  
SIBIRICA* НА ОСНОВЕ КАРБОМЕРОВ**

Диссертация

на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D  
074800 – «Технология фармацевтического производства»

Научный руководитель –  
доктор фармацевтических наук,  
профессор Дильбарханов Рахим  
Дильбарханович

Научный консультант —  
doc. RNDr. , VFU, Brno, Czech Republic, Milan Zemlichka

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

АЛМАТЫ – 2014

<b>СОДЕРЖАНИЕ</b>	<b>Стр.</b>
Нормативные ссылки.....	4
Обозначения и сокращения.....	5
Введение .....	6
Основная часть	
1 Современное состояние и перспективы разработки фитопрепаратов для отечественной фармации .....	12
1.1 Маркетинговый анализ фармацевтического рынка фитопрепаратов в Республике Казахстан.....	12
1.2 Эфиромасличные растения и эфирные масла .....	22
1.3 Карбомеры как основа для мягких лекарственных форм.....	33
1.4 Достижения современной фармации в области создания мягких лекарственных форм.....	42
2 Материалы и методы исследований.....	43
2.1 Материалы исследований.....	46
2.2 Методы исследований.....	51
2.3 Приборы, оборудование и программное обеспечение.....	55
3 Экспериментально-теоретическое обоснование извлечения и исследования эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i> ....	57
3.1 Способ получения эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i> микроволновым нагреванием.....	57
3.2 Изучение физических и физико-химических свойств эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i> .....	61
3.3 Сравнительный анализ химического состава эфирных масел из <i>Abies sibirica L.</i> полученных методами водно-паровой дистилляцией и микроволновым нагреванием .....	64
3.4 Оценка качества и исследование стабильности эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i> .....	67
3.5 Расчет технико-экономических показателей при производстве эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i> ....	80
4 Разработка состава и технология стоматологического геля с пихтовым маслом .....	83
4.1 Обоснование оптимального состава стоматологического геля.....	83
4.2 Разработка рациональной технологии изготовления геля с пихтовым маслом.....	91
4.3 Оценка качества и исследование стабильности стоматологического геля с пихтовым маслом.....	97
4.4 Расчет технико-экономических показателей при производстве геля с пихтовым маслом.....	115

5	Исследование специфической биологической активности, безопасности эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i> и стоматологического геля на его основе .....	119
5.1	Исследование специфической биологической активности эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i> .....	119
5.2	Изучение безопасности эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i> .....	120
5.3	Исследование специфической биологической активности стоматологического геля с пихтовым маслом.....	121
5.4	Изучение безопасности геля с пихтовым маслом.....	123
	Заключение.....	137
	Список использованных источников.....	139
	Приложение А.....	152
	Приложение Б.....	153
	Приложение В .....	154
	Приложение Г.....	155
	Приложение Д.....	156
	Приложение Е.....	157
	Приложение Ж.....	158
	Приложение З.....	159
	Приложение К.....	160
	Приложение Л.....	161
	Приложение М.....	162
	Приложение Н.....	163
	Приложение П.....	164
	Приложение Р.....	165
	Приложение С.....	166

## НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

- В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:
- ФС РК 42-113-95. Глицерин.- Введ. 2005-24-01.-7 с.
- ФС РК 42-63-95. Вода очищенная.- Введ. 2002-12-11.-3 с.
- ФС РК 42-335-01. Вода очищенная. - Введ. 2001-07-11. - 3 с.
- СП РК 42-1968-04. Глицерин. - Введ. 2004-09-04. - 5 с.
- ОСТ 42-510-98. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP). - Введ. 1998-25-02. - М.: МЗ РФ, 1999. - 53 с.
- ОСТ РК 1617-2006. Производство лекарственных средств. Надлежащая производственная практика. – Астана, 2006.-108 с.
- МВ 64-У-1-97. Производство лекарственных средств. Надлежащие правила и контроль качества. - Киев: Госкоммедбиопрот Украины, 1997. - 158 с.
- ГОСТ 17768-90. Средства лекарственные. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение. – Введ. 1992-01-01. –М.: Госстандарт России,1991.-16 с.
- Стандарт организации. 1509-1910-02-ГП-05- 2012. Пихты сибирской масло.
- Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т.1.- Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2008.-592 с.
- Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т.2.- Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2008.-720 с.
- European Pharmacopoeia. – Nordlingen (Germany): Council of Europe, 2008.-3270 р.
- British Pharmacopoeia, London, 2001.
- Приказ МЗ РК от 19.11.2009г. №754 «Об утверждении Правил составления, согласования и экспертизы нормативно-технического документа по контролю за качеством и безопасностью лекарственных средств».

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

- АНД - Аналитический нормативный документ  
ВАНД – Временный аналитический документ  
БАВ – Биологически активные вещества  
ВР - Вспомогательная работа  
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения  
ГФ – Государственная фармакопея  
ГФ РК – Государственная фармакопея Республики Казахстан  
ГХ/МС – Газовая хроматография с масс спектроскопией  
ЕФ – Европейская фармакопея  
КазНМУ – Казахский Национальный медицинский университет  
ЛС - Лекарственное средство  
ЛРС – Лекарственное растительное сырье  
НД – Нормативная документация  
ГОСТ – Государственный отраслевой стандарт  
ОСТ – Отраслевой стандарт  
СТ – Стандарт организации  
ОТК – Отдел технического контроля  
РК – Республика Казахстан  
РСО – Рабочий стандартный образец  
ТП – Технологический процесс  
УМО – Упаковка, маркировка, отпуск  
ТЭО – Технико-экономическое обоснование  
МЛФ – Мягкая лекарственная форма  
ЛЭК – Локальный этический комитет

## **ВВЕДЕНИЕ**

**Общая характеристика работы:** настоящая диссертационная работа посвящена созданию нового лекарственного средства, в форме геля, полученного на основе карбомера с эфирным маслом из *Abies sibirica L.*

### **Актуальность темы**

На сегодняшний день в Государственном Реестре Республики Казахстан зарегистрировано 7174 лекарственных препаратов. Доля отечественных препаратов составляет - 30%, в стоимостном – 10%, соответственно, спрос на фармацевтические товары на 90% удовлетворяется за счет импортных лекарств. Как следствие отечественный фармацевтический рынок остается импортозависимым, в связи с этим вопрос импортозамещения является актуальным.

Политика государства направлена на развитие отечественного фармацевтического производства, которая реализуется с помощью Государственной программы развития здравоохранения «Саламатты Қазақстан» на 2011-2015 годы, Программы развития фармацевтической промышленности на 2010-2014 гг., Программы «Производительность 2020», Карты индустриализации Казахстана на 2010-2014 годы [1]. Исходя из этого, на рынке существуют все предпосылки для развития уже существующих предприятий, а также для строительства новых.

Одной из наиболее актуальных проблем современной стоматологии являются воспалительные и грибковые заболевания слизистой оболочки полости рта, а также пролежни при использовании съемных протезов [2].

В современной стоматологической практике традиционно применяется аппликационный метод лечения, заключающийся в нанесении лекарственных средств на поверхность десен или слизистой оболочки полости рта. В настоящее время находят применение многие лекарственных формы: растворы, полоскания, порошки, пасты, мази, эмульсии, аэрозоли и др. Недостатки использования таких форм очевидны: неравномерность контакта действующих компонентов со слизистой рта, кратковременность их взаимодействия с тканями, быстрое снижение концентрации из-за разбавления слюной и вымывание лекарственных веществ в нижележащие отделы ЖКТ. В связи с этим, актуальным является разработка перспективных лекарственных форм для стоматологии в виде вязких структурированных систем – гелей, обладающих пролонгированием эффекта [3].

В связи с тем, что к лекарственным средствам, используемым в терапии воспалительных и грибковых заболеваний полости рта, предъявляются такие требования, как антибактериальная активность, противовоспалительное действие, способность нормализовать обмен, улучшать кровообращение, усиливать регенерацию тканей, необходимо проводить поиск биологически активных веществ, оказывающих комплексное воздействие. Таким требованиям отвечают, в ряде случаев, фитопрепараты, в том числе эфирные масла

лекарственных растений, масляные и спиртовые экстракты [4].

Широко в стоматологии применяются лекарственные препараты, в частности, содержащие эфирные масла, обладающие бактерицидным действием в отношении стафилококков, стрептококков, кишечной и синегнойной палочки, фунгицидной активностью. К таким эфирным маслам относятся и эфирные масла из *Abies sibirica L.* произрастающие в Республике Казахстан [5].

В связи с вышеизложенным разработка стоматологического геля, предназначенного для лечения и профилактики грибковых заболеваний слизистой оболочки полости рта и расширение ассортимента фитопрепаратов отечественного производства представляет на наш взгляд несомненный теоретический и практический интерес.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящего диссертационного исследования является разработка состава, технологии и методов анализа геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.* на основе карбомера.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**:

- провести анализ зарегистрированных в РК лекарственных препаратов для лечения грибковых заболеваний слизистых оболочек полости рта и обосновать необходимость создания лекарственного средства на основе эфирного масла из *Abies sibirica L.*;
- теоретически и экспериментально обосновать способ получения эфирного масла из *Abies sibirica L.* методом микроволнового нагревания;
- изучить физико-химические свойства, провести оценку качества и исследовать стабильность эфирного масла из *Abies sibirica L.*;
- разработать технологическую схему производства и обосновать технико-экономические показатели при производстве эфирного масла из *Abies sibirica L.*;
- изучить структурно-механические свойства гелеобразователя – карбомера и разработать рациональный состав, технологическую схему производства стоматологического геля;
- провести оценку качества и исследовать стабильность геля, обосновать технико-экономические показатели при производстве стоматологического геля с пихтовым маслом;
- провести фармакологические исследования по изучению специфической биологической активности и безопасности эфирного масла из *Abies sibirica L.* и разработанного нового геля с пихтовым маслом на основе карбомера;
- на основании проведенных технологических, физико-химических, микроскопических и микробиологических исследований разработать нормативные документы на предлагаемые лекарственные средства (проекты временной аналитической нормативной документации, опытно-промышленные регламенты) и приобретения инновационных патентов.

### **Научная новизна**

Впервые предложен способ получения эфирного пихтового масла из лекарственного растительного сырья *Abies sibirica* L. методом микроволнового нагрева. Новизна исследования подтверждена инновационным патентом РК на изобретение «Способ получения пихтового масла для использования в фармации» № 27004 от 2013г. [8].

Впервые изучена антифунгальная активность на *Candida albicans* и антирадикальная активность эфирного масла из *Abies sibirica* L. В результате изучения антирадикальной активности эфирного масла из *Abies sibirica* L., на примере модельной реакции с катион-радикалами АБТС<sup>+</sup> установлено, что наибольшей антирадикальной активностью обладает  $\gamma$  – терпинен и его антирадикальная активность составляет 39.47%.

Впервые на основании экспериментальных органолептических, технологических, микроскопических исследований разработан оптимальный состав и технология стоматологического геля с эфирным маслом из *Abies sibirica* L. Обоснован состав вспомогательных веществ и концентрация эфирного масла. Новизна исследования подтверждена заявкой на приобретение инновационного патента РК на изобретение.

**Практическая значимость результатов исследования.** Проведенные комплексные физико-химические, технологические и микроскопические исследования эфирного масла из *Abies sibirica* L. показали возможность его использования в составе стоматологических средств.

Предложено новое стоматологическое лекарственное средство для лечения заболеваний полости рта на основе эфирного масла из *Abies sibirica* L. и составлен проект ВАНД, который рекомендован к внедрению в фармацевтическое производство.

**Внедрение результатов исследований в практику.** По результатам исследований разработан Стандарт организации (СТ №1509-1910-02-ГП-05-2012) на «Пихты сибирской масло» и проект временного аналитического нормативного документа (ВАНД) на производство эфирного масла и геля под условным названием «АбиДент» в качестве средства для лечения и профилактики кандидоза слизистых оболочек полости рта.

Получены инновационные патенты «Способ получения пихтового масла для использования в фармации» № 27004 от 2013г», «Стоматологический гель для лечения заболеваний полости рта».

Результаты работы внедрены в лекционные и практические курсы по технологии лекарственных форм, проводимые со студентами очной формы обучения по специальности «Фармация» в Кыргызскую Государственную Медицинскую Академию им. Ахунбаева (Акт внедрения от 2014г.), в Государственный концерн «Узфарманоат» (Акт внедрения от 01.09. 2014г.) и в «Стоматологический колледж имени профессора Рузуддинова» г. Алматы. (справка от 04.04.2014г).



### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- анализ зарегистрированных лекарственных препаратов в РК;
- сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел из *Abies sibirica L.* полученных методами микроволнового нагревания и водно-паровой дистилляцией;
- технологическая схема производства эфирного масла из *Abies sibirica L.* методом микроволнового нагревания;
- результаты антифунгальных, антирадикальных исследований эфирных масел из *Abies sibirica L.* полученных методами микроволнового нагревания и водно-паровой дистилляцией;
- результаты оценки качества и исследования стабильности эфирного масла из *Abies sibirica L.*, а также результаты изучения структурно-механических свойств гелеобразователя – карбомера;
- результаты разработки рационального состава и оценки качества, стабильности геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.*;
- технико-экономическое обоснование производства эфирного масла из *Abies sibirica L.* методом микроволнового нагревания и лекарственного средства на его основе;
- результаты доказательства безвредности эфирного масла и разработанного стоматологического геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.*

### **Личный вклад диссертанта.**

Диссертант самостоятельно осуществлял сбор, эксперимент, анализ и обобщение литературных данных по теме диссертационной работы.

Автор самостоятельно провел экспериментальные исследования по получению и исследованию эфирного масла из *Abies sibirica L.* Активно участвовал в разработке состава и технологии геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.*, по изучению токсикологических характеристик разработанного лекарственного средства с эфирным маслом из *Abies sibirica L.* Провел статистическую обработку полученных данных, обобщил и изложил полученные результаты в виде данной диссертационной работы.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы доложены и опубликованы в материалах: международной научно-практической конференции «Фармация: Современное состояние, достижения и перспективы», посвященное 80-летию КазНМУ им.С.Д. Асфендиярова (г. Алматы, 2010г.); Республиканской научно-практической конференции, посвященной 70-летию проф. Абдуллина (г. Алматы, 2011г.); II Международной заочной научно-практической конференции по теме «Современная научная мысль: проблемы и перспективы развития» (Россия, г.Чебоксары, 2012г.); Республиканской научно-практической конференции с международным участием по теме «Актуальные вопросы доказательной медицины и лекарственного обеспечения» (г. Караганда, 2013г.); Научно-практической конференции по теме «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (Узбекистан. г. Ташкент, 2013 г.); II Международной научно-практической

конференции «Интеграция фармацевтической науки, образования и практики на современном этапе» (г. Алматы, 2013 г.); X Международной Симпозиуме по химии природных соединений (Узбекистан. г. Ташкент, 2013г.); Научно-практической конференции в VFU, Brno, (Czech Republic. 2013); International Conference on European Science and Technology (Germany. Munich, 2014).

**Публикации.** По результатам исследований опубликовано 24 работ, в том числе:

- одна статья в международном журнале, входящем в базу данных Thomson Reuters с импакт фактором 0.165.
- одна статья в международном журнале, входящем в базу данных РИНЦ с импакт фактором 0.043;
- 10 статей рекомендованных ВАК;
- 9 статей на международных научно-практических конференциях (Германия, Чехия, Россия, Узбекистан, Казахстан);
- 1 Стандарт организации на «Пихты сибирской масло»;
- 2 инновационных патента РК.

#### ***Связь задач исследований с планом научных программ.***

Диссертационная работа выполнена в рамках научного направления КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова на тему «Разработка новых лекарственных средств, методов и технологий их получения на основе отечественного сырья» (номер государственной регистрации 0110 РК 00115 от 19.04.2010 г.), НТП по теме «Разработка состава и технология лекарственных форм, обладающих противовоспалительным и антимикробным действием на основе пихтового масла» (номер государственной регистрации 0112 РК 01173 от 2012 г.).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 166 страницах машинописного текста в компьютерном наборе, содержит 37 таблиц, 43 рисунков, список литературы, включающий 193 источника. Состоит из введения, обзора литературы, главы 2, посвященной материалам и методам исследований, 3-х глав собственных исследований, выводов, списка литературы и приложений.

#### **Благодарность**

За представленную возможность выполнения диссертационного исследования благодарю руководство Казахского национального медицинского университета имени С.Д. Асфендиярова, в лице ректора, профессора Аканова Айкана Акановича.

Выражаю огромную благодарность научному руководителю доктору фармацевтических наук, профессору Дильбарханову Рахим Дильбархановичу и заведующей модулем «Фармацевт-технолог», доктору фармацевтических наук Сакиповой Зурияде Бектимировне за помощь в планировании и организации исследования, в формировании научного подхода при анализе и обсуждении полученных данных.

Благодарю научного консультанта кандидата фармацевтических наук, декана фармацевтического факультета Ветеринарно-фармацевтического университета г. Брно, Чехия, Милана Жемличка и доктора фармацевтических наук Руту Мастейкову за постоянно оказываемую помощь при выполнении диссертационной работы.

Выражаю особую признательность за помощь и поддержку заведующему кафедрой технологии лекарственных форм, Ветеринарно-фармацевтического университета г. Брно, Чехия, PhD-доктору фармацевтических наук Дэвиду Ветхи и всему коллективу модуля «Фармацевт-технолог» КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова.

Особую благодарность выражаю своим родителям, детям за значительную моральную и материальную поддержку во время выполнения работы.

# **1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ РАЗРАБОТКИ ФИТОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ФАРМАЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

## **1.1 Маркетинговый анализ фармацевтического рынка фитопрепаратов в Республике Казахстан**

В настоящее время в Республике Казахстан потребность населения в лекарственных средствах удовлетворяется полностью, однако доля лекарственных средств отечественного производства в общем потреблении составляет всего 15%. Сложившаяся ситуация не может не беспокоить как правительство Республики Казахстан, так и производителей фармацевтической продукции, т.к. лекарственные средства являются национальной безопасностью любого государства. Приняты меры по разрешению данной ситуации. Первым шагом явилось принятие Государственной Программы развития фармацевтической и медицинской промышленности, где большая роль отводится готовым лекарственным формам, доля которых на рынке лекарственных средств в настоящее время превышает 90% [6]. Кроме того, государством приняты другие отраслевые законодательные и нормативные акты для развития фармацевтической отрасли, что в итоге привело к росту доли продукции отечественных производителей к настоящему времени только до 15% [7].

Для того, чтобы достичь желаемого результата, необходимо выполнить комплекс следующих мер, в том числе научно-исследовательских, таких как: маркетинговые исследования рынка лекарственных средств, форм, как внутренних, так и внешних конкурентов, исследования эффективности производства, качества и конкурентоспособности товаров.

Увеличение средней продолжительности жизни людей и рост населения повышают спрос на лекарственные средства, в т.ч. на лечение и профилактику заболеваний стареющего населения. Следствием этого является постоянное наращивание выпуска лекарственных средств, в т.ч. лекарственных форм для местного применения.

Среди препаратов аппликационного воздействия рациональной лекарственной формой, в которой можно реализовать многофакторное воздействие на поврежденные ткани, являются мягкие лекарственные формы, которые представлены мазями, пастами, кремами, гелями, линиментами (рис. 1) [9].

Современная номенклатура лекарственных препаратов для наружного применения в Республике Казахстан достаточно обширна, ее можно разделить на две большие группы: лекарственные средства, содержащие в качестве активного фармацевтического ингредиента синтетические лекарственные вещества и лекарственные средства с действующими веществами лекарственного растительного происхождения.

Фитопрепараты для наружного применения на рынке представлены в основном мазями, масляными экстрактами, суппозиториями, каплями, гелями,

пленками. Наиболее широко представленной лекарственной формой среди них являются мази, которые составляют более 65%; суппозитории – составляют 15%; растительные масляные экстракты - 12%; пасты, капли в общей совокупности составляют около 5%, гели, пластыри, пленки, карандаши - 3% [10].

На рисунке 1 представлена диаграмма удельного веса каждой лекарственной формы, содержащей фитоконпонент из общего количества лекарственных средств данной категории.

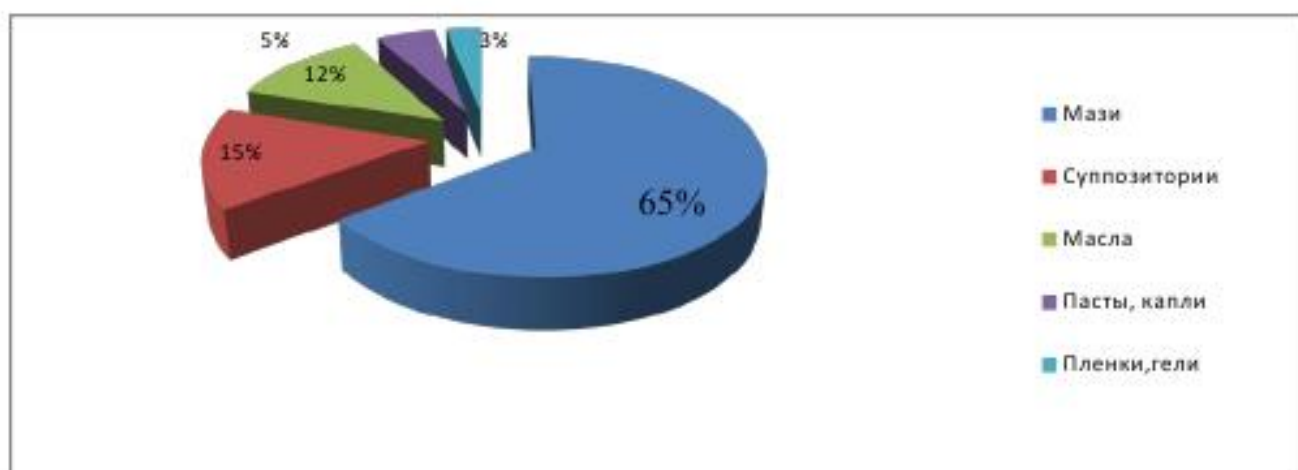


Рисунок 1- Диаграмма лекарственных форм фитопрепаратов в Республике Казахстан

Лекарственные средства в виде мягких лекарственных форм импортируются из более чем 100 стран, в том числе из Германии, Австрии, Португалии, Бельгии, Швейцарии, Польши, Венгрии, Словении, Италии, Эстонии, Литвы, Индии, Ирана и т.д., из стран ближнего зарубежья продукция представлена производителями из России, Белоруссии, Украины.

Наибольший ассортимент мягких лекарственных форм на рынок Республики Казахстан поставляют фирмы: «Нижфарм» (Россия), «Schering», «Bayer», «Schering – Ploug» (Германия), «Ranbaxy, Lupin, Microlabs, Glenmark, Agio» (Индия), Польша, Борисовский ЗМП (Белоруссия), Борщаговский ХФЗ, ФФ «Дарница» (Украина), «Schering» (Италия), Таллиннский завод АО (Эстония), «Gedeon Richter» (Венгрия), «Lek, KRKA» (Словения). Остальные фирмы поставляют от 1 до 4 наименований. Номенклатурный анализ лекарственных средств показал, что 94% из всего количества зарегистрированных мягких лекарственных форм являются импортированными из стран ближнего и дальнего зарубежья.

В Республике Казахстан производство мягких лекарственных форм в основном представлено наименованиями еще советского времени и технологии. Это такие мази, как стрептоцидовая, цинковая, ихтиоловая, серная, метилурациловая, фурацилиновая, линимент бальзамический и т.д. Практически нет современных высокотехнологичных мягких лекарственных

форм нового поколения. Лидирующие позиции занимают заводы: «Santo», «Ромат», ТОО «Шаншаров», «Рауан», АО «Фармация» (Караганда). Остальные компании производят по 1-2 наименований, табл. 1.

Таблица 1- Отечественные производители мягких лекарственных форм на рынке Республики Казахстан

№ п/п	Название фирмы	Кол-во наименов.	Отн. величин. %
1	Santo	7	1,6
2	Ромат	5	1,13
3	ТОО «Шаншаров»	4	0,9
4	Рауан	3	0,67
5	АО «Фармация» (Караганда)	7	1,6

Из данных таблицы следует, что отечественные мягкие лекарственные формы составляют около 6 % от общего числа наименований последних.

Анализом установлено, что особую группу составляют мази, содержащие биологически активные вещества из лекарственного растительного сырья, действующие вещества которых, представлены различными фармакотерапевтическими группами, такими как противовоспалительные, антимикробные, усиливающие регенерацию, обезболивающие, противоожоговые, раздражающие и противогрибковые.

Также в результате анализа установлено, что на рынке в основном, представлены фитопрепараты противовоспалительного действия. Их удельный вес составляет - 34%. Затем следует группа фитопрепаратов антимикробного действия, их удельный вес составляет - 21%. Далее следуют препараты усиливающие регенерацию - 16%, менее широко представлены группы фитопрепаратов обезболивающего действия - 11%, противоожогового - 9%, раздражающего -7%. Совокупность гемостатических, капилляроукрепляющих, тонизирующих и противогрибковых фитопрепаратов составляют всего лишь 2%.[11]. На рисунке 2 представлены фитопрепараты по фармакологическому действию.

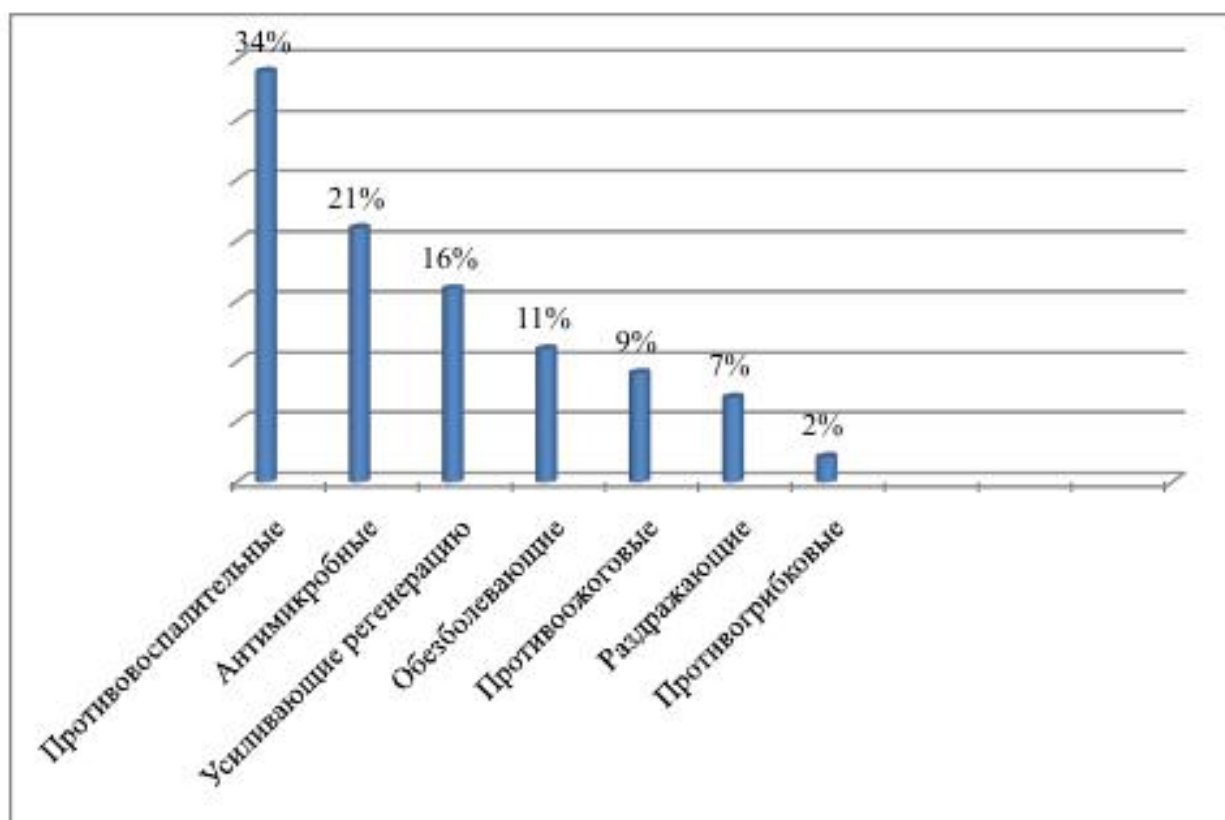


Рисунок 2 - Группы фитопрепаратов, для наружного применения по фармакологическому действию

Вызывает интерес и исследование фитопрепаратов представленных на рынке в зависимости от систематического положения вида растения. В результате анализа установлено, что наиболее широко представлены фитопрепараты из семейства бобовые и сложноцветные, миртовые, они составляют около 48%. Далее следует семейства пасленовые, маковые и сосновые – 21%. Семейства злаковые, валериановые, ореховые составляют около - 31% [12].

Выпускаемые фармацевтической промышленностью фитосредства делятся: 1) на содержащие сумму биологически активных веществ;

2) содержащие очищенную сумму биологически активных веществ;

3) содержащие индивидуальные вещества.

Установлено, что лидирующее место занимают эфиромасличные растения, их доля составляет – 33%, затем идут алколоидсодержащие лекарственные растения – их доля составляет 18%. Третье место занимают флаванонсодержащие лекарственные растения, их доля составляет 13%. В группу разное входят все остальные лекарственные растения содержащие кумарины, смолы, жирные масла и т.д. Их доля составляет около 6% каждое [13]. На рисунке 3 представлено содержание БАВ в лекарственных растениях.

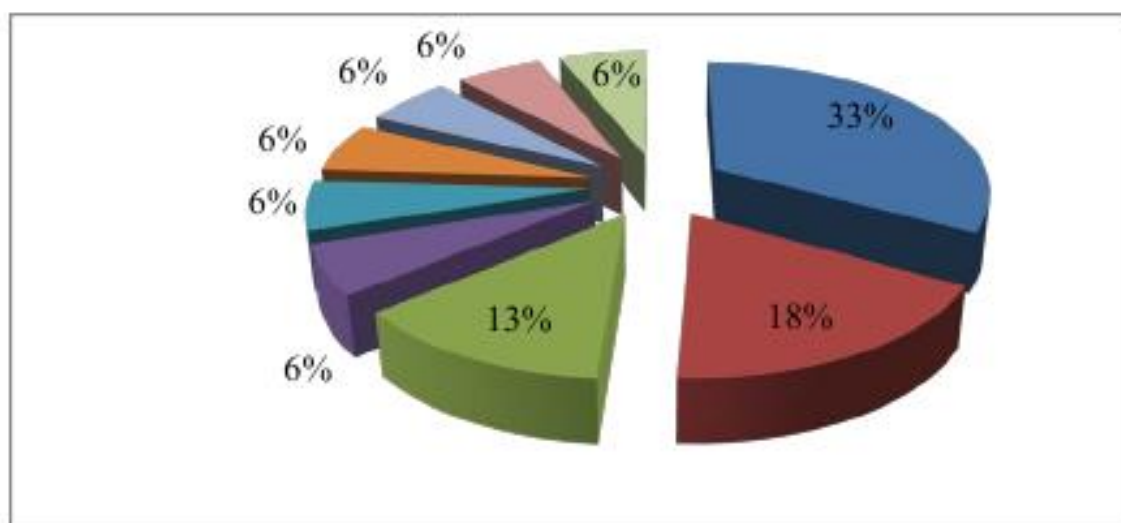


Рисунок 3 - Диаграмма содержания БАВ в лекарственных растениях

В результате проведенного комплексного маркетингового исследования рынка фитопрепаратов для наружного применения можно сделать следующие выводы:

1. На фармацевтическом рынке удельный вес фитопрепаратов для наружного применения в форме гелей составляет всего лишь 3 %.
2. Удельный вес фитопрепаратов противогрибкового действия для наружного применения на рынке составляют около 2%.
3. Эфиромасличные растения занимают лидирующее место среди БАВ из лекарственного растительного сырья, используемые в фитотерапии при различных заболеваниях.

Таким образом, разработка гелей с биологически активными веществами из эфиромасличных растений, обладающих антифунгальным (или противогрибковым) действием является актуальной для фармацевтической промышленности Республики Казахстан.

#### ***Анализ рынка лекарственных средств, используемые для лечения заболеваний полости рта***

В процессе создания нового стоматологического средства, с целью выбора состава и технологии, а также разработки оптимальной лекарственной формы нами проведен анализ, зарегистрированных в Республики Казахстан лекарственных средств, используемых в стоматологии. При этом установлено, что число зарегистрированных лекарственных средств, используемых в стоматологии всего 32 наименований из 7174 (таблица 2) [14].



Таблица 2 - Перечень зарегистрированных ЛС, используемые в стоматологии

№ п/п	Торговое название	Производитель	Страна изготовитель	Лекарственная форма
1	Дентамет	ЗАО Алтайвитамины	Россия	Гель стоматологический
2	Пропосол	ЗАО Алтайвитамины	Россия	Спрей для местного применения
3	Ледермикс паста	Riemser Arzneimittel AG	Германия	Паста
4	Дентинокс гель	Дентинокс ОФП Ленк & Шуппан	Германия	Гель
5	Дентокинд	Дойче Хомеопати-Унион ДХУ-Арцнаймиттель	Германия	Таблетки гомеопатические
6	Ротокан	ТОО Даулет-Фарм	Казахстан	Жидкость для наружного применения
7	Камистад-Гель	Штада Арцнаймиттель	Германия	Гель
8	Аметронид	Акрити Фармасьютикалз	Индия	Гель
9	Пропосол	ООО Микрофарм	Украина	Спрей для местного применения
10	Танфлекс	Абди Ибрахим	Турция	Спрей оральный
11	Ротокан	ТОО Султан	Казахстан	Жидкость
12	Тантум Верде	Анжелини Франческо	Италия	Раствор для местного применения
13	Тантум Верде	Анжелини Франческо	Италия	Таблетки для рассасывания
14	Тантум Верде	Анжелини Франческо	Италия	Спрей для местного применения
15	Стопангин	ТЕВА Чешские Предприятия	Чешская Республика	Спрей для местного применения
16	Дуб	ТОО Зерде-Фито	Казахстан	Кора
17	Дуб-Зерде	ТОО Зерде-Фито	Казахстан	Фито-чай
18	Шалфей	Натур Продукт	Нидерланды	Пастилки
19	Шалфей	Натур Продукт	Нидерланды	Таблетки для рассасывания

Продолжение таблицы 2				
20	Септалор	ООО Тернофарм	Украина	Таблетки для рассасывания
21	Рекутан	ООО ГНЦІС	Украина	Раствор
22	Фунгостатин	АО Nobel	Казахстан	Гранулы для местного применения
23	Шалфей	ТОО Зерде-Фито	Казахстан	Листья
24	Шалфей	ТОО Зерде-Фито	Казахстан	Фито-чай
25	Имудон	ОАО Фармстандарт-Томскхимфарм	Россия	Таблетки для рассасывания
26	Гексорал	Фамар Орлеан	Франция	Аэрозоль
27	Метрогил Дента	Юник Фармасьютикал Лабораториз	Индия	Гель стоматологический
28	Холисал	А.О. Фармзавод Jelfa	Польша	Гель стоматологический
29	Стомагель	ООО ЛМП	Латвия	Гель
30	Ротокан	ОАО Лубныфарм	Украина	Жидкость
31	Солкосерил	Легаси Фармасьютикалс	Швейцария	Паста дентальная адгезивная
32	КМ-Зубной	ПК Кызылмай Фирма	Казахстан	Бальзам

Число антифунгальных лекарственных средств составляет 63 наименований из 7174 (таблица 3).

Таблица 3 - Перечень зарегистрированных антифунгальных лекарственных средств

№ п/п	Торговое название	Производитель	Страна	Лекарственная форма
1	Флуконазол	ЗАО Канонфарма продакшн	Россия	Капсулы
2	Флунол	АО Nobel	Казахстан	Капсулы
3	Вифенд	Пфайзер	Германия	Таблетки
4	Вифенд	Пфайзер	Франция	Лиофилизат для приготовления раствора
5	Медофлюкон	Медокеми ЛТД	Кипр	Капсулы

Продолжение таблицы 3				
6	Текназол	АО Nobel	Казахстан	Капсулы
7	Ерадиком	Ltd Uni-Sule Private	Индия	Таблетки
8	Флуконазол -Здоровье	ООО Здоровье ФК	Украина	Капсулы
9	Кансидас	Мерк Шарп и Доум Б.В	Нидерланды	Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий
10	Флузамед	Е.И.П.И.Ко	Египет	Капсулы
11	Микогал	ТОО Глобал Фарм	Казахстан	Капсулы
12	Кандазол	ТОО Глобал Фарм	Казахстан	Таблетки
13	Фунгикейр	ЛТД Биомедикейр	Индия	Капсулы
14	Микосист	ОАО Гедеон Рихтер	Венгрия	Раствор для инфузий
15	Микосист	ОАО Гедеон Рихтер	Венгрия	Капсулы
16	Флузоль	Биофарма	Турция	Капсулы
17	Флюкорик	Ранбакси Лабораторис ЛТД	Индия	Капсулы
18	Эраксис	Фармация и Апджон Кампани	США	Лиофилизат для для инфузий
19	Ерадиком	Квалити Фармасьютикалс	Индия	Капсулы
20	Флюконазол-Зерде	Лабораториос Ликонса	Испания	Капсулы
21	Флуконазол	ОАО Валента Фармацевтика	Россия	Капсулы
22	Ирунин	ОАО Верофарм	Россия	Капсулы
23	Флуконазол	ЧАО Технолог	Украина	Таблетки
24	Флунол 100	АО Nobel	Казахстан	Капсулы
25	Флунол 150	АО Nobel	Казахстан	Капсулы
26	Цискан	Торрент Фармасьютикалс	Индия	Капсулы
27	Фуцис	ЛТД Кусум Хелткер	Индия	Таблетки
28	Дифлюзол	ОАО Киевмедпрепарат	Украина	Капсулы

## Продолжение таблицы 3

29	Кетазол	АО Химфарм	Казахстан	Таблетки
30	Хитразол	АО Химфарм	Казахстан	Раствор для перорального применения
31	Низорал	Янссен-Силаг	Италия	Таблетки
32	Флуконазол	ЗАО Оболенское	Россия	Капсулы
33	Итра	АО Польфарма	Польша	Капсулы
34	Тибулан	ЛТД Медокеми	Кипр	Капсулы
35	Дифлазон	Ново Место	Словения	Капсулы
36	Фунголон	Балканфарма	Болгария	Капсулы твердые
37	Нофлук	VMG Pharmaceuticals	Индия	Раствор для инфузий
38	Дермазол	Кусум Хелткер	Индия	Таблетки
39	Фуцис	Кусум Хелткер	Индия	Таблетки
40	Эсзол	Кусум Хелткер	Индия	Таблетки
41	Итракон	АО Фармак	Украина	Капсулы
42	Микосан	АО Химфарм	Казахстан	Капсулы
43	Фангифлю	Эдж Фарма Прайвет Лимитед	Индия	Капсулы
44	Фуцис	Марк Биосайнс	Индия	Раствор для инфузий
45	Микамин	Астеллас Фарма	Япония	Лиофилизат для инфузий
46	Микомакс	Зентива	Чешская Республика	Сироп
47	Микомакс	Фрезениус Каби	Австрия	Раствор для инфузий
48	Орунгал	Янссен Фармацевтика	Бельгия	Раствор для приема внутрь
49	Микомакс	Зентива	Чешская Республика	Капсулы
50	Орунгал	Янссен-Силаг	Италия	Капсулы
51	Лунизол-сановель	Сановель	Турция	Капсулы
52	Рофлузол	Славия Фарм	Румыния	Капсулы
53	Кандификс	Arafarma Group	Испания	Капсулы
54	Хитразол	АО Химфарм	Казахстан	Таблетки
55	Флуконазол	ООО Юрия-Фарм	Украина	Раствор для инфузий

## Продолжение таблицы 3

56	Флуконазол	ОАО Борисовский завод	Беларусь	Капсулы
57	Фунголон	Actavis	Исландия	Капсулы твердые
58	Румикоз	ОАО Валента Фармацевтика	Россия	Капсулы
59	Дифлюкан	Пфайзер	Франция	Капсулы
60	Дифлюкан	Пфайзер	Франция	Раствор для внутривенного введения
61	Флюканол	Кларис Лайфсайнсес	Индия	Раствор для инфузий
62	Флуконазол -СВС	ТОО СВС-Фармация	Казахстан	Капсулы
63	Ноксафил	Патеон Инк	Канада	Суспензия для приема внутрь

А число лекарственных средств, в форме гель составляет всего 4 наименований из 7174 зарегистрированных лекарственных средств (таблица 4).

Таблица 4 - Перечень зарегистрированных ЛС, в форме гель

№ п/п	Торговое название	Производитель	Страна	Лекарственная форма
1	Дентинокс Гель N	Дентинокс Общество фармацевтических препаратов	Германия	Гель
2	Камистад Гель N	Штада Арцнаймиттель АГ	Германия	Гель
3	Аметронид	Акрити Фармасьютикалз	Индия	Гель
4	Стомагель	ЛМП ООО	Латвия	Гель

Как видно из таблиц 2,3,4 число зарегистрированных лекарственных средств, в Республики Казахстан используемых в стоматологии и тем более в форме геля очень не обширен. Также из таблиц 2,3,4 видно, что в основном производителями вышеназванных ЛС являются зарубежные страны (Россия, Украина, Франция, Пакистан и др.).

В современных условиях стоматологические заболевания по данным ВОЗ характерны для 80% населения планеты. Основными причинами утраты человеком в течение жизни естественных зубов являются кариес и воспалительные заболевания полости рта. Лечение и профилактика заболеваний полости рта предполагают комплексный подход с учетом индивидуальных особенностей каждого больного, его общего и стоматологического статуса.

Анализ данных литературы показывает, что довольно широко используются в стоматологической практике лекарственные средства растительного происхождения. Стоматологами используются различные эфирные и жирные масла, а также масляные экстракты из лекарственных растений. Например, гвоздичное, эвкалиптовое, облепиховое, лимонное, кедровое, миндальное, пихтовое, мятное и др. [15].

Поэтому разработка геля с пихтовым маслом на основе гелей карбомеров представляет значительный интерес и является актуальным, особенно в стоматологии, т.к. номенклатура отечественных лекарственных средств растительного происхождения невелика при высокой потребности.

## **1.2 Эфиромасличные растения и эфирные масла**

В начале XX в. были опубликованы первые данные о полезных, хозяйственно-ценных, в том числе и о эфирномасличных растениях, имеющих мировое экономическое значение и широкую практику применения в разных отраслях народного хозяйства [16].

Многие авторы пытались систематизировать эфиромасличные растения по их классификации. Некоторые авторы классифицировали растения по основным группам, например: лекарственные, технические, эфирномасличные и жирно-масличные, красильные, пищевые, зерновые, технические, веревочные, декоративные и т.д. Другие авторы проводили большую детализацию «полезности» видов, выделяя тем самым большее число групп и создавая подгруппы в основных группах, уточняя по основной группе выделяемых веществ – каучуконосные, сапониноносные, смолоносные, камеденосные, алкалоидоносные и т.д. Основной проблемой классификаций является то, что ряд видов попадают сразу в несколько разных групп (лекарственные, эфирномасличные, медоносные, декоративные и т.д.) [17].

В предложенных классификациях полезных растений многие авторы эфирномасличные растения либо выделяют в обособленные группы, либо объединяют их в одну группу с пряными или лекарственными видами [18-21]. Например, автор Н.Л. Гурвич пыталась выстроить классификацию эфирных масел на основе их физико-химических свойств и основных компонентов. Все создаваемые классификации растений по их полезности условны, но они играют важную роль для понимания разнообразия применения растений

человеком, а также помогают определяться с новыми направлениями исследований [22].

XX в. был важным периодом в изучении эфирномасличных растений и эфирных масел в целом во всем мире. Эфирные масла находят применение во многих отраслях и производствах: медицине, фармацевтике, ветеринарии, косметике, парфюмерии, пищевой и кондитерской промышленности и т.д. Во всем мире ассортимент основных эфирномасличных растений не очень большой. Он насчитывает порядка 30-40 видов. Важнейшими среди них являются виды следующих родов: *Citrus*, *Eucalyptus*, *Abies*, *Anethum*, *Lavanda*, *Mentha*, *Thymus*, *Carum*, *Coriandrum*, *Foeniculum*, *Salvia*, *Juniperus*, *Rosa*, *Rosmarinus*, *Pinus*, *Ocimum*, *Artemisia*, *Geranium*, *Acorus*, *Pimpinella*, *Nepeta*, *Monarda*, *Laurus*, *Lophanthus*, *Iris* и др.

Главные потребители эфирных масел – парфюмерная и косметическая промышленности, выпускающие в широком ассортименте духи, туалетные воды, лосьоны, дезодоранты, туалетные мыла, зубные пасты, кремы, помады и др. Следующим не маловажным потребителем эфирных масел является медицина и фармацевтика, которая использует или чистые эфирные масла, или их компоненты для лечения и разработки различных лечебных препаратов на его основе.

Во всем мире число эфирномасличных растений мировой флоры составляет 2500 - 3000 видов. Во времена существования СССР во флоре страны было определено порядка 1100–1300 видов эфирномасличных растений, которые представляют 77 семейств. Главные семейства, включающие большее число эфирномасличных растений – это *Lamiaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*.

В бывшем Советском Союзе были определены специальные районы их распределения и промышленного выращивания, такие как: Крым (Украина), Молдавия, Кавказ (Армения, Азербайджан и Грузия) и Средняя Азия (Узбекистан, Таджикистан и Туркмения; в меньшей степени Киргизия и Казахстан). На полях бывшего СССР в XX в. выращивали небольшой ассортимент видов (от 15 до 20 популярных и основных востребованных видов растений). Наиболее чаще выращивались такие культуры, как *Coriandrum sativum* (до 90% всех площадей страны), *Carum carvi*, *Anethum graveolens*, *Foeniculum officinais*, *Mentha x piperita* L., *Salvia sclarea* L., *Rosa damascena* L. var *trigintipetala*, *Rosa alba* L. и некоторые другие [23- 26].

В течение XX в. не только проводился скрининг эфирномасличных растений, но разрабатывались разные методы извлечения и анализа эфирных масел. Способы лабораторного и промышленного получения масел многократно претерпевали изменения. Стремительное развитие приборной и аналитической базы анализа органических соединений, примерно каждые 20-30 лет, способствовало более детальному и тонкому анализу эфирных масел. Если до 1950-х гг. приведение физико-химических констант (эфирного и кислотного числа, рН, угла поляризации, удельного веса) и основных классов входящих компонентов (кислоты, спирты, сложные эфиры, терпены) эфирного масла были большим достижением, то уже с открытием газовой хроматографии

(после 1950-х гг.) и тем более с появлением хромато – масс - спектрометрического анализа (с середины 1970-х гг.) исследования в области эфирномасличных растений и идентификации компонентов стали невероятно стремительно двигаться вперед.

В течение последних 45 лет проводятся ежегодные европейские научные конференции, посвященные всестороннему изучению эфирномасличных растений и их масел. Раз в пять лет проходят специализированные конгрессы по эфирным маслам и эфирномасличным растениям. Число научных журналов, публикующих работы о компонентном составе эфирных масел, уже достигает нескольких десятков. В настоящее время центрами изучения эфирных масел стали такие страны дальнего зарубежья как: Индия, Пакистан, Турция, Соединенные Штаты Америки, Китай, Бразилия и Египет, печатающие подавляющее число работ в этой области.

В середине XX в. неоднократно предпринимались учеными попытки охватить и проанализировать все достижения в области выявления эфирномасличных видов растений, выделения, накопления и изучения компонентного состава эфирных масел [27-48].

Политическое переустройство страны, произошедшее в последнее десятилетие XX в. способствовало резкому сокращению работ по эфирномасличным видам растений. XXI в. привел к тому, что исходя из экономических соображений, различным фармацевтическим компаниям и фирмам стало выгоднее завозить эфирные масла высокого качества из разных стран мира, чем заниматься их производством в Республике или поддерживать и развивать производство на бывших плантациях в сопредельных странах. Несмотря на это, в Республике Казахстан и в других постсоветских странах все же начинает возобновляться интерес к выращиванию своего растительного сырья эфирномасличных растений и получению из них эфирных масел, начинаются работы по восстановлению утраченных сортов, перспективных для страны.

Изучение как собственно эфирномасличных растений, так и их эфирных масел, как и определение ценности этих растений как ресурсных видов, тесно связано с развитием физико-химических методов анализа органических смесей природного происхождения.

Середина XX в. оказалась невероятно плодотворной в области комплексного изучения эфирномасличных растений и их культуры в разных регионах страны. Многие поисковые работы проходили под эгидой Ботанического института им. В.Л. Комарова Академии наук СССР. В этих исследованиях были задействованы сотрудники или аспиранты БИНа: Н.В. Белова, М.В. Бодруг, Р.А. Буйко, А.Е. Граценков, Г.А. Денисова, Д.Д. Джумаев, Х.Д. Джумаев, А. Жураев, П.О. Каррыев, Л.И. Медведева, И.С. Мелкумян, Г.В. Пигулевский, И.Ф. Сацыперова, О.Т. Темирбеков, Г.И. Фокина, К.Х. Ходжиматов, А.Л. Шаварда, а также автор этих строк, работающий с эфирномасличными видами и маслами уже более 30 лет, и многие другие. Активно в поисковых работах участвовали и сотрудники региональных



институтов республик бывшего Советского Союза (Азербайджан, Армения, Грузия, Казахстан, Молдавия, Украина, Узбекистан и др.) [49-58].

1960-1970-е гг. были посвящены поиску и выявлению новых и перспективных ресурсных эфирномасличных видов, отработке агротехнических приемов их выращивания в разных регионах страны [59-64]. В это время были сформулированы основные пути и задачи в области изучения эфирномасличных растений СССР, которые были направлены на выявление новых видов растений, изучение компонентного состава, поиска прикладного применения эфирных масел [65].

Основными регионами выращивания в это время были южные территории бывшего Советского Союза, в настоящем – самостоятельные страны: Украина, Молдавия, Грузия, Таджикистан, Казахстан, Киргизия, Узбекистан, Туркмения [66].

Авторами работ [67-70] известно, что среди достижений бывших стран СССР в области выращивания и получения эфирных масел с конца 1960-х до начала 1980-х гг. бурно развиваться. В это время производство мятного эфирного масла достигло с 69 до 223 т, лавандового – с 36 до 118, розового с 3,3 до 9,9, гераниевого – с 17 до 64, укропного – с 1 до 12, эфирного масла из базилика эвгенольного – с 15 до 50, шалфея мускатного – с 34 до 101.

В середине 1980-х гг. по объему производства таких эфирных масел как кориандровый, мускатно-шалфейный и розовое масло бывший Советский Союз занимал первое место в мире. Общее производство эфирных масел в стране достигло 1500 т в год, а потребность на них в стране была значительно выше (на уровне 3500 т). Под выращиванием эфирномасличных культур в стране было занято почти 250 тыс. га. Существовало 25 специализированных совхозов в Краснодарском крае (5), на Украине (7), в Грузии (4), Молдавии (6), Армении (1) и Таджикистане (2). Анализ спроса на эфирные масла для ряда эфирномасличных растений, показал, что в течение XX в. они переживали «взлеты» и «падения» [67-70].

Причины этих «падений» и «взлетов» чаще носят экономический характер, но часто отражают и политическую ситуацию в странах. Например: *Salvia sclarea* в природе растет в Малой Азии, Иране, на Кавказе и в Южной Европе. Этот вид во Франции начали культивировать еще в XIX в, на незначительных площадях. В бывшем СССР, в Крыму и Краснодарском крае в целях получения эфирного масла его начали возделывать с 1929 г., а в Узбекистане и Молдавии – с начала 1950-х гг.

Вместе с тем, Франция и по сей день продолжает выращивать мускатный шалфей. Его массовые посадки начали восстанавливать с 1992 г. и уже через два года они заняли площадь 1600 га, а производство эфирного масла составило 12 т, и почти 20 т эфирного масла было произведено в 1995 г. *Foeniculum vulgare* культивировали во многих европейских странах и в США. В середине XX в. производство фенхельного масла только во Франции достигало 500 т/год.

В дореволюционной России фенхельное масло было предметом экспорта. Его производство на Украине восстанавливалось дважды: сначала в 1930-х гг.,

а затем в конце 1940-х гг. В 1980-е гг. выработка фенхельного масла на Украине составляла в среднем 30 т/год. Оно по содержанию анетола (около 60 %) почти не отличалось от принятых в Европе показателей для «сладкого» фенхельного масла. Сейчас производство фенхельного эфирного масла во Франции резко сократилось из-за конкуренции с более дешевым бадьяновым маслом и синтетическим анетолом. Современный центр селекционной работы с этой культурой переместился в Чехию.

С 1920-х гг. во Франции стало наблюдаться постепенное вытеснение с плантаций настоящей лаванды ее гибридной формой – лавандином [*Lavandula hybrida* Reverchon (*L. latifolia* Medic x *L. angustifolia* Mill)]. Если выработка настоящего лавандового масла в 1928 г. была на уровне 150 т ежегодно, то уже в 1951 г. она составила всего 70 т в год, а в 1992 г. упала до 27 т. Производство же лавандинового масла развивалось быстрыми темпами. В 1992 г. во Франции было получено 870 т этого масла. В СССР первые плантации лаванды (*Lavandula vera*) были заложены в 1929 г. с использованием сортов, выведенных в Никитском ботаническом саду. Эта культура хорошо прижилась в Крыму, и уже в 1940 г. выработка лавандового масла достигала 15 т. С конца 1950-х гг. было начато производство лавандового масла и в Молдавии. Всего в СССР (в Крыму и Молдавии) в 1980-х гг. вырабатывали до 100-140 т масла в год.

Такая ситуация с территориальным распределением и перераспределением возделывания эфирномасличных растений привела к тому, что в конце XX в. Россия и другие страны бывшего Советского союза лишились ранее созданных промышленных плантаций и заводов по переработке эфирномасличного сырья, оказавшихся за пределами ее границ.

Между XX и XXI в. в России и в других странах СНГ, в том числе и в Казахстане началось «новое» время в области эфирных масел и эфирномасличных растений. Ранее определенные задачи вновь стали актуальными: нам надо вновь начинать с изучения и выявления новых перспективных ресурсных видов эфирномасличных растений флоры Казахстана [71].

Новая экономическая ситуация, существующая в стране, привела к тому, что на настоящее время производство отечественных эфирных масел не отвечает международным требованиям качества, и в нашу страну импортируют эфирные масла из стран ближнего зарубежья, а в большей степени – из субтропических и тропических стран. Чаще импорт эфирных масел происходит из европейских стран, где эфирные масла из стран производителей, например, таких как Бразилия, Вьетнам, Индия, Филиппины, Эквадор и др., которые проходят очищение, концентрирование основных компонентов и прочую предпродажную подготовку, а также и сертификацию [71].

Перспективными направлениями работ в новом веке остаются – поиск и выявление новых и перспективных эфирномасличных видов растений, оценка их природных ресурсов, возможности культивирования, определение содержания искомого продукта в сырье и установление компонентного состава

входящих веществ, разработка технологии извлечения эфирного масла, поиск биологической активности и создание новых лечебных или профилактических препаратов.

Таким образом, в связи с проведенным литературным анализом установлено, что разработка новых технологий, методов и способов извлечения эфирного масла, поиск новых биологически активных веществ и создание на их основе новых лечебных или профилактических лекарственных средств из отечественного лекарственного эфиромасличного сырья *Abies sibirica* является актуальной и для Республики Казахстан.

### ***Состав эфирных масел представителей рода Abies Hill.***

**Систематика рода *Abies Hill*.** Род пихта (*Abies Hill*) относится к семейству Сосновые (*Pinaceae*) и подразделяется на подрод псевдоторрея, (*Pseudotsuga*) с одним видом и подрод пихта (*Abies*), состоящий из 14 секций (около 40 видов). К этому семейству принадлежат главнейшие хвойные породы северного полушария, которые являются основными лесообразователями и преобладают в составе древесной растительности зоны умеренного и холодного климата [72].

Из средиземноморских пихт, можно указать на пихты киликийскую (*A. cilicica*), нумидийскую (*A. numidica*), испанскую (*A. pinsapo*), кефалинийскую (*A. cephalinica*). Произрастающая на Дальнем Востоке пихты относятся к другим систематическим группам (к трем разным секциям). Наибольший ареал у пихты белокорой, или почкочешуйной (*A. nephrolepis*) из секции *Elate*: Камчатка, Хабаровский и Приморский края, восток Китая и полуостров Корея. В этом районе распространены и остальные виды той же секции: на полуострове Корея – пихта корейская (*A. koreana*), на Курильских островах, Сахалине и Хоккайдо – пихта сахалинская (*A. sachalinensis*). В Японии (Хонсю и Сикоку) – пихта Вича (*A. veitchii*). В Японии распространена и пихта твердая (*A. firma*) – единственный представитель секции *Momi*. Пихта цельнолистная (*A. holophylla*) обитает на юге Приморского края, на востоке Китая, полуострове Корея и острове Чечжудо. К этой секции относится и эндемик острова Тайвань пихта Каваками (*A. kawakamii*). В Западной Европе основным видом пихты является пихта белая (*A. alba*). Западная часть ее ареала доходит до франко-испанской границы, южная достигает юга Италии, а восточная – западной Украины [73].

В Казахстане произрастает один вид пихты – пихта сибирская (*A. sibirica L.*). Этот вид произрастает в основном в Восточно-Казахстанской области в горных районах Тарбагатай и в Алматинской области в горах Джунгарского Алатау [74].

**Биологическая активность эфирных масел пихты.** Эфирные масла пихт обладают низкой токсичностью, что позволяет использовать их в медицинской практике. Эфирное масло пихты сибирской входит в состав капель «Дента». Пихтовые масла применяют также при зубной боли, вводят в масляные растворы для инъекций, мази для растираний. Ванны с добавлением

эфирных масел пихт оказывают тонизирующее действие и повышают работоспособность [72]. Кроме того, они проявляют иммуностимулирующую и антибактериальную активность [75], пригодны в дозах, близких к естественному содержанию в пихтовом лесу, для лечения и профилактики многих воспалительных инфекций. Эфирное масло пихт рекомендовано для санации воздуха закрытых помещений. Эфирное масло пихты сибирской используется, кроме вышеперечисленных сфер, в парфюмерном, мыловаренном, ликероводочном производствах, для получения (-)-камфоры. Эфирное масло пихты белой в Европе очень ценится, поскольку из всех сосен, елей и пихт масло их этого вида пихты обладает наиболее приятным запахом. Его применяют при ингаляциях и для мазей при ревматизме. Используют в дезодорантах для нейтрализации неприятных запахов и в качестве добавок для ванн [76].

#### *Степень изученности состава эфирных масел растений рода *Abies*.*

К настоящему времени изученным является эфирное масло пихты сибирской, он широко применяется в различных отраслях. В работе [77] в составе эфирного масла пихты сибирской показано присутствие больших количеств борнилацетата (49.8%),  $\alpha$ -пинена (6.8%), камфена (18.8%), борнеола (4.8%).

Как установлено авторами [78], значительное влияние на выход и состав пихтового масла оказывает время заготовки растительного сырья. Наиболее богаты монотерпеновыми углеводородами летние образцы, кислородсодержащими и сексвитерпеноидными соединениями – зимние, что находится в соответствии с интенсивностью солнечной радиации и компартментацией. Этим же объясняется изменение содержания и состава терпеноидов в течение суток, хотя пределы варьирования здесь значительно уже.

На состав и выход эфирного масла также влияет стадия онтогенетического развития [79]. Выход масла с 2.11% в древесной зелени подростка и 3.62% у 15-20-летних молодняков снижается у 160-170-летних деревьев до 1.63% [79]. Со старением в масле существенно уменьшается и вклад борнилацетата: у молодняков – 30.4%, у средневозрастных – 27.2% и перестойных – 17.4% [80]. В эфирном масле побегов верхней части кроны содержание борнилацетата на 22% больше, чем в средней [79].

69 соединений идентифицировано в эфирном масле пихты корейской [81]. Выход эфирного масла составил 0.9%. В качестве основных компонентов эфирного масла идентифицированы борнилацетат (27.9%),  $\alpha$ -пинен (23.2%),  $\beta$ -пинен (5.8%), терпинен-4-ол (3.8%), борнеол (3.4%) и  $\alpha$ -терпинен (3.1%).

Эфирное масло из живицы пихты почкочешуйной содержит 16.6% борнилацетата [82]. Выход масла из хвои составляет 2.0-2.7%.

Количество монотерпенов в эфирном масле *A.balsamea* достигает 96%. Преобладающими соединениями являются  $\beta$ -пинен (29.9%),  $\Delta$ -3-карен (19.6%),  $\alpha$ -пинен (14.6%) [76].

В литературе имеются некоторые сведения об особенностях состава эфирного масла *A. sibirica* L. произрастающего на территории Республики Казахстан, но отсутствуют сведения о выходе и составе эфирных масел пихт получаемых различными способами.

### ***Технологические методы извлечения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья***

Лекарственные растения являются уникальными источниками целебных соединений – биологически активных веществ и эфирных масел, применяющихся как для профилактики, так и для лечения различных заболеваний организма человека. На современном фармацевтическом рынке широко представлен ассортимент лекарственных средств на растительной основе. В связи с вышесказанным актуальными остаются вопросы выделения (извлечения) биологически активных веществ и эфирных масел из лекарственного растительного сырья.

Методы экстракции делятся на *традиционные*: прессование (горячее и холодное), водно-паровая экстракция, экстракция различными растворителями; и *современные* – сверхкритическая (экстракция сжиженными газами), микроволновая, ультразвуковая и другие виды экстракции. Несмотря на разнообразие методов выделения экстракции, каждый из них обладает своими достоинствами и недостатками, которые необходимо учитывать в зависимости от поставленной задачи.

Традиционные методы экстракции представляют собой большую группу методов выделения биологически активных веществ из растительного или животного сырья, известную с давних времен. К традиционным методам экстракции относятся прессование (горячее и холодное), водно-паровая экстракция, экстракция различными растворителями. Среди современных методов экстракции можно отметить сверхкритическую, ультразвуковую и другие виды экстракции [83].

Известными и широко применяемыми статическими способами являются мацерация и ремацерация. Эти способы используются для приготовления экстрактов и настоек. На производстве густых и сухих экстрактов чаще применяются ремацерационные методы.

В настоящее время мацерация не отвечает требованиям интенсификации производства и используется только в редких случаях [84]. Достоинством способа является простота метода и оборудования. К недостаткам можно отнести неполноту экстракции действующих веществ, большую продолжительность процесса, завышенное содержание балластных веществ в извлечениях (ВМС, пектины, слизи, белки и др.), трудоемкость (двойное прессование, промывка шрота).

В современной фармацевтической промышленности прослеживается тенденция к изысканию и внедрению новых форм мацерации с максимальной динамизацией всех видов диффузии. Примерами таких модификаций

мацерации являются: вихревая экстракция (турбоэкстракция), акустическая экстракция, электроимпульсный и другие методы импульсной обработки сырья; центробежная экстракция, дробная мацерация и др.

Турбо-экстракция часто осуществляется с использованием роторно-пульсационной аппаратуры [85], где колебания частицы сырья наиболее выражены. Метод вихревой экстракции (турбоэкстракции) позволил сократить до 5-10 минут стадии экстрагирования действующих веществ корней горечавки, аира болотного, листьев красавки, коры хинного дерева [86]. Методом экстракции растительного сырья в турбулентном потоке экстрагента с одновременным измельчением сырья можно получить извлечения из свежих растений.

К кинематическим способам – колебания частицы в движущейся жидкости – относится способ интенсификации процесса экстракции путем размола сырья в среде экстрагента с помощью шаровых мельниц. При применении этого способа время выделения основных биологически активных веществ из такого сырья, как трава мяты, пустырника, ландыша, корневища с корнями валерианы и др., сокращается до 1-3 ч. по сравнению с 8-48 ч. при существующих методах. Одним из недостатков способа получения извлечений с помощью шаровой мельницы является то, что при достаточно продолжительном ведении процесса (в 2-3 раза превышающем оптимальное) происходит адсорбция основных действующих веществ на поверхности сырья. Для интенсификации процессов гомогенизации и перемешивания, растворения труднорастворимых веществ, ускорения стадии экстрагирования биологически активных соединений успешно применяются пульсационные методы обработки растительного сырья. Частота пульсаций в современных пульсационных пневматических установках лежит в пределах 20-300 колебаний в минуту. Интенсификация процесса при пульсации потока жидкости, протекающей через слой сырья, объясняется турбулизацией пограничного слоя, уменьшением его толщины, разрушением застойных зон в точке соприкосновения частиц [87].

Весьма перспективным в технологическом отношении оказался метод ускорения стадии экстрагирования биологически активных веществ из лекарственного сырья с помощью электроимпульсных разрядов [86]. Можно успешно интенсифицировать процесс экстрагирования, не нарушая целостности молекулы. Жидкости, обработанные электроимпульсным ударом, продолжительное время не поддаются микробиологической порче.

Другими современными методами повышения эффективности экстракции биологически активных веществ и эфирных масел из растительного сырья являются высокочастотная и сверхвысокочастотная обработка [88]. Такая обработка сырья позволяет комплексно интенсифицировать технологические процессы путем улучшения качества готовой продукции, увеличения ее выхода, значительного сокращения производственных площадей, соблюдения необходимых санитарно-гигиенических условий обработки лекарственного сырья.

При электромагнитной обработке происходит одновременный нагрев всей массы обрабатываемого материала, как в макро, так и микрообъемах. Как правило, готовность ВЧ - и СВЧ - аппаратуры к работе достигается в течение 30-50 с, что в условиях производства экономически выгодно благодаря сокращению энергозатрат.

Другим важным преимуществом высокочастотной обработки является то, что в отличие от традиционного теплообмена здесь нет необходимости создавать, например, при сушке лекарственного сырья, большие градиенты температур, влажности давления. Кроме того, этот способ повышения экстракции способствует стерилизации получаемых извлечений [89].

К электрическим способам обработки растительного сырья относят электроплазмолиз и электродиализ. Электроплазмолиз чаще всего используется для получения соков из растительного сырья при прессовом способе извлечения [90].

Электродиализ основан на диффузии электролитов через полупроницаемую пористую перегородку под действием электрического тока. В процессе электродиализа достигается изменение солевого состава основных частей жидкостей, содержащих биологически активные вещества. При электродиализе не происходит изменения агрегатного состояния и фазового превращения системы, а вещества, входящие в обрабатываемые жидкости, остаются в неизменном состоянии [91]. Недостатком является длительность процесса.

В литературе часто встречаются публикации, посвященные экстракции сжиженными газами [92]. Обработка лекарственного и эфиромасличного растительного сырья сжиженными газами с целью извлечения отдельных компонентов в неизменном виде относится к высокоэффективным технологическим процессам, обеспечивающим снижение трудовых затрат, улучшающим качество продукции и способствующим комплексному использованию сырьевых ресурсов и материалов.

В фармации этот способ используют при получении высококачественных ароматизаторов, отдушек, биологически активных веществ, оригинальных лекарственных препаратов, различных продуктов и полуфабрикатов, предназначенных для дальнейшей переработки [93].

Экстракционный процесс сжиженными газами проводится под большим статическим давлением, что в технологическом отношении весьма важно, так как при снятии давления уже в условиях нормальной температуры экстрагент быстро улетучивается из извлеченного и отработанного сырья. В результате остается сумма экстрагированных веществ, не нуждающихся в какой-либо дополнительной обработке. Каждый из сжиженных газов характеризуется индивидуальными физико-термодинамическими свойствами, в том числе гидрофильными и гидрофобными. Это создает возможность подобрать ряд сжиженных газов и вести экстракцию отдельных химических соединений из сырья растворителями, обладающими различной полярностью. Такое свойство сжиженных газов позволяет вводить в технологический процесс фазу

селективной экстракции растворителем, способным формировать заданное количество экстракта, извлекать по мере надобности индивидуальные химические вещества, комплексы, классы соединений, не затрагивая оставшуюся в шроте сумму экстрактивных веществ [94].

Для извлечения биологически активных и других веществ наиболее часто применяют сжиженный углекислый газ [95]. В химическом отношении сжиженный углекислый газ – прочное и инертное вещество, проявляющее химическую индифферентность по отношению к перерабатываемому сырью, извлекаемым веществам и конструкционным материалам аппаратуры. Кроме того, он пожаро- и взрывобезопасен. К сожалению, не все сжиженные газы обладают этими свойствами. Количественный выход действующих веществ, при извлечении сжиженными газами может достигать 88-98 %, что, как правило, выше, чем у других способов экстрагирования – мацерации, перколяции, отгонки паром и т. д.

Сравнивая экстракты, полученные с помощью углекислого газа, с экстрактами, полученными паровой отгонкой, можно отметить следующее: экстракты, полученные экстрагированием сжиженным углекислым газом, имеют окраску более темных тонов с тенденцией к коричневому, меньшие плотность и показатель преломления, большее кислотное число, особенно экстракты из листьев, стеблей, корней и корневищ растений, что, по-видимому, связано с ферментативными процессами, протекающими в сырье при нарушении процесса сушки или при длительном хранении. В жиросодержащих фракциях экстрактов, полученных экстрагированием сжиженным углекислым газом, преобладают сложные эфиры и эфиры неглицеридного характера, поэтому отмечаются высокие значения эфирного числа экстрактов.

Процесс извлечения различных веществ из лекарственного сырья (в случае использования сжиженных газов) на основных технологических стадиях (экстракции и дистилляции) ведется при относительно низкой температуре. Это исключает, окислительные процессы во время извлечения биологически активных веществ.

В извлечениях, полученных сжиженным газом, отсутствуют отдельные экстрактивные вещества и компоненты, придающие определенные вкусовые, органолептические, фармакологические свойства – качества, отличающие один лекарственный препарат от другого [96].

Несмотря на разнообразие способов повышения эффективности экстракции, а также бурное развитие современных технологий, направленных на оптимизацию процессов извлечения биологически активных веществ и эфирных масел из растительного сырья, многие вопросы остаются открытыми.

Учитывая вышесказанное, целью дальнейших экспериментальных исследований явилось извлечение эфирного пихтового масла из отечественного лекарственного растительного сырья – Пихты сибирской - с использованием современных методов – микроволнового нагревания.



### 1.3 Карбомеры как основа для мягких лекарственных форм

В настоящее время в фармацевтической, парфюмерной и косметической практике широко используются различные виды гелей и гидрогелей. Среди большого разнообразия полимерных материалов, определенный интерес представляют сополимеры акриловой кислоты с полиалкилполиэфиром многоатомных спиртов [97,98].

Физико-химические и технологические свойства карбомеров обуславливают возможность их широкого применения в качестве вспомогательных веществ при разработке новых видов лекарственных форм в фармацевтической промышленности (мази, гели, суспензии, эмульсии, таблетки, глазные капли), в медицине, а также в косметической и парфюмерной промышленности в виде водных и водно-спиртовых гелей, лосьонов, кремов и т.д. [99,100,101].

#### *Номенклатура карбомеров и область их применения*

Карбомеры различных марок и их гели характеризуются отличием диапазона используемых концентраций; эмульгирующей и суспендирующей способностью; степенью прозрачности гелей; скоростью гелеобразования; устойчивостью гелей к воздействию электролитов, температуры, механическим воздействиям; способностью к высвобождению лекарственных веществ [102, 103].

Представленные на современном рынке акриловые полимеры марок карбопол 907 и карбопол 910 являются эффективными суспендирующими агентами при низких значениях вязкости [97].

Карбопол 941 (Карбомер 941) и карбопол 981 (Карбомер 981) образуют устойчивые эмульсии и суспензии при низких значениях вязкости. Гели, образуемые этими полимерами, отличаются идеальной прозрачностью.

Карбопол 1342 (Карбомер 1342) и Карбопол 1382 (Карбомер 1382) являются высокоэффективными суспендирующими и эмульгирующими агентами [104].

Карбопол 934 (Карбомер 934), Карбопол 5984 и Карбопол 2984 высокоэффективны при получении вязких гелей, эмульсий, суспензий [105,106].

Карбопол 940 (Карбомер 940) и Карбопол 980 (Карбомер 980) пригодны для получения прозрачных водных и водно-спиртовых гелей, устойчивых суспензий лекарственных веществ [104].

В особую группу следует выделить Карбополы серии ETD (ETD – Easy To Disperse – то есть, легко диспергируемый): Карбопол ETD 2001, Карбопол ETD 2020 и Карбопол ETD 2050. Их преимущества по сравнению с другими марками карбополов заключаются в следующем: легче диспергируются в воде, менее склонны к образованию комков, имеют гораздо более низкие значения вязкости до нейтрализации, что упрощает технологический процесс перемешивания [104,107,108].

В технологии лекарственных форм для перорального применения предложено использовать специально разработанные марки Карбомеров высокой степени очистки, названия которых обозначены буквой Р или сочетанием букв USP: Карбопол 934Р NF (Карбомер 934 Р), Карбопол 971Р NF (Карбомер 971 Р) и др. [104].

Полимеры марок Карбопол 934Р, Карбопол 971Р, Карбопол 974Р применяются в качестве загустителей, суспендирующих и эмульгирующих агентов в технологии лекарственных форм внутреннего и наружного применения, а также при производстве таблеток пролонгированного действия. Карбополы 971Р и 974Р обеспечивают медленное высвобождение лекарственных веществ из лекарственных форм в желудке и быстрое – в кишечнике [104].

Новеон АА-1 USP является промышленным стандартом, который широко применяется в технологии систем доставки лекарственных веществ к слизистым оболочкам. С использованием указанного полимера можно получить буккальных, назальных, вагинальных, ректальных и интестинальных (кишечных) адгезивных лекарственных пленок [104,109].

Одним из самых новых и перспективных Карбомеров является Карбопол Ultres 10. Этот полимер, в отличие от других карбополов может образовывать водные дисперсии за считанные минуты даже без перемешивания. Благодаря тому, что Карбопол Ultres 10 может образовывать водные и эмульсионные системы с широким интервалом вязкостных свойств, его применяют в технологии разнообразных препаратов (гелей, кремов и др.) [104].

### ***Технологические аспекты получения мягких лекарственных форм на основе гелей карбомеров***

Вопрос подбора оптимальных технологических условий получения мягких лекарственных форм является комплексным и тесно сопряжен с физико-химическими свойствами компонентов, входящих в их состав и обеспечивающих необходимые свойства.

Препараты должны обладать удовлетворительными органолептическими (приятный внешний вид, цвет, запах, консистенция), реологическими (экструзия, намазываемость) свойствами, сохранять стабильность, обладать определенным интервалом рН, должны отвечать микробиологической чистоты [110,111].

Изготовление препаратов на основе гелей карбомеров в большинстве случаев начинается с получения кислой дисперсии полимера. Карбомеры являются гидрофильными соединениями. При введении их в воду отдельные частицы полимера очень быстро смачиваются и подобно другим гидрофильным порошкам образуют комки. На поверхности сольватированных комков образуется пленка, препятствующая быстрому смачиванию внутренней части комков. Для предотвращения образования комков порошок

карбомера вводят в растворитель частями при непрерывном перемешивании, что является необходимым условием изготовления его водной дисперсии [112,113, 114].

Диспергирование полимера в воде лучше проводить при невысоких температурах, так как нагревание уменьшает его набухаемость [115].

Кислые дисперсии карбомеров не являются структурированными системами. Это не позволяет использовать их в качестве основ для мягких лекарственных форм. Фактором, определяющим перевод полимера в гелеобразное состояние, является способность к набуханию. Карбомеры относятся к ограниченно набухающим системам, о чем свидетельствует равновесное состояние, наступающее в системе полимер-растворитель. Фактором, стимулирующим набухание и обеспечивающим высокую загущающую способность карбомеров, является наличие в них сшивки, фиксирующей цепные участки в непосредственной близости друг от друга [116].

Наиболее широко распространенным механизмом загущения является нейтрализация полимера подходящим основанием. Водные дисперсии карбомеров имеют приблизительный интервал от 2,8 до 3,2 в зависимости от концентрации полимера. При нейтрализации до pH 4,0-7,0 карбоксильные группы карбомеров ионизируются, что создает отрицательные заряды вдоль всей цепи полимера. В результате электростатического отталкивания между заряженными макроионами молекула полимера полностью разворачивается, образуя растянутую структуру, что сопровождается немедленным загущением [117,118].

В качестве нейтрализующих агентов используют гидроксид натрия, калия, аммония, а также органические амины и алканоамины: триэтаноламин, аминометилпропанол, трометамин.

После нейтрализации всех карбоксильных групп дальнейшее повышение pH ведет к снижению вязкости гидрогелей. Подобного практически не наблюдается при нейтрализации карбомеров органическими аминами, так как в этом случае ассоциация карбоксильных групп частично подавляется за счет образования комплексов с аминами как молекулярного, так и ионного типа [116].

### ***Реологические характеристики гелей карбомеров и факторы, оказывающие на них влияние***

Изучение реологических свойств основ для мягких лекарственных форм имеет большое теоретическое и практическое значение, так как они влияют на терапевтические и потребительские свойства препаратов. На основании результатов, полученных при изучении структурно-механических свойств, можно сделать вывод о строении гелевых систем и, в сравнении с реологическими оптимумами, выбрать наиболее перспективными [119].

Гели карбомеров обладают неньютоновскими псевдопластическими свойствами, для которых характерно отклонение от прямолинейной зависимости между сдвиговым напряжением и сдвиговой скоростью [120]. Течение пластических и псевдопластических тел начинается после того, как создаваемое напряжение превысит некоторое минимальное значение - предел текучести, который, в общем, определяется как начальное сопротивление течению под действием приложенного усилия [121,122].

Характер поведения кислых и нейтрализованных систем карбомеров существенно различается. В кислых системах в интервалах напряжений сдвига, разрушающих структуру, происходит многочисленное разрушение структурных связей, не наблюдающееся в нейтрализованных системах [123]. При увеличении степени нейтрализации наблюдается уменьшение крутизны хода кривых зависимости эффективной вязкости от напряжения сдвига, свидетельствующее об уменьшении вклада структурной составляющей и усилении гидродинамических свойств гелей по мере нейтрализации карбомера [103,124].

Изучение кинетики деформации гидрогелей карбомеров показало, что они являются структурированными, слабо тиксотропными системами, о чем свидетельствуют восходящие и нисходящие кривые петли гистерезиса [125]. Для гелей карбомеров характерно уменьшение вязкости при увеличении скорости сдвига вследствие временного нарушения структуры геля. Однако после снятия сдвигового воздействия они способны к восстановлению структуры. Указанные свойства обеспечивают гелям карбомеров хорошие потребительские свойства – намазываемость, экструзию, равномерное распределение, высокую стабильность [97, 120].

Узкая петля гистерезиса, характерная для кислых систем, свидетельствует о малом времени релаксации напряжений и о проявлении слабых взаимодействий межмолекулярных структурообразующих сил. Это подтверждает логарифмические кривые зависимости вязкости от скорости сдвига [116].

Фактором, влияющим на реологические свойства гелей карбомеров, является концентрация полимера [126]. Для карбомеров со степенью сшивки 0,2-0,8% зависимость эффективной вязкости гелей от концентрации полимера носит линейный характер, а для карбомеров, имеющих степень сшивки более 0,8%, наблюдается отклонение от линейной зависимости. Наиболее резкое возрастание вязкостных характеристик гелей карбомеров с высокой степенью сшивки происходит в области концентрации полимера до 1%. В дальнейшем эффективная вязкость снижается вследствие перекрывания сфер молекул и их конкурентной борьбы за растворитель, приводящей к набуханию макромолекул в значительной меньшей степени, чем это имеет место в условиях предельного разбавления [116].

При изготовлении мазей, в особенности, суспензионных, в некоторых случаях, на стадии введения твердой фазы в основу для снижения вязкости и, следовательно, создания более благоприятных условий перемешивания,

систему нагревают. Изготовление суспензионных композиций на основе гелей карбомеров имеет некоторые особенности. Ранее проведенными исследованиями установлено, что в интервале температур от 20 до 90<sup>0</sup>С натриевые гели карбомеров изменяют вязкость не столь значительно, как в случае вазелина и других легко плавящихся гидрофобных основ. Это объясняется тем, что пространственная сетка, образуемая нейтрализованными молекулами карбомеров, является термостабильной - она не разрушается при повышении температуры. Такие свойства делают гели карбомеров и мягких лекарственных форм на их основе перспективными для применения в условиях жаркого климата [116, 127, 128].

Одним из факторов, влияющих на реологические свойства мягких лекарственных форм, является скорость перемешивания. Получение однородных систем на основе гелей карбомеров с применением высокоскоростных мешалок или гомогенизаторов сопровождается частичным или полным разрушением структуры геля. При этом степень разрушения находится в прямой зависимости от концентрации полимера. Для гелей, полученных в сравнительно мягких условиях, характерно некоторое упрочнение структуры в течение первых суток хранения; гели, претерпевшие значительное механическое воздействие, характеризуются отсутствием во времени каких-либо структурных изменений [129]. Чувствительность структуры гелей карбомеров к высоким скоростям необходимо учитывать при выборе аппаратуры для изготовления препаратов на их основе.

Изготовление гелей карбомеров рекомендуется вести при умеренной скорости перемешивания. Высокоскоростное перемешивание может препятствовать разворачиванию полимера, результатом чего является потеря его функциональных возможностей. Лучшие результаты достигаются при умеренной скорости перемешивания, приблизительно 800-1200 об/мин. [128,129].

Важным технологическим и биофармацевтическим аспектом создания мягких лекарственных форм на основе гелей карбомеров является выбор оптимального диапазона рН. Величина рН в значительной мере определяет реологические свойства и стабильность препарата, а также оказывает влияние на стабильность лекарственных веществ [114].

#### **1.4 Достижения современной фармации в области создания мягких лекарственных форм**

Использование мягких лекарственных форм (МЛФ) является наиболее приемлемым видом лечения в дерматологии, а также широко – в офтальмологии, отоларингологии, гинекологии, стоматологии и других областях, поэтому актуальными вопросами остаются совершенствование технологии мягких лекарственных форм, разработки их основ. Благодаря современным технологиям и широкому разнообразию эксципиентов с различными свойствами можно модифицировать различные характеристики

мягкой лекарственной формы, а также достичь желаемого фармакокинетического результата [130].

Мягкие лекарственные формы могут быть нескольких категорий, таких как мази, гели, кремы, линименты, пасты, припарки, медицинские пластыри [131].

МЛФ могут быть использованы как в лечении, так и в профилактике, а также в качестве косметических мазей и индивидуальной защиты эпидермиса от влияния химических раздражителей и в быту. Их действие может быть местным и общим резорбтивным, в соответствии назначению МЛФ [132].

Использование мягких лекарственных форм имеет ряд преимуществ, такие как отсутствие метаболического процесса распада в печени, приобретение характеристики контролируемого потребления лекарства с коротким биологическим периодом существования.

Подбор состава и изучение технологии изготовления мягкой лекарственной формы в значительной мере основывается на выборе подходящей основы. В свою очередь, основа, ее качественные и количественные показатели гарантируют необходимый будущий терапевтический эффект [133].

Результатом развития современной фармации в области разработки новых мягких лекарственных форм явилось расширение диапазона используемых вспомогательных веществ, открытие новых свойств ранее изученных веществ, углубление сведений в требованиях к качеству, поиск новых улучшенных составов МЛФ, благодаря использованию модельных лекарственных веществ, последним компьютерным технологиям, математического моделирования [134].

Требования, предъявляемые к уже известным или новым фармацевтическим субстанциям, всегда строго регламентированы и направлены на обеспечение качества лекарственного средства. Таковыми являются: совместимость субстанций, химическая индифферентность при контакте друг с другом и с первичной упаковкой, повышение терапевтического эффекта или снижение побочного действия, отсутствие влияния на организм человека [135].

Влияние основы на эффект применения наружной терапии является особым предметом внимания. Как правило, руководства по дерматологии рекомендуют использование идеальной основы, которая полностью инертна, не вступает во взаимодействие с компонентами МЛФ и кожей пациента и не препятствует свободному высвобождению активных компонентов после нанесения [136]. Прогресс биофармации трансформировал современный подход к основе, как следствие вспомогательные вещества в лекарственной форме выступают как физиологически активные вещества и оказывают физическое и химическое воздействие на кожу, влияют на высвобождение активного фармацевтического компонента, консистенцию, скорость ресорбции, стабильность [137].

Одной из биофармацевтических характеристик рассматривается растворимость лекарственного вещества, которая является одной из важных характеристик при оценке биоэквивалентности лекарственного средства, она предопределяет достижимость наиболее эффективной лекарственной формы с необходимой дозой лекарственного вещества с точки зрения терапевтической значимости. С точки зрения фармакокинетики, растворимость оказывает влияние на высвобождение активного компонента из лекарственной формы, скорость и полноту всасывания.

Учеными из разных стран были проведены исследования по изучению растворимости, а именно по повышению растворимости лекарственных веществ, посредством модифицирования составов, использования промоторов всасывания, солюбилизирующих веществ, получения твердых дисперсных систем, использования липосом, нанокапсул как носителей лекарств и другие [138]. Перспективным направлением по повышению растворимости является использование комплексообразователей, так как благодаря им можно добиться усовершенствования физических и биофармацевтических свойств лекарственных веществ [139]. Положительными сторонами являются корригирование запаха и вкуса, повышение растворимости липофильных веществ в воде, стабильность к термическим, ультрафиолетовым, химическим воздействиям, модификация агрегатного состояния лекарственной формы, увеличения биодоступности, фармакологической активности, пролонгирование действия лекарственного препарата, снижение побочных эффектов. Примером комплексообразователя могут служить производные  $\beta$ -циклодекстрина, использование которых демонстрирует повышение показателей параметра «Растворение» для фуросемида, гидрохлортиазида, мебендазола, метронидазола и др. [140].

Важным вопросом остается мониторинг новых вспомогательных веществ, так как они могут улучшить многообразные показатели лекарственных средств. Для этой цели могут быть использованы продукты переработки нефтяной, нефтехимической промышленности, продукты укрупненного синтеза, соединения, получаемые полимеризацией алифатических непредельных углеводородов и их производных [141]. Примером является сополимер стирола с малеиновым ангидридом (ССМА), который широко используется как песконесущая жидкость для гидроразрыва в нефтепромышленности [142]. При использовании ССМА в качестве мазевой основы было отмечено увеличение биодоступности активного фармацевтического компонента *in vitro* и *in vivo* [143]. Также возможно использование ССМА как самостоятельного средства в офтальмологической практике против герпетического кератита и в стоматологии [144, 145]. Дополнительным примером является сопутствующий продукт нефтепереработки низкомолекулярного полиэтилена, применяемый для изготовления мазей в гинекологической практике.

Одной из главных задач при разработке МЛФ является обеспечение требуемых специфических реологических свойств, изучение коллоидной устойчивости многокомпонентных систем. Известна разработка нового метода

оценки консистентных свойств мази, определение органолептического оптимума намазываемости по функции направления возрастания скорости деформации – касательного напряжения сдвига от скорости сдвига [146]. Процессы структурообразования определяют и будущую стабильность МЛФ, в связи с этим большое значение имеет проведение испытаний по определению скоростей сдвига, выявления касательного напряжения (петли гистерезиса), эффективности вязкости, механической стабильности, относящиеся к реологическим свойствам мазей [147]. Реологический метод позволяет определить границы области пластичности мази, улучшить выбор комбинации возможных концентраций фармацевтических субстанций для требуемых температурных режимов. Также неотъемлемой частью определения качества лекарственной формы является определение стабильности, упаковка, сроки и условия хранения.

Учитывая значение основы, важным аспектом остается поиск новых основ, например, Эсилон-4, Эсилон-5, являющиеся силиконсодержащими основами, они, в свою очередь, не оказывают отрицательного влияния на эпидермис и слизистую. Их негативной стороной остается их возможный синерезис и подверженность к микробной контаминации. Еще одной последней основой являются коллагеновые гели, которые делают возможным протекание резорбции, активизируя процессы регенерации ткани, повышает полноту высвобождения лекарственных веществ по сравнению с общепринятыми основами.

Также в последнее время приобретают популярность для основ использование синтетических высокомолекулярных соединений, таких как полиэтиленоксиды и полиэтиленгликоли. Их преимуществами являются длительная стабильность, могут быть использованы как эмульсионные, абсорбционные основы, устойчивость к микробной контаминации, также коллидон, редкосшитые акриловые полимеры [148, 149].

К часто встречающимся гидрофильным основам относятся основы на бентонитовой глине. Достоинствами данной основы можно отметить их химическую инертность к лекарственным веществам, способность к гелеобразованию, а также проявление собственного лечебного эффекта.

При выборе основы и вспомогательных веществ необходимо учитывать ряд условий, которые играют важную роль в жизненном цикле лекарства: отвечать требованиям и назначению мягкой лекарственной формы, требованиям микробиологической чистоты к нестерильным лекарственным формам, подбор должен проводиться целенаправленно относительно места нанесения, продолжительности использования, соответствовать биофармацевтическим факторам, требованиям технологии изготовления мягких лекарственных форм.

Использование эмульсионных основ позволяет сочетать в лекарственной форме гидрофильные и липофильные вещества, также обеспечивает высокую резорбтивность активного фармацевтического ингредиента, мягко действует на эпидермис, снижает раздражающий эффект [149, 150]. При этом часто



наблюдается несовместимость некоторых действующих веществ и компонентов основы, которая выражается в расслоении или структурировании. Поэтому необходимо использовать добавки, стабилизаторы на основе ВМС и ПАВ, антиоксиданты, пластификаторы, формообразующие вещества.

## **Выводы**

В результате проведенного анализа литератур можно сделать следующие выводы: на фармацевтическом рынке удельный вес фитопрепаратов для наружного применения в форме гелей составляет всего лишь 3 %; удельный вес фитопрепаратов противогрибкового действия для наружного применения на рынке составляют около 2%; эфиромасличные растения занимают лидирующее место среди БАВ из лекарственного растительного сырья, используемые в фитотерапии при различных заболеваниях.

Также из литературных источников было установлено, что разработка гелей с биологически активными веществами из эфиромасличных растений, обладающих антифунгальным действием является актуальной для фармацевтической промышленности Республики Казахстан.

В результате анализа зарегистрированных лекарственных препаратов в Государственном Реестре Республики Казахстан известно, что число лекарственных препаратов используемых в стоматологии составляет всего 32 наименований, производителями которых, в основном являются зарубежные страны.

Из анализа литератур также установлено, что перспективными направлениями работ в новом веке остаются – поиск и выявление новых, перспективных эфиромасличных видов растений, оценка их природных ресурсов, возможности культивирования, определение содержания искомого продукта в сырье и установление компонентного состава входящих веществ, разработка технологии извлечения эфирных масел, поиск БАВ и создание новых лечебных или профилактических препаратов на их основе.

Анализ литературы также показал, что, несмотря на разнообразие способов повышения эффективности экстракции, а также бурное развитие современных технологий, направленных на оптимизацию процессов извлечения биологически активных веществ и эфирных масел из растительного сырья, многие вопросы остаются открытыми.

Также на сегодняшний день актуальным является разработка перспективных лекарственных форм в виде вязких структурированных систем – гелей, обладающих пролонгированным эффектом.

Таким образом, имеются доказательства перспективности способов извлечения эфирных масел, поиск новых БАВ и создание на их основе лечебных или профилактических лекарственных средств из отечественного лекарственного сырья *Abies sibirica L.*, обладающих антифунгальным действием, которое послужило основанием к проведению настоящего исследования.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1 Материалы исследований

В процессе исследований и разработки оптимальных составов гелей с пихтовым маслом использовали следующие лекарственные и вспомогательные вещества, разрешенные к медицинскому применению и отвечающие требованиям ГФ РК:

***Пихты сибирской масло - Oleum Abies*** [СТ 1509-1910-02-ГП-05- 2012 ]

Хвоя и мелкие ветви пихты сибирской содержат 3,09-3,27% эфирного масла, в состав которого входят борнилацетат (30-60%), борнеол, камфен (10-20%),  $\alpha$ -пинен (10%), дипентен,  $\alpha$ -фелландрен, сантен, безаболен и др. Свежая хвоя содержит до 0,32% аскорбиновой кислоты. В семенах пихты обнаружено до 30% жирного масла, богатого витамином Е. Кора содержит 10-13 % дубильных веществ, а также 15 - 16 % пихтового бальзама. Из живицы пихты получают скипидар, выделены дитерпеновый спирт абиснол, абиетиновая и неоабиетиновая кислоты.

#### ***Глицерин (Glycerinum)***

Пропан-1,2,3-триол

[СП РК 42-1968-04; ФС РК 42-113-95; Ph. Eur. 4.8 56-81-5]

$C_3H_8O_3$

М.м. 92,00

Прозрачная, бесцветная, сиропообразная жидкость сладкого вкуса, без запаха. Гигроскопичен. Смешивается с водой и спиртом 95% во всех соотношениях, очень мало растворим в эфире, практически не растворим в жирных маслах. Плотность - 1,223-1,233.  $T_{\text{кип}} = +290,0^{\circ}\text{C}$ .

Подлинность устанавливают при нагревании препарата с калия бисульфитом по образованию акролеина (характерный резкий запах), и по окрашиванию водного раствора препарата в темно-синий цвет при добавлении растворов меди сульфата и натра едкого до щелочной реакции (реакция на гидроксифенильную группу). Определяют кислотность или щелочность.

В соответствии с ФС РК 42-113-95, для количественного определения глицерина к его водному раствору (1:1000) прибавляют раствор кислоты йодной, затем - растворы калия йодида и кислоты серной и выделившийся йод титруют раствором натрия тиосульфата (индикатор — крахмал).

Количественное содержание глицерина в препарате должно быть от 84,0 до 88,0%.

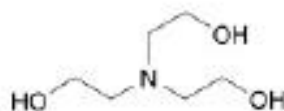
В соответствии с ЕФ, для количественного определения глицерина к водному раствору препарата прибавляют раствор натрия перйодата, затем — раствор этиленгликоля и титруют раствором натра едкого (индикатор — фенолфталеин).

Количественное содержание глицерина в препарате должно быть от 83,5% до 88,5%.

**Триэаноламин**  
(Trolaminum) [Ph. Eu.6.0.Vol.2.]

**TROLAMINE**

Trolaminum



$C_8H_{15}NO_3$   
[102-71-6]

$M_r$  149.2

Внешний вид: прозрачная, вязкая, бесцветная или слегка желтоватая жидкость, очень гигроскопичен. Растворимость: смешивается с водой и спиртом, растворим в хлористом метиле [Ph. Eu.6.0.Vol.2.].

**Карбомеры (Carbomers)** [Ph. Eur. 4.8, 07/2002: 1299]

$(C_3H_4O_2)_n$

М.м. фрагмента 76.00

Являются сополимерами акриловой кислоты с полиалкилполиэфиром многоатомных спиртов. Представляют собой белые слабокислые мелкодисперсные порошки, обладающие слабым запахом акриловой кислоты. Практически нерастворимы в неполярных растворителях, набухают в воде, а также полярных органических растворителях и образуют гели при их нейтрализации соединениями основного характера и донорами гидроксильных групп. Общие свойства карбомеров приведены в таблице 5 [151].

Таблица 5 - Общие свойства карбомеров

Объемная плотность	~ 208 кг/м <sup>-3</sup>
Плотность	1,41
Абсолютная влажность	2,0%
Равновесная влажность	8-10% (при 50% относительной влажности)
pH 1% водной дисперсии	2,5-3,0
Эквивалентная масса фрагмента	76+4
Температура стеклования	(100-105)°C
Содержание карбоксильных групп	(56,0-68,0)%

Подлинность карбомеров устанавливают по образованию вязкого геля при нейтрализации их 1% водных дисперсий 1М раствором натра едкого до pH 7,5 и по образованию осадка белого цвета при добавлении к полученному гелю 10% раствора кальция хлорида или магния сульфата.

Для количественного определения карбомеров готовят водную дисперсию полимера, медленно добавляя 0,4 г его к 400 мл воды при интенсивном перемешивании в течение 15 мин. Снижают скорость перемешивания и титруют 0,2М раствором натрия едкого до рН 10,0 (точку эквивалентности определяют потенциометрическим методом). Перемешивают в течение 1 мин после каждого добавления раствора натрия едкого до установления постоянной величины рН.

1 мл 0,2М раствора натрия едкого эквивалентен 0,009004 г карбоксильных групп [164].

### **Ксилитол (Xylitolum)** [Ph. Eu.6.0.Vol.2.]

$C_5H_{12}O_5$

М.в.= 152.1

Белый или почти белая, кристаллическая пудра или кристаллы, очень хорошо растворимые в воде, хорошо растворимые в этаноле(96%). Ксилитол (Xylitol) содержит не менее 98% и не более 102% мезоксилитола вычисленного на безводную субстанцию [Eu.Ph.6.0.vol.2].

### **Полисорбат - 80 (Polysorbatum -80)** [ГФ РК 2 том]

Представляет собой частично этерифицированных жирных кислот, главным образом кислоты олеиновой, сорбитом и этоксилированными ангидридами приблизительно с 20 молями этиленоксида на каждый моль сорбита и его ангидридов.

Полисорбат - 80 это маслянистая, желтоватая или коричнево-желтая прозрачная жидкость. Смешивается с водой, этанолом, этилацетатом и метанолом. Практически не растворим в жирных маслах, вазелиновом масле.

Относительная плотность около 1,10. Вязкость около 400 мПа при температуре 25 °С [ГФ РК 2 том].

## 2.2 Методы исследований

### *Физические и физико-химические методы:*

*Потенциометрическое определение рН* [ГФ РК 1 том 2.2.3.стр.41]

Определение величины рН гелей проводили потенциометрическим методом непосредственно в образце гелей в соответствии с ГФ РК, том 1. 2.2.3.стр.41. Результаты определений представлены в главе 3(см. таблицу 12).

*Относительная плотность* [ГФ РК 1 том 2.2.5.стр.44].

Определение относительной плотности проводили в соответствии с ГФ РК 1 том 2.2.5.стр.44. Результаты определений представлены в главе 3(см. таблицу 12).

*Показатель преломления (индекс рефракции)* [ГФ РК 1 том 2.2.6.стр.46]

Показатель преломления эфирного пихтового масла определяли методом рефрактометрии согласно ГФ РК 1 том 2.2.6.стр.46.

Результаты определений представлены в главе 3(см. таблицу 12).

*Вязкость* [ГФ РК 1 том 2.2.8.стр.47]

*Измерение структурной вязкости гелей проводили в соответствии с* [ГФ РК 1 том 2.2.8.стр.47]

Измерение структурной вязкости гелей проводили с помощью вязкозиметра «Брукфильда». Структурную вязкость исследуемых гелей определяли при температуре  $(20\pm 25)^{\circ}\text{C}$ . Для этого 20,0 г исследуемых гелей помещали в измерительный стеклянный стакан объемом 50,0 г. При помощи шпинделя RV 7 и при 200об/мин. снимали показание структурной вязкости гелей. Результаты определения структурной вязкостей гелей представлены в главе 4.

*Газовая хроматография* [ГФ РК 1 том 2.2.28.стр.74]

Для изучения химического состава эфирного масла из лекарственного растительного сырья *Abies sibirica L.* использовали метод газовой хроматографии с последующей масс-спектрометрией [ГФ РК, том 1]. Результаты изучения химического состава эфирного масла приведены в главе 3.

*Идентификация эфирного масла из Abies sibirica L.*

Идентификацию эфирного масла из *Abies sibirica L.* проводили в соответствии с ГФ РК 1 том 2.2.28.стр.74 методом ГХ.

Времена удерживания пиков  $\alpha$  – пинена,  $\beta$  - мирцена на хроматограмме препарата должны соответствовать временам удерживания их пиков на хроматограмме градуировочного раствора смеси рабочих стандартных образцов (PCO).

### *Количественное определение эфирного пихтового масла в геле*

Количественное определение эфирного пихтового масла в геле проводили в соответствии с ГФ РК 1 том 2.2.28.стр.74 методом ГХ.

Анализ эфирного масла полученного из *Abies sibirica* в гелях проводили методом ГХ/МС на приборе *Agilent Technologies 7890A GC System, 7683B Series Injector* с масс селективным детектором «*Agilent Technologies G1888 Network*».

Разделение проводили на капиллярной колонке длиной 60м, внутренним диаметром 0,25мм, и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25мкм. Хроматограммы регистрировали на персональном компьютере, используя программный пакет «*Chem Station*» («*Agilent Technologies*», США).

Для идентификации соединений по масс-спектрам электронного удара использовали библиотеку масс – спектров «*NIST 05*» и «*WILEY 138*». Объем вводимой пробы составлял 1 мкл, температура инжектора - 200<sup>0</sup>С, скорость потока газа носителя – 1 мл/мин., газ-носитель - гелий. Температура детектора - 230<sup>0</sup> С.

Результаты количественного определения действующего вещества в геле приведены в главе 4.

### *Изучение антирадикальной активности пихтового масла из *Abies sibirica* L., полученного методом микроволнового нагрева*

#### *Химикаты:*

ABTS был приобретен от фирмы Fluka (Букс, Швейцария), персульфат калия - от фирмы Merck (Дармштадт, Германия); подвижная фаза для градиентного элюирования состоит из ацетонитрила и водного раствора 0,2% муравьиной кислоты.

#### *Анализ эфирных масел из *Abies sibirica* L.:*

Подготовка раствора:

Эфирное масло, получено путем микроволнового нагрева. 10 мг эфирного масла растворили в 1 мл метаноле.

Состав мобильной фазы:

Линейный градиент - 0 мин: 10% ацетонитрил + 90% муравьиной кислоты; 36 мин: 30% ацетонитрил + 70% муравьиной кислоты.

#### *Колонка:*

Были использованы две HPLC колонки . I Колонкой был Agilent XDBC18 (5 см x 2.1 мм/1.8 мкм); колонка II был Supelco Supelcosil AB3+ " плюс " (алкил-амид противофазе) 15 см x 4.1 мм/3 мкм.

### *Аппаратура:*

Для фотометрических измерений был использован UV-VIS-спектрофотометр HP8453 (Agilent, Германия). Для анализа радикалов, модули ВЭЖХ системы Agilent 1100 из серии Agilent (Германия) были подключены согласно схеме на рис. 1 (глава 3).

Антирадикальную активность эфирных масел определяли с применением АБТС<sup>+</sup> метода для растворов эфирных масел в метаноле [157]. Для выявления антирадикальной активности эфирного масла, использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) как показано на рисунке 1 в главе 3.

Для оценки антирадикальной активности эфирного масла из *Abies sibirica L.*, использовали их реакцию с катион-радикалами 2,2-азино-бис (3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) (АБТС<sup>+</sup>) [158,159]. Для определения антирадикальной активности при температуре 25<sup>0</sup>С измеряли поглощение смеси при 734нм [170-178].

Сравнительную оценку антирадикальной активности эфирного масла из *Abies sibirica L.*, рассчитывали согласно формуле, как указано авторами в работе [157, 159]:

$$RSP = \frac{A(x)}{\text{Area}(\text{total})} * 100\%$$

Результаты изучения антирадикальной активности эфирных масел из *Abies sibirica L.* представлены в главе 3.

### ***Испытание на предельное содержание примесей:***

Тяжелые металлы [ГФ РК 1 том 2.4.8.стр.123]

Определение тяжелых металлов: ртуть, мышьяк, свинец и кадмий проводили согласно ГФ РК 1 том 2.4.8.стр.123. Использовали метод А.

Результаты определений представлены в главе 3(см. таблицу 12).

### ***Методы количественного определения:***

Кислотное число [ГФ РК 1 том 2.5.1.стр.155]

Определение кислотного числа проводили в соответствии ГФ РК 1 том 2.5.1.стр.155.

Кислотным числом называют количество калия гидроксида, в мг, необходимое для нейтрализации свободных кислот, содержащихся в 1г испытуемого вещества.

Около 10.0 г навески (испытуемого вещества) растворяют в 50 мл смеси равных объемов спирта и эфира, предварительно нейтрализованной 0.1М раствором калия гидроксида, используя в качестве индикатора 0.5 мл раствор фенолфталеина. После растворения испытуемого вещества полученный раствор титруют 0.1 М раствором калия гидроксида до появления розового окрашивания, не исчезающее в течение 15 с.

Результаты определений представлены в главе 3(см. таблицу 12).

*Эфирное число* [ГФ РК 1 том 2.5.2.стр.155]

Определение эфирного числа проводили в соответствии ГФ РК 1 том 2.5.2.стр.155.

Эфирным числом называют количество калия гидроксида, в мг, необходимое для омыления эфиров, содержащихся в 1 г испытуемого вещества. Результаты определений представлены в главе 3 (см. таблицу 12).

#### **Биологические испытания:**

*Изучение микробиологической чистоты геля с пихтовым маслом*

Анализ микробиологической чистоты геля с пихтовым маслом проводили по методике ГФ РК, том 1. 5.1.4.стр.479.

В 1 г препарата допускается не более 100 аэробных бактерий и грибов суммарно, не более 10 энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий.

*Изучение антифунгальной активности пихтовых масел из *Abies sibirica L.*, и стоматологического геля методом «in vitro»*

Для изучения антифунгальной активности эфирных масел из *Abies sibirica L.* были получены референтные штаммы *Candida albicans* из лаборатории кафедры инфекционных болезней и микробиологии Ветеринарно-фармацевтического университета г. Брно, Чешская Республика. Образцы эфирных масел растворяли в диметилсульфоксиде и 0,9% физиологическом растворе. После растворения образцы эфирных масел были внесены в 96-луночные плоскодонные микропланшетники [154-155].

Грибковый посевной материал был ресуспендирован с многоканальной пипеткой для пробы, чтобы достичь окончательного объема - 100 мкл. Наивысшие концентрации масляного раствора - 256 мкг/мл. 5-Flucytosine (1мкг/мл) был включен в качестве положительного контроля. Рост *Candida albicans* контролировали, измеряя оптическую плотность в 600 нм в микропланшетный ридер (BMG, читатель *Labtech*, Германия) при 37<sup>0</sup>C от 0 до 48 часов. Количественное сравнение площадей под кривыми за 48 часов показало относительный рост в процентах, связанный с контролем роста.

Антифунгальную активность эфирных масел из *Abies sibirica L.*, полученных методами перегонки с водяным паром (*sample WM*) и микроволнового нагревания (*sample MW*), определяли на приборе «*SPECTRO star Omega*».

Результаты изучения антифунгальной активности эфирных масел из *Abies sibirica L.* представлены в главе 3.



*Исследования безопасности эфирного масла из Abies sibirica L. и геля с пихтовым маслом методами «in vivo»*

Исследования безопасности эфирного масла из *Abies sibirica L* и геля с пихтовым маслом проводили согласно общепринятым методикам, описанным в «Руководстве по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Р.У Хабриева. (Москва, 2005г) [152].

В экспериментах на животных изучали острую и подострую токсичность, сенсибилизирующие и раздражающие действия эфирного масла и геля с пихтовым маслом.

**Острая токсичность** изучалась на здоровых половозрелых животных – мышах обоего пола, прошедших карантин не менее 10-14 дней и выращенных в условиях вивария Казахского Национального Медицинского Университета.

Для изучения острой токсичности при энтеральном введение животные были разделены на 2 группы по 6 мышей в каждой группе, масса животных составила – 18,0 - 22,0. Животные первой группы (опытной) получали энтерально разведенное в соотношении 1:10 испытуемое вещество однократно в объеме не более 0,8 мл. в зависимости от массы тела животных. В качестве растворителя использовалась очищенная вода. Вещество вводили в желудок животных через специальный зонд при помощи шприца. В контрольной группе (6 мышей) животные получали очищенную воду в аналогичном объеме. Перед введением вещества и после него животные не получали пищу в течение 2-3 часов.

**Подострая токсичность** изучена на 2-х видах животных при двух путях поступления исследуемого вещества в организм экспериментальных животных (белые мыши - энтеральный путь и морские свинки - кожная аппликация). Изучение подострой токсичности при кожной аппликации предусмотрено, в связи с предполагаемым клиническим применением изучаемого геля в стоматологической практике для нанесения на слизистую оболочку полости рта.

Для изучения подострой токсичности при энтеральном введение использованы 2 группы мышей по 6 в каждой группе: 1 группа – опытная, 2 – контрольная. Животные опытной группы получали разведенный в соотношении 1:10 эфирное масло из *Abies sibirica L.* в течение 4-х недель, вводимый объем не превышал 0,8 мл в зависимости от массы тела. Животным контрольной группы вводили очищенную воду в желудок с помощью специального зонда при помощи шприца в том же объеме в течении 4-х недель. Перед введением вещества и после него животные не получали пищу в течение 2-3 часов.

Для изучения **общетоксического действия при местном применении** фармакологическое вещество, наносили согласно общепринятой методике, описанной в «Руководстве по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Р.У Хабриева. (Москва, 2005г) [152]. Исследование подострого токсического действия проводилось при кожной аппликации путем нанесения исследуемого вещества на кожу морских свинок (массой тела 250,0 – 300,0). Количество морских свинок в группе – по 6 особей.

За сутки до эксперимента шерсть животных тщательно выстригалась на симметричных участках боков. Площадь обрабатываемой поверхности кожи составляла 5-8% поверхности тела животного. С помощью ежедневных аппликаций на кожу наносили готовую лекарственную форму – гель, содержащий пихтовое масло в течение 4-х недель. При нанесении изучаемого вещества в течение 4-часовой экспозиции животные находились в фиксированном состоянии.

**Сенсибилизирующее действие** изучалось согласно общепринятой методике, описанной в «Руководстве по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Хабриева Р.У. (Москва, 2005г).

Для изучения сенсибилизирующего действия использовались свинки светлой масти. Животные были распределены на 2 группы - опытная и контрольная, по 6 особей в каждой группе. Для изучения сенсибилизирующего действия проводилось однократное внутрикожное введение туберкулиновым шприцом 0,2 мл в кожу наружной поверхности уха подопытных животных предварительно растворенного 10%-го раствора испытуемого вещества. Выявление эффекта сенсибилизации проводилось на 10-й день с помощью конъюнктивальной пробы методом субконъюнктивального введения испытуемого геля: в объеме 50 мг наносили при помощи шпателя в зоне перехода слизистых оболочек века и глазного яблока морских свинок. После внесения вещества на 1 мин. прижимали слезно-носовый канал у внутреннего угла глаз. Нанесение вещества производилось однократно. Визуальное наблюдение за состоянием конъюнктивы на местах имплантации лекарственных форм проводилось через 15 минут и через 24 часа. Повреждающее действие геля на слизистую оболочку глаза кролика оценивалось по степени гиперемии и отека по балльной системе:

- 1 - легкое покраснение слезного протока;
- 2 - покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице;
- 3 - покраснение всей конъюнктивы и склеры.

Для изучения **раздражающего действия** использовались кролики по 6 особей в каждой группе. Исследование проводилось с помощью конъюнктивальной пробы методом субконъюнктивального введения испытуемого геля: в объеме 50 мг наносили при помощи шпателя в зоне перехода слизистых оболочек века и глазного яблока кроликов. После внесения вещества на 1 мин. прижимали слезно-носовый канал у внутреннего угла глаз. Нанесение вещества производилось однократно. Визуальное наблюдение за состоянием конъюнктивы на местах имплантации лекарственных форм проводилось сразу после введения через 15 минут и через 24-48 часов. Повреждающее действие гелей на слизистую оболочку глаза кролика оценивалось по степени гиперемии и отека по балльной системе.

Все манипуляции с животными были проведены в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, регламентированными ФЗ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г. и положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных. Также имеется

выписка из протокола Локального этического комитета (ЛЭК) КазНМУ им.С.Д. Асфендиярова (см. приложение).

**Методы фармакогнозии:**

*Растворимость эфирных масел в спирте* [ГФ РК 1 том 2.8.10.стр.227] [153].

Определение растворимости эфирного масла в спирте проводили согласно ГФ РК 1 том 2.8.10.стр.227.

Результаты определений представлены в главе 3(см. таблицу 12).

**Фармако-технологические испытания:**

*Определение размера частиц методом микроскопии* [ГФ РК 1 том 2.9.13.стр.250]

Оценку дисперсности пихтового масла в гелях проводили микроскопическим методом согласно методике, описанной в ГФ РК, том 1.

Для этого из средней пробы исследуемого геля отбирали навеску 0,05г и помещали на предметное стекло. Пробу накрывали покровным стеклом и просматривали через микроскоп. Для анализа одного препарата проводили по три определений средней пробы. Средний размер частиц пихтового масла в гелях ( $d_{cp}$ , мкм) рассчитывали с помощью специальной компьютерной программой. Результаты микроскопических исследований гелей с пихтовым маслом представлены в главе 4.

*Определение коллоидной стабильности гелей*

Центрифужные пробирки наполняли на 2/3 исследуемым гелем, взвешивали с погрешностью не более 0,01 г и помещали в водяную баню с температурой 45<sup>0</sup> С на 20 минут. Затем центрифугировали в течение 5 минут при 6000 об/мин. Гель считали устойчивым, если после центрифугирования в пробирках не наблюдалось твердой или водной фаз.

*Методика получения пихтового масла из Abies sibirica L. методом микроволнового нагрева*

В колбу круглодонную емкостью 1л помещали около 300 - 500г готового сырья. Затем в микроволновой экстрактор «*STARTE Microwave Extraction System*» помещали колбу с подставкой и подсоединили к обратному холодильнику с приемником. Устанавливали программу для выделения эфирных масел и включили аппарат – микроволновой экстрактор. Температура при этом была 55-60<sup>0</sup> С. Энергия при этом составляло 300 W. Через 5-6 минут выделяется эфирное пихтовое масло из лекарственного растительного сырья – *Abies sibirica L.* над очищенной водой. Процесс получения эфирного масла длится около 1 часа. После истечения этого времени эфирное пихтовое масло отделяли от воды очищенной в специальный приемник.

Технологическая схема получения эфирного масла из *Abies sibirica* L. описано в главе 3.

#### *Методика изготовления гелей карбомеров*

Для получения 100,0 г геля в химический стакан вместимостью 250 мл помещали рассчитанный объем воды очищенной, затем при  $(20\pm 25)^\circ\text{C}$  непрерывном перемешивании лопастной мешалкой, со скоростью 800 об/мин осторожно медленно в течение 3-5 мин вносили точную навеску соответствующего ксилитола и карбомера, затем продолжали перемешивание в течение 15-20 минут. После перемешивания смесь оставляли на 30 минут. За это время оседает пена, и полимер окончательно набухает. Затем к полученной водной дисперсии карбомера при перемешивании лопастной мешалкой со скоростью 300 об/мин добавляли по каплям рассчитанное количество триэтаноламина до pH 5,3-5,6. Через 3-5 минут, по достижении системой густой консистенции, увеличивали скорость перемешивания до 500 об/мин, вносили рассчитанное количество глицерина и полисорбата – 80, продолжали перемешивание в течение еще 15-20 минут до получения прозрачного однородного геля.

Составы (на 100,0 г) гелей карбомеров различных концентраций приведены в таблицах 15, 15а в главе 4.

#### *Изготовление малых партий (100,0 г) гелей с пихтовым маслом на основе карбомеров*

Для изготовления 100,0 г 0,3% геля с пихтовым маслом в ступку вносили 5,0 г заранее подготовленного геля карбомера 974 NP и 0,3 г пихтового масла, затем при перемешивании частями вводили оставшийся гелевую основу. Перемешивание вели до получения однородного геля с образованием светло-молочного цвета.

Составы (на 100,0 г) гелей с пихтовым маслом на основе карбомеров приведены в таблице 15а (см. главу 4).

#### *Изготовление больших партий (1000,0г) гелей с пихтовым маслом на основе карбомеров*

Для изготовления 1000,0 г 0,3% геля с пихтовым маслом на основе карбомера 974 NP в рабочий сосуд установки «Cito Ungvator 2000» внесли 810,0 г воды очищенной и 100,0г глицерина, 30,0г полисорбата – 80 и включили электропривод механического перемешивания компонентов геля. Перемешивали при комнатной температуре  $(20\pm 25)^\circ\text{C}$  в течение 10 минут до получения однородного раствора массой 930,0г. В полученный раствор постепенно небольшими порциями загружали 10,0г карбомера 974 NP и перемешивали в течение 20 минут до получения однородной суспензии. Раствор карбомера оставили на 30 минут для набухания.

После набухания карбомера в полученную суспензию при перемешивании медленно с помощью бюретки вносили 20,0г троламина (триэаноламина) и продолжали перемешивание в течение 45 минут до получения однородного прозрачного геля массой 970,0г. Проверяли величину рН готовой основы, которая должна быть в пределах от 5.3 до 5.6. В готовую основу при перемешивании вносили 30,0г пихтового масла, перенесли в рабочий сосуд установки «Cito Ungvator 2000» и перемешивали в течение 15 минут до получения однородного геля густой консистенции массой 1000.0г. Отбирали пробу для анализа. При получении положительного результата готовый продукт передавали на фасовку в тубы по 30.0.

#### *Оценка стабильности геля с пихтовым маслом при длительном хранении*

С целью изучения стабильности и определения сроков годности геля с пихтовым маслом образцы 3 серий были заложены на длительное хранение, при температуре  $20\pm 25^{\circ}\text{C}$ . Гели с пихтовым маслом предварительно расфасовывали в тубы алюминиевые вместимостью 30,0 г.

Качество гелей, хранившихся в естественных условиях, оценивали каждые 3 месяца. Перед анализом образцы гелей перемешивали с помощью стеклянной палочки.

Критериями оценки качества геля с пихтовым маслом служили: такие показатели как: органолептические свойства, идентификация, значение рН, размер частиц, однородность, микробиологическая чистота и количественное определение.

Результаты исследований стабильности геля с пихтовым маслом представлены в главе 4.

### 2.3 Приборы, оборудование и программное обеспечение

Взятие точных навесок проводили на весах аналитических типа ВЛР-200 (Чехия), предел взвешивания 200 г, класс точности 2.

Для получения гелей использовали следующее технологическое оборудование: лабораторную мешалку для приготовления мягких лекарственных форм «*Cito Ungvator – 2000*» (Германия).

Изучение реологических параметров (определение структурной вязкости) гелевых композиций, проводили на приборе «*BROOKFIELD viscometer DV-II Pro*» (США) при комнатной температуре 20–25 °С.

Значение рН гелей с пихтовым маслом определяли потенциометрически с применением рН - метра «*HI 2210 pH Meter*» (Германия). Стандартный электрод марки HI 76404. Калибровку прибора осуществляли по буферным растворам с рН = 4,01; 7,01 по 20мл.

Микроскопическое исследование получаемых гелей определяли с применением лабораторного микроскопа («*Nikon Eclipse E200*», Германия), снабженного окулярным микрометром 40х / 0,65 с программным обеспечением (*LECO* корпорации, штат Мичиган, США).

Определение коллоидной стабильности гелей проводили с применением центрифуги лабораторной медицинской с максимальной частотой вращения 8000 об/мин.

Анализ эфирного масла из *Abies sibirica L.* проводили методом газовой хроматографии с использованием газового хроматографа «*Agilent Technologies 7890A GC System, 7683B Series Injector, 5975C VL MSD with Triple-Axis Detector*» [153].

Разделение проводили на капиллярной колонке длиной 60м, внутренним диаметром 0,25мм, и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25мкм. Хроматограммы регистрировали на персональном компьютере, используя программный пакет «*Chem Station*» («*Agilent Technologies*», США).

Для идентификации соединений по масс-спектрам электронного удара использовали библиотеку масс – спектров «*NIST 05*» и «*WILEY 138*». Объем вводимой пробы составлял 1 мкл, температура инжектора - 200<sup>0</sup>С, скорость потока газа носителя – 1 мл/мин., газ-носитель - гелий. Температура детектора 230<sup>0</sup> С [160-161].

Для установления сроков годности гели с пихтовым маслом расфасовывали в тубы пластмассовые вместимостью 30,0г. Определение проводили в естественных условиях хранения при температуре (20±25)°С.

Статистическую обработку экспериментальных данных при проведении фармакологических исследований проводили общепринятыми методами с определением сравнения средних [162]. Достоверность результатов оценивали с использованием пакета статистических программ «*SPSS 15.0*».

### 3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИЗВЛЕЧЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА ИЗ *ABIES SIBIRICA* L.

#### 3.1 Способ получения эфирного масла из *Abies sibirica* L. микроволновым нагреванием

Из литературных источников известно, что многие зарубежные авторы описывают о предпочтительном способе получения эфирных масел из лекарственного растительного сырья (ЛРС) методами микроволнового нагревания. При использовании этого метода сокращается время отгонки масла, увеличивается выход эфирного масла и количественное содержание биологически активных веществ в масле [179-182]. В связи с этим нас заинтересовал этот способ получения БАВ из ЛРС.

Способ получения эфирного пихтового масла из *Abies sibirica* L. включает, микроволновое нагревание растительного материала – *Abies sibirica* L. В данном случае отгонка эфирного масла осуществляется с водяным паром, однако, механизм появления в реакционной среде некоторой части масла отличается от традиционного способа получения пихтового масла. Если при традиционном способе получения пихтового масла перегонкой с водяным паром распад комплексов осуществляется за счет повышенного температурного воздействия во всей зоне, то при микроволновом методе связи между компонентами монотерпенов разрушаются посредством направленного энергетического потока.

В результате технологического процесса при использовании микроволнового нагревания несколько раз сокращается время отгонки, а выход эфирного масла значительно больше по сравнению с традиционной перегонкой с водяным паром. На рисунке 4 представлена схема получения масла микроволновым нагреванием.

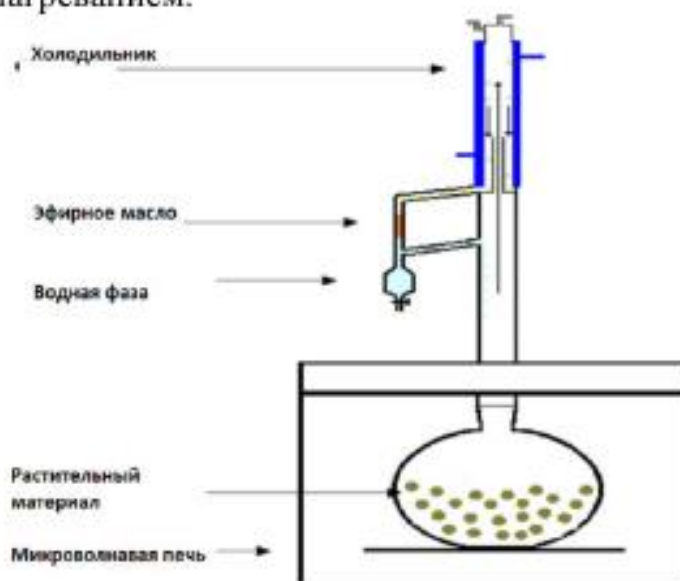


Рисунок 4 - Схема получения эфирного масла из *Abies sibirica* L.

*Способ осуществляют следующим образом.* В колбу круглодонную емкостью 1л помещают около 300 - 500г готового лекарственного растительного сырья. Затем в микроволновой экстрактор помещают колбу с подставкой и подсоединяют к обратному холодильнику с приемником. Задают компьютерную программу для извлечения эфирных масел из ЛРС и включают аппарат – микроволновой экстрактор. Энергия при этом составляет 500 W. После 5 минут эфирное масло начинает собираться над водой. (Рис.4).

*Пример выполнения.* Собранное сырье высушивали на открытом воздухе в течение 6-7 дней. Затем его разрезали по длине веток 35 см, сырье взвешивали на электронных весах и масса сырья составила 300г. Сырье поместили в круглодонную колбу вместимостью 1л. После этого включили микроволновой экстрактор – «*START Microwave Extraction System*» (Рис.5) к которому подсоединили обратный холодильник с приемником. Заполненную лекарственным сырьем колбу поместили внутрь микроволнового экстрактора.

*Условия выделения эфирного пихтового масла:*

энергия - 500W, время отгонки – 1 час., охлаждение – 10 мин.

После 5 минут работы экстрактора над водой очищенной собирается эфирное пихтовое масло.



Рисунок 5 - Микроволновой экстрактор «*STARTMicrowaveExtractionSystem*»

По истечении 1 часа аппарат автоматически отключается и охлаждается в течение 10 минут. После охлаждения полученное эфирное пихтовое масло



собирали в специальный приемник. Выход при этом составил – 1,5 мл пихтового масла из 300.0 г сырья.

Ниже на рисунке 6 представлена технологическая схема производства эфирного масла из *Abies sibirica L.* методом микроволнового нагрева.

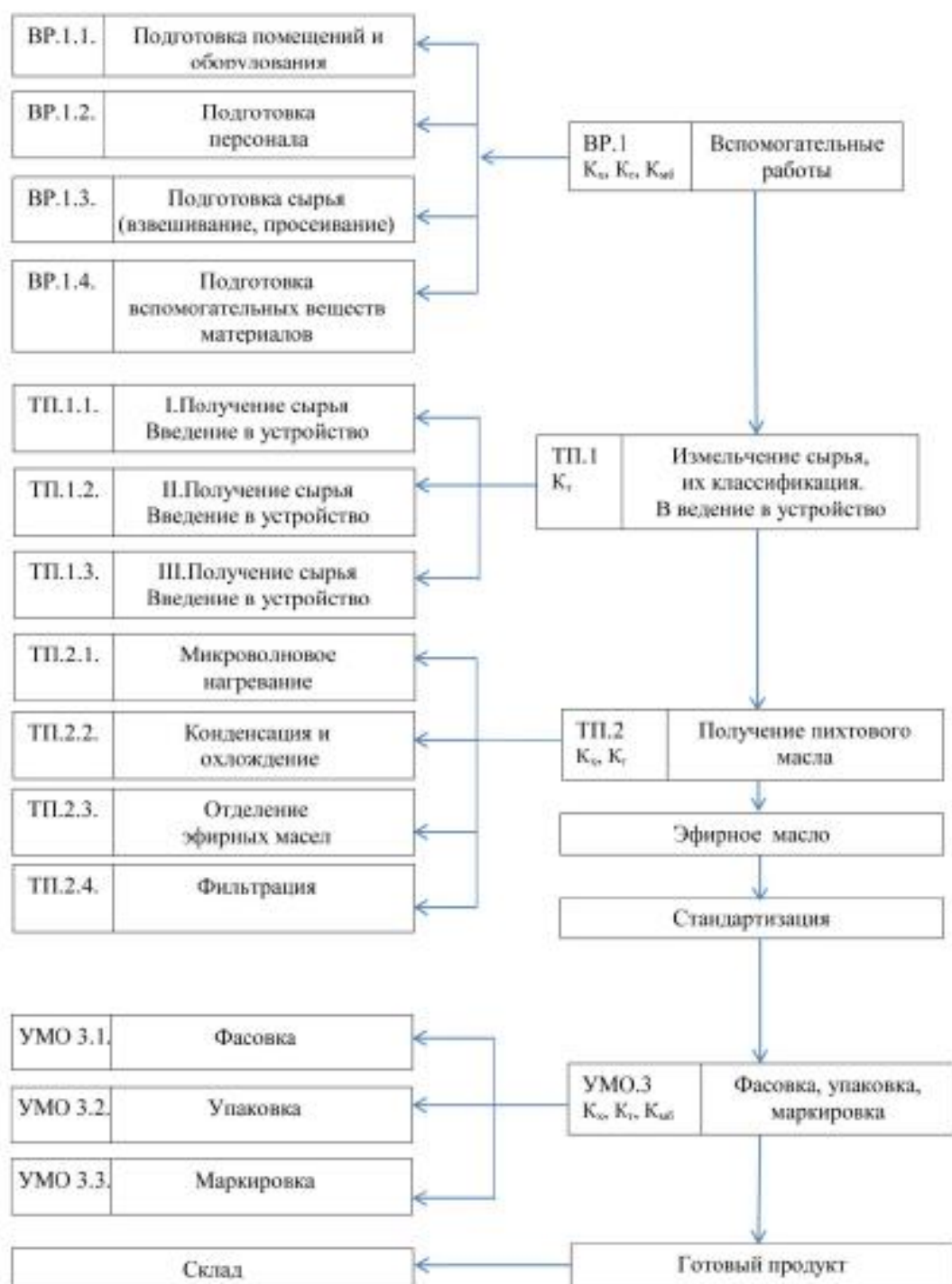


Рисунок 6 - Технологическая схема получения эфирного масла микроволновым нагреванием

## *Изложение технологического процесса*

Производство эфирного масла из *Abies sibirica L.* состоит из следующих технологических стадий: вспомогательные работы, перегонки пихтового масла, фасовка, маркировка и упаковка согласно ОСТ 42-510-98, ОСТ РК 1617-2006, МВ 64-У-1-97.

### *ВР 1. Вспомогательные работы*

#### *ВР 1.1 Подготовка помещения, оборудования, персонала*

#### *ВР 1.2 Подготовка персонала*

#### *ВР 1.3 Подготовка сырья (Взвешивание и измельчение)*

#### *ВР 1.4 Подготовка вспомогательных материалов*

### *ТП 1. Измельчение и классификация сырья пихты. Введение в устройство*

*Т.П 1.1 Получения сырья I. Загрузка в устройство.* На весах взвешивают сырье - длина веток должна не превышать 35 см, толщина 4-5 мм. Загружают в микроволновой экстрактор снабженной с водяным паром периодического действия.

*Т.П 1.2 Получения сырья II. Загрузка в устройство.* На весах взвешивают сырье - длина веток не должна превышать 35 см; толщина веток 8 мм. Загружают в микроволновой экстрактор снабженной с водяным паром периодического действия.

*Т.П 1.3 Получения сырья III. Загрузка в устройство.* На весах взвешивают сырье - ветки с влажностью кожуры и сердцевины 40%. Загружают в микроволновой экстрактор снабженной с водяным паром периодического действия.

### *ТП 2 Микроволновое нагревание*

#### *ТП 2.1 Перегонка эфирного масла*

#### *Т.П. 2.2 Конденсация охлаждение*

#### *Т.П. 2.3 Выделение эфирных масел*

#### *Т.П. 2.4 Фильтрование*

Фильтруют через друк-фильтр, используя латунную сетку или бельтинг.

### *Стандартизация*

### *УМО 3 Упаковка и маркировка пихтового масла*

#### *УМО 3.1 Фасовка.*

*УМО 3.2 Маркировка.* На этикетке указывают: название страны – производителя, название предприятия-изготовителя, его товарный знак, адрес,

название препарата на латинском, государственном и русском языках, содержание действующего вещества в процентах, количество препарата в граммах, состав, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности, условия отпуска, предупредительные надписи «беречь от детей», «не применять по истечении срока годности».

*УМО 3.3 Упаковка.* Флаконы укладываются в картонные коробки, куда вкладывают листовку-вкладыш, проставляют на этикетке номер серии и срок годности.

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

Материальный баланс производится на 60кг лекарственного растительного сырья *Abies sibirica L.* Результаты выхода эфирного масла представлены в таблице 6.

#### *Материальный баланс*

Таблица 6 - Производство эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Израсходовано		Получено	
Наименование сырья	Масса (кг)	Наименование конечного продукта,	Масса (мл)
Ветки из ЛРС <i>Abies sibirica L.</i>	60,0	Эфирного масла из <i>Abies sibirica L.</i>	300,0
Итого:	60,0		300,0

### **3.2 Изучение физических и физико-химических свойств эфирного масла из *Abies sibirica L.***

Объектом исследований явилось эфирное масло из *Abies sibirica L.* (СТ1509-1910-02-ГП-05- 2012).

Физические, физико-химические свойства и числовые показатели эфирного масла из *Abies sibirica L.* полученного методом микроволнового нагревания нами изучены впервые.

Растворимость в спирте, относительную плотность, показатель преломления, кислотное число эфирного масла из *Abies sibirica L.* и другие показатели определяли по фармакопейным методикам ГФ РК 1 том. Результаты приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Физические и физико-химические показатели эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Наименование констант	Числовые показатели
	Эфирное масло из <i>Abies sibirica L.</i>
Описание	Прозрачная жидкость, без примеси воды и осадка от бесцветного до светло-желтого или зеленоватого цвета
Растворимость в спирте	Легко растворим в этаноле, хлороформе, эфире; практически не растворим в воде
Относительная плотность	0.892
Показатель преломления (растворитель – этанол)	1.471
Эфирное число	1.35
Кислотное число	0.9
Перекисное число	18.28
Оптическое вращение	От - 9 <sup>0</sup> до - 30 <sup>0</sup>
Жирные и осмоленные эфирные масла в эфирных маслах	Не должно наблюдаться помутнение раствора и образование жирных капель

**Относительная плотность.** 0.892. (ГФ РК I, т.1, 2.2.5.)

**Показатель преломления.** 1.471. (ГФ РК I, т.1, 2.2.6.)

**Оптическое вращение.** От - 9<sup>0</sup> до - 30<sup>0</sup> (ГФ РК I, т.1, 2.2.7)

**Жирные и осмоленные эфирные масла в эфирных маслах.** Не должно наблюдаться помутнение раствора и образование жирных капель. (ГФ РК I, т.1, 2.2.7).

*Изучение антирадикальной активности эфирного масла из *Abies sibirica L.*, полученного методом микроволнового нагрева*

Использование природных антиоксидантов пищевых продуктов, напитков и парфюмерной промышленности в последнее время значительно возросло вследствие растущего интереса потребителей к ингредиентам природного происхождения [157].

В последнее время в результате многочисленных исследований установлена биологическая и антиоксидантная активность эфирных масел хвойно-ароматических растений [158,159].

Биологическая активность эфирных масел зависит от их компонентного состава. Многими авторами работ изучено, что сильными антибактериальными и антиоксидантными свойствами обладают эфирные масла, содержащие замещенные фенолы - эвгенол, тимол, карвакрол и гваякол [170-177]. Изучение индивидуальных терпенов и фенолов, являющихся компонентами различных эфирных масел, показало, что многие терпены обладают антиоксидантной и антирадикальной активностью [178].

Природные антиоксиданты играют важную роль в регуляции протекания свободно-радикальных превращений в организме, существенно влияя, на его состояние и способствуют укреплению иммунной системы человека. Эфирные масла дикорастущих хвойных растений также обладают антиоксидантной и антирадикальной активностью, однако их антирадикальная активность (АРА) практически не изучена.

Цель настоящего исследования – изучение антирадикальной активности эфирного масла из *Abies sibirica L.* произрастающего в Республике Казахстан.

На рисунке 7 показана аппаратная схема определения антирадикальной активности эфирного масла из *Abies sibirica L.*, методом ВЭЖХ.

Схема аппарата:

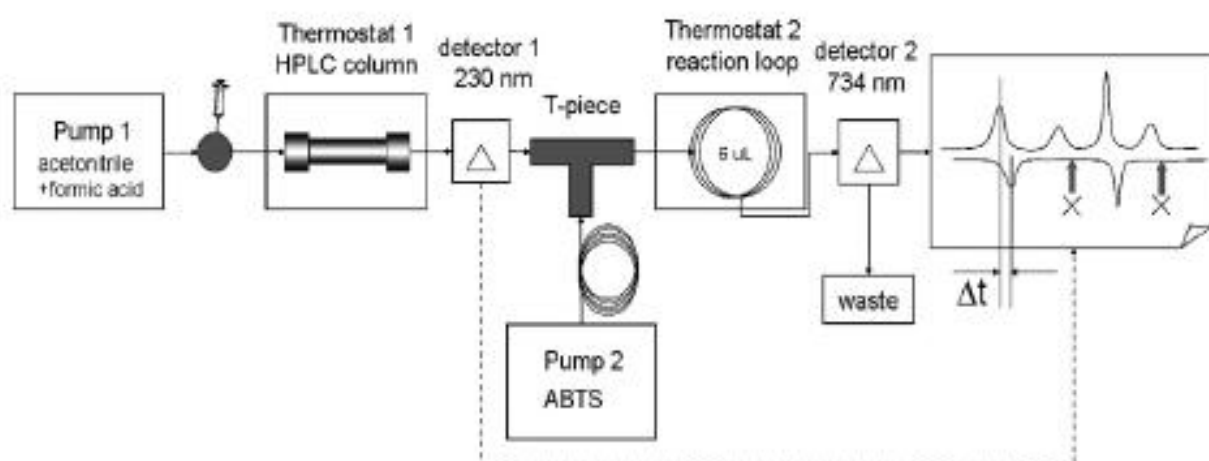


Рисунок 7- Модули аппарата были подключены с помощью РЕЕК трубки (1/160 0 x 0,13 мм И.Д., красной полосой). РЕЕК 3-ходовой Т-образный подключается к детектору 1, и в термостат 2, на насосно-компрессорных труб, с общей длиной 46 см, другой 20-см РЕЕК трубки, подключается в термостат 2 к детектору 2. От трех до 7 м одного РЕЕК шланг после насоса 2 увеличивает давление, и он работает в качестве импульсного демпфера, который обеспечивает быстрое течение постколлоидной реакции в термостате 2 с температурой 50 °С.

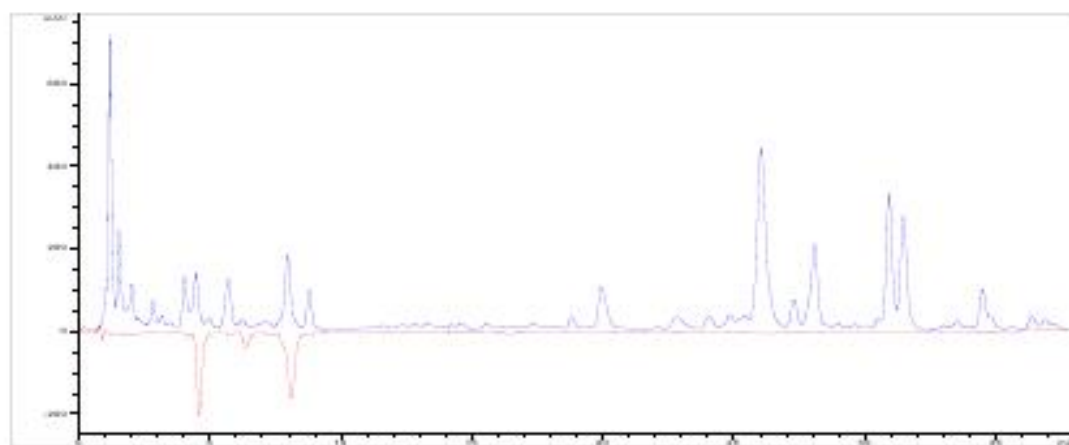


Рисунок 8 - Хроматограммы эфирного масла *Abies sibirica L.* в экспериментальных условиях: колонка П, объем пробы составлял 10 мкл, расход Q1 = 1 мл/мин, Q2 = 0.53 мл/мин, температура колонки (термостат 1) 300 °С, температура термостата 2 была 500°С. Пунктирный след (детектор 2, отрицательный сигнал) представляет сигналы, радикальных падающих. Разница во времени 1,5 сек.

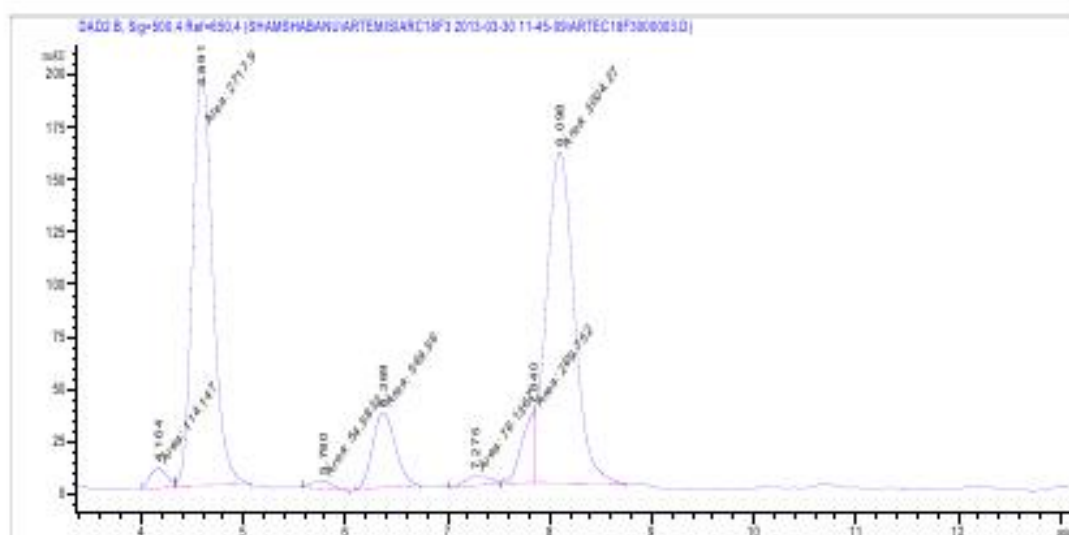


Рисунок 9 - Денситограммы хроматограмм эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Таблица 8 - Антирадикальная активность эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Peak	Area	Troloxekv, [ul/l]	Activity, [%]
1	114.1	26.7	1.66
2	2717.9	635.0	39.47
3	54.6	12.8	0.79
4	549.6	128.4	7.98
5	76.1	17.8	1.11
6	369.8	86.4	5.37
7	3004.3	701.9	43.63
	6886.4	1609.0	100.0

В результате изучения антирадикальной активности эфирного масла из *Abies sibirica L.*, на примере модельной реакции с катион-радикалами АБТС<sup>+</sup> установлено, что наибольшей антирадикальной активностью обладает, с нашей точки зрения  $\gamma$  – терпинен и его антирадикальная активность составляет 39.47% (Рис.8 и 9). Как видно из таблицы 8 антирадикальная активность эфирного масла из *Abies sibirica L.*, полученного методом микроволнового нагревания равна: 1609 ТЭ.

### 3.3 Сравнительный анализ химического состава эфирных масел из *Abies sibirica L.* полученных методами водно-паровой дистилляцией и микроволнового нагревания

Методами водно-паровой дистилляцией и микроволнового нагревания получены образцы эфирных масел из *Abies sibirica L.*

Идентификацию и количественное определение образцов эфирных масел проводили на приборе «Agilent Technologies 7890A GC System, 7683B Series Injector, 5975C VL MSD with Triple - Axis Detector». Для идентификации компонентов использовали библиотеку масс спектров NIST 05 и Willey 138. В таблицах 9 и 10 представлены компонентные составы эфирного пихтового масла, полученных водно-паровой дистилляцией и микроволнового нагревания.

На рисунках 10 и 11 представлены хроматограммы эфирных масел из *Abies sibirica L.* полученных двумя способами (водно-паровая дистилляция и микроволновое нагревание).

Таблица 9 - Компонентный состав эфирного масла из *Abies sibirica L.*, полученного методом водно-паровой дистилляцией

Состав	R <sub>t</sub>	%	Состав	R <sub>t</sub>	%
Santene	9.05	1.52	Unknown with Mr 164	31.22	0.15
Tricyclene	9.87	1.60	Terpinen-4-ol	31.53	0.12
$\alpha$ -Pinene	10.46	15.81	$\beta$ -Caryophyllene	31.76	1.29
Camphene	12.26	15.83	Unknown with Mr 204	33.19	0.14
$\beta$ -Pinene	13.90	2.35	$\alpha$ -Caryophyllene	33.97	0.81
3-Carene	15.57	15.04	$\alpha$ -Terpineol	34.28	0.29
$\beta$ -Myrcene	16.10	1.82	Borneol	34.56	1.44
Limonene	17.55	4.15	$\beta$ -Bisabolene	35.32	0.20
$\beta$ -Phellandrene	17.94	4.32	Unknown with Mr 204	35.46	0.10
$\gamma$ -Terpinene	19.35	0.10	Geranyl acetate	36.04	0.32
p-Cymene	20.33	0.35	Unknown with Mr 204	36.27	0.07
4-Carene	20.73	1.11	2,4-Dodecadienal	36.41	0.42

Продолжение таблицы					
Camphora	29.18	0.13	Unknown with Mr 204	37.75	0.62
Bornyl acetate	31.12	30.63	$\alpha$ -Bisabolol	48.04	0.27

Таблица 10 - Компонентный состав эфирного масла из *Abies sibirica L.*, полученных методом микроволнового нагрева

Состав	R <sub>t</sub>	%	Состав	R <sub>t</sub>	%
Santene	9.05	5.63	Bornylacetate	31.12	34.26
Tricyclene	9.87	1.57	$\beta$ -Caryophyllene	31.76	0.57
$\alpha$ -Pinene	10.46	10.03	Unknown with Mr 204	33.25	0.27
Camphene	12.26	18.16	Unknown with Mr 204	33.58	0.05
$\beta$ -Pinene	13.90	1.34	$\alpha$ -Caryophyllene	33.97	0.31
3-Carene	15.57	8.98	Borneol	34.56	1.87
$\beta$ -Myrcene	16.10	1.96	Unknown with Mr 204	35.15	0.14
Limonene	17.55	2.73	$\gamma$ -Cadinene	35.43	0.81
$\beta$ -Phellandrene	17.94	2.54	Geranyl acetate	36.04	0.32
$\gamma$ -Terpinene	19.35	0.17	L-Cadinene	36.38	0.24
p-Cymene	20.33	0.09	1,4-Cadinadiene	37.18	0.05
Terpinolene	20.56	0.05	Calamenene	38.59	0.07
Terpinolene	20.78	1.35	Unknown with Mr 207	39.89	0.10
4-Isopropenyltoluene	26.31	0.09	Unknown with Mr 220	41.26	0.17
$\alpha$ -Cubebene	26.97	0.26	1-Dodecanol	41.59	0.21
$\alpha$ -Longipinene	27.49	0.03	Caryophyllene oxide	42.82	0.09
Copaene	27.93	0.03	Nerolidol	43.51	0.06
$\alpha$ -Cubebene	28.24	0.24	$\alpha$ -Bisabolol	48.04	0.85
Camphora	29.18	0.74	Scarlene	51.13	0.10
Unknown with Mr 204	29.53	0.08	Epimanoyl oxide	51.61	0.65
$\beta$ -Cubebene	29.72	0.18	Epimanoyl oxide	52.00	0.39
6-Camphenol	30.12	0.16	Dehydroabietine	54.25	0.13
Unknown with Mr 204	30.18	0.16	Manool	57.99	3.25



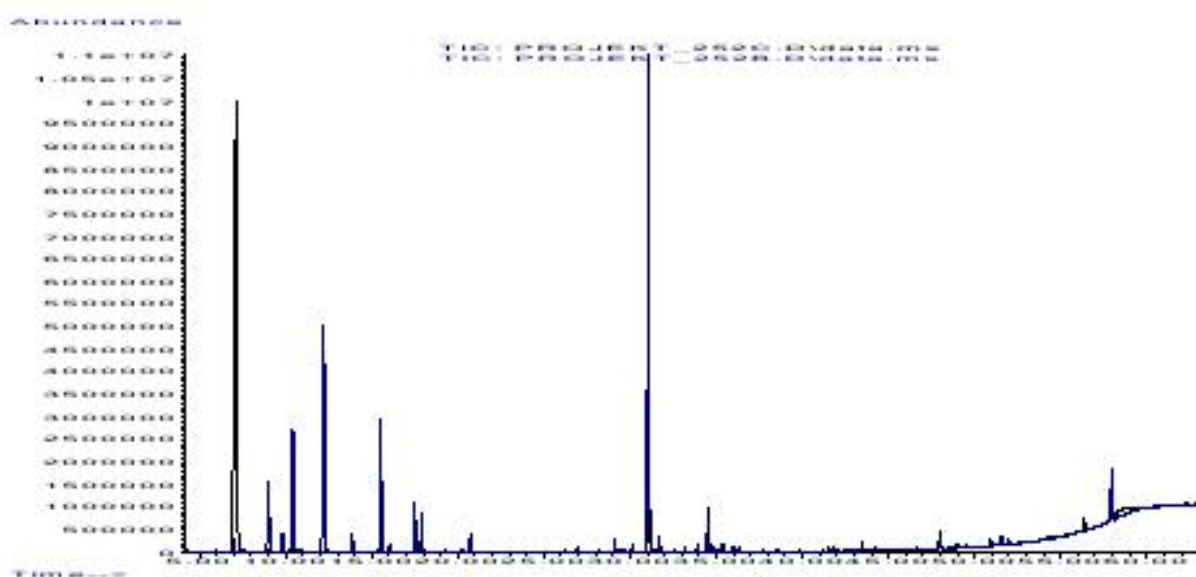


Рисунок 10 - Хроматограмма пихтового масла полученного перегонкой с водяным паром

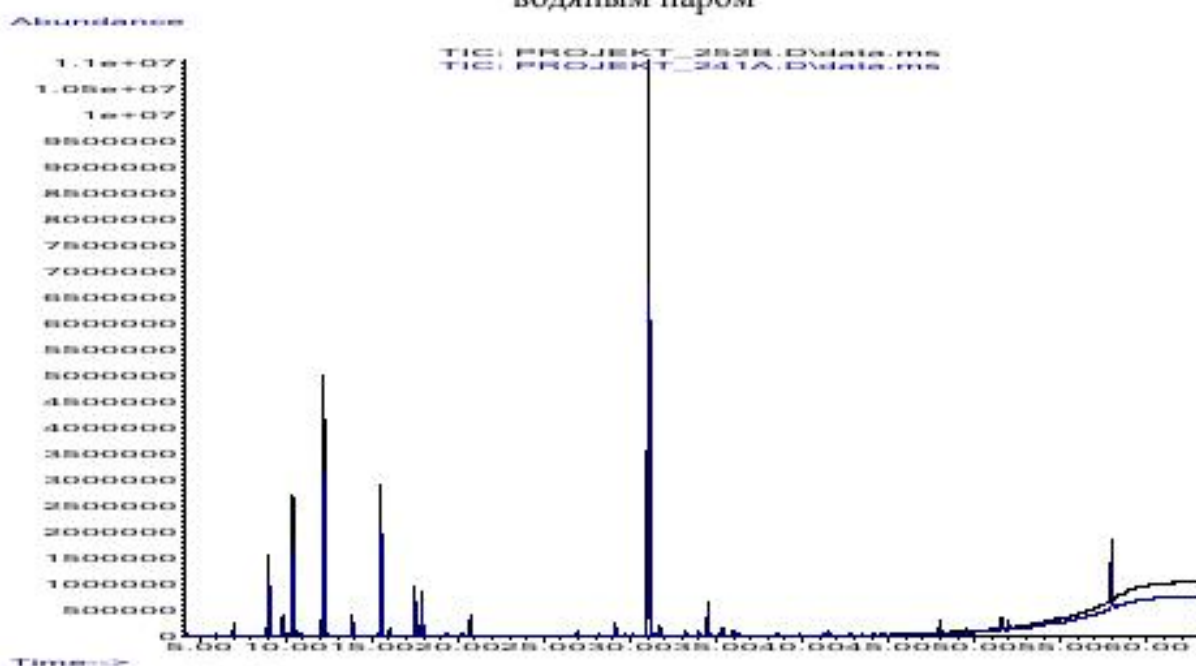


Рисунок 11 - Хроматограмма пихтового масла полученного микроволновым нагреванием

Результаты проведенных исследований свидетельствует о предпочтительном выделении пихтового масла методом микроволнового нагрева. При его применении существенно сокращаются продолжительность отгонки, увеличивается выход и содержание в пихтовом масле борнилацетата, борнеола, камфена, 3-карена и других биологически активных веществ.

### 3.4 Оценка качества и исследование стабильности эфирного масла из *Abies sibirica L.*

В соответствии с требованиями ЕФ, ГФ РК разработан нормативный документ, согласно которому проведена оценка качества и изучение стабильности опытно-промышленных партий эфирного масла из *Abies sibirica L.*, произведенных в ТОО «ФитОлеум».

#### *Оценка качества эфирного масла из Abies sibirica L.*

**Идентификация.** С целью изучения химического состава эфирных масел использовали физико-химические методы: газовую хроматографию согласно ГФ РК 1 том, 2.2.28; ЕФ 7.0.

Анализ эфирного масла из *Abies sibirica L.* проводили методом газовой хроматографии с последующей масс-спектроскопией с использованием газового хроматографа «Agilent Technologies 7890A GC System, 7683B Series Injector, 5975C VL MSD with Triple - Axis Detector» (Рис. 12).

Разделение проводили на капиллярной колонке длиной 60м, внутренним диаметром 0,25мм, и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25мкм. Хроматограммы регистрировали на персональном компьютере, используя программный пакет «Chem Station» («Agilent Technologies», США).

Для идентификации соединений по масс-спектрам электронного удара использовали библиотеку масс – спектров «NIST 05» и «WILEY 138». Объем вводимой пробы составлял 1 мкл, температура инжектора - 200<sup>0</sup>С, скорость потока газа носителя – 1 мл/мин., газ-носитель - гелий. Температура детектора 230<sup>0</sup> С.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия: на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться пики в следующей последовательности выхода: α-пинен, камфен, β-пинен, кар-3-ен, β- мирцен, лимонен, п-цимен, терпинолен, борнилацетат, β- кариофилен.

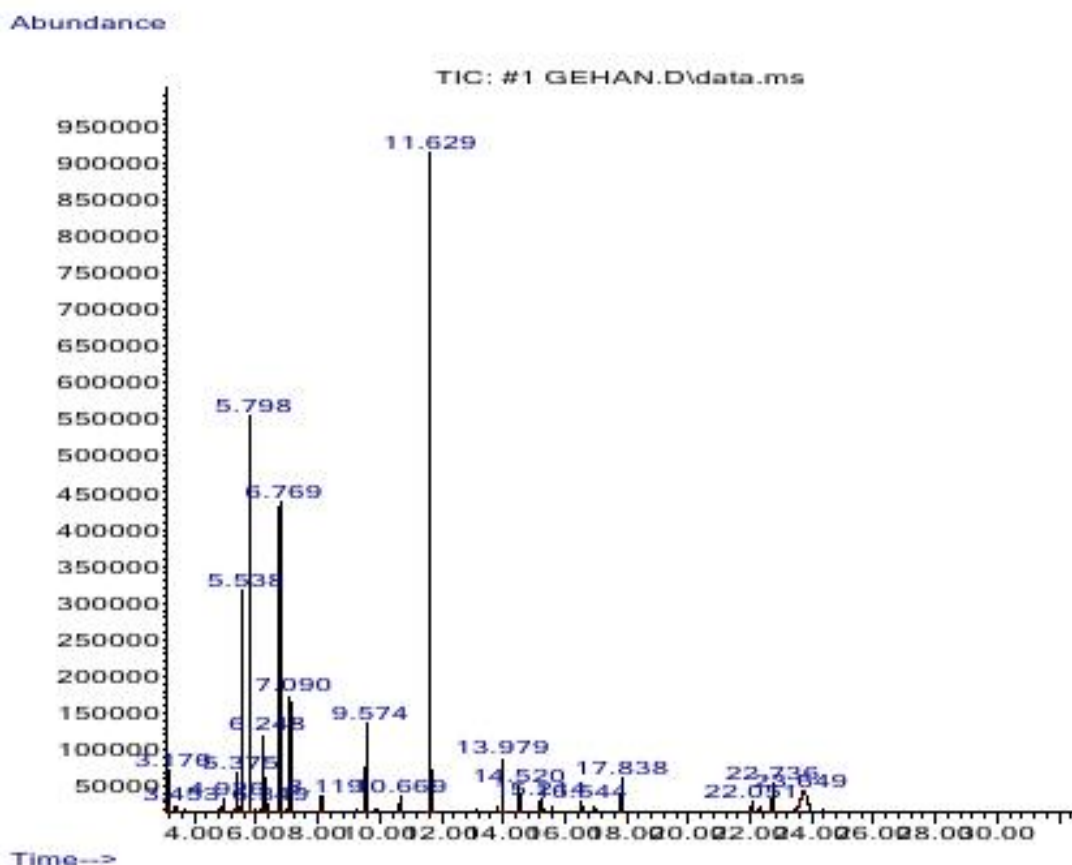


Рисунок 12 - Хроматограмма эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Идентификация по базе данных дала наличие основных компонентов, которые должны быть в эфирном масле из *Abies sibirica L.*, часть из которых не идентифицированы (если совпадение по базе менее 50%).

Названия компонентов и относительные содержания приведены в таблице выше (см. таблицу 9).

**Количественное определение.** Определение проводят методом газовой хроматографии (ГФ РК I, т.1, 2.2.28) с применением метода внутренней нормализации. Препарат (*испытываемый раствор*).

По 0.2 мкл испытуемого раствора и растворов сравнения хроматографируют на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором в следующих условиях:

- колонка из кварцевого стекла длиной 60 м и внутренним диаметром 0.22 мм, заполненная *макроголом 20 000 P* с размером пор 0.2 мкм;
- газ-носитель – *гелий для хроматографии P*;
- скорость газа-носителя – 1.5 мл/мин;
- деление потока 1:100
- температура:

	Время (мин)	Температура (° C)
Колонка	0-10	60
	10-41	60-220
	41-50	220
Инжектор		220
Детектор		250

Содержание  $\alpha$ -пинена в препарате должно быть от 32.0% до 60.0%, камфена - от 0.5% до 2.0%,  $\beta$ -пинена - от 5.0% до 22.0%,  $\gamma$ -кар-3-ена - от 6.0% до 18.0%,  $\beta$ -мирцена - от 1.5 % до 10.0%, лимонена- от 7.0% до 12.0% , $\beta$ -фелландрена- не более 2.5%, п-цимена – не более 2.0%, терпинолена- не более 4.0%, борнилацетата – от 1.0% до 4.0%, $\beta$ -кариофилена- от 1.0% до 6.0% (ЕФ 7.0).

***Разработка спецификации качества эфирного масла из  
Abies sibirica L.***

На основании проведенных физических и физико-химических микробиологических, микроскопических исследований была разработана спецификация качества для эфирного масла из *Abies sibirica L.* полученного методом микроволнового нагревания. Все испытания проведены согласно ГФ РК 1т. Результаты представлены в таблице 11.

Таблица 11- Спецификация качества эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Показатели качества	Нормы отклонения	Методы определения
Описание	Прозрачная жидкость, без примеси воды и осадка от бесцветного до светло-желтого или зеленоватого цвета	Визуально
Запах	Характерный пихтовый, без постороннего запаха	В соответствии с ВАНД
Идентификация	Характерные пики на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать по времени удерживания характерным пикам на хроматограмме стандартного раствора	ЕФ 7.0; ГХ, ГФ РК I, 1 т., 2.2.28
Относительная плотность	0,892	ГФ РК I, 1 т., 2.2.5
Кислотное число	0.9	ГФ РК I, 1 т., 2.5.1
Показатель преломления	1.471	ГФ РК I, 1 т., 2.2.6
Растворимость в спирте	1 объемная часть препарата должна растворяться в 5 объемных частях спирта (70%)	ЕФ 7.0, ГФ РК I, т.1, 2.8.10
Токсические элементы, мг/кг		
ртуть	0,05	ГФ РК I, 1 т., 2.4.8, метод А
мышьяк	0,1	ГФ РК I, 1 т., 2.4.2
свинец	0,1	метод А
кадмий	0,005	ГФ РК I, 1 т., 2.4.8, метод А
		ГФ РК I, 1 т., 1, 2.4.8, метод А

Продолжение таблицы 11		
Микробиологическая чистота	<p>Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т.1, 5.1.4., категория 4.</p> <p>В 1 г препарата допускается наличие на более <math>10^5</math> бактерий и <math>10^4</math> грибов.</p> <p>В 1 г препарата не допускается наличие <i>Esherichia coli</i> и в 10 г препарата <i>Salmonella</i>(или в 10 мл).</p>	ГФ РК I, 1 т., 5.1.4, категория 4.
Количественное определение $\beta$ -мирцена (массовая доля)	Не менее 1,5% и не более 10%	ГХ, ГФ РК 2.2.28, стр. 74; ЕФ 7.0
Упаковка	Во флаконах из темного стекла	В соответствии с ВАНД
Маркировка	<p>По 30 мл препарата во флаконе темного стекла, укупоренный натягивающейся полимерной крышкой, снабженной капельницей из резины с защитным колпачком и устройством контроля вскрытия.</p> <p>На флакон наклеивают этикетку из бумаги самоклеющейся.</p> <p>Каждый флакон вместе с инструкцией по применению на государственном и русском языках помещают в пачку из коробочного картона.</p>	В соответствии с ВАНД
Хранение	Масло хранят в защищенном от света месте, при температуре не выше $25^{\circ}\text{C}$	В соответствии с ВАНД
Срок хранения	1.6 года	В соответствии с ВАНД
Основное фармакологическое действие	Антифунгальное средство	

**Описание.** Прозрачная жидкость, без примеси воды и осадка от бесцветного до светло-желтого или зеленоватого цвета.

**Запах.** Характерный пихтовый, без постороннего запаха.

**Растворение.** 1 объемная часть препарата должна растворяться в 5 объемных частях 70% этанола.

**Идентификация.** Определение проводят методом тонкослойной хроматографии (ГФ РК 1т, 2.2.27, ЕФ 7.0), используя ТСХ пластинку со слоем *силикагеля Р* размером 5-40 мкм или используя ТСХ пластинку со слоем *силикагеля Р* размером 2-10 мкм.

*Испытуемый раствор.* 1 мл препарата доводят *толуолом Р* до объема 10 мл. На старте хроматографической пластинки наносят полосками по 10 мкл или 2 мкл испытуемого раствора и раствора сравнения. Пластинку помещают в камеру с системой растворителей *этилацетат Р – толуол Р* (5:95). Когда фронт растворителей пройдет не менее 15 см или 6 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе, обрабатывают раствором анисового альдегида, нагревают при температуре 100-100<sup>0</sup> С в течение 5-10 минут и просматривают в УФ – свете при длине волны 254 нм.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться пятна в следующей последовательности: розового цвета (углеводороды), коричневого или серо-коричневого цвета (борнилацетат), фиолетового цвета (борнеол), соответствующие основным пятнам по уровню, окраске и величине углеводородов, борнилацетата и борнеола соответственно на хроматограмме раствора сравнения.

Результаты анализа считаются достоверными, если на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения соблюдаются последовательность зон:

Верхняя часть пластинки	
	Розовая зона (углеводороды)
Борнилацетат: коричневая или серо-коричневая зона	Коричневая или серо-коричневая зона (борнилацетат)
Борнеол: коричневая или серо-коричневая зона	Группа фиолетовых зон
Раствор сравнения	Испытуемый раствор

*Примечание. Приготовление раствора сравнения.*  
10 мг борнеола *Р* и 10 мкл борнилацетата *Р* растворяют в *толуоле Р* и доводят тем же растворителем до объема 10 мл.

**Относительная плотность.** От 0.885 до 0.875 (ГФ РК I, т.1, 2.2.5)

**Показатель преломления.** От 1.465 до 1.480 (ГФ РК I, т.1, 2.2.6)

**Оптическое вращение.** От  $-9^{\circ}$  до  $-30^{\circ}$  (ГФ РК I, т.1, 2.2.7)

**Кислотное число.** Не более 1.0 (ГФ РК I, т.1, 2.5.1)

**Пероксидное число.** Не более 20 (ГФ РК I, т.1, 2.5.5)

**Эфирное число.** От 0.7 до 1.4 (ГФ РК I, т.1, 2.5.2) 100.0 мл препарата помещают в круглодонную колбу вместимостью 1000 мл. Дистилляцию проводят со скоростью 2-3 мл/мин в течение 2-3 ч.

**Жирные масла и осмолившиеся эфиры в эфирных маслах.** Не должно наблюдаться помутнение раствора и образование жирных капель. (ГФ РК I, т.1, 2.8.7).

**Объем содержимого флакона.** Не менее 30 мл.

Испытание проводят на 5 флаконах, предварительно выдержанных при температуре  $20^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин с помощью мерного цилиндра вместимостью 100 мл.

Объем заполнения флакона устанавливается сливом содержимого в мерный цилиндр вместимостью 100 мл, предварительно смоченный препаратом, путем вливания в него всего содержимого из другого такого же флакона и последующего опорожнения (после слива струей дается выдержка на слив капель в течение 3 мин.).

**Потеря в массе при высушивании** (ГФ РК I, т.1, 2.2.32) Должен выдерживать требования ГФ РК I, т.1.

5.000 мл препарата помещают в предварительно высушенный бюкс и нагревают в сушильном шкафу при температуре от  $100^{\circ}\text{C}$  до  $105^{\circ}\text{C}$  в течение 1 ч.

**Микробиологическая чистота.** Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РК I, т.1, 2.6.12, т.2, 2.6.13 методом глубинного посева.

Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т.1, 5.1.4, категория 4.

Препарат в условиях испытания не обладает антимикробным действием.

В 1 мл препарата допускается наличие не более  $10^5$  бактерий и не более  $10^4$  грибов.

В 1 мл препарата допускается наличие энтеробактерий не более  $10^3$  и некоторых других грамотрицательных бактерий.

В 1 мл препарата не допускается наличие *Esherichia coli* и в 10 г *Salmonella* (или 10 мл).

**Количественное определение.** Определение проводят методом газовой хроматографии (ГФ РК I, т.1, 2.2.28) с применением метода внутренней нормализации.

Препарат (испытываемый раствор).

По 0.2 мкл испытуемого раствора и растворов сравнения хроматографируют на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором в следующих условиях:



- колонка из кварцевого стекла длиной 60 м и внутренним диаметром 0.22 мм, заполненная *макроголом 20 000 P* с размером пор 0.2 мкм;
- газ-носитель – *гелий для хроматографии P*;
- скорость газа-носителя – 1.5 мл/мин;
- деление потока 1:100
- температура:

	Время (мин)	Температура (°C)
Колонка	0-10	60
	10-41	60-220
	41-50	220
Инжектор		220
Детектор		250

Содержание  $\alpha$ -пинена в препарате должно быть от 32.0% до 60.0%, камфена - от 0.5% до 2.0%,  $\beta$ -пинена - от 5.0% до 22.0%, кар-3-ена - от 6.0% до 18.0%,  $\beta$ -мирцена - от 1.5 % до 10.0%, лимонена- от 7.0% до 12.0% , $\beta$ -фелландрена- не более 2.5%, п-цимена – не более 2.0%, терпинолена- не более 4.0%, борнилацетата – от 1.0% до 4.0%, $\beta$ -кариофилена- от 1.0% до 6.0% [ЕФ 7.0]

**Свинец** (ГФ РК I, т.1, 2.4.10). Не более 0.005 %.

Субстанцию растворяют в 150.0 мл предписанной смеси растворителей.

**Упаковка.** По 30 мл препарата во флаконы из темного стекла.

Флаконы вместе с инструкцией по медицинскому применению на государственном и русском языках упаковывают в групповую тару. Групповая и транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

**Маркировка.** См. утвержденный макет упаковки.

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

**Хранение.** При температуре не выше 25<sup>0</sup>С.

**Срок хранения.** 1.6 года

**Основное фармакологическое действие:** Антифунгальное средство.

### *Исследование стабильности эфирного масла из *Abies sibirica* L.*

Применение лекарственных средств и вспомогательных веществ в медицине и фармации предъявляет определенные повышенные требования к их качеству и безопасности [185]. Конкурентноспособные лекарственные препараты должны быть не только высокоэффективными, но и стабильными при длительном хранении и использовании. Поэтому стабильность является одним из основных требований, предъявляемых к лекарственным препаратам [186-191].

Целью исследования явилось: изучение стабильности и определение срока хранения эфирного масла из *Abies sibirica L.* при длительном хранении в естественных условиях.

Показатели стабильности масла изучали на трех опытно-промышленных сериях, полученных на базе VFU, Врно. Испытания лекарственного средства проводились в упаковке согласно проекту ВАНД.

Исследования стабильности масла проводили методом долгосрочных испытаний, так как эфирное масло содержит летучие термолабильные вещества природного происхождения.

Условия проведения долгосрочных испытаний максимально приближены к предполагаемым условиям хранения лекарственного средства: температура хранения (не выше  $25 \pm 2$ ) °С и относительная влажность ( $60 \pm 5$ ) %.

Периодичность образцов составляла: 0,3,6,9,12,15,18 месяцев, что позволило подтвердить устойчивость активных компонентов в течение указанного времени.

После хранения при комнатной температуре органолептические свойства масла оставались неизменными.

Анализ эфирных масел хранившихся в естественных условиях проводили каждые 3 месяца в течение 1.6 года.

Критериями оценки качества масла служили: описание, запах, растворимость, идентификация, микробиологическая чистота, количественное содержание основных веществ (см.таблицы 12-14).

При органолептическом контроле масла не отмечено изменений внешнего вида: запах был свежим, присущим хвойным деревьям, не наблюдались изменения консистенции и расслоения.

Результаты идентификации свидетельствовали, что в эфирном масле из *Abies sibirica L.* содержатся основные вещества, такие как:  $\alpha$ -пинен, камфен,  $\beta$ -пинен, кар-3-ен,  $\beta$ - мирцен, лимонен, п-цимен, терпинолен, борнилацетат,  $\beta$ - кариофилен и т.д.

Результаты количественного анализа свидетельствовали, что содержание в эфирном масле основных веществ находилось в пределах допустимых норм.

В период хранения микробиологический анализ подтвердил, что подобранные в ходе экспериментальных исследований условия получения эфирного масла из *Abies sibirica L.* методом микроволнового нагревания и упаковка обеспечивают соответствующую микробиологическую чистоту.

Результаты исследований стабильности масла доказывают об оптимально подобранных условиях (температура, давление, энергия) получения эфирного масла из *Abies sibirica L.* методом микроволнового нагревания.

Таким образом, совокупность данных, полученных в результате проведенных исследований, позволяет говорить о стабильности эфирного масла из *Abies sibirica L.* полученного методом микроволнового нагревания и имеет срок хранения не более 1.6 года.

На основании проведенных исследований разработана спецификация испытаний стабильности. Результаты представлены в таблице 15.

Таблица 12- Изучение стабильности эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Температура: (25±2) °С Относительная влажность: (60±5) %		Серия 070112 Дата начала испытаний: 07.01.12 г. Дата окончания испытаний: 07.07.13 г.						
Показатели	Нормы отклонения	Месяцы						
		0	3	6	9	12	15	18
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Описание	Прозрачная жидкость, без примеси воды и осадка от бесцветного до светло-желтого или зеленоватого цвета	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Запах	Характерный пихтовый, без постороннего запаха	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Растворимость в спирте	1 объемная часть препарата должна растворяться в 5 объемных частях спирта (70%)	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Идентификация	Характерные пики на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать по времени удерживания характерным пикам на хроматограмме стандартного раствора	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I,т.1, 5.1.4, категория 4.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Количественное определение: (β-мирцена)	не менее 1,5% и не более 10%	1.95	1.96	1.95	1.95	1.96	1.96	1.95

Таблица 13- Изучение стабильности эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Температура: (25±2) °С Относительная влажность: (60±5) %		Серия 050212 Дата начала испытаний: 05.02.12 г. Дата окончания испытаний: 05.08.13 г.						
Показатели	Нормы отклонения	Месяцы						
		0	3	6	9	12	15	18
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Описание	Прозрачная жидкость, без примеси воды и осадка от бесцветного до светло-желтого или зеленоватого цвета	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Запах	Характерный пихтовый, без постороннего запаха	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Растворимость в спирте	1 объемная часть препарата должна растворяться в 5 объемных частях спирта (70%)	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Идентификация	Характерные пики на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать по времени удерживания характерным пикам на хроматограмме стандартного раствора	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I,т.1, 5.1.4, категория 4.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Количественное определение: (β-мирцена)	не менее 1,5% и не более 10%	1.94	1.96	1.95	1.95	1.93	1.96	1.95

Таблица 14 - Изучение стабильности эфирного масла из *Abies sibirica* L.

Температура: (25±2) °С Относительная влажность: (60±5) %		Серия 070112 Дата начала испытаний: 01.03.12 г. Дата окончания испытаний: 01.09.13 г.						
Показатели	Нормы отклонения	Месяцы						
		0	3	6	9	12	15	18
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Описание	Прозрачная жидкость, без примеси воды и осадка от бесцветного до светло-желтого или зеленоватого цвета	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Запах	Характерный пихтовый, без постороннего запаха	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Растворимость в спирте	1 объемная часть препарата должна растворяться в 5 объемных частях спирта (70%)	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Идентификация	Характерные пики на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать по времени удерживания характерным пикам на хроматограмме стандартного раствора	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т.1, 5.1.4, категория 4.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Количественное определение: (β-мирцена)	не менее 1,5% и не более 10%	1.93	1.95	1.97	1.91	1.96	1.92	1.95

Таблица 15 – Спецификация испытаний стабильности

Показатели	Нормы отклонения при выпуске/ в конце хранения	Метод / методика испытаний
Описание	Прозрачная жидкость, без примеси воды и осадка от бесцветного до светло-желтого или зеленоватого цвета	Визуально
Запах	Характерный пихтовый, без постороннего запаха	В соответствии с ВАНД
Растворимость эфирных масел в спирте	1 объемная часть препарата должна растворяться в 5 объемных частях спирта (70%)	ЕФ 7.0, ГФ РК I, т.1, 2.8.10
Идентификация	Характерные пики на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать по времени удерживания характерным пикам на хроматограмме стандартного раствора	ГХ, ГФ РК 2.2.28; ЕФ 7.0.
Микробиологическая чистота	<i>Категория 4</i>	ГФ РК I, т. 1, 5.1.4
Количественное содержание: β - мирцена	не менее 1.5% и не более 10%	ГХ, ГФ РК 1 том 2.2.28; ЕФ 7.0.
Срок хранения	1.6 года	

### 3.5 Техничко-экономическое обоснование производства эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Техничко-экономическое обоснование (ТЭО) составлено для проекта промышленного производства эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Расчет стоимости 1 упаковки эфирного масла из *Abies sibirica L.*

Стоимость эфирного масла включает в себя стоимость лекарственного растительного сырья, упаковки, производственные затраты, заработная плата, налоги и рентабельность производства.

Результаты расчетов представлены в таблице 16.

Таблица 16 - Плановая калькуляция 100 кг сырья *Abies sibirica L.* (по сырью и материалам)

№ п/п	Наименование сырья и материалов	Ед.измерения масса, кг	Норма %	Цена за 1 кг, тенге	Сумма, тенге
1	ЛРС – <i>Abies sibirica L.</i>	кг	100	2030	203000
2	Потери при получении фасовке 10%	-	-	-	20300
	Итого:	-	-	-	182700

Расчетная цена тары:

Флаконы стеклянные - 12.2 тенге

Инструкция – 0.4 тенге

Бумажный пенал – 3.2 тенге

Транспортная коробка = 74.6 тенге/480шт = 0.2 тенге

Итого: 16.0 тенге.

(480 количество пеналов в транспортной коробке)

При расчете калькуляции себестоимости и цена эфирного масла приняты следующие условия:

1. Эфирное масло производится в лаборатории ТОО «ФитОлеум».
2. Расчет калькуляции произведен по ценам ранее закупленного лекарственного растительного сырья.
3. Накладные, административно-хозяйственные и транспортные расходы средние данные по ТОО «ФитОлеум» за 7 месяцев 2014 года.

Полная себестоимость складывается из следующих показателей:

Расчет в течение одного месяца следующим составом рабочих

1. Заведующий производством 1 при заработной плате 90 тыс.тенге и трех производств:  $90\ 000/3= 30\ 000$

2. Бригадир 1 с заработной платой 70 000

3. Оператор 1 с заработной платой 60 000

Итого: 160 000 тенге : 10 000 = 16 тенге

Расчет плановой калькуляции субстанции и цены одной упаковки эфирного масла из *Abies sibirica L.* представлен в таблице 17.

Таблица 17- Расчет плановой калькуляции субстанции и цены одной упаковки эфирного масла из *Abies sibirica L.*

№ п/п	Наименование статей расходов	Сумма в тенге	Примечание
1	Сырье и материалы	18.27	-
2	Тара	16.0	-
3	Зарплата	16.0	-
4	Отчисления	0.60	-
5	Накладные расходы	2.04	-
6	Административные хозяйственные расходы	10.10	-
7	Транспортные расходы	0.26	-
8	Полная себестоимость	68.00	-
9	Прибыль 30%	20.4	-
10	Отпускная цена	151.67	

- социальный налог 11.4%  
 - в среднее за 7 месяцев 2014 года на ТОО «ФитОлеум»

Из таблицы 17 видно, что стоимость одной упаковки эфирного масла из *Abies sibirica L.* с учетом всех затрат составила 151.67 тенге.

### **Капитальные вложения**

Общий объем капитальных вложений на проектно – технологическую документацию, реконструкцию цеха, приобретение основного оборудования, монтажные работы и пусконаладочные работы «Технологической линии по производству геля» в ТОО «ФитОлеум» составил: 15000 000 тенге.

Элементы затраты (годовой фонд заработной платы обслуживающего персонала, годовой расход сырья и основных материалов, затраты на энергопотребление, амортизационные отчисления, запасные части и инструменты, а также прочие расходы) составили: 156 96 738 тенге.

### **Прибыль и срок окупаемости**

Реализация настоящего проекта позволит производству выпускать 100000 флаконов (по 30.0мл) эфирного масла в год, при этом:

– себестоимость 1 флакона масла равна:  $15\ 696\ 738 : 100000 = 157$  тенге;



– отпускная цена 1 флакона масла потребителю при рентабельности 30% составит:  $157 \cdot 30\% : 100 = 47.10$  тенге,  $157 + 47.10 = 204.1$  тенге (после выплат долгов по кредитам отпускная цена может быть снижена);

– годовая выручка при продаже флакона масла потребителю по 204.1 тенге составит  $204.1 \cdot 100000 = 20410000$  тенге;

– прибыль годовая равна:  $20410000 - 15\ 696\ 738 = 4713262$  тенге.

Срок окупаемости капитальных вложений для нужд данного проекта, составит, согласно формуле  $T = K : \Pi$ ; где  $K$  - капитальные вложения;  $\Pi$  – прибыль годовая:

$$T = 15000000 : 4713262 = 3 \text{ года}$$

Таким образом, срок окупаемости данного проекта составил 3 года.

### Выводы по главе 3

1. Одним из современных методов – методом микроволнового нагревания - получено эфирное масло из отечественного сырья *Abies sibirica L.*
2. Проведен сравнительный анализ составов эфирных масел из *Abies sibirica L.* полученных методами водно-паровой дистилляцией и микроволнового нагревания. При этом установлено, что в эфирных маслах полученных методами микроволнового нагревания увеличивается качественный и количественный состав БАВ, а также выход эфирного масла и сокращается время отгонки масла.
3. Изучены физические и физико-химические свойства эфирного масла из *Abies sibirica L.* полученного методом микроволнового нагревания.
4. Изучена антирадикальная активность эфирного масла из *Abies sibirica L.* полученного методом микроволнового нагревания. В результате изучения антирадикальной активности эфирного масла из *Abies sibirica L.*, на примере модельной реакции с катион-радикалами АБТС<sup>+</sup> установлено, что наибольшей антирадикальной активностью обладает,  $\gamma$  – терпинен и его антирадикальная активность составляет 39.47%. Антирадикальная активность масла равна: 1609 ТЭ.
5. Проведена оценка качества, исследована стабильность масла в естественных условиях и установлен срок его хранения, который составил 1.6 месяцев.
6. Проведено технико-экономическое обоснование производства эфирного масла из *Abies sibirica L.*, которое показало, что стоимость одной упаковки эфирного масла из *Abies sibirica L.* с учетом всех затрат составило 151.67 тенге. Срок окупаемости производства эфирного масла из *Abies sibirica L.* составил 3 года.

#### **4 РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ С ПИХТОВЫМ МАСЛОМ**

Разработка лекарственных препаратов для стоматологической практики является весьма актуальным направлением, так как инфекционно-воспалительные и грибковые заболевания полости рта являются распространенным явлением среди широких слоев населения [166]. По данным ВОЗ воспалительными заболеваниями пародонта (гингивит, стоматит, глоссит и др.) страдает до 95 % взрослого населения земного шара и до 80 % детей [166,167].

Следует отметить, что среди современных лекарственных средств указанной направленности преобладают лекарственные препараты синтетического происхождения, обладающие наряду с антимикробным действием и рядом недостатков, такими как высокая сенсibilизирующая активность, высокий риск развития резистентности патогенной и сапрофитной микрофлоры и другими побочными эффектами. С этой точки зрения, лекарственные препараты на основе лекарственного растительного сырья при рациональном применении, обладают преимуществами: эффективностью, безопасностью, мягкостью и широтой терапевтического действия, минимальным риском развития аллергизирующего эффекта и возникновения резистентности у микроорганизмов [184].

Таким образом, учитывая вышеперечисленные факторы, становится очевидным целесообразность разработки нового лекарственного средства – геля на основе лекарственного растительного сырья из *Abies sibirica* обладающего противовоспалительным и антифунгальным действием.

При разработке геля с пихтовым маслом мы ориентировались на современные нормативные требования, предъявляемые к мягким лекарственным формам в целом согласно ГФ РК.

##### **4.1 Обоснование оптимального состава стоматологического геля**

###### *Обоснование основы и ее концентрации*

При выборе гелевой основы учитывали известные преимущества гидрофильных основ перед гидрофобными [192]. В ряду гидрофильных основ перспективными являются современные высокоэффективные и безвредные стабилизаторы – карбомеры, гели которых образуют структурированные системы с хорошими реологическими свойствами (намазываемостью и экструзией) и не вызывающие побочных действий. Гели карбомеров обеспечивают высокую стабильность суспензий, они удобны при применении, не подвергаются гидролизу и окислению, устойчивы к факторам внешней среды [151]. Перспективность использования карбомеров определяется также отсутствием у них канцерогенных, эмбриотоксических и тератогенных свойств, а также раздражающего, сенсibilизирующего действия [193].

Для решения поставленной цели исследования из известных марок карбомеров использовали карбопол 974Р NF, который описан в ведущих зарубежных фармакопеях [ЕФ, США и др.].

Из литературных источников известно [151], что кислые дисперсии карбомеров не являются структурированными системами. Для перевода полимера в гелеобразующую соль проводят его нейтрализацию. В качестве нейтрализатора нами был использован триэтаноламин.

Для исследования физико-химических и реологических свойств, приготовлены гели с различной концентрацией (0.5%, 0.75%, 1%, 1.25%, 1.5%) изучаемого гелеобразователя - карбомера (рис. 13). Гели приготовлены по следующей технологии: необходимое количество гелеобразователя заливали частью воды очищенной, находящейся при температуре 20-25<sup>0</sup>С и оставляли на 30 минут для набухания, затем добавляли оставшееся количество воды и нейтрализатор триэтаноламин. После перемешивали на специальной установке «Cito Ungvator 2000» (Германия) при 800об/мин, в течение 40 минут. В результате получены бесцветные, прозрачные, без запаха, не липкие гели с рН = 5,34 - 5,66.

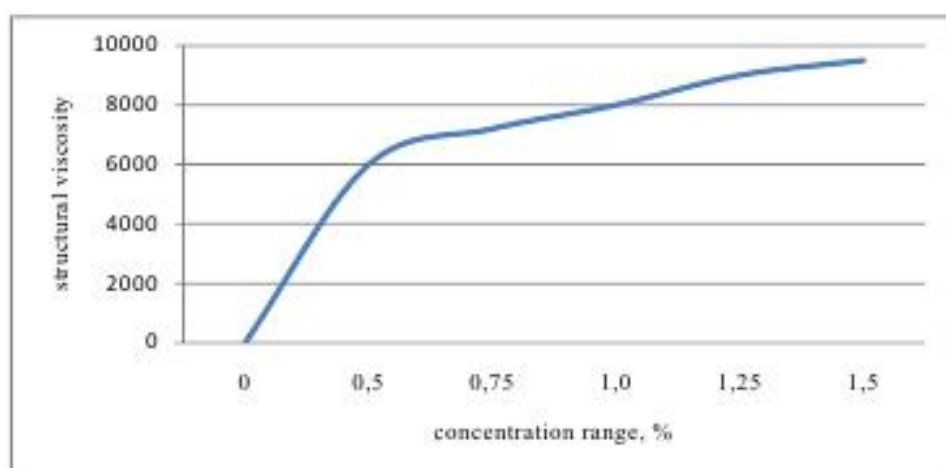


Рисунок 13- Изучение зависимости структурной вязкости экспериментальных образцов от концентрации карбомера

Как видно, из рисунка 13, структурная вязкость образцов гелей резко повышается с увеличением концентрации карбомера в исследуемом интервале концентраций (от 0,5 до 1,5%). Образцы с концентрацией до 0,5% были жидкими, а с концентрацией выше 2 % – очень густыми, с комками, что в дальнейшем может создать трудности при разработке препарата и его применения, поэтому данные образцы были сразу исключены.

Так как оптимальная основа должна легко наноситься на слизистые оболочки рта, не растекаться и обладать средней текучестью, то для дальнейших исследований нами был выбран карбомер с концентрацией 1%.

С целью изучения прочности структуры геля с карбомером, а также определения типа течения и наличия тиксотропных свойств нами была построена реограмма исследуемой основы, показывающая зависимость касательного напряжения сдвига  $\tau$  от градиента скорости  $D\dot{\gamma}$  (Рис.14).

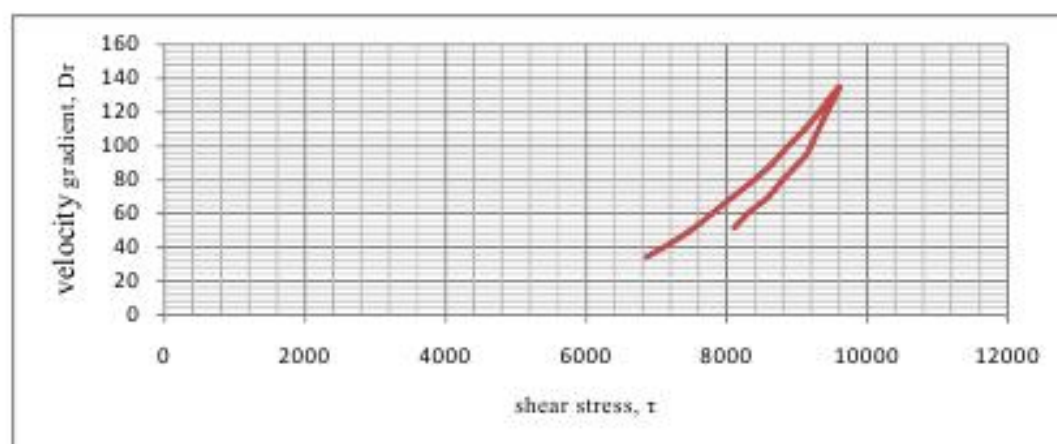


Рисунок 14 - Реограмма образца геля с 1% карбомером

Данные реологических параметров получали методом непрерывного всевозрастающего разрушения структуры, как функции напряжения сдвига.

Определения были проведены, при увеличении числа оборотов шпинделя с 50 до 200 об/мин, достигая постоянного напряжения сдвига, при максимальном числе оборотов и последующего уменьшения числа оборотов шпинделя [184].

Как видно на рис. 2, гель с карбомером относится к неньютоновскому типу течения и обладает пластичными свойствами. Под влиянием высоких напряжений сдвига структура геля разрушалась, а при снижении напряжения сдвига структурная вязкость геля восстанавливалась. «Восходящая» кривая петли гистерезиса указывает на снижение структурной вязкости из-за разрушения структуры геля, а «нисходящая» кривая отражала определенное равновесное состояние, в котором находилась изучаемая система после разрушения. Наличие петли гистерезиса показывает, что гель с карбомером обладает тиксотропными свойствами.

При исследовании зависимости структурной вязкости от градиента скорости сдвига видно, что структурная вязкость исследуемой гелевой основы постепенно уменьшалась с увеличением градиента скорости сдвига (рис. 15).

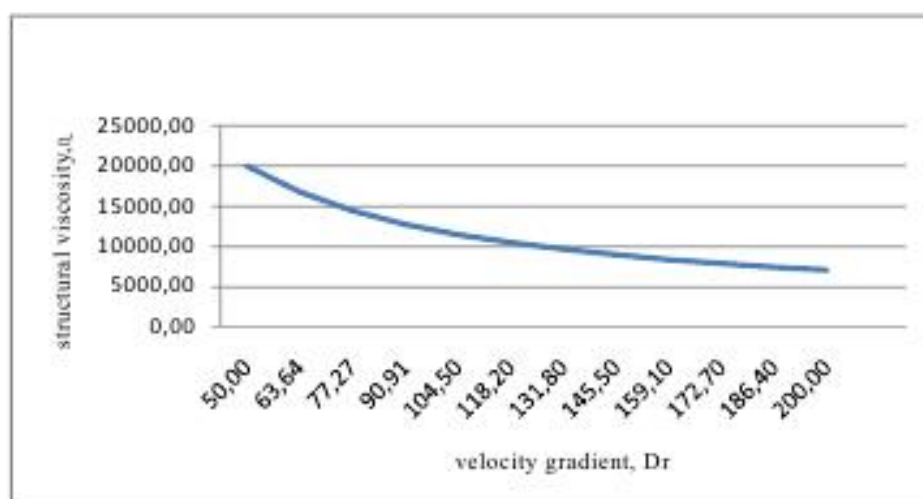


Рисунок 15- Зависимость структурной вязкости геля с 1% карбомером от скорости сдвига

Данная зависимость характерна для систем с пластическим типом течения и характеризует исследуемую гелевую основу как структурированную дисперсную систему. Следовательно, применение в качестве гелеобразователя карбомера при разработке стоматологического средства обеспечит более легкое, безболезненное и равномерное распределение геля на деснах.

Известно, что процесс гелеобразования полимеров является кинетическим и может развиваться в течение длительного времени [184]. В связи с этим были проведены исследования влияния продолжительности набухания на вязкость раствора карбомера. Результаты исследования приведены на рис.16.

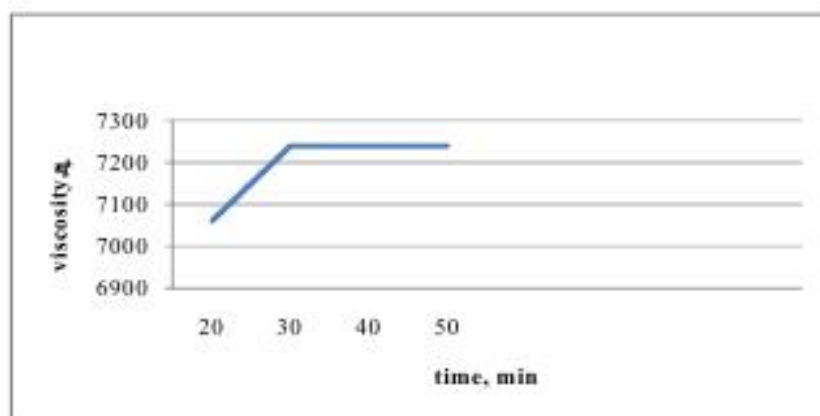


Рисунок 16 - Зависимость структурной вязкости геля карбомера от времени набухания

В результате исследований установлено, что наиболее активно процесс набухания карбомера происходит в период с 25 до 30 мин. Максимальное значение вязкости выявлено при набухании в течение 30 мин. Затем во всем исследованном диапазоне времени набухания реологические характеристики геля практически не изменяются.

*Обоснование оптимального состава геля с пихтовым маслом*

Дальнейшей нашей целью было экспериментально обосновать оптимальный состав геля, содержащего 0,3% эфирного масла из *Abies sibirica L.* и вспомогательных веществ таких как: полисорбат-80 и ксилитол, глицерин.

Концентрацию эфирного масла в геле устанавливали исходя из антифунгальной активности и рекомендованных разовых терапевтических доз для эфирных масел из *Abies sibirica L.* 3 мг. Для достижения терапевтического эффекта стоматологического геля эфирного масла из *Abies sibirica L.* использовали в концентрации 0,3%, так как рекомендуемая доза геля составляет 2,0 г.

Нами в лабораторных условиях были изготовлены серии образцов гелей (12 моделей), где в качестве гелеобразователя служил карбопол 974P NF. Поскольку при этом были введены эфирные масла в гель, то к образованной эмульсионной системе в основу был добавлен полисорбата - 80 в качестве эмульгатора, с концентрациями 0,1%;0,3%;0,5%. В качестве ароматизатора (корригента) был добавлен ксилитол, в концентрации 10% и 20%. Часть образцов были без ксилитола и полисорбата-80 (табл. 18, 19). После приготовления гели были однородными, имели молочный цвет, с характерным запахом эфирного масла *Abies sibirica L.*, вкус был немного горьковатым. Гели, содержащие ксилитол, значительно улучшали вкусовые качества. Наиболее благоприятными были две концентрации ксилитола 10% и 20%. pH приготовленных гелей имел диапазон от 5,11 до 5,66.(таблица 20).

Таблица 18 - Содержание полисорбата - 80 и ксилитола в гелях

№ п/п	Образцы гелей	Количество полисорбата-80 (%)	Количество ксилитола (%)
1	0P-0X	-	-
2	0P-10X	-	10
3	0P-20X	-	20
4	0,1P-0X	0,1	-
5	0,1P-10X	0,1	10
6	0,1P-20X	0,1	20
7	0,3P-0X	0,3	-
8	0,3P-10X	0,3	10
9	0,3P-20X	0,3	20
10	0,5P-0X	0,5	-
11	0,5P-10X	0,5	10
12	0,5P- 20X	0,5	20

Таблица 19 - Состав моделей гелей и технологическое назначение вспомогательных веществ

Название ингредиентов	Технологическое назначение	Модели					
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Пихты сибирской масло	Действующее вещество	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Карбомер	Гелевая основа	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Полисорбат -80	ПАВ эмульгатор	-	-	-	0.1	0.1	0.1
Глицерин	пластификатор	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Ксилитол	корригент	-	10.0	20.0	-	10.0	20.0
Триэтаноламин	нейтрализатор	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
Вода очищенная	Растворитель до	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Продолжение таблицы 19

Название ингредиентов	Технологическое назначение	Модели					
		№ 7	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12
Пихты сибирской масло	Действующее вещество	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Карбомер	Гелевая основа	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Полисорбат -80	ПАВ эмульгатор	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5
Глицерин	пластификатор	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Ксилитол	корригент	-	10.0	20.0	-	10.0	20.0
Триэтаноламин	нейтрализатор	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
Вода очищенная	Растворитель до	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Таблица 20 - Определение pH гелей

Образцы гелей	После подготовки	После хранения при комнатной температуре	После хранения в холодильнике
0P-0X	5.15±0.01	5.16±0.01	5.12±0.01
0P-10X	5.11±0.02	5.12±0.01	5.46±0.01
0P-20X	5.21±0.01	5.23±0.02	5.66±0.01
0.1P-0X	5.18±0.03	5.17±0.02	5.1±0.01
0.1P-10X	5.16±0.02	5.16±0.02	5.42±0.01
0.1P-20X	5.3±0.01	5.3±0.01	5.46±0.01
0.3P-0X	5.3±0.01	5.31±0.01	5.28±0.01
0.3P-10X	5.3±0.01	5.3±0.02	5.45±0.02
0.3P-20X	5.3±0.01	5.3±0.01	5.3±0.01
0.5P-0X	5.11±0.01	5.1±0.01	4.99±0.01
0.5P-10X	5.32±0.01	5.32±0.01	5.54±0.01
0.5P- 20X	5.3±0.02	5.31±0.02	5.64±0.03

Микроскопическое исследование показало, что наибольшее влияние на размер частиц внутренней фазы оказывает присутствие полисорбата-80 (Рис. 17-19). В образцах гелей без полисорбата-80 средний размер частиц эфирных масел ( $12,3 \pm 6,1$  мкм) было в несколько раз больше, и находились частицы эфирных масел больших размеров (до 43,2 мкм). В зависимости от концентрации полисорбата-80 средний размер частиц эфирного масла в гелях был неодинаковым. Например: средний размер частиц эфирного масла в геле  $2,3 \pm 1,3$  мкм имели все гели с 0,1% полисорбатом-80 (до 9,2 мкм). Средний размер частиц эфирного масла  $2,1 \pm 1,1$  мкм имели гели с концентрацией 0,3% полисорбата-80 (макс. 8,1 мкм) и средний размер частиц эфирного масла  $1,6 \pm 0,5$  мкм имели гели с концентрацией полисорбата-80 0,5% (макс. 3,4 мкм). Удивительным оказалось и значительное влияние ксилитола на качества эмульсионной системы. Во всех гелевых образцах с ксилитолом, средний и максимальный размер частиц эфирных масел и степень дисперсности был выше (рис. 17 и 20). Особенно важным является снижение степени дисперсности (однородности частиц) для гелевых образцов с полисорбатом - 80 (рис. 17). Глицерин в состав гелей был включен в качестве пластификатора.



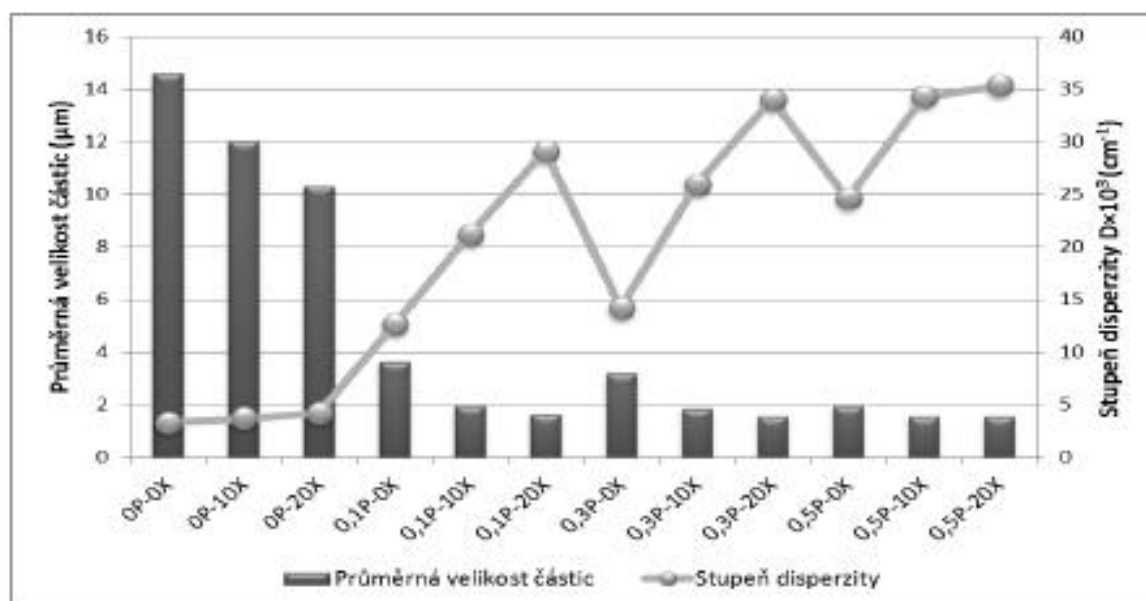


Рисунок 17- Средний размер частиц и степень дисперсности гелей

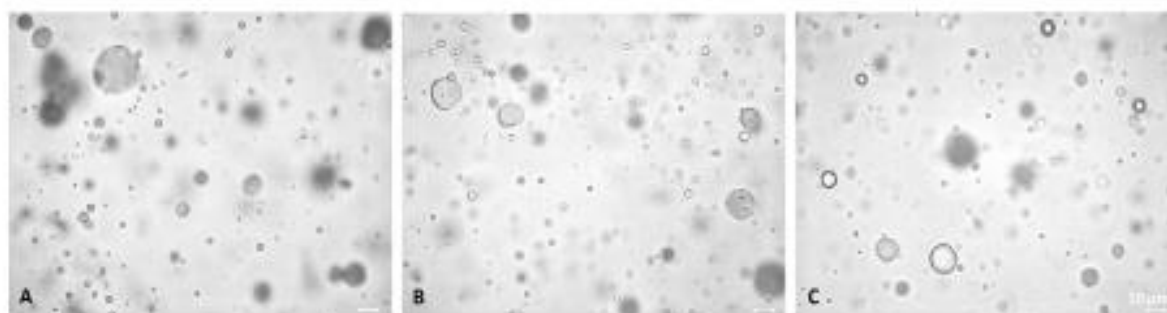


Рисунок 18- Микроскопическое исследование гелей, без полисорбат 80: А - без ксилитола, В – с 10% ксилитола, С – с 20% ксилитола



Рисунок 19- Микроскопическое исследование гелей, содержащих 0,3% полисорбат 80: А - без ксилитола, В – с 10% ксилитола, С – с 20% ксилитола

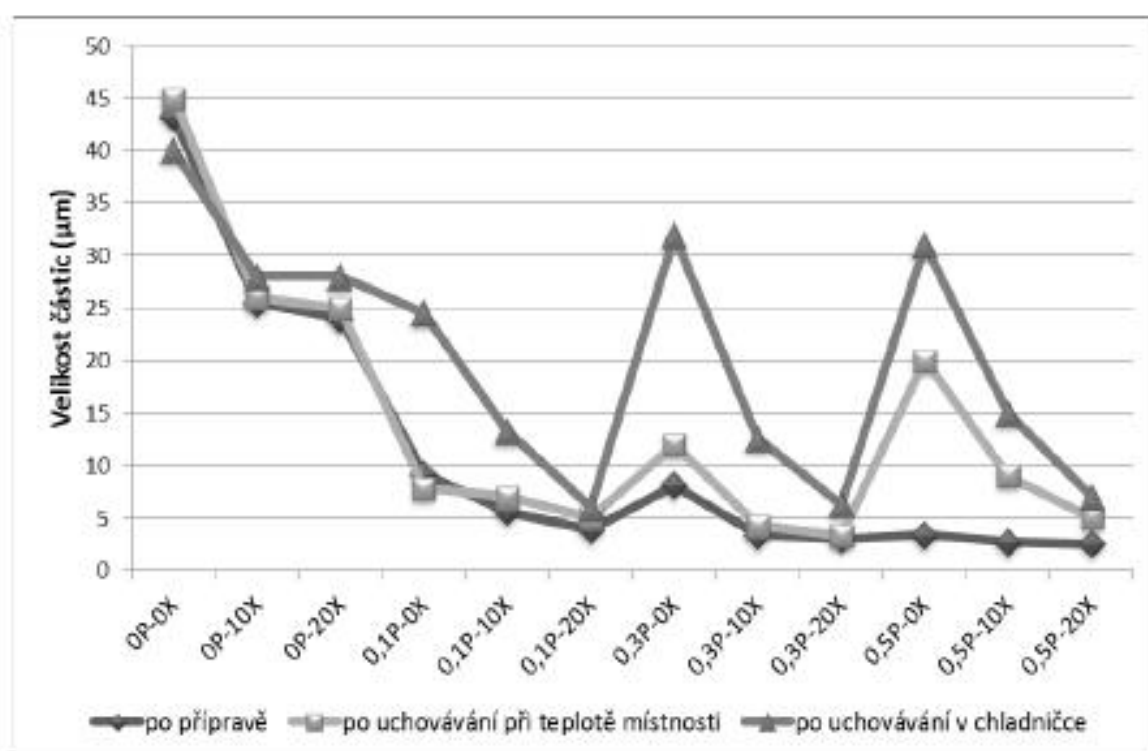


Рисунок 20- Влияние ксилитола на размер частиц эфирных масел из *Abies sibirica L.* в гелях

На основании микроскопических исследований оптимальным для 0,3%-ным содержанием эфирного масла из *Abies sibirica L.*, является полисорбат - 80 с концентрацией 0,3%. Непосредственно после приготовления гель с 0,3% полисорбатом-80 и 20% ксилитолом (0,3 L-20X) имел те же характеристики, как образцы с 0,5% полисорбатом - 80 (0,5 L-20X) (рис.17). Но по органолептическим свойствам (внешность, цвет, запах) гель № 9 превосходил гель № 12. Остальные образцы гелей после микроскопических и органолептических исследований нами были исключены.

Таким образом, в результате проведенных технологических, микроскопических и органолептических исследований был отобран оптимальный состав геля с пихтовым маслом для стоматологии:

Пихты сибирской масло	0,3г	СТ 1509-1910-02-ГП-05- 2012
Карбомера	1,0г	ЕФ 7.0
Глицерина	10,0г	ФС РК 42-113-95
Полисорбата -80	0,3г	ГФ РК 2г
Ксилитола	20,0г	ЕФ 7.0
Триэтаноламина	0,34г	ЕФ 7.0
Воды очищенной до	100,0г.	ФС РК 42-63-95

#### **4.2 Разработка рациональной технологии изготовления геля с пихтовым маслом**

Базируясь на известных и полученных в результате экспериментальных исследований, нами разработана технология малых и больших количеств геля с пихтовым маслом в лабораторных условиях.

Малые количества геля с пихтовым маслом получали с использованием ступок, а большие количества геля с применением установки «*Cito Ungvator 2000*».

На рис.21. представлена технологическая схема изготовления геля с пихтовым маслом с применением установки «*Cito Ungvator 2000*», которая может быть использована в полупромышленных условиях (ОСТ РК 1617-2006.)

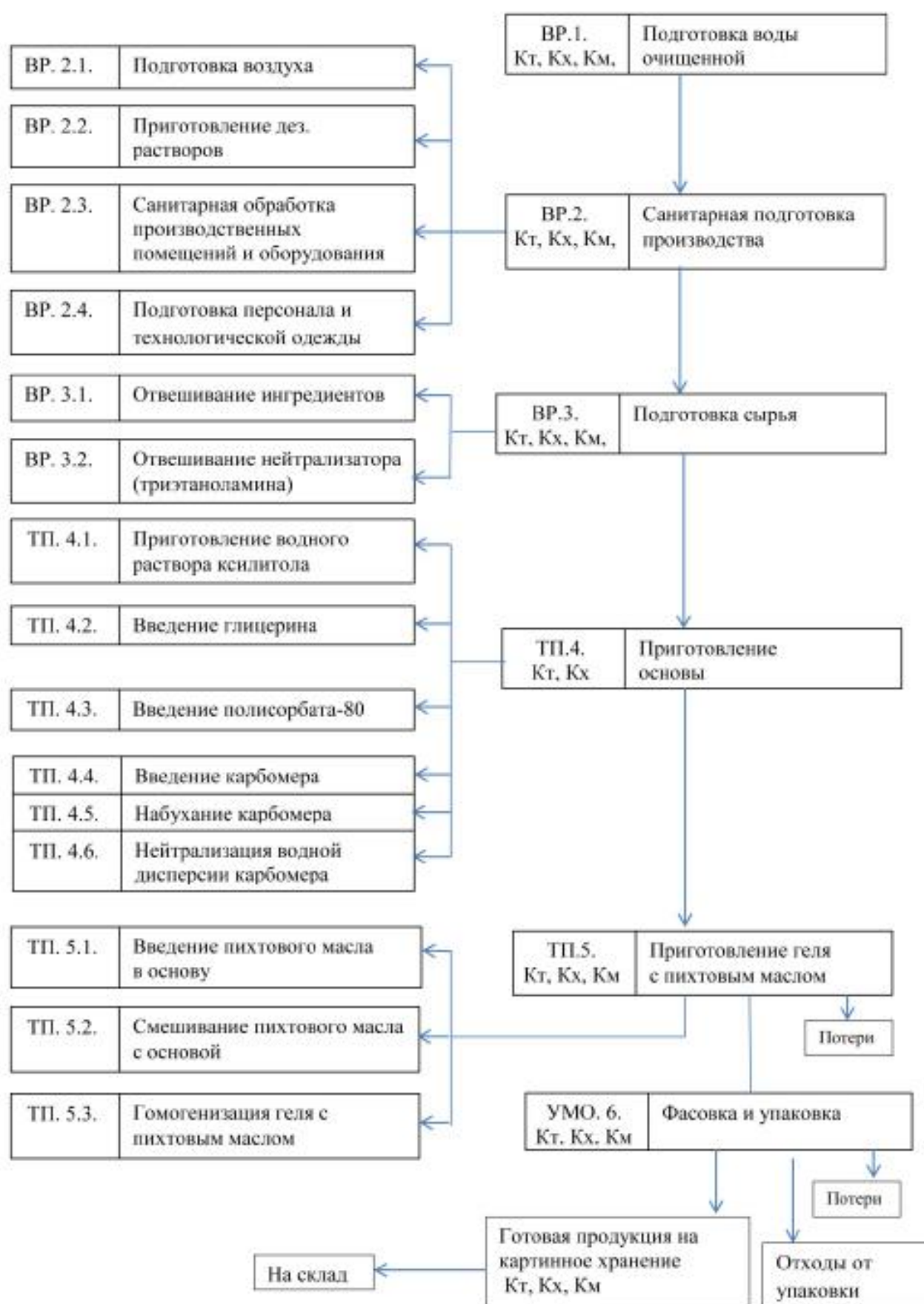


Рисунок 21 – Технологическая схема изготовления геля с пихтовым маслом

Обозначения:

ВР – стадия вспомогательных работ

ТП – стадия технологического процесса

УМО - стадия упаковки, маркировки и отпуска на склад

Кт, Кх, Км – контроль технологической, химической и микробиологической, соответственно

#### *Краткое описание технологического процесса*

Получение геля с пихтовым маслом состоит из следующих стадий: санитарная подготовка помещения, подготовка сырья, получение основы, получение геля с пихтовым маслом, фасовка, упаковка и маркировка готовой продукции.

На стадии вспомогательных работ проводилась подготовка вспомогательных и действующих веществ, материалов.

Для изготовления 1000,0 г 0,3% геля с пихтовым маслом на основе карбомера 974 NP в рабочий сосуд установки «Cito Ungvator 2000» внесли 810,0 г воды очищенной и 100,0г глицерина, 30,0г полисорбата – 80 и включали электропривод механического перемешивания компонентов геля. Перемешивали при комнатной температуре (+20 °С) в течение 10 минут до получения однородного раствора массой 930,0г. В полученный раствор постепенно небольшими порциями загружали 10,0г карбомера 974 NP и перемешивали в течение 20 минут до получения однородной суспензии. В полученную суспензию при перемешивании медленно с помощью бюретки вносили 20,0г троламина (триэтаноламина) и продолжали перемешивание в течение 45 минут до получения однородного прозрачного геля массой 970,0г. Проверяли величину рН готовой основы, которая должна быть в пределах от 5,0 до 5,3. В готовую основу при перемешивании вносили 30,0г пихтового масла, перенесли в рабочий сосуд установки «Cito Ungvator 2000» и перемешивали в течение 15 минут до получения однородного геля густой консистенции массой 1000,0г. Отбирали пробу для анализа. При получении положительного результата готовый продукт передавали на фасовку в тубы.

Производили маркировку и упаковку гелей в коробки в соответствии с предъявляемыми требованиями. На этикетке указывали: страну-изготовителя, фирму-изготовителя, его товарный знак, название лекарственного средства на государственном и русском языках, массу содержимого в граммах, регистрационный номер, номер серии, условия хранения, срок годности.

#### **ВР –3 Подготовка сырья**

*Расчет компонентов для приготовления геля*

Состав на одну промышленную загрузку 200 кг

#### **Действующие вещества:**

Пихтовое масло 0.60

#### **Вспомогательные вещества:**

Карбомер 2.00

Глицерин 20.00

Ксилитол 40.00

Полисорбат -80	0.60
Триэтаноламин	0.68
Воды очищенной до	200.00

Пихтовое масло, карбомер, глицерин, ксилитол, полисорбат-80, триэтаноламин и вода очищенная передаются в производство со склада сырья в упаковочной таре, промаркированной службой контроля качества.

1. При необходимости ксилитол измельчают на мельнице трехвальцевой и просеивают на вибрационном сите.
2. На весах взвешивают действующие и вспомогательные вещества.
3. Взвешивание производит аппаратчик в присутствии мастера-технолога.

#### **ТП – 4 Подготовка основы**

1. В смеситель загружают глицерин, полисорбат - 80 и заливают водным раствором ксилитола. Затем на поверхность водного раствора засыпают рассчитанное количество карбомера. Время набухания карбомера продолжается 30 минут.

2. После процесса набухания к основе добавляют нейтрализатор триэтаноламин и перемешивают в течение одного часа.

#### **ТП – 5 Приготовление геля с пихтовым маслом**

1. К готовой основе добавляют рассчитанное количество пихтового масла

2. Далее проводят процесс гомогенизации на смесителе – гомогенизаторе для достижения однородности геля. Полученную гель собирают в сборник, отбирают среднюю пробу и передают ее на анализ в ОТК завода.

3. Аппаратчик анализирует приготовленный гель в присутствии мастера-технолога:

- рН геля от 5,3 до 5,6
- размер частиц не более 100 мкм.

4. При получении положительных результатов анализов гель перекачивается из смесителя – гомогенизатора в накопитель тубофасовочной машины при помощи насоса для перекачки. При соответствии геля требованиям НД (ВАНД) – ее передают на фасовку.

#### **УМО -6 Фасовка и упаковка геля в тубы**

Гель фасуют по 30 г в тубы алюминиевые, укупоренные бушонами из полиэтилена низкого давления по ГОСТ 17768-90 или по другой действующей документации, разрешенной МЗ РК.

На тубе, этикетке и пачке указывают название организации производителя, город, страну, товарный знак, юридический адрес, название лекарственного средства на латинском, государственном и русском языках, количество лекарственного средства, в граммах, условия хранения, предупредительную надпись – «Перед употреблением просим прочитать приложенную инструкцию», «Хранить в недоступном для детей месте», «Не

применять по истечении срока годности», условия хранения, номер серии, срок годности.

На коробке дополнительно указывают условия отпуска, дату изготовления и штрих-код.

#### *Наполнение геля в тубы*

1. Перед началом работы проверяют чистоту и исправность машины, устанавливают объем наполнения геля.

2. В процессе работы аппаратчиком тубонаполнения контролируется качество фальцовки и объем геля в тубах на весах.

3. Гель, наполненный в алюминиевые тубы, транспортируется конвейером в помещение упаковки на картонирующую машину.

#### *Упаковка туб в пачки – пеналы*

Упаковку туб в пачки - пеналы производят на картонирующей машине модели К150.

1. Перед запуском машины в работу необходимо проверить:

- наличие и исправность заземления;
- состояние ограждения;
- чистоту машины;
- готовность машины к обработке туб данного размера.

2. Тубы с гелем, укладываются в пачки – пеналы вместе с инструкцией по применению.

#### *Групповая упаковка*

1. Пачки – пеналы вручную укладываются в групповую упаковку по 10 шт. в коробку из картона коробочного марки А или Хром – эрзац, внутрь вкладывают контрольный лист, где указывается наименование лекарственного средства и фамилия упаковщика.

2. Коробку оклеивают лентой и наклеивают групповую этикетку, на которой дополнительно указывают количество пачек – пеналов в коробке, серию и срок годности.

Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Материальный баланс производится на 200 кг (6 667 туб) по 30 г геля по сырью и материалам (табл.21).

Таблица 21- Расчет геля с пихтовым маслом по сырью и материалам

Израсходовано		Получено	
Наименование сырья и полупродуктов	Масса (кг)	Наименование конечного продукта, отходов и потерь, %	Масса (кг)
<i>Действующее вещество</i> Эфирное масло из <i>Abies sibirica L.</i>	0.6	Гель с пихтовым маслом в том числе:	192.0

Продолжение таблицы 21

<i>Вспомогательные вещества:</i>			
Карбомер	2.00	Потери 4% Т.П. 1. 0.94 % Т.П.2. 0.94 % УМО 1. 1.06 %	8.0
Глицерин	20.00		
Ксилитол	40.00		
Полисорбат-80	0.60		
Триэтаноламин	0.68		
Воды очищенной до	200.0		
ИТОГО:	200.0		

**Уравнение материального баланса:**

$$G_1 = G_2 + G_5$$

$G_1$  – масса исходных веществ

$G_2$  – масса готового продукта

$G_5$  – масса материальных потерь

$$200 = 192 + 8$$

**Теоретический выход:**

$$\eta = \frac{G_2}{G_1} \cdot 100\% = \frac{192}{200} \cdot 100\% = 96\%$$

**Технологическая трата:**

$$\Sigma = \frac{G_5}{G_1} \cdot 100\% = \frac{8}{200} \cdot 100\% = 4\%$$

**Расходные коэффициенты:**

$$K_{\text{расх}} = \frac{G_1}{G_2} = \frac{200}{192} = 1.04$$

**4.3 Оценка качества и исследование стабильности стоматологического геля с пихтовым маслом**

В соответствии с требованиями ГФ РК и приказа МЗ РК от 19.11.2009г. №754 «Об утверждении Правил составления, согласования и экспертизы нормативно-технического документа по контролю за качеством и безопасностью лекарственных средств» разработан нормативный документ, согласно которому проведена оценка качества и изучение стабильности



опытно-промышленных партий геля с пихтовым маслом под условным названием «АбиДент», произведенных в ТОО «ФитОлеум».

### **Оценка качества стоматологического геля с пихтовым маслом**

**Идентификация.** Для идентификации пихтового масла в гелях нами были использованы методы, указанные в ГФ РК и Европейской фармакопее: методика идентификации пихтового масла методом ГХ/МС основана на определении времен удерживания пиков на хроматограмме лекарственного средства и соответствии времен удерживания пиков в растворе сравнения.

Структурообразующий компонент – карбомер - идентифицировали по образованию осадка белого цвета при добавлении 10% раствора кальция хлорида к центрифугату лекарственного средства после разбавления его водой. [164].

Глицерин идентифицировали по реакции с калия бисульфитом при нагревании, сопровождающейся появлением запаха акролеина[165].

**Количественное определение.** Количественное определение терпеновых соединений в эфирном масле из *Abies sibirica* в новом геле проводили с использованием метода ГХ в соответствии с ГФ РК 1 том 2.2.28.

Для количественного ГХ определения компонентов сложной смеси, как правило, используют метод внутренней нормировки. При этом суммарная площадь хроматографических пиков принимается за 100%, а содержание отдельных компонентов определяется в массовых процентах пропорционально их площади [160,161].

**Методика анализа:** около 50.5 мг геля растворяли в 1 мл воды, разделили на два 500мкл частей, извлеченных путем 500мкл н-гексана, 50 мкл экстракта разбавляли до 450мкл (9х). Гель веса в пробе (мг) 25.25. Эффективность экстракции составил - 90%.

Для построения калибровочной кривой готовились несколько разведений стандартного образца. В таблице 22 представлено разведение стандартного раствора.

Таблица 22 - Стандартный раствор (23.1 мг эфирного масла в 10 мл н-гексане)

					injected	
					mg v 1 ml	
					conc.mg/ml	
Standard solution basic: 23.1 mg Ess.Oil in 10ml of n-hexane					2.31	2.31
Calibration solutions		conc.	mg injected		peak 16.7min	
Preparation	No.	mg/ml	1 ml	0.5 ml	height xE5	

Продолжение таблицы 22						
	1		0.231			130.56
100ul Std up to 1 ml C6	1	0.231	0.231	0.116		87.02
200ul s.1 + 100ul C6	1A	0.154	0.154	0.077		71.628
300ul s.1 + 300 ul C6	2	0.116	0.116	0.058		49.96
200ul s.2 + 100ul C6	2A	0.077	0.077	0.039		41.13
100ul s.2 + 100 ul C6	3	0.058	0.058	0.029		28.14
100ul s.1 + 400ul C6	4	0.0462	0.0462	0.023		24.70
100 ul s.2 + 200ul C6	5	0.0385	0.0385	0.019		19.83
100 ul s.1 + 900 ul C6	6	0.0231	0.0231	0.012		14.38
50 ul s.2 + 450 ul C6	7	0.0116	0.0116	0.006		7.308

В таблице 23 представлена концентрация калибровочных растворов и площади соответствующих им пиков. На основании этих данных нами составлена калибровочная кривая (Рис.22).

Таблица 23 - Концентрации калибровочных растворов и площади соответствующих им пиков на хроматограмме

mg in inj.	peak 16.7min height xE5
0.5 ml	
0.077	71.628
0.058	49.96
0.039	41.13
0.029	28.14
0.023	24.70
0.019	19.83
0.012	14.38
0.006	7.308
Slope	867.959

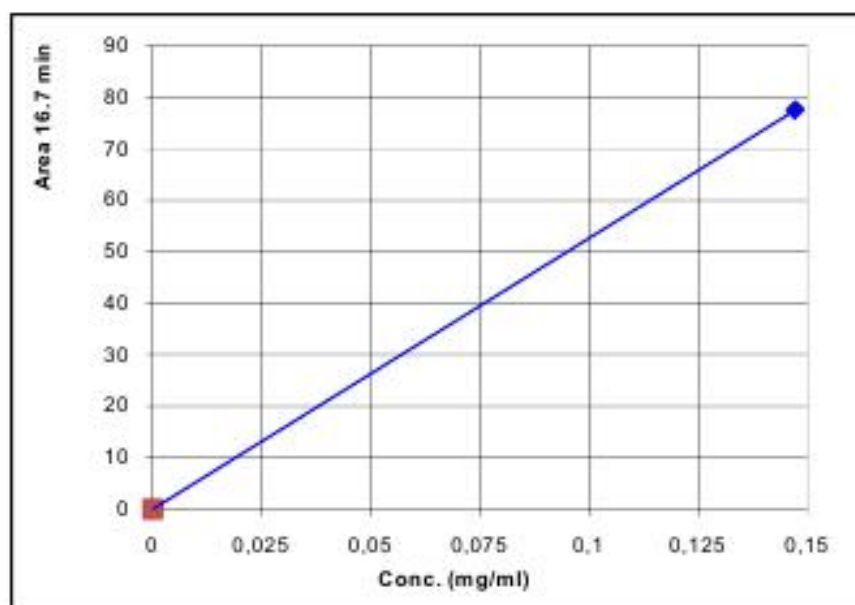


Рисунок 22 - Калибровочная кривая стандартного раствора

Из рисунка 22 видно, что линейная зависимость площади от концентрации соблюдается в интервале от 0.006 до 0.077 ppm, при этом коэффициент корреляции составляет 0,99987.

Ниже на рисунках 23 и 24 представлены хроматограммы стандартного образца и исследуемого лекарственного средства.

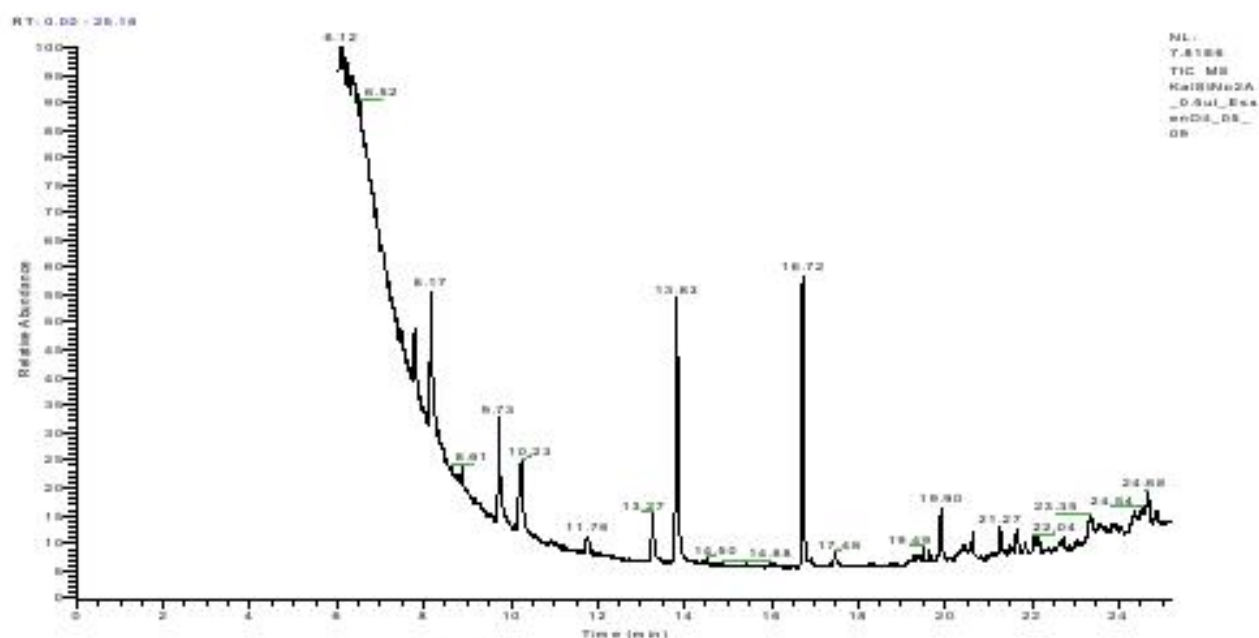


Рисунок 23 - Хроматограмма стандартного раствора

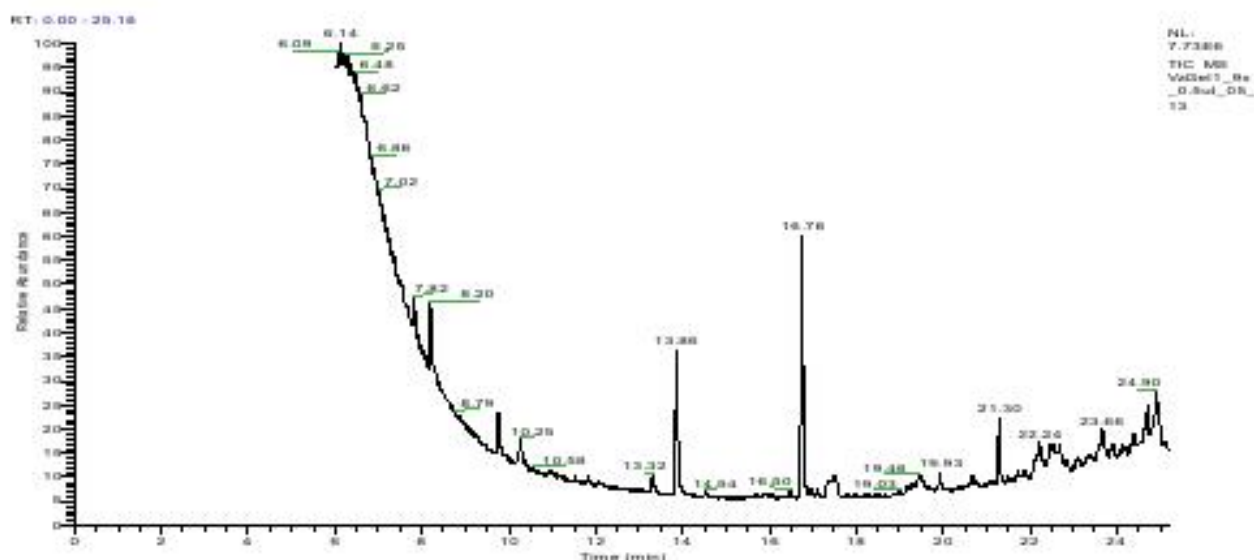


Рисунок 24 - Хроматограмма раствора геля в н-гексане

По калибровочной кривой рассчитано содержание  $\beta$  - мирцена в разработанном геле (таблица 24).

Таблица 24 - Содержание  $\beta$  - мирцена в разработанном геле

Injection 0.5ul	peak 16.7min	Content mg	Content %
	height xE5	in injection	в геле
VzGel1_9x_0.5ul	41.94	0.0483	1.91

Содержание  $\beta$  - мирцена в препарате должно быть от 1.5 % до 10.0 % (ЕФ 7.0).

В новом разработанном геле с пихтовым маслом содержание  $\beta$  – мирцена составило - 1.91%.

#### ***Разработка спецификации качества геля с пихтовым маслом***

В соответствии с требованиями ГФ РК нами разработан проект нормативного документа (ВАНД) на гель с пихтовым маслом под условным названием «Абидент». В таблице 25 представлена спецификация качества стоматологического геля с пихтовым маслом.

**Описание.** Светло-молочная однородная гелеобразная масса с легким запахом хвои.

По внешнему виду должны соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, общая статья «Мягкие лекарственные средства для местного применения».

**Идентификация.** Испытание проводят методом газовой хроматографии (ГФ РК I, т. 1, 2.2.28).

На хроматограмме испытуемого раствора, полученной при определении  $\alpha$  - пинена и борнилацетата,  $\beta$  - мирцена времена удерживания основных пиков должны совпадать с временами удерживания пиков  $\alpha$  - пинена и борнилацетата,  $\beta$ -мирцена на хроматограмме раствора сравнения, соответственно.

**Глицерин.** Испытание проводят в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи.

1,0 г препарата помещают в фарфоровую чашку, прибавляют 0,5 г калия бисульфита и нагревают на плитке. Ощущают резкий запах акролеина.

**Карбомер.** Испытание проводят в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи.

0,5 г препарата помещают в пробирку, прибавляют 5 мл воды очищенной, тщательно смешивают, переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 5 минут со скоростью 5000 об/мин. Центрифугат сливают в пробирку и к нему прибавляют 0,5мл 10% раствора кальция хлорида. Наблюдают образование рыхлого осадка белого цвета.

**Масса содержимого упаковки.** Определение проводят на 3 тубах. Каждую тубу взвешивают с точностью до 0.01 г и делают продольный разрез ножницами. Содержимое удаляют, тубу разрезают, промывают теплой водой, удаляют остатки влаги фильтровальной бумагой и вновь взвешивают с точностью до 0.01 г. Массу содержимого упаковки рассчитывают по разнице масс между полной и пустой упаковкой.

Средняя масса содержимого упаковки должна быть не менее 30 г.

**Однородность консистенции.** Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РК I, т. 1, общая статья «*Мягкие лекарственные средства для местного применения*», *Национальная часть, Приложение 1.*

**pH.** От 5.3 до 5.6 (непосредственно в препарате, потенциометрически; ГФ РК I, т. 1, 2.2.3).

**Микробиологическая чистота.** Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и т. 2, 2.6.13. Препарат в условиях испытания (разведение 1:10) не обладает антимикробным действием. Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, *категория 2.*

В 1 г препарата допускается наличие не более 100 аэробных бактерий и грибов (суммарно), не более 10 энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий.

В 1 г препарата не допускается наличие бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*.

**Количественное определение  $\alpha$  -пинена, борнилацетата и  $\beta$  - мирцена.** Испытание проводят методом газовой хроматографии (ГФ РК I, т. 1, 2.2.28) с применением метода внутренней нормализации.

По 0.2мкл испытуемого раствора и растворов сравнения хроматографируют на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором в следующих условиях:

- колонка из кварцевого стекла длиной 60 м и внутренним диаметром 0.22 мм, заполненная макроголом 20 000 P с размером пор 0.2 мкм;
- газ-носитель – гелий для хроматографии P;
- скорость газа-носителя – 1.5 мл/мин;
- деление потока 1:100;
- температура:

	Время (мин)	Температура (°C)
Колонка	0-10	60
	10-41	65-220
	41-50	220
Инжектор		220
Детектор		250

Содержание  $\alpha$ -пинена в препарате должно быть от 32% до 60%. [ЕФ 7.0]

Содержание борнилацетат в препарате должно быть от 1.0% до 4.0% [ЕФ 7.0]

Содержание  $\beta$  - мирцена в препарате должно быть от 1.5 % до 10.0 %. [ЕФ 7.0]

***Примечания. Приготовление раствора сравнения***

10 мкл  $\beta$  – мирцена растворяют в 1 мл гептана

***Проверка пригодности хроматографической системы***

Хроматографируют раствор сравнения. Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- коэффициент разделения пиков, рассчитанный для пиков  $\beta$  - мирцена на хроматограмме раствора сравнения, должен быть не менее 1.5%;

- на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться пики в следующей последовательности Выхода:  $\alpha$ -пинен, камфен,  $\beta$ -пинен, кар-3-ена,  $\beta$ -мирцен, лимонен,  $\alpha$  цимен, терпинолена, борнилацетат,  $\beta$ -кариофиллен;

- пик  $\beta$ -фелландрена расположен после пика лимонена и имеет относительное время удерживания, по отношению к лимонену, около 1.03.

**Количественное определение карбомера.** Испытание проводят методом нейтрализации согласно требованиям ЕФ.

Для количественного определения карбомера готовят водную дисперсию полимера, медленно добавляя 0,4 г его к 400 мл воды при интенсивном перемешивании в течение 15 мин. Снижают скорость перемешивания и титруют 0,2М раствором натрия едкого до рН 10,0 (точку эквивалентности определяют потенциометрическим методом). Перемешивают в течение 1 мин после каждого добавления раствора натрия едкого до установления постоянной величины рН.

1 мл 0,2М раствора натрия едкого эквивалентен 0,009004 г карбоксильных групп.

**Количественное определение глицерина.** В соответствии с ФС РК 42-113-95, для количественного определения глицерина к его водному раствору (1:1000) прибавляют раствор кислоты йодной, затем - растворы калия йодида и кислоты серной и выделившийся йод титруют раствором натрия тиосульфата (индикатор — крахмал).

Количественное содержание глицерина в препарате должно быть от 84,0 до 88,0%.

В соответствии с ЕФ, для количественного определения глицерина к водному раствору препарата прибавляют раствор натрия периодата, затем — раствор этиленгликоля и титруют раствором натрия едкого (индикатор — фенолфталеин).

Количественное содержание глицерина в препарате должно быть от 83,5% до 88,5%.

**Упаковка.** По 30 г препарата помещают в тубы алюминиевые.

По 1 тубе вместе с инструкцией по медицинскому применению на государственном и русском языках помещают в пачку из картона.

Групповая и транспортная тара соответствует ГОСТ 17768-90.

**Маркировка.** См. утвержденный макет упаковки.

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

**Хранение.** В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25°C.

**Срок хранения** 1.6 года.

Таблица 25- Спецификация качества стоматологического геля с пихтовым маслом

Показатели качества	Нормы отклонений	Методы испытаний
Описание	Светло-молочная однородная гелеобразная масса с легким запахом хвои	Визуально, ГФ РК I, т. 1, общая статья «Мягкие лекарственные средства для местного применения»
Идентификация (действующих веществ): - $\alpha$ -пинен - борнилацетат - $\beta$ -мирцен	На хроматограмме испытуемого раствора времена удерживания основных пиков должны совпадать с временами удерживания пиков $\alpha$ -пинен и борнилацетат, $\beta$ -мирцена на хроматограмме раствора сравнения, соответственно	ГХ, ГФ РК I, т. 1, 2.2.28
Идентификация (вспомогательных веществ): -глицерина  -карбомера	Подлинность устанавливают при нагревании препарата с калия бисульфитом по образованию акролеина (характерный резкий запах), и по окрашиванию водного раствора препарата в темно-синий цвет при добавлении растворов меди сульфата и натра едкого до щелочной реакции (реакция на гидроксифенильную группу).  Подлинность карбомеров устанавливают по образованию вязкого геля при нейтрализации их 1% водных дисперсий IM	ЕФ  ЕФ



Продолжение таблицы 25		
	раствором натра едкого до рН 7,5 и по образованию осадка белого цвета при добавлении к полученному гелю 10% раствора кальция хлорида или магния сульфата	
Масса содержащего упаковку	Не менее 30 г	В соответствии с ВАНД
Однородность консистенции	Препарат должен быть однородным	ГФ РК I, т. 1, общая статья «Мягкие лекарственные средства для местного применения», Национальная часть, Приложение 1.
рН	От 5.3 до 5.6	Потенциометрически; ГФ РК I, т. 1, 2.2.3
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 2 В 1 г препарата допускается наличие не более 100 аэробных бактерий и грибов (суммарно), не более 10 энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий. В 1 г препарата не допускается наличие бактерий <i>Pseudomonas aeruginosa</i> и <i>Staphylococcus aureus</i>	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и т. 2, 2.6.13

Продолжение таблицы 25		
Количественное определение: - α-пинена -борнилацетата -β-мирцена	от 32% до 60% от 1.0% до 4.0% от 1.5% до 10%	ГХ, ГФ РК I, т. 1, 2.2.28 ЕФ
Количественное определение: -карбомера -глицерина	1 мл 0,2М раствора натра едкого эквивалентен 0,009004 г карбоксильных групп. Содержание глицерина в препарате должно быть от 83,5% до 88,5%.	ЕФ ЕФ
Упаковка	По 30 г препарата помещают в тубы алюминиевые.  По 1 тубе вместе с инструкцией по медицинскому применению на государственном и русском языках помещают в пачку из картона.  Групповая и транспортная тара соответствует ГОСТ 17768-90	В соответствии с ВАНД
Маркировка	Утвержденный макет упаковки	В соответствии с ВАНД
Транспортирование	В соответствии с ГОСТ 17768-90	ГОСТ 17768-90
Хранение	В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С	В соответствии с ВАНД
Срок хранения	1.6 года	В соответствии с ВАНД
Основное фармакологическое действие	Средство для местного применения при заболеваниях полости рта	

Разработанное лекарственное средство с пихтовым маслом на основе гелей карбомеров обладает высокой коллоидной и термической устойчивостью. Он не расслаивается при центрифугировании со скоростью 8000 об/мин в течение 5 минут.

### **Исследование стабильности геля с пихтовым маслом**

Целью исследования явилось: изучение стабильности и определение срока хранения стоматологического геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.* при длительном хранении в естественных условиях.

Показатели стабильности геля изучали на трех опытно-промышленных сериях, полученных на базе VFU, Brno. Испытания лекарственного средства проводились в упаковке согласно проекту ВАНД.

Исследования стабильности геля проводили методом долгосрочных испытаний, так как гель содержит термолабильные субстанции природного происхождения.

Условия проведения долгосрочных испытаний максимально приближены к предполагаемым условиям хранения лекарственного средства в естественных условиях: температура хранения (не выше  $25 \pm 2$ ) °C, относительная влажность ( $60 \pm 5$ ) %.

Периодичность образцов составляла: 0,3,6,9,12,15,18 месяцев, что позволило подтвердить устойчивость активных компонентов в течение указанного времени (таблица 26).

После хранения при комнатной температуре органолептические свойства гелей оставались неизменными. pH гелей во всех образцах, хранившихся при комнатной температуре практически не изменился (табл. 26).

Таблица 26- Значения pH гелей с эфирным маслом из *Abies sibirica L.*

<i>Номер серии гелей</i>	<i>После изготовления</i>	<i>После хранения в естественных условиях (<math>25 \pm 2^{\circ}C</math>), влажность (<math>60 \pm 5</math>)%</i>
010113	5,30±0,01	5,30±0,01
020213	5,30±0,01	5,30±0,01
050313	5,30±0,01	5,30±0,01

Была проведена микроскопическая оценка гелей по истечении 18 месяцев хранения в течение 1.6 года. Во всех образцах не наблюдалась увеличения размера частиц эфирного масла (Рис. 25), которые характеризуют однородность частиц и стабильность данной композиции.



Рисунок 25 - Микроскопическое исследование гелей:  
а) после изготовления (слева); б) после 18 месяцев хранения (справа)

Анализ гелей с пихтовым маслом, хранившихся в естественных условиях проводили каждые 3 месяца в течение 1.6 года. Перед анализом образцы гелей гомогенизировали.

Критериями оценки качества гелей с пихтовым маслом служили: органолептические свойства, идентификация, значение рН, размер частиц, однородность, микробиологическая чистота, количественное содержание действующего вещества (таблицы 27,28,29).

При органолептическом контроле не отмечено изменений внешнего вида: гели сохраняли свои первоначальные цвета, запах, не наблюдалось изменения консистенции и расслоения. Значение рН гелей с пихтовым маслом, размеры частиц эфирного масла также практически не менялись. Гели обладали удовлетворительными консистентными свойствами на протяжении всего срока наблюдения. Результаты количественного анализа свидетельствовали, что содержание эфирного пихтового масла в хранившихся гелях находилось в пределах нормы.

Проводимый в период хранения бактериологический анализ подтвердил, что подобранные в ходе экспериментальных исследований условия приготовления гелей с пихтовым маслом и упаковка обеспечивают соответствующую микробиологическую чистоту.

Результаты исследования стабильности свидетельствовали также об оптимально отработанном составе геля, вспомогательные вещества которого подобраны в соответствии с физико-химическими и технологическими характеристиками действующих веществ.

Таким образом, совокупность данных, полученных в результате проведенных исследований, позволяет говорить о стабильности разработанного стоматологического геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.* и имеет срок хранения не более 1.6 года.

На основании проведенных исследований разработана спецификация испытаний стабильности стоматологического геля с пихтовым маслом под условным названием «АбиДент». Результаты представлены в таблице 30.

Таблица 27 – Исследование стабильности стоматологического геля с пихтовым маслом

Температура: (25±2) °С		Серия 010113						
Относительная влажность: (60±5) %		Дата начала испытаний: 01.01.13 г.						
Показатели	Нормы отклонения	Месяцы						
		0	3	6	9	12	15	18
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Описание	Светло-молочная однородная гелеобразная масса с легким запахом хвои	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Идентификация	Характерные пики на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать по времени удерживания характерным пикам на хроматограмме стандартного раствора	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
pH	5.3-5.6	5.3±0.1	5.29±0.2	5.3±0.1	5.31±0.1	5.29±0.1	5.3±0.2	5.3±0.1
Размер частиц, мкм	До 1 мкм не менее 90% по ГФ РК I,т.1	98%	97%	95%	99%	96%	97%	97%
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I,т.1, 5.1.4, категория 2.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Количественное определение: (β-мирцена)	не менее 1,5% и не более 10%	1.91%	1.90%	1.89%	1.89%	1.91%	1.91%	1.91%

Таблица 28 – Исследование стабильности стоматологического геля с пихтовым маслом

Температура: (25±2) °С		Серия 020213						
Относительная влажность: (60±5) %		Дата начала испытаний: 02.02.13 г.						
Показатели	Нормы отклонения	Месяцы						
		0	3	6	9	12	15	18
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Описание	Светло-молочная однородная гелеобразная масса с легким запахом хвои	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Идентификация	Характерные пики на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать по времени удерживания характерным пикам на хроматограмме стандартного раствора	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
pH	5.3-5.6	5.29±0.2	5.29±0.3	5.3±0.2	5.31±0.3	5.30±0.2	5.3±0.1	5.3±0.2
Размер частиц, мкм	До 1 мкм не менее 90% по ГФ РК I,т.1	95%	96%	96%	97%	96%	95%	96%
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I,т.1, 5.1.4, категория 2.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Количественное определение: (β-мирцена)	не менее 1,5% и не более 10%	1.81%	1.91%	1.81%	1.90%	1.89%	1.89%	1.90%

Таблица 29 – Исследование стабильности стоматологического геля с пихтовым маслом

Температура: (25±2) °С		Серия 050313						
Относительная влажность: (60±5) %		Дата начала испытаний: 05.03.13 г.						
Показатели	Нормы отклонения	Месяцы						
		0	3	6	9	12	15	18
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Описание	Светло-молочная однородная гелеобразная масса с легким запахом хвои	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Идентификация	Характерные пики на хроматограмме испытуемого раствора должны соответствовать по времени удерживания характерным пикам на хроматограмме стандартного раствора	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
pH	5.3-5.6	5.3±0.2	5.29±0.1	5.3±0.2	5.31±0.1	5.32±0.1	5.3±0.3	5.3±0.2
Размер частиц, мкм	До 1 мкм не менее 90% по ГФ РК I,т.1	98%	97,5%	97%	96%	95,5%	95,5%	95%
Микробиологическая чистота	Препарат должен соответствовать требованиям ГФ РК I,т.1, 5.1.4, категория 2.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Количественное определение: (β-мирцена)	не менее 1,5% и не более 10%	1.81%	1.80%	1.82%	1.81%	1.80%	1.82%	1.81%



Таблица 30 – Спецификация испытаний стабильности

Показатели	Нормы отклонения при выпуске/ в конце хранения	Метод / методика испытаний
Описание	Светло-молочная однородная гелеобразная масса с легким запахом хвои	В соответствии с ВАНД
Идентификация	На хроматограмме времена удерживания основных пиков должны совпадать с временами удерживания стандартных растворов	ГХ, ГФ РК 2.2.28; ЕФ
рН	5.3 – 5.6	Потенциометрически, ГФ РК том1, 2.2.3
Размер частиц, мкм	До 1 мкм не менее 90%	ГФ РК 1том 2.9.13
Микробиологическая чистота	<i>Категория 2</i>	ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и т. 2, 2.6.13
Количественное содержание: <i>β - мирцена</i>	не менее 1.5% и не более 10%	ГХ, ГФ РК 1 том 2.2.28; ЕФ
Срок хранения	1.6 года	

#### 4.4 Расчет технико-экономических показателей при производстве геля с пихтовым маслом

Технико - экономическое обоснование (ТЭО) составлено для проекта промышленного производства геля с пихтовым маслом на ТОО «ФитОлеум» г. Алматы.

##### Расчет стоимости 1 упаковки (30 г) геля с пихтовым маслом

Стоимость геля включает в себя стоимость составляющих ее ингредиентов, упаковки, производственные затраты, заработная плата, налоги и рентабельность производства.

Результаты расчетов представлены в таблице 31.

Таблица 31 - Плановая калькуляция 200 кг (6 667 упаковок по 30,0) геля с пихтовым маслом (по сырью и материалам)

№ п/п	Наименование сырья и материалов	Ед. измерения масса, кг	Норма, %	Цена за 1 кг, тенге	Сумма, тенге
1	Пихтовое масло	кг	0.6	1000	600
2	Карбомер	кг	2.0	8700	17400
3	Глицерин	кг	20.0	500	10000
4	Полисорбат-80	кг	0.6	4400	2640
5	Ксилитол	кг	40.0	8700	348000
6	Триэтаноламин	кг	0.68	1100	748
7	Вода очищенная	кг	до 200.0	300	11100
8	Потери при приготовление и фасовке 10 %	-	-	-	39049
	Итого:	-	-	-	351439

#### 2. Расчетная цена тары

Алюминьевая туба = 12.2 тенге

Инструкция = 0.4 тенге

Бумажный пенал = 3.2 тенге

Транспортная коробка = 74.6 тенге / 480шт = 0.2 тенге

Итого: 16.0 тенге.

При расчете калькуляции себестоимости и цены геля с пихтовым маслом приняты следующие условия:

1. Гель изготавливается в ТОО «ФитОлеум».

2. Пихтовое масло производится в ТОО «ФитОлеум».
3. Расчет калькуляции произведены по ценам ранее закупленных вспомогательных веществ.
4. Накладные, административно-хозяйственные и транспортные расходы средние данные по ТОО «ФитОлеум».

Полная себестоимость складывается из следующих показателей:

Расчет в течение одного месяца следующим составом рабочих

1. Заведующий производством 1 при заработной плате 90 000 тенге и трех производств:  $90000/3 = 30\ 000$  тенге
  2. Бригадир 1 с заработной платой 70 000тенге
  3. Оператор 1 с заработной платой 60 000 тенге
- Итого: 160 000 тенге : 10 000= 16.0 тенге

Расчет плановой калькуляции и цены 1 упаковки геля с пихтовым маслом представлен в таблице 32.

Таблица 32 - Расчет плановой калькуляции и цены одной упаковки 30 г геля с пихтовым маслом

№ п/п	Наименование статьей расходов	Сумма в тенге	Примечание
1	Сырье и материалы	35.14	-
2	Тара	16.00	-
3	Зарплата	16.00	-
4	Отчисления*	0.60	-
5	Накладные расходы**	2.04	-
6	Административно-хозяйственные расходы	10.10	-
7	Транспортные расходы	0.26	-
8	Полная себестоимость	68.00	-
9	Прибыль 30 %	20.4	-
10	Отпускная цена	168.54	-

\* социальный налог 11.4 %  
 \*\* в среднем за 7 месяцев 2014 год на ТОО «ФитОлеум»

Из таблицы 32 видно, что стоимость геля с пихтовым маслом 30 г с учетом всех затрат составил 168.54 тенге.

### **Капитальные вложения**

Общий объем капитальных вложений на проектно – технологическую документацию, реконструкцию цеха, приобретение основного оборудования, монтажные работы и пусконаладочные работы «Технологической линии по производству геля» в ТОО «ФитОлеум» составил:

$4\,838\,500 + 1\,451\,550 + 145\,155 + 2\,697\,000 + 15\,000\,000 = 24\,132\,205,00$  тенге

Таблица 33 - Техничко-экономические показатели получения геля

Элементы затрат	Сумма, тенге
1	2
Годовой фонд заработной платы обслуживающего персонала	6 247 800,00
Годовой расход сырья и основных материалов	50 509 000,00
Затраты на энергопотребление	803 936,44
Амортизационные отчисления	661 530,00
Запасные части и инструменты	33 076,50
Прочие расходы 5%	241 925,00
Итого	58 947 267,94

#### *Прибыль и срок окупаемости*

Реализация настоящего проекта позволит производству выпускать 100000 тубов геля в год, при этом (таблица 33):

- себестоимость 1 туба геля равна:  $58\,947\,267,94 : 100000 = 589,50$  тенге;
- себестоимость получаемой продукции в год составит  $58\,947\,267,94$  тенге;
- отпускная цена 1 тубы геля потребителю при рентабельности 30% составит:  $589,50 \cdot 30\% : 100 = 176,85$  тенге,  $589,50 + 176,85 = 766,35$  (после выплат долгов по кредитам отпускная цена может быть снижена);
- годовая выручка при продаже туба геля потребителю по  $766,35$  тенге составит  $766,35 \cdot 100000 = 76635\,000,00$  тенге;
- прибыль годовая равна:  $76635\,000,00 - 58\,947\,267,94 = 17\,687\,732,06$  тенге.

Срок окупаемости капитальных вложений для нужд данного проекта, составит, согласно формуле  $T = K : П$ ; где К - капитальные вложения; П - прибыль годовая:

$$T = 24\,132\,205,00 : 17\,687\,732,06 = 1 \text{ год } 4 \text{ месяца.}$$

Таким образом, срок окупаемости данного проекта составил 1 год 4 месяца.

#### Выводы по главе 4

1. Определена оптимальная концентрация изученного гелеобразователя – карбомера – 1%. Доказано, что гелевая основа с изученным гелеобразователем обладает неньютоновским типом течения с пластичными свойствами и имеет тиксотропные свойства. Для получения гелей со сформированной структурой оптимальная продолжительность набухания карбомера составляет 30 мин.
2. Теоретически и экспериментально обоснован и разработан оптимальный состав лекарственного средства с пихтовым маслом на основе геля карбомера: пихтового масла 0,3 г, карбомера 1,0 г, глицерина 10,0 г, полисорбата – 80 0,3 г, ксилитола 20,0 г, триэтаноламина 0,34 г, воды очищенной до 100,0 г.
3. Разработана рациональная технологическая схема производства стоматологического геля с пихтовым маслом.
4. Разработанное лекарственное средство – гель с пихтовым маслом характеризуется удовлетворительными консистентными свойствами.
5. Проведена оценка качества и разработана спецификация качества стоматологического геля с пихтовым маслом.
6. Гель с пихтовым маслом стабилен при длительном хранении в естественных условиях и имеет срок хранения не более 1,6 года.
7. Проведено технико-экономическое обоснование производства стоматологического геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.*, которое показало, что стоимость одной тубы геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.* с учетом всех затрат составила 168,54 тенге. Срок окупаемости производства геля с эфирным маслом из *Abies sibirica L.* составил 1 год 4 месяца.

## 5 Исследование специфической биологической активности, безопасности эфирного масла из *Abies sibirica L.* и стоматологического геля на его основе

### 5.1 Исследование специфической биологической активности эфирного масла из *Abies sibirica L.*

#### *Изучение антифунгальной активности эфирного масла из Abies sibirica L.*

Эксперимент проводили в асептических условиях. Для изучения антифунгальной активности эфирных масел из *Abies sibirica L.* были получены референтные штаммы *Candida albicans* из лаборатории кафедры инфекционных болезней и микробиологии Ветеринарно-фармацевтического университета г. Брно, Чешская Республика. Образцы эфирных масел растворяли в диметилсульфоксиде и 0.9% физиологическом растворе и были внесены в 96-луночные плоскодонные микропланшетники.

Грибковый посевной материал был ресуспендирован с многоканальной пипеткой для пробы, чтобы достичь окончательного объема 100 мкл. Наивысшая фунгистатическая концентрация масляного экстракта 256 мкг/мл. 5-Flucytosine (1мкг/мл) был включен в качестве положительного контроля. Рост был контролирован, измеряя оптическую плотность в 600 нм в микропланшетный ридер (BMG Читатель Labtech, Германия) при 37 °C от 0 до 48 часов. Количественное сравнение площадей под кривыми за 48 часов дает относительный рост, в процентах, связанных с контролем роста. (Рис.9).

Антифунгальную активность определяли на приборе «SPECTRO star Omega». Результаты изучения антифунгальной активности эфирных масел из *Abies sibirica L.* представлены ниже на диаграмме 1 и на рисунке 26.

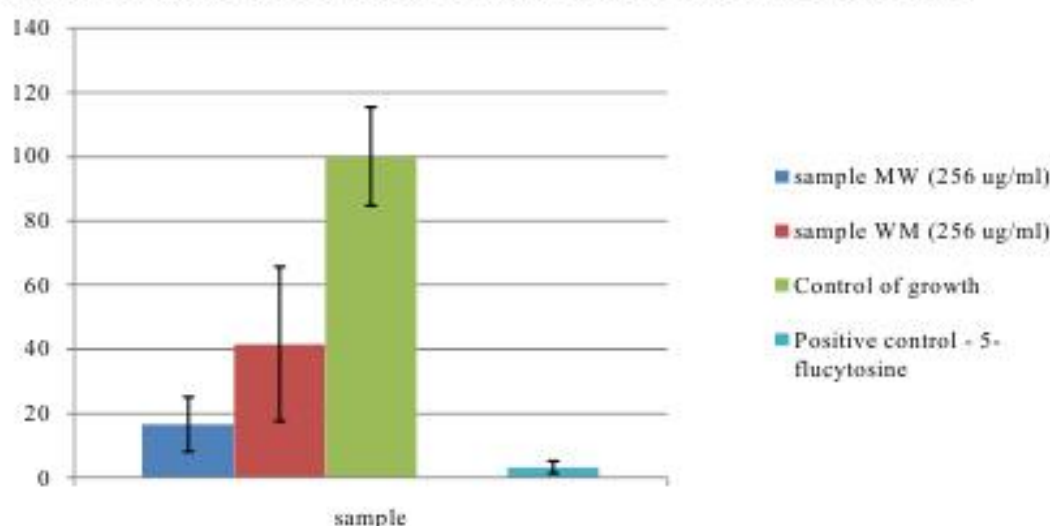


Рисунок 26- Антифунгальная активность эфирных масел из *Abies sibirica L.*

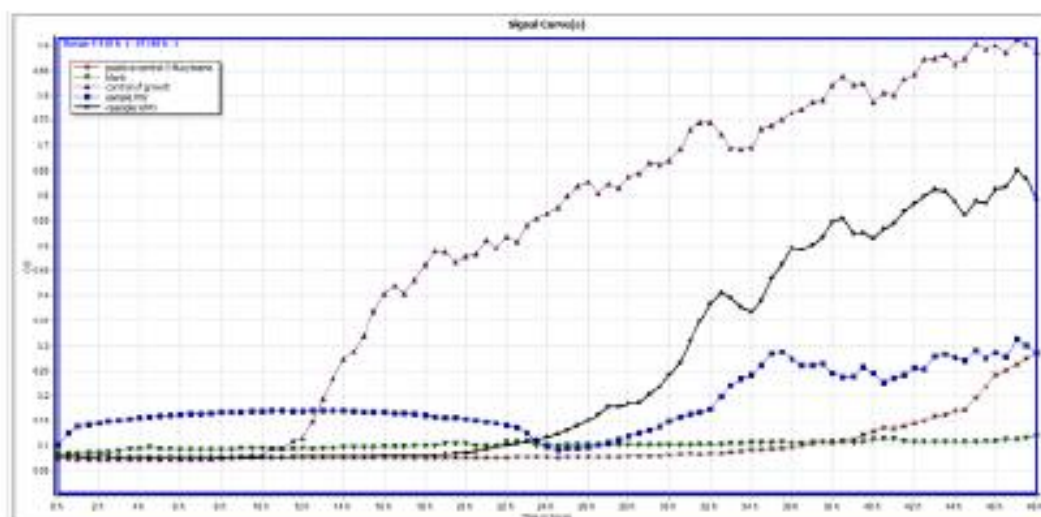


Рисунок 27 - Кривые роста *Candida albicans*

Как видно, из рисунков 26, 27 в качестве препарата сравнения использовали синтетический противогрибковый препарат 5-флюцитозин. Антифунгальная активность препарата 5-флюцитозин по отношению к *Candida albicans*, равна 95%, а антифунгальная активность эфирного масла из *Abies sibirica L.*, полученного методом микроволнового нагревания составляет 82%. Это достаточно высокий показатель для БАВ из растительного сырья, в частности для эфирного масла из *Abies sibirica L.* по сравнению с синтетическим препаратом. А эфирное масло из *Abies sibirica L.* полученное методом водно-паровой дистилляцией имеет антифунгальную активность к *Candida albicans* - 60%.

Таким образом, изучение антифунгальной активности показало, что эфирное масло *Abies sibirica L.*, полученное методом микроволнового нагревания проявляет достаточно высокую антифунгальную активность в отношении *Candida albicans*.

Минимальная ингибирующая концентрация для эфирного масла из *Abies sibirica L.* оказалась равной 300 мкг/мл в отношении *Candida albicans*.

## 5.2 Исследование безопасности эфирного масла из *Abies sibirica L.*

**Острая токсичность** изучалась на здоровых половозрелых животных – мышах обоего пола, прошедших карантин не менее 10-14 дней и выращенных в условиях вивария Казахского Национального Медицинского Университета.

Для изучения острой токсичности при энтеральном введение животные были разделены на 2 группы по 6 мышей в каждой группе, масса животных составила – 18,0 - 22,0. Животные первой группы (опытной) получали энтерально разведенное в соотношении 1:10 испытуемое вещество (эфирное масло) однократно в объеме не более 0,8 мл. в зависимости от массы тела животных. В качестве растворителя использовалась очищенная вода. Вещество вводили в желудок животных через

специальный зонд при помощи шприца. В контрольной группе (6 мышей) животные получали очищенную воду в аналогичном объеме. Перед введением вещества и после него животные не получали пищу в течение 2-3 часов.

**Подострая токсичность** изучена на 2-х видах животных при двух путях поступления исследуемого вещества в организм экспериментальных животных (белые мыши - энтеральный путь и морские свинки - накожная аппликация). Изучение подострой токсичности при накожной аппликации предусмотрено в связи с предполагаемым клиническим применением изучаемого геля в стоматологической практике, для нанесения на слизистую оболочку полости рта.

Для изучения подострой токсичности при энтеральном введении использованы 2 группы мышей по 6 в каждой группе: 1 группа – опытная, 2 – контрольная. Животные опытной группы получали разведенный в соотношении 1:10 эфирное масло из *Abies sibirica L.* в течение 4-х недель, вводимый объем не превышал 0,8 мл в зависимости от массы тела. Животным контрольной группы вводили очищенную воду в желудок с помощью специального зонда при помощи шприца в том же объеме в течение 4-х недель. Перед введением вещества и после него животные не получали пищу в течение 2-3 часов.

В время эксперимента постоянно фиксировали общее состояние животных, их поведение, характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координации движений, тонус скелетных мышц, реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, ритм сердечных сокращений, состояние волосяного и кожного покрова, окраску слизистых оболочек, размер зрачка, положение хвоста, потребление корма и воды, изменение массы тела.

Результаты экспериментальных исследований при накожной аппликации масла показали отсутствие патологического характера изменений общих показателей на протяжении всего периода исследований. Животные во всех группах оставались активными, не было случая летального исхода, не зафиксировано изменение со стороны дыхательной, сердечно-сосудистой, центральной нервной системы. Состояние кожных покровов, слизистых оболочек у животных без изменений. Потребление корма и воды в прежнем режиме. Масса тела животных оставалась на уровне исходных.

Таким образом, эфирное масло из *Abies sibirica L.* при энтеральном и накожном нанесении не оказывало общетоксического действия на организм животных и является безвредным.

### **5.3 Исследование специфической биологической активности стоматологического геля с пихтовым маслом**

#### ***Изучение антифунгальной активности методом «in vitro»***

Грибковый посевной материал ресуспендировали с многоканальной пипеткой для пробы, чтобы достичь объема 100 мкл. Наивысшая фунгистатическая концентрация исследуемого средства составило - 256 мкг/мл. 5-Flucytosine (1мкг/мл) был включен в качестве препарата сравнения.



Рост контролировали, измеряя оптическую плотность в 600 нм в микропланшетный ридер (BMG Читатель Labtech, Германия) при 37 °С от 0 до 48 часов. Количественное сравнение площадей под кривыми за 48 часов дает относительный рост, в процентах, связанных с контролем роста. (Рис.24).

Антифунгальную активность геля определяли на приборе «SPECTRO star Omega». Результаты изучения антифунгальной активности стоматологического геля с пихтовым маслом и с препаратом сравнения представлены ниже на рисунке 28.

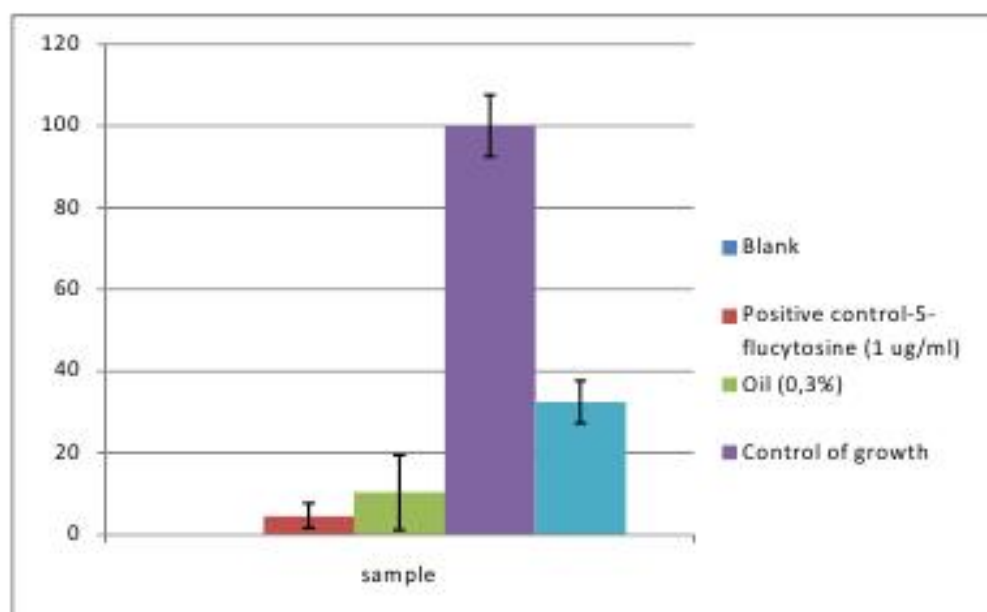


Рисунок 28 - Антифунгальная активность геля с пихтовым маслом

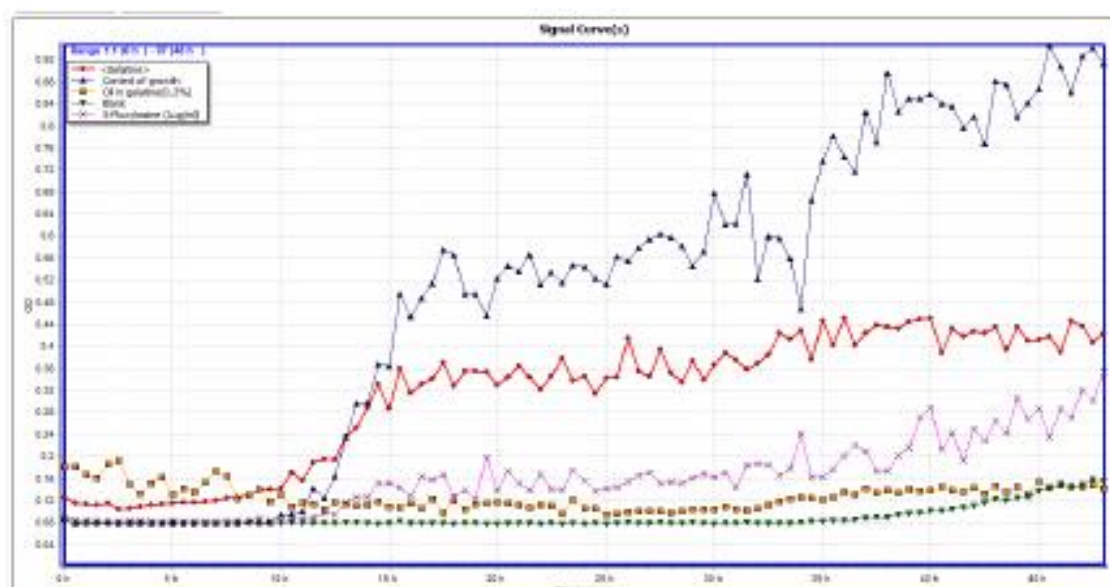


Рисунок 29- Кривые роста *Candida albicans*

Изучение антифунгальной активности показало, что разработанный гель проявляет достаточно высокую антифунгальную активность в отношении *Candida albicans*. Антифунгальная активность геля с пихтовым маслом равна 85%. (см. рис. 28,29).

#### **5.4 Исследование безопасности стоматологического геля с пихтовым маслом**

##### ***Изучение острой и подострой токсичности при накожном введении лекарственного средства***

В ходе эксперимента регулярно фиксировались общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координации движений, тонус скелетных мышц, реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, ритм сердечных сокращений, состояние волосяного и кожного покрова, окраску слизистых оболочек, размер зрачка, положение хвоста, потребление корма и воды, изменение массы тела.

Результаты экспериментов при накожной аппликации геля показали отсутствие патологического характера изменений общих показателей на протяжении всего периода исследований. Животные во всех группах оставались активными, не было ни одного случая летального исхода или интоксикации, не зафиксировано изменение со стороны дыхательной, сердечно-сосудистой, центральной нервной системы. Состояние кожного покрова, слизистых оболочек без изменений. Потребление корма и воды в прежнем режиме. Масса тела животных оставалась на уровне исходным цифр.

Таким образом, исследуемое вещество при накожном нанесении не оказывало общетоксического действия на организм животных и является безвредным.

##### ***Морфологическое исследование***

*Макроскопически* внутренние органы в торакальной и абдоминальной полостях были обычными по цвету, консистенции, анатомо-топографическим параметрам; в брюшной полости, полости плевры и средостения следы прозрачной жидкости.

Величина и форма сердца изменений не представляли. Мышца сердца была коричневатой, плотной. Поверхность легких имела бледно-розовую окраску; легкие спадались при вскрытии грудной клетки. Ткань на разрезе также имела однородную бледно-розовую окраску. Слизистая оболочка внелегочных бронхов была гладкой, блестящей, бледнорозовой, кровоизлияния не отмечены. Слизистая тела желудка была бледно-розовой, блестящей, складчатой, кровоизлияний, изъязвлений не выявлено. Слизистая тонкой и толстой кишки была блестящей, бархатистой, кровоизлияний, изъязвлений не отмечено. Печень обычной величины и формы. Капсула печени была тонкой,

прозрачной. Ткань печени имела коричневатый цвет умеренно плотную консистенцию. Величина и форма почек не отличались от контроля, капсула легко снималась. Поверхность органа была гладкой, однородной, коричневато-сероватой окраски. На разрезе почек отчетливо различались корковое и мозговое вещество. Селезенка имела темно-вишневый цвет, гладкую поверхность, плотноватую консистенцию.

#### *Гистологическое исследование*

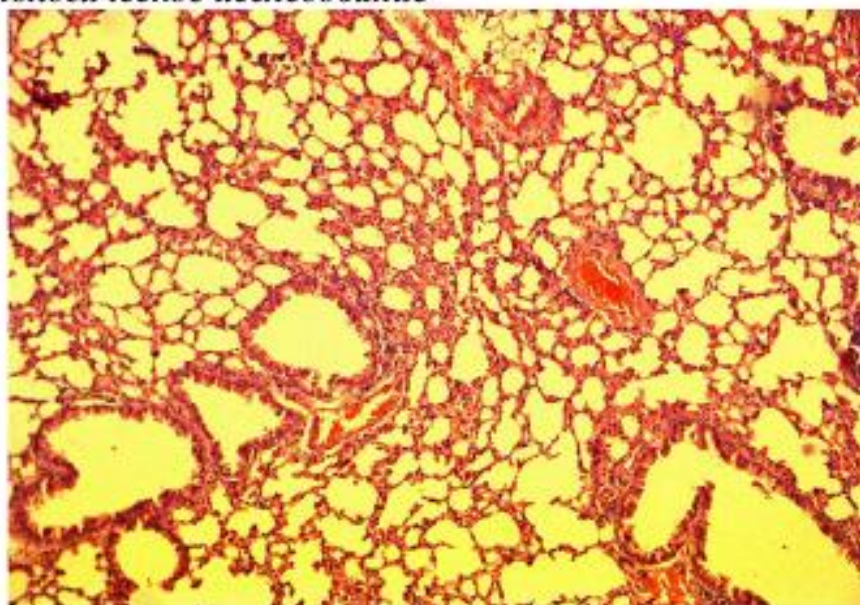


Рисунок 30 - Легкие мыши при накожной аппликации геля

При исследовании легких мышей после накожной аппликации геля, альвеолярные полости свободные, эпителий бронхиального дерева красится интенсивно. Отмечаются единичные участки свежих кровоизлияний от декапитации. Признаков нарушения кровообращения не обнаружено (Рис.30).

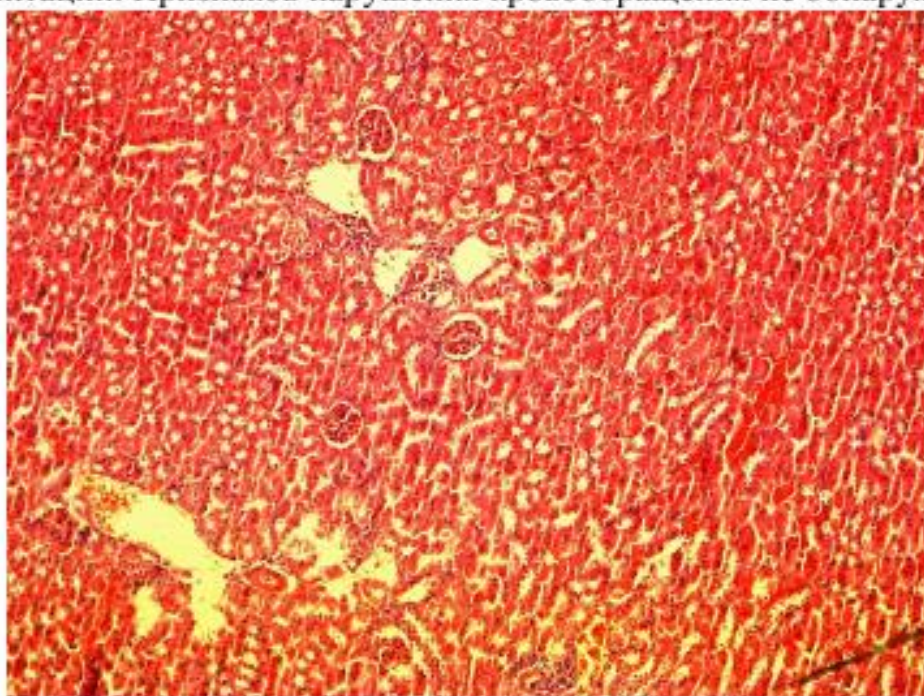


Рисунок 31 -Почки мыши при накожной аппликации геля

При исследовании почек эпителий канальцев равномерно окрашен, ядра хорошо воспринимают красители. Сохранена нормальная гистологическая структура. Кровоизлияний нет, признаков отека не обнаружено (Рис.31).

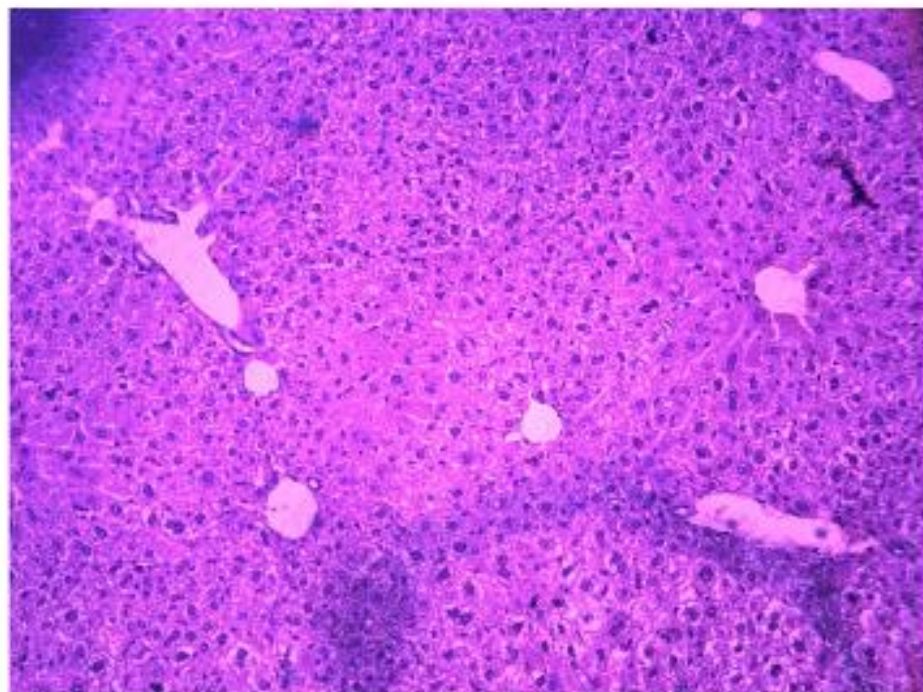


Рисунок 32-Печень мыши при накожной аппликации геля

При исследовании печени гепатоциты интенсивно воспринимают красители, кровоизлияний нет, гистологическая структура не нарушена, расположение балок обычное. Нарушений кровообращения не наблюдается (Рис.32).

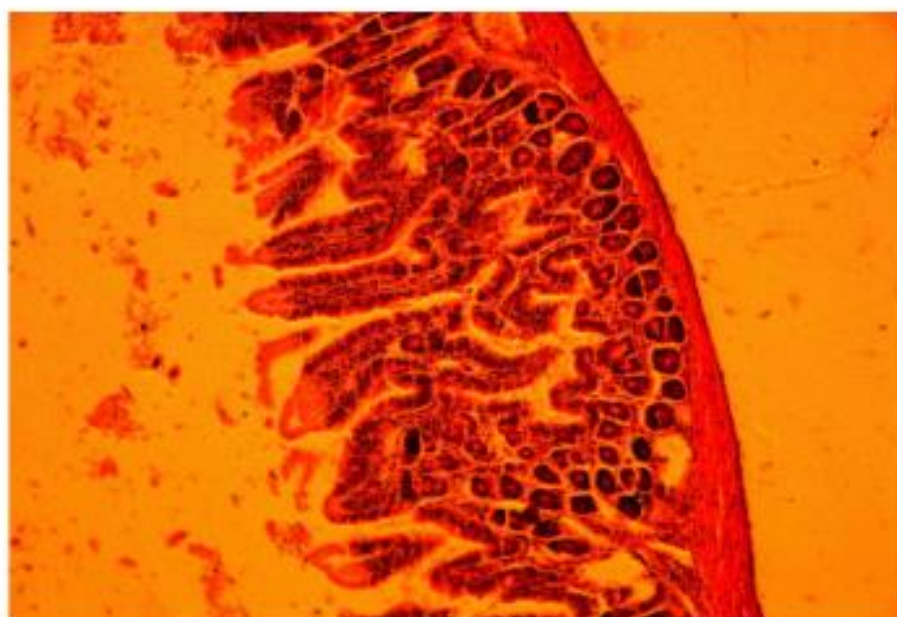


Рисунок 33- Кишечник мыши при накожной аппликации геля

Микроскопически слизистая кишечника без изменений, ворсинки хорошо развиты, железы хорошо контурируются, эпителий слизистой оболочки без признаков некроза, кровоизлияний, окрашен равномерно (Рис.33).

Таким образом, при накожной аппликации геля морфологических изменений внутренних органов не наблюдалось.

#### ***Изучение острой токсичности при энтеральном введении лекарственного средства***

При однократном энтеральном введении испытуемого вещества общее состояние животных не менялось, двигательная активность без изменений, судорог и нарушений координации движений не отмечалось, тонус скелетных мышц оставался в норме, реакция на различные раздражители без изменений. Состояние волосяного и кожного покрова, размер зрачка, положение хвоста, потребление корма и воды, изменение массы тела без отклонений.

#### ***Морфологическое исследование***

При вскрытии животных макроскопически внутренние органы анатомически правильной формы, их положение анатомически правильно; в брюшной полости, полости плевры и средостения следы прозрачной жидкости, сосуды кровенаполнены.

Сердце было обычной величины и формы, мышца сердца была коричневатой, плотной. Поверхность легких имела бледно-розовую окраску; легкие спадались при вскрытии грудной клетки. Ткань на разрезе также имела однородную бледно-розовую окраску. Слизистая оболочка внелегочных бронхов была гладкой, блестящей, кровоизлияния не отмечены. Слизистая тела желудка была бледно-розовой, блестящей, складчатой, кровоизлияний, изъязвлений не выявлено. Слизистая тонкой и толстой кишки была блестящей, бархатистой, кровоизлияний, изъязвлений не отмечено. Печень обычной величины и формы. Капсула печени была тонкой, прозрачной. Ткань печени имела коричневатый цвет умеренно плотную консистенцию. Почки были обычной величины и формы, капсула легко снималась. Поверхность органа была гладкой, однородной, коричневато-сероватой окраски. На разрезе почек отчетливо различались корковое и мозговое вещество. Селезенка имела темно-вишневый цвет, гладкую поверхность, плотноватую консистенцию.

#### ***Гистологическое исследование***

При исследовании легких после **однократного энтерального введения** испытуемого вещества, альвеолярные полости свободные, эпителий бронхиального дерева красится интенсивно. Отмечаются единичные полнокровные сосуды (Рис.34).

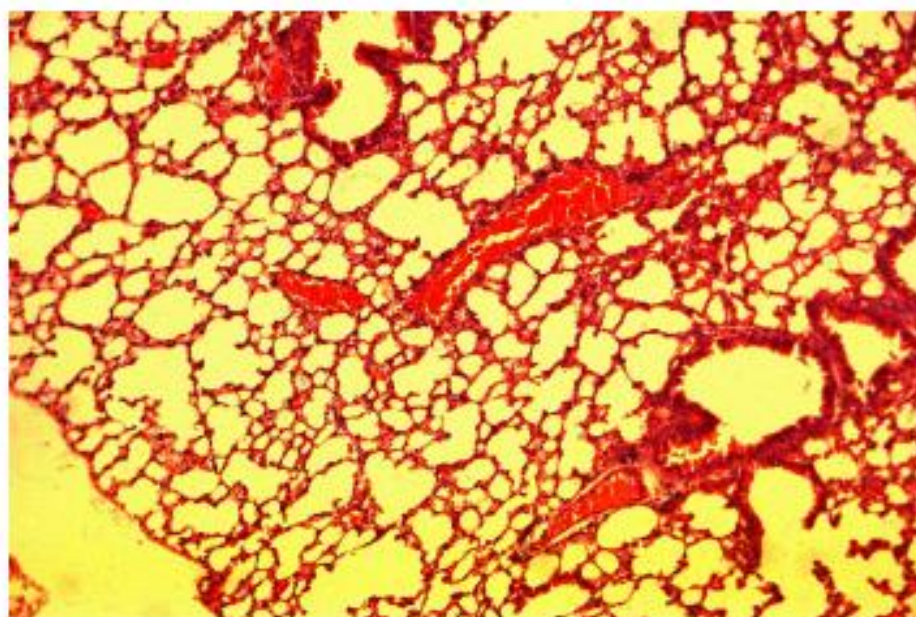


Рисунок 34 - Легкие мыши при однократном энтеральном введении испытуемого вещества

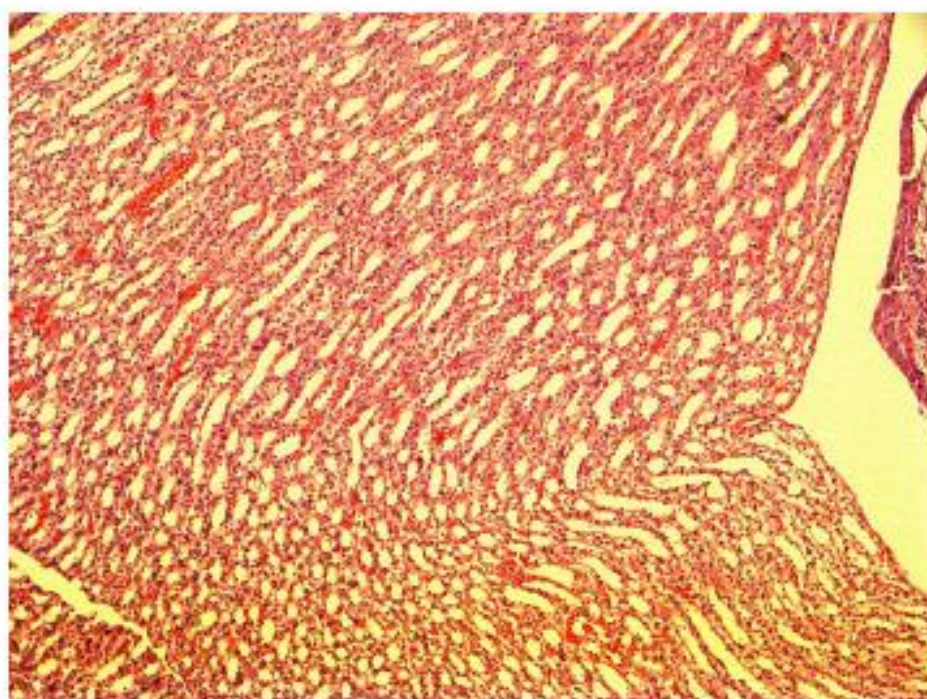


Рисунок 35 - Почки мыши при однократном энтеральном введении испытуемого вещества

При исследовании почек эпителий канальцев равномерно окрашен, ядра хорошо воспринимают красители. Сохранена нормальная гистологическая структура. Кровоизлияний нет, признаков отека не обнаружено (Рис.35).

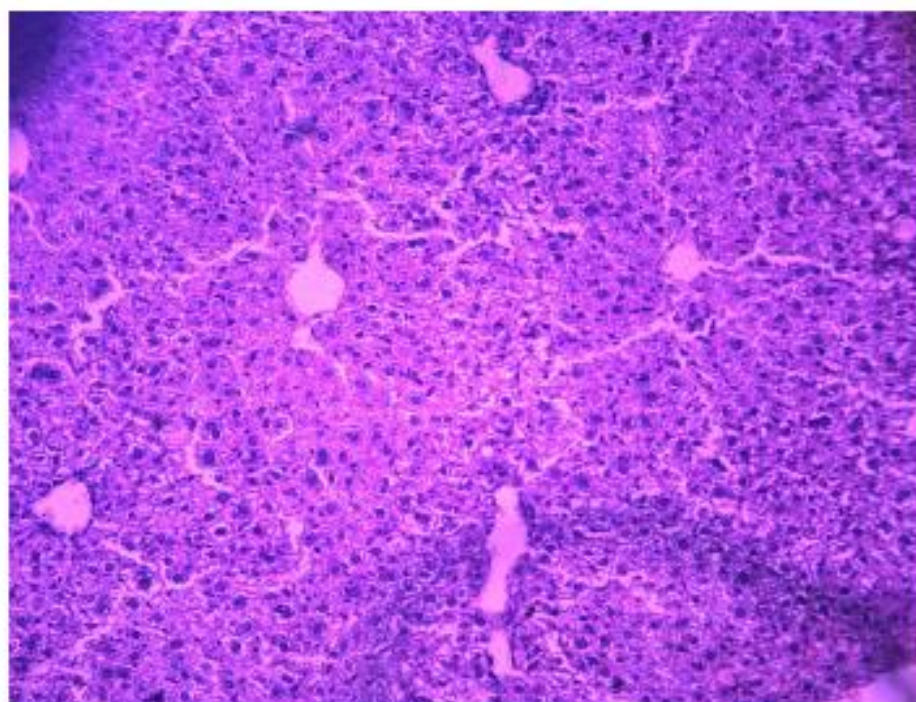


Рисунок 36 - Печень мыши при однократном энтеральном введении испытуемого вещества

При исследовании печени мышей гепатоциты интенсивно воспринимают красители, кровоизлияний нет, гистологическая структура не нарушена, расположение балок обычное. Нарушений кровообращения не наблюдается (Рис.36).

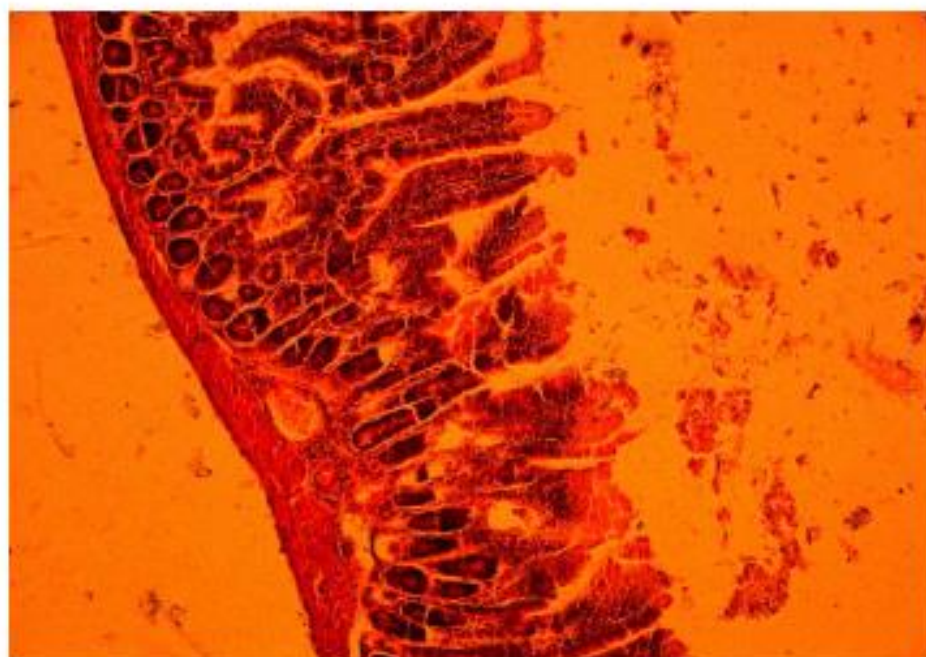


Рисунок 37 - Кишечник мыши при однократном энтеральном введении испытуемого вещества

Микроскопически слизистая кишечника без изменений, железы хорошо контурируются, эпителий слизистой оболочки без признаков кровоизлияний, окрашен равномерно (Рис.37).

Таким образом, однократное энтеральное введение испытуемого вещества не вызвало макроскопических и микроскопических изменений внутренних органов.

### ***Изучение подострой токсичности при энтеральном введении лекарственного средства***

Изучение подострой токсичности при энтеральном введении испытуемого вещества в течение 4-х недель показало, что у животных опытной группы отмечались некоторые изменения со стороны центральной нервной системы: у некоторых животных начиная со второй недели, несколько снизилась двигательная активность, животные прижимались ко дну клетки, сидели неподвижно. Снизилось потребление корма и воды, животные подопытной группы плохо прибавляли в весе (табл.34). Случаев летального исхода не отмечалось.

Таблица 34 - Динамика веса контрольных и опытных животных

№	Вес контрольных животных, г				Вес подопытных животных, г			
	1 нед	2 нед	3 нед	4 нед	1 нед	2 нед	3 нед	4 нед
1	18,32	20,22	22,98	25,66	22,03	22,35	23,05	23,18
2	22,13	25,58	26,73	28,18	20,69	21,72	22,02	22,73
3	20,45	22,52	23,99	27,68	21,53	22,12	22,63	23,01
4	19,84	21,07	22,67	25,82	18,48	19,02	19,38	20,1
5	18,15	20,04	22,79	24,11	18,02	18,13	18,98	19,52
6	21,12	23,3	25,13	26,55	20,59	21,48	21,84	22,39

### ***Морфологическое исследование***

При вскрытии животных макроскопически внутренние органы анатомически правильной формы, их положение анатомически правильно; в брюшной полости, полости плевры и средостения следы прозрачной жидкости, сосуды кровенаполнены.

Сердце было обычной величины и формы, мышца сердца была коричневатой, плотной. Поверхность легких имела бледно-розовую окраску; легкие спадались при вскрытии грудной клетки. Ткань на разрезе также имела



однородную бледно-розовую окраску. Слизистая оболочка внелегочных бронхов была гладкой, блестящей, кровоизлияния не отмечены. Слизистая тела желудка была бледно-розовой, блестящей, складчатой, кровоизлияний, изъязвлений не выявлено. Слизистая тонкой и толстой кишки была блестящей, бархатистой, кровоизлияний, изъязвлений не отмечено. Печень обычной величины и формы. Капсула печени была тонкой, прозрачной. Ткань печени имела коричневатый цвет умеренно плотную консистенцию. Почки были обычной величины и формы, капсула легко снималась. Поверхность органа была гладкой, однородной, коричневато-серооливковой окраски. На разрезе почек отчетливо различались корковое и мозговое вещество. Селезенка имела темно-вишневый цвет, гладкую поверхность, плотноватую консистенцию.

### *Гистологическое исследование*

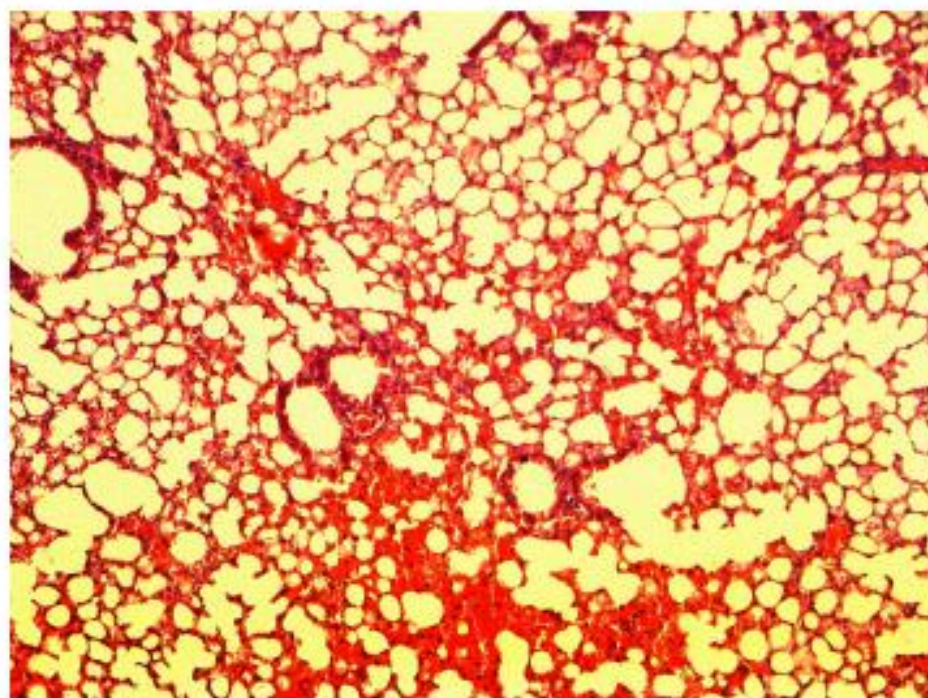


Рисунок 38 - Легкие мыши при многократном энтеральном введении испытуемого вещества

При исследовании легких мышей после **многократного энтерального введения** испытуемого вещества, альвеолярные полости свободные, эпителий бронхиального дерева красится интенсивно. Отмечаются единичные очаги кровоизлияний (Рис.38).

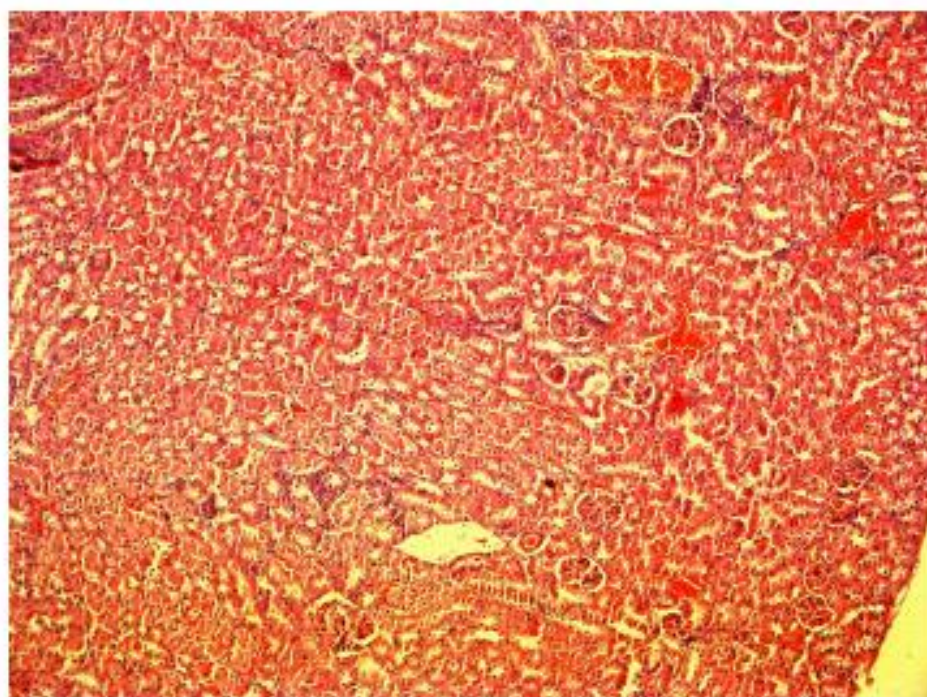


Рисунок 39 - Почки мыши при многократном энтеральном введении испытуемого вещества

При исследовании почек мышей эпителий канальцев равномерно окрашен, ядра хорошо воспринимают красители. Сохранена нормальная гистологическая структура. Отмечается полнокровие сосудов, единичные очаги кровоизлияний (Рис.39).

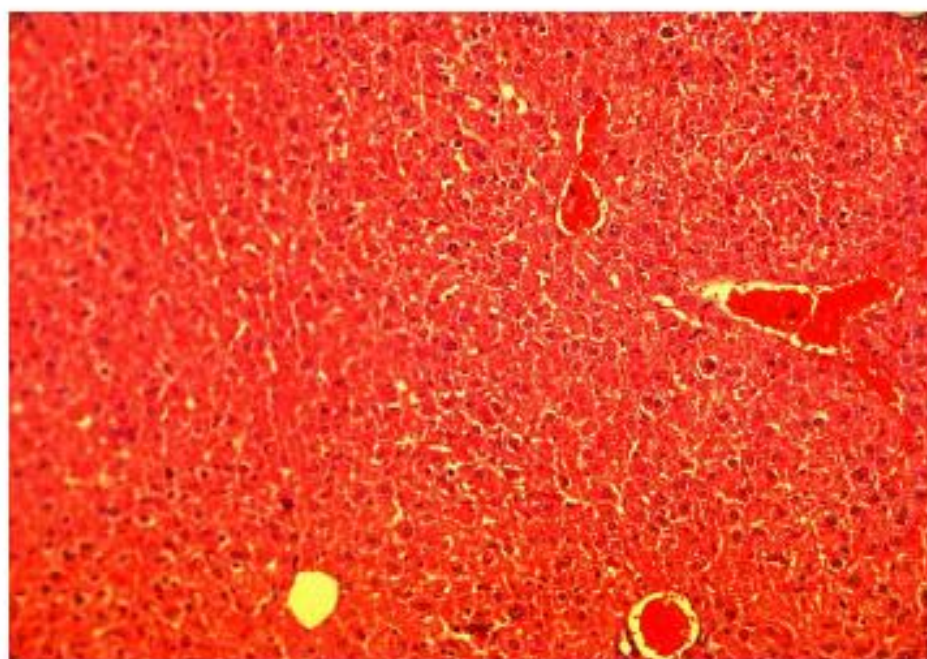


Рисунок 40 - Печень мыши при многократном энтеральном введении испытуемого вещества

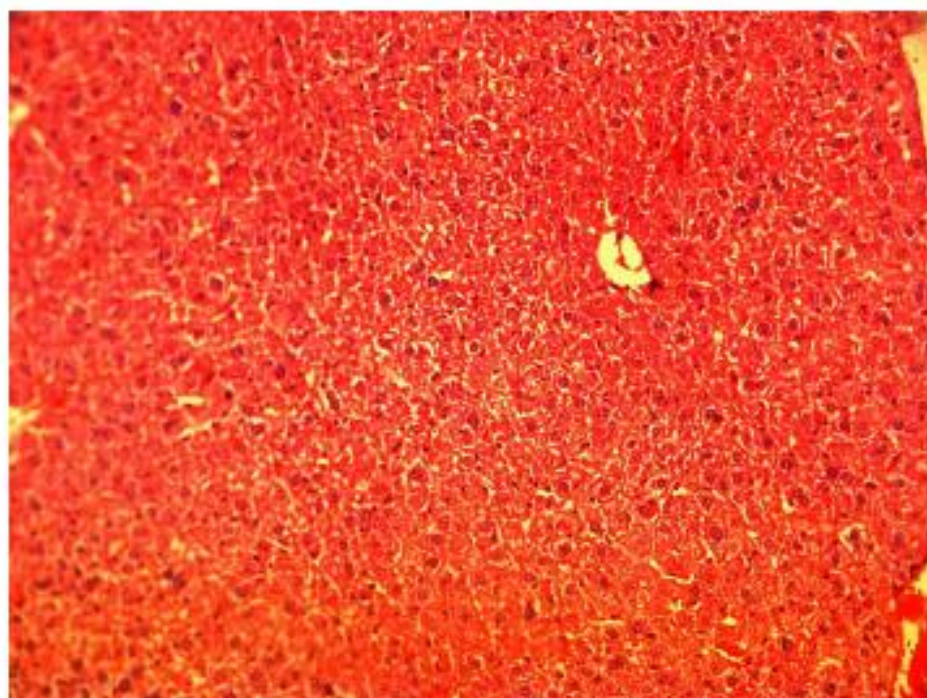


Рисунок 41 - Печень мыши при многократном энтеральном введении испытуемого вещества

При исследовании печени мышей ядра гепатоцитов окрашиваются неравномерно, гистологическая структура не нарушена, расположение балок обычное. Отмечается полнокровие сосудов, участки кровоизлияний (Рис.40,41).

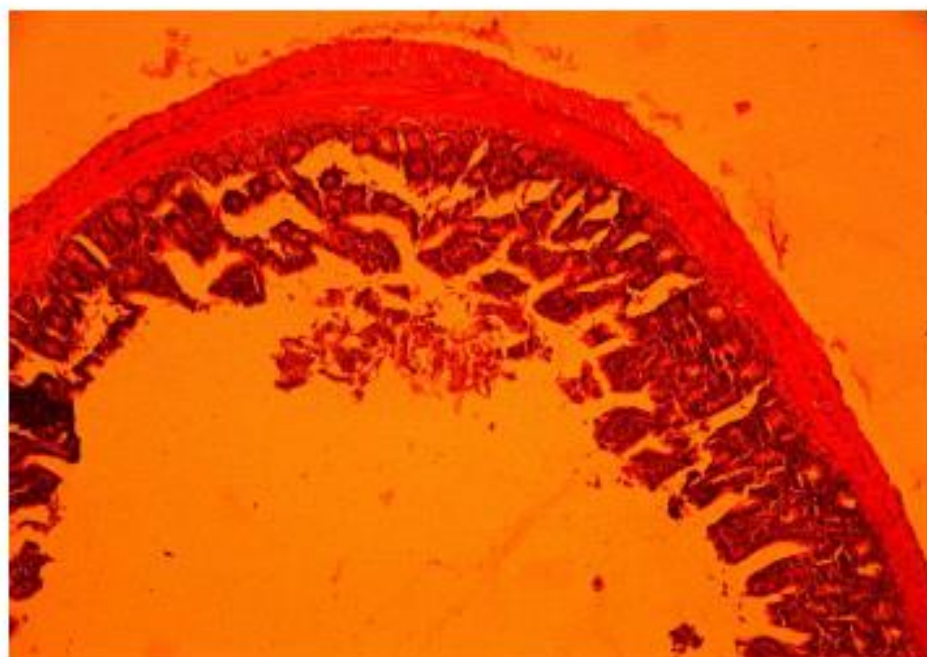


Рисунок 42 - Кишечник мыши при многократном энтеральном введении испытуемого вещества

Микроскопически слизистая кишечника атрофирована, ворсинки короткие, количество желез уменьшено, эпителий слизистой оболочки без признаков кровоизлияний, окрашен равномерно (Рис.42).

Проведенное морфологическое исследование позволило обнаружить отдельные признаки токсического эффекта испытуемого вещества – нарушения кровообращения в виде полнокровия сосудов, повышение васкулярной проницаемости, единичные мелкие очаги кровоизлияний, неравномерное окрашивание гепатоцитов.

#### ***Изучение раздражающего действия лекарственного средства***

Оценку раздражающего действия при субконъюнктивальном введении геля проводили визуально.

Реакции учитывали сразу после внесения вещества через 15 минут (быстрая реакция) и через 24-48 часов (гиперчувствительность) замедленного типа и оценивали по следующей шкале (в баллах):

- 1 - легкое покраснение слезного протока;
- 2 - покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице;
- 3 - покраснение всей конъюнктивы и склеры.

В течение периода наблюдения каких-либо признаков раздражающего действия (гиперемия, отечность и др.) со стороны слизистых оболочек конъюнктивы не наблюдали, что указывало на отсутствие проявления раздражающего действия. Общее состояние животных за все время наблюдения было без отклонения от нормы.

#### ***Изучение сенсибилизирующего действия лекарственного средства***

На 10-й день эксперимента через 15 минут и 24 часа после однократного субконъюнктивального введения испытуемого геля на слизистую оболочку века и морских свинок визуально признаков алергизирующего действия не отмечалось, легкое покраснение слезного протока, проявившееся сразу после введения, исчезало в течение 30 минут. Слизистая оболочка глаза не отечная, обычного цвета. Кровоизлияний не обнаружено, повышенной слезоточивости не наблюдается.

### **Статистическая обработка данных**

***Сравнение средних.*** В опытах на молодых мышах изучали токсическое действие геля с пихтовым маслом в условиях длительного его применения. В качестве показателя токсичности использовали задержку роста животных, которую устанавливали путем их взвешивания. Была взята группа из 6 контрольных и 6 подопытных мышей. К началу опыта средний вес животных в обеих группах был одинаковым. При взвешивании мышей через 4 недели были получены результаты, приведенные в таблице 35.

Таблица 35- Вес контрольных и подопытных животных в конце опыта

Вес контрольных животных, г	Вес подопытных животных, г
25,66=26	23,18=23
28,18=28	22,73=23
27,68=28	23,01=23
25,82=26	20,10=20
24,11=24	19,52=20
26,55=27	22,39=22

Вычислим средние арифметические из весов контрольных и подопытных животных и стандартные ошибки этих средних. Ход этих вычислений приведен в таб.36.и 37.

Таблица 36 - Контрольные животные

$X_1$	$\bar{x}_1$	$X_1 - \bar{x}_1$	$(X_1 - \bar{x}_1)^2$
26	160/6=26,66=27	-1	1
28		+1	1
28		+1	1
26		-1	1
25		-2	4
27		0	0
160	27	0	8

$$N_1 = 6; \quad S_{\bar{x}_1} = \sqrt{\frac{8}{6(6-1)}} = \sqrt{0,3} = 0,547 = 0,5$$

$S_{\bar{x}_1}$  - стандартная ошибка;  $\bar{x}_1$  - средний вес животных;

Таблица 37- Подопытные животные

$X_2$	$\bar{x}_2$	$X_2 - \bar{x}_2$	$(X_2 - \bar{x}_2)^2$
23	151/6=25,16=25	-2	4
23		-2	4
23		-2	4
20		-5	25
20		-5	25
22		-3	9
151	25	0	71

$$N_2 = 6; \quad S_{\bar{x}_2} = \sqrt{\frac{71}{6(6-1)}} = \sqrt{2,36} = 1,56$$

$S_{\bar{x}_2}$  - стандартная ошибка;

$X_2$  - средний вес животных;

Найдем стандартную ошибку этой разности:

$$S_d = \sqrt{(s\bar{x}_1 + s\bar{x}_2)^2} = \sqrt{0,3 + 2,36} = \sqrt{2,66} = 1,63$$

Приблизительная оценка значимости различия между сравниваемыми средними арифметическими может быть достигнута в наглядной форме путем вычисления для каждой из средних ее доверительных границ и последующего построения «столбиковой» диаграммы представляющей сравниваемые средние и их доверительные границы.

При уровне вероятности  $P=0,05$  различие между средними является статистически значимым, если отрезок, изображающей разность между большей из сравниваемых средних и ее нижней доверительной границей, и отрезок, представляющий разность между меньшей из сравниваемых средних и ее верхней доверительной границей, перекрывают друг друга менее чем наполовину.

В нашем случае средний вес контрольных животных равен  $27 \pm 0,56$  г. Для определения доверительных границ средней следует вычислить произведение  $S_x \cdot t$ . Если  $P=0,05$ , то  $t=2,78$ . Следовательно,  $S_x \cdot t = 0,56 \times 2,78 = 1,56$ . Отсюда нижняя доверительная граница равна  $27 - 1,56 = 25,44$ , а верхняя доверительная граница равна  $27 + 1,56 = 28,56$ .

Таким образом, средний вес контрольных животных равен 27 (25,44; 28,56) г. Средний вес подопытных животных равен 25 (20,66; 29,34)г. Из диаграммы отображающей результаты этих вычислений (Рис. 43), видно, что различия между сравниваемыми средними несут существенны, поскольку их доверительные интервалы перекрывают друг друга в значительно большей степени, чем это допустимо.

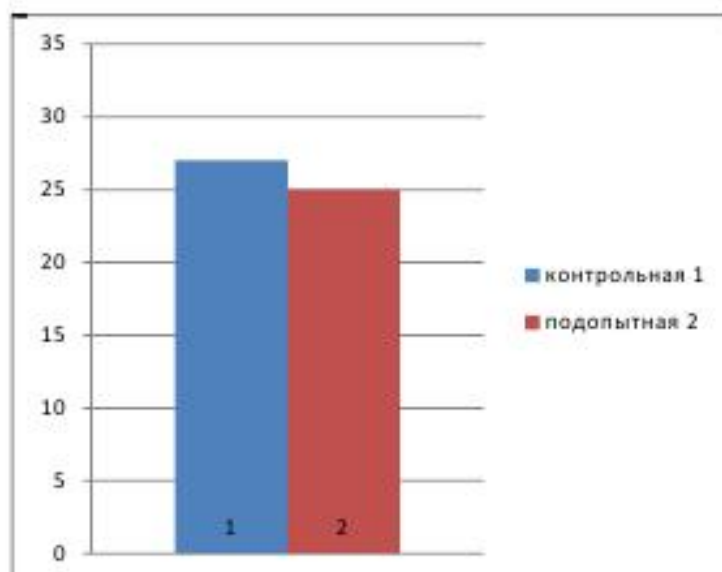


Рисунок 43 - Средний вес животных (в г) в подопытных и контрольных групп с доверительными границами

## **Статистическая обработка данных проводилась и по программе «SPSS**

### **15.0»**

SPSS 15.0 программа была использована для статистического анализа. Одномерный дисперсионный анализ (ANOVA) выявил значительные различия в дисперсии изменения веса между контрольными и экспериментальными группами,  $F(1; 67,21) = 195,46$ ,  $P < 0,001$ ,  $\eta = 0,951$ . При введении в организм животных токсический эффект лекарственного вещества был большим (Cohen's  $d = 8,095$ ).

Независимый Т-тест был использован, чтобы определить разницу между посредством изменения веса животных. При этом была значительная разница между средними значениями изменения веса животных,  $t(12; 10) = 13,981$ ,  $p < 0,001$  [CI: 3,98; 5,49].

Среднее изменение в весе для экспериментальной группы животных ( $M = 1,60 \pm 0,30$ ) было значительно ниже, чем в контрольной группе ( $M = 6,33 \pm 0,77$ ). Это подразумевает значительное токсическое действие стоматологического геля с пихтовым маслом из *Abies sibirica L.*, при внутреннем его применении. В связи с чем, данное лекарственное средство предназначено для наружного применения.

### **Выводы по главе 5**

В результате проведенных доклинических фармакологических исследований установлено отсутствие у эфирного масла из *Abies sibirica L.* и у разработанного стоматологического геля с пихтовым маслом на основе гелей карбомеров сенсibiliзирующего и раздражающего действия на слизистые оболочки, а также отсутствие токсического действия при местном введении: прирост массы тела животных соответствовал нормальным показателям. При морфологическом исследовании патологических изменений во внутренних органах животных не обнаружено.

Изучение подострой токсичности при энтеральном введении выявило умеренные изменения внутренних органов, в связи с чем лекарственное средство – стоматологический гель с пихтовым маслом - рекомендуется для наружного применения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

- получена субстанция - эфирное масло из *Abies sibirica L.* методами водно-паровой дистилляцией и микроволнового нагревания на аппарате «*START Microwave Exstraction System*»;
- результаты проведенных исследований свидетельствует о предпочтительном получении пихтового масла методом микроволнового нагревания. При этом существенно сокращаются продолжительность отгонки, увеличивается выход и содержание в пихтовом масле борнилацетата, борнеола, камфена, 3-карена и других биологически активных веществ;
- изучение антифунгальной активности показало, что эфирное масло *Abies sibirica L.*, полученное методом микроволнового нагревания проявляет достаточно высокую антифунгальную активность в отношении *Candida albicans*;
- изучена антирадикальная активность эфирного масла из *Abies sibirica L.* Антирадикальная активность эфирного масла из *Abies sibirica L.*, полученного методом микроволнового нагревания равна: 1609 ТЭ;
- изучены структурно-механические свойства гелеобразователя – карбомера;
- теоретически и экспериментально обоснованы составы и разработана технологическая схема производства эфирного масла из *Abies sibirica L.* и геля с пихтовым маслом на основе карбомеров;
- разработанное лекарственное средство характеризуется удовлетворительными консистентными свойствами;
- проведены стандартизация и разработаны спецификации качества на эфирное масло из *Abies sibirica L.* и на гель с пихтовым маслом;
- предложенные лекарственные средства, хранившиеся в естественных условиях стабильны при комнатной температуре в течение 1.6 года (срок хранения);
- в экспериментах на мышах, кроликах и морских свинках установлено, что разработанные лекарственные средства характеризуются отсутствием острой и подострой токсичности, местнораздражающего и сенсибилизирующего действия;
- проведено технико-экономическое обоснование производства эфирного масла из *Abies sibirica L.* и лекарственного средства на его основе;
- разработана и утверждена нормативная документация: утвержден стандарт организации на «Пихты сибирской масло» (1509-1910-02-ГП-05- 2012); разработаны 2 проекта ВАНД (временный аналитический нормативный документ) на «Пихты сибирской масло» и на гель под условным названием «АбиДент» (НТД оформлены согласно приказу МЗ РК от 19.11.2009г. №754);
- получен 1 инновационный патент на «Способ получения пихтового масла для использования в фармации» № 27004 от 2013 года и представлена 1 заявка на получения инновационного патента на «Стоматологический гель для лечения заболеваний полости рта».



**Оценка полноты поставленных задач.** Поставленные задачи по проведению анализа зарегистрированных в РК лекарственных препаратов для лечения грибковых заболеваний слизистых оболочек полости рта и обоснованию необходимости создания лекарственного средства на основе эфирного масла из *Abies sibirica L.*; теоретических и экспериментальных обоснований по способу получения; изучению физико-химических свойств, оценке качества и исследованию стабильности, по разработке технологической схемы производства и технико-экономических обоснований производства эфирного масла из *Abies sibirica L.*; изучению структурно-механических свойств гелеобразователя – карбомера и разработке рационального состава, технологической схемы производства геля, изучению его стабильности и установлению сроков хранения; по разработке спецификации качества, технико-экономических обоснований при производстве стоматологического геля с пихтовым маслом, а также проведению фармакологических исследований по изучению специфической биологической активности и безопасности эфирного масла из *Abies sibirica L.* и геля на его основе; разработке нормативных документов на предлагаемые лекарственные средства (проекты временной аналитической нормативной документации, опытно-промышленные регламенты) выполнены полностью.

**Разработка рекомендаций по конкретному использованию полученных результатов.** Результаты, полученные в ходе выполнения исследований, имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Предлагаемые лекарственные средства на основе эфирного масла из *Abies sibirica L.*, полученного методом микроволнового нагревания, рекомендуются для лечения и профилактики грибковых заболеваний полости рта. Запасы ЛРС для производства природных препаратов в Республике Казахстан достаточны, что соответствует требованиям действующей в настоящее время Государственной программе по импортозамещению лекарственных средств.

**Оценка научного уровня выполненной работы в сравнении с лучшими достижениями в данной области.** По материалам диссертации опубликованы 24 статьи: в том числе: 1 статья в международном журнале, входящем в базу данных Thomson Reuters и Scopus с импакт фактором 0.165; 1 статья в международном журнале, входящем в базу данных РИНЦ с импакт фактором 0.043; 10 статей рекомендованных ВАК; 9 статей на международных научно-практических конференциях (Германия, Чехия, Россия, Узбекистан, Казахстан); утвержден 1 Стандарт организации на «Пихты сибирской масло»; 2 инновационных патента РК и разработаны: 2 проекта ВАНД и 2 опытно-промышленные регламенты.

В целом, научно-методический уровень представленной диссертационной работы соответствует к требованиям к PhD-докторским диссертациям.

## Список литературы:

1. Указ Президента Республики Казахстан «О Государственной Программе реформирования и развития здравоохранения Республики Казахстан на 2010-2014 годы».
2. Бадалян С. М., Топчян А. В. «Исследование природных противогрибковых средств растительного происхождения». Успехи медицинской микологии. Т-1. Глава 3.С.88-90. 2010.
3. Кульгав Е.А., Никитина Н.В., Степанюк С.Н., Клишина И.И. «Технология и анализ мазей противовоспалительного и антимикробного действия, содержащих фитокомплексы» //Человек и лекарство: тез. докл. - М., 2009. - С. 708.
4. Кульгав Е.А. «Фармакотехнологическое исследование геля с  $CO_2$  – экстрактами гвоздики и эвкалипта для использования в стоматологии». Автореферат канд.диссер. Пятигорск. 2009.
5. Струкова Е.Г., Ефремов А.А., Гонтова А.А., Соколова Л.С. Воздействие эфирных масел сибирского региона на условно-патогенные микроорганизмы. Химия растительного сырья. 2009.№4.С.79-82.
6. Указ Президента Республики Казахстан, имеющий силу Закона от 20 августа 1997 г. № 3621 «О государственной программе развития фармацевтической и медицинской промышленности Республики Казахстан».
7. Указ Президента Республики Казахстан, имеющий силу Закона «О внесении изменения в Указ Президента Республики Казахстан от 20 августа 1997 г. № 3621 «О государственной программе развития фармацевтической и медицинской промышленности Республики Казахстан» (внесены изменения и дополнения Указами Президента РК от 14.07.98 г. № 4013, от 6.01.00 г. № 323.)
8. Инновационный патент РК на изобретение «Способ получения пихтового масла для использования в фармации» №27004 от 2013г.
9. Фармацевтические и биологические аспекты мазей // Перцев И.М., Котенко А.М., Чуешов О.В., Халеева Е.Л.-Харьков, издательство НФаУ «Золотые страницы», 2003. - 278с.
- 10.Справочник Видаль «Лекарственные препараты в Казахстане» 2012г.
- 11.Государственный реестр лекарственных средств Республики Казахстан от 15.03.2013г.
- 12.Энциклопедия лекарств, 2004г, 1503с.
- 13.Кабишев К.Э. Фитопрепараты в отечественной дерматологической практике. Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005, №1. 189-204с.
- 14.Государственный реестр лекарственных средств РК. 2014г.

15. Кульгав Е.А. «Фармакотехнологическое исследование геля с CO<sub>2</sub> – экстрактами гвоздики и эвкалипта для использования в стоматологии». Автореферат канд.диссер. Пятигорск. 2009.
16. Танасиенко Ф.С. Эфирные масла. Содержание и состав в растениях. Киев, 1985. 264 с.
17. Ильин М.М. Общие вопросы изучения сырьевых растений // Методика полевого исследования сырьевых растений. Изд. АН СССР. М.; Л., 1948. С. 7-24
18. Ильин М.М. Опыт классификации полезных растений // Растительное сырье (Тр. БИН АН СССР. Сер. 5, вып. 2). М.; Л., 1949. С. 7-11.
19. Ворошилов В.Н. О принципах классификации полезных растений // Бюл. ГБС. 1953. Вып. 16. С. 42-51.
20. Боссэ Г.Г. Хозяйственная ботаника, ее предмет, система и метод // Учен. зап. Орехово-Зуевского пед. ин-та. 1957. Т. 5, вып. 2. С. 27-64.
21. Козо-Полянский Б.М. О классификации полезных растений // Вопросы эволюции, биогеографии, генетики и селекции. М.; Л.: Изд. АН СССР, 1960. С. 105-111.
22. Гурвич Н.А. Опыт классификации эфирномасличных растений // Тр. БИН им. В.Л. Комарова АН СССР. 1960. Сер. 5, вып. 6. С. 7 – 126.
23. Аринштейн А.И., Серкова А.А., Хилик Л.А., Радченко Н.М. Новые перспективные эфирномасличные культуры // Масличные и эфирномасличные культуры / под ред. Г.А. Сарнецкого. Киев: Урожай, 1983. 152 с.
24. Масличные и эфирномасличные культуры / под ред. Г.А. Сарнецкого. Киев: Урожай, 1983. 152 с.
25. Крутенко Е.Г. Эфирномасличные растения // Растительные ресурсы. Ч. 2. Ростов: Изд-во Ростов. ун-та, 1984. С. 238-244.
26. Машанов В.И., Андреева Н.Ф., Машанова Н.С. Новые эфирномасличные культуры. Симферополь: Таврия, 1988. 160 с.
27. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. М.: Медицина, 1987. Вып. 1. 336 с.
28. Рутовский Б.Н. Методы определения содержания эфирных масел // Химико-фармацевтический журн. 1928. № 20. С. 3-6.
29. Рутовский Б.Н. Эфирные масла. М.; Л.: Изд. сельхоз. и колхозно-кооперат. лит-ры, 1931. Т. 1. 594 с.
30. Обухов А.Н., Кондрацкий А.П. Технология эфирномасличного производства. М.: Пищепромиздат, 1946. 391 с.
31. Федоров Ал. А., Кирьялов Н.П., Никитин А.А. Методика ролевого изучения эфирномасличных растений // Методика полевого исследования сырьевых растений. М.; Л.: Изд. АН СССР, 1948. С. 153-157.
32. Сокол В.А. Пути повышения выхода эфирного масла при переработке эфирносов // Сб. науч. тр. Гос. Никитского бот. сада. 1964. Т. 37. С. 282-294.

33. Пигулевский Г.В., Рыскальчук А.Т. Инфракрасные спектры соединений, входящих в состав эфирных масел // Растительное сырьё (Тр. БИН. Сер. 5. вып. 8). М.; Л.: Изд. АН СССР, 1961. С. 240-236.
34. Ногаре С.Д., Джувет Р.С. Газожидкостная хроматография (теория и практика). М.; Л.: Недра, 1966. 471 с.
35. Ревшвили М.В., Рик Г.Р., Федорова И.В. Масс-спектрометрический анализ некоторых эфирных масел растительного происхождения // Радиационная биофизика и радиобиология растений. Л., 1969. Вып. 17. С. 14-24.
36. Мак-Нейр Г., Бонелли Э. Введение в газовую хроматографию. М.: Мир, 1970. 274 с.
37. Степанов Э.В., Дубовенко Ж.В. Исследования летучих органических веществ прямым газохроматографированием растительного материала // Изв. Сибир. отд. АН СССР. Сер. биол. наук. 1970. № 15, вып. 3. С. 152-158.
38. Биохимические методы анализа эфирномасличных растений и эфирных масел / под ред. А.Н. Карпачевой. Симферополь: ВНИЭМК, 1972. 107 с.
39. Столяров Б.В. Савинов И.М., Виттенберг А.Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии. Л.: Изд. Ленинград. ун-та. 1973. 284 с.
40. Сильверстен Р., Басслер Г., Моррил Т. Спектрометрическая идентификация органических соединений. М.: Мир, 1977. 590 с.
41. Кустова С.Д. Справочник по эфирным маслам. М.: Пищевая промышленность, 1978. 208 с.
42. Эфирные масла и их применение: Аннотированный библиографический указатель патентной информации (1970-1985). Баку, 1987. Вып. 1. 256 с.
43. Юрчак Л.Д., Побирченко Г.А. Методологические подходы исследования эфиромасляных и лекарственных растений // Методологические проблемы аллелопатии. Киев: Наук. думка, 1989. С. 37-45.
44. Sievers A.F. Methods of extracting volatile oils from plant material and the production of such oil in the United States. Washington: US Gov. print off., 1952. 28 p.
45. Weber U., Wegner E. Chemische Wertbestimmung von Heil und Gewürzpflanzen. Methodenbuch. Neumann Verlag. Radebeul und Berlin. Bd. 14. 1953. 184 s.
46. Христов Х.Д., Бресковска Т.Е., Стайков В.М. Библиографски справочник. Библиография на българските етеричномаслени растения и етерични масла. Институт по роза. Етеричните и лекрствените култури (1779-1976). Казанлък, 1978. 172 с.

47. Perkins E. Gas-chromatography – mass-spectrometry of flavor and odor products from fats and oil // *Journal of Amer. Oil Chem. Soc.* 1988. Vol. 65, № 4. P. 472-473.
48. Doru G., Beresiu J., Jonescu E. Extinderea gamei de plante aromatice indigene si diversificarea utilizarii // *Horticultura.* 1991. Vol. 40, № 2. P. 21-24.
49. Каррыев П.О. Изучение некоторых эфирномасличных растений из флоры Туркмении // *Изв. АН ТуркмССР. Сер. биол. наук.* 1966. № 5. С. 11-16.
50. Вандышева В.И. Эфирномасличные растения и их культура в Чуйской долине. Фрунзе: Илим, 1967. 43 с.
51. Якобашвили Н.З. Ресурсы эфирномасличного сырья Грузии и пути его рационального использования: автореф. дис. д-ра биол. наук. Тбилиси, 1967. 64 с.
52. Якобашвили Н.З., Топадзе С.Д. Эфирномасличная промышленность Грузинской ССР. Тбилиси: Изд. Сабчота Сакартвело, 1968. 214 с.
53. Кутателадзе Ш.И., Лачашвили И.Я. Дикорастущие эфирносы Грузии. Тбилиси, 1968. 50 с.
54. Чиж М.И. Эфирномасличные растения Самаркандской области: автореф. дис. канд. биол. наук. Самарканд, 1968. 24 с.
55. Авакян Т.Т. Количество эфирного масла различных сортов и гибридов герани в условиях Араратской равнины // *Биол. журн. Армении.* 1970. Т. 23, № 6. С. 2-4.
56. Поздырка А.М. Культура пряно-ароматических растений // *Актуальные проблемы изучения эфирномасличных растений и эфирных масел: Докл. II симпозиума.* Кишинев, 1970. С. 84, 85.
57. Мустьяцэ Г.И., Боянжиу Л.Н. Возделывание эфирносов. Кишинев: Карта Молдавенскэ, 1971. 72 с.
58. Мелкумян И.С. Материалы к изучению эфирномасличных растений и флоры Армении // *Биол. журн. Армении.* 1974. Т. 27, № 6. С. 90-92.
59. Фролов Т.В., Невструева Р.И., Маляренко С.Г., Сокол В.Л. Новые перспективные эфирномасличные культуры для юга СССР. Симферополь: Крымиздат, 1962. 64 с.
60. Вопросы биологии и технологии новых технических растений / под ред. М.И. Пряхина. Ташкент: Наука, 1965. 204 с.
61. Васюта Г.Г. Новые сорта, агроприёмы, машины и аппараты для эфирномасличного производства. Симферополь: Изд. Крым, 1968. 32 с.
62. Смолянов А.М. Наука по эфирномасличным растениям и эфирным маслам за 50 лет // *Эфирномасличное сырье и технология эфирных масел (Тр. ВНИИЭМК. Т. 1, вып. 1).* 1968. С. 4-12.
63. Эфирномасличное сырье и технология эфирных масел // *Тр. ВНИИЭМК. Т. 1.* 1968. 422 с.

64. Эфирномасличные растения, их культура и переработка / под ред. Е.Е. Чикваная. М.: Пищевая пром-ть, 1968. 176 с.
65. Шалимов В.И. Состояние и перспективы развития производства эфирномасличных культур в СССР // Эфирномасличное сырье и технология эфирных масел. М.: Пищевая пром-ть, 1968. Вып. 1. С. 13-18.
66. Полуденный Л.В., Сотник В.Ф., Хлопцев Е.Е. Эфирномасличные и лекарственные растения. М.: Колос, 1979. 286 с.
67. Машанов В.И., Машанова Н.С., Сергеева Н.Ф. Некоторые результаты изучения эфирномасличного растительного сырья рода *Geum* // Бюл. Никитского бот. сада. 1971. Вып. 2. С. 51-54.
68. Saunt J. Citrus varieties of the World. England: Sinclair International Limited, 1990. 128 p.
69. Gli olii essenziali agrumari in Italia / Cura di A. Giacomo e B. Mincione. – Universita di Calabria, Gallina, 1994. 202 p.
70. Wildwood Ch. Aromatherapy. London, Bloomsbury, 1997. 459 p.
71. Ткаченко К.Г. Эфиромасличные растения и эфирные масла: достижения и перспективы современные тенденции изучения и применения. Вестник Удмуртского университета. 2011. Вып. 1.
72. Федюкович Н.И. Целебные мази и бальзамы / Н.И. Федюкович. – Мн.: Совр. слово, 2002. – С. 35-39.
73. Щутова А.Г., Спиридович Е.В., Гаранович И.М., Сенькевич Г.Г., Курченко В.П. Состав эфирных масел представителей рода *ABIES HILL*, интродуцированных в центральном ботаническом саду НАН Беларуси. Труды БГУ 2008, том 3, часть 1.
74. Пихтовые леса Казахстанского Алтая. Лениногорская правда. №6/8. 2013.
75. Composition and antibacterial activity of *Abies balsamea* essential oil / A. Pichette [ et all] // Phytother Res.-2006.-V.20, №5.-P.371-373.
76. Виноградова Б.А. Пихта белая [Электронный ресурс] – 2006 г.- Режим доступа: [http://www.viness.narod.ru/pihta\\_sereb.htm](http://www.viness.narod.ru/pihta_sereb.htm).-Дата доступа 30.08.2008.
77. Сидельников В.Н. Сравнительный анализ состава пихтового масла, полученного водно-паровой дистилляцией и эфиромасличной фракции CO<sub>2</sub> –экстракта лапки пихты сибирской // Химия растительного сырья.-2003.-№1.-С.79-85.
78. Лобанов В.В. Влияние биоценологических факторов на содержание и состав пихтового масла / В.В. Лобанов, Р.А. Степень // Хвойные бореальные зоны. -2004.- вып.2.-С.148-156.
79. Лобанов В.В. Влияние хранения древесной зелени на содержание и состав пихтового масла / В.В. Лобанов, Р.А. Степень // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: мат. Всерос. научн.-практ. конф.- Барнаул: АлГУ, 2005. – С.632-636.

80. Лобанов В.В. Древесная зелень – источник ценной продукции / В.В. Лобанов, Р.А. Степень.- Красноярск: СибГТУ, 2004.- 68 с.
81. Jeong S.I. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oil from *Abies koreana* / S.I. Jeong, J.P.Lim // *Phytother Res.*- 2007.-V.21,№12.-P.1246-1250.
82. Горяев М.И. Эфирные масла флоры СССР / М.И. Горяев – Алма-Ата: Изд. АН КССР, 1952.- 378 с.
83. Марахова А.И., Якубович Л.М., Черникова М.А. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства и недостатки. Вестник МГОУ, серия «Естественные науки». - 2011. - №3.
84. Химико - фармацевтический журнал. - 1998. - №7.
85. Балабудкин М.А. Роторно-пульсационные аппараты в химико-фармацевтической промышленности. – М.: Медицина. - 1983. - 160с.
86. Медицинская промышленность СССР. - 1961. - №10.
87. Романков П.Г., Курочкина М.А. Экстрагирование из твёрдых материалов. Л.: Химия. - 1983. - 367с.
88. Захаров В.П., Либизов И.И., Асланов Х.А. Лекарственные вещества из растений и способы их производства. Ташкент: изд-во ФАН. изд.фирма. – 1980. - 187с.
89. Гончаренко Г.К., Орлова Е.И. Кинетика экстрагирования растительного материала// Мед. промышленность СССР. - 1992. - № 3.
90. Брок Т. Мембранная фильтрация. М.: Мир. изд.фирма. - 1987. - 464с.
91. Романков П.Г., Курочкина М.А. Экстрагирование из твёрдых материалов. Л.: Химия. изд. фирма. - 1983. - 367с.
92. Молчанов Г.И. Интенсивная обработка лекарственного сырья. М.: Медицина. изд. фирма. - 1981. - 241с.
93. Дорофеев В.И., Косенко Н.В., Северцев В.А. Формирование рынка лекарственного растительного сырья в России // Мат.междунар.съез. «Актуальные проблемы создания лекарственных препаратов природного происхождения». - СПб. - 2000.
94. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М.: Гэотар - Медиа. изд. фирма. - 2009. - 560с.
95. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного растительного сырья. М.: Медицина. изд. фирма. - 1976. - 210с.
96. Минина С.А., Шимолина Л.Л. Сапонины. Методы выделения, разделения, очистки и анализа. СПб.: ХФИ. изд.фирма. - 1992. - 16с.
97. Проспект Carborol.-Goodrich V.F.-1998.-С.39.
98. Современные аспекты использования вспомогательных веществ в фармацевтической технологии: научный обзор/ Под.ред. А.И.Тенцовой // Обзорная информация: Медицина и здравоохранение. Серия: Фармакология и фармация.-Москва: ВНИИМИ, 1981.-С.71.

99. Демишев В.Н. О поверхностной активности растворов редкошито-го сополимера акриловой кислоты и тетраамилпентаэритрита / В.Н.Демишев, Е.А.Кузьмина, В.Ф.Наумов, Л.В.Падина // Коллоидный журнал.-1981.-№1.-С.148-150.
100. Nomenclature and Chemistry // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 3.-B.F.Goodrich,2002.-8p.
101. Polymers for Pharmaceutical Applications // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 1.-B.F.Goodrich, 2002.-5p.
102. Ishikawa S. Evaluation of the Rheological Properties of Various Kinds of Carboxyvinylpolymers Gels / S.Ishikawa ,et al// Chem.Pharm.Bull.-1988.-№ 36(6). – PP.2118-2127.
103. Nae H.N. Rheological Properties of Lightly Crosslinked Carboxy Copolymers in Aqueous Solutions / H.N.Nae, W.W. Reichet // Rheologica Acta.-1992.-Vol.31 (4). –PP.351-360.
104. Product and Regulatory Guide // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 2.-B.F.Goodrich,2002.-10p.
105. Brannon-Peppas L. Preparation and Characterization of Crosslinked Hydrophilic Networks / L.Brannon-Peppas // Sud.Polym.Sci.-1990.-№8.-P.45-46.
106. Carnali J.O. The use of dilute solution viscosity to characterize the network properties of Carbopol microgels / J.O. Carnali, V.S. Naser // Colloid & Polymer Science.-1992. - №2. – Vol.270. –PP.183-193.
107. Carbopol ETD 2001. For Personal Care Applications (CTFA Name: Carbomer): Проспект – B.F. Goodrich, May 1993.
108. Dispersing Procedures // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 9.-B.F.Goodrich,2002.-10p.
109. Noveon, Inc.Polymers in Semisolid Products // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 8.-B.F.Goodrich,2002.-9p.
110. Тенцова А.И. Современные аспекты исследования и производства мазей / А.И. Тенцова, В.М. Грецкий. – М.: Медицина, 1980.- 192с.
111. Технология лекарственных форм / Под.ред. Т.С. Кондратьевой. – М.: Медицина, 1991.-Т.1.-С.290.
112. Алексеев К.В. Особенности набухания редкосшитых акриловых полимеров / К.В. Алексеев, О.Л.Бондаренко, В.Н.Ли, В.Н. Демишев //Фармация.- 1988.-№4.-С.23-26.
113. Алексеев К.В. Современные тенденции в создании, исследовании и применении вспомогательных веществ в фармацевтической технологии / К.В.Алексеев // Тенденции развития фармации за рубежом. – М.:ВНИИМИ, 1985.-С.49-57.
114. Formulation Topical Products // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 14.-B.F.Goodrich, 2002.-16p.
115. Dispersing Procedures // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 9.-B.F.Goodrich, 2002.-10p.



116. Алексеев К.В. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения редкосшитых акриловых полимеров в технологии мчгих лекарственных форм (мазей и гелей) и биопрепаратов: Автореф. дис....д-ра фарм.наук: 15.00.01 /К.В. Алексеев. -М.:НИИФ ММА им. И.М.Сеченова, 1993.-53с.
117. Алексеев К.В. Получение и исследование гелей редкосшитых акриловых полиэлектролитов / К.В. Алексеев, В.Н.Ли, М.Т. Алюшин, В.Н. Демишев // Теор. основы приготовления лекарств и их биофарм. оценка: сб.науч.тр. /ВНИИФ.-Т.ХХI. –М.,1983.-С.160-165.
118. Алексеев К.В. Редкосшитые полиэлектролиты – новые кондуктоформные системы для ЛВ / К.В. Алексеев, В.Н.Ли, М.Т. Алюшин // Тезисы докладов Всесоюзн.конф. «Состояние и перспективы разработки, производства и использования вспомогательных веществ, для изготовления лекарственных средств». – Харьков, 1982.-С.103-104..
119. Аркуша А.А. Оценка и контроль консистентных свойств мазей при помощи реограмм. Методические рекомендации /А.А. Аркуша – Харьков, 1986.- 12с.
120. Хойерова Я. Применение простых реологических исследований для сравнения текучести косметических загустителей / Я. Хойерова, П.Стерн // SOFW- Journal (русская версия).-2001.- №2.- С.45-50.
121. Алексеев К.В. Редкосшитые акриловые полимеры в фармации / К.В.Алексеев, В.Н.Ли, В.Н. Демишев, О.Л.Бондаренко // Фармация.- 1987.-№5.-С.15-18.
122. Тенцова А.И. Современные аспекты исследования и прозводства мазей / А.И. Тенцова, В.М. Грецкий. - М.: Медицина,1980.-192с.
123. Алексеев К.В. Структурно-механические свойства гелей редкосшитых акриловых полиэлектролитов / К.В.Алексеев, Р.Р. Саилова //Тезисы докладов III Республ.конф. Азерб. ССР по высокомолекулярным соединениям.- Сумгаит,1986.- С.202.
124. Carnali J.O. The use of dilute solution viscosity to characterize the network properties of Carbopol microgels / J.O. Carnali, V.S.Naser // Colloid & Polymer Science.-1992.-№2.-Vol.270.-PP.183-193.
125. Ляпунов Н.А. Создание мягких лекарственных средствна различных основах. Сообщение 2. Исследование реологических свойств гелей, образованных карбомерами / Н.А. Ляпунов, Н.В. Воловик // Фармаком.- 2001.-№2.-С.1-10.
126. Слюсар О.И. Изучение влияния различных факторов на структурно-механические и технологические характеристики гидрогелевых основ полимера акриловой кислоты / О.И. Слюсар, Т.П.Калмыкова, Ф. Керманиан //Ветеринарная патология.-2003.-№4.-С.44-48.
127. Молдавер Б.Л. Сравнительное изучение физико-химических и технологических свойств зарубежных и отечественных редкосшитых акриловых полимеров / Б.Л. Молдавер, Э.А. Кудрякова, Л.Г.

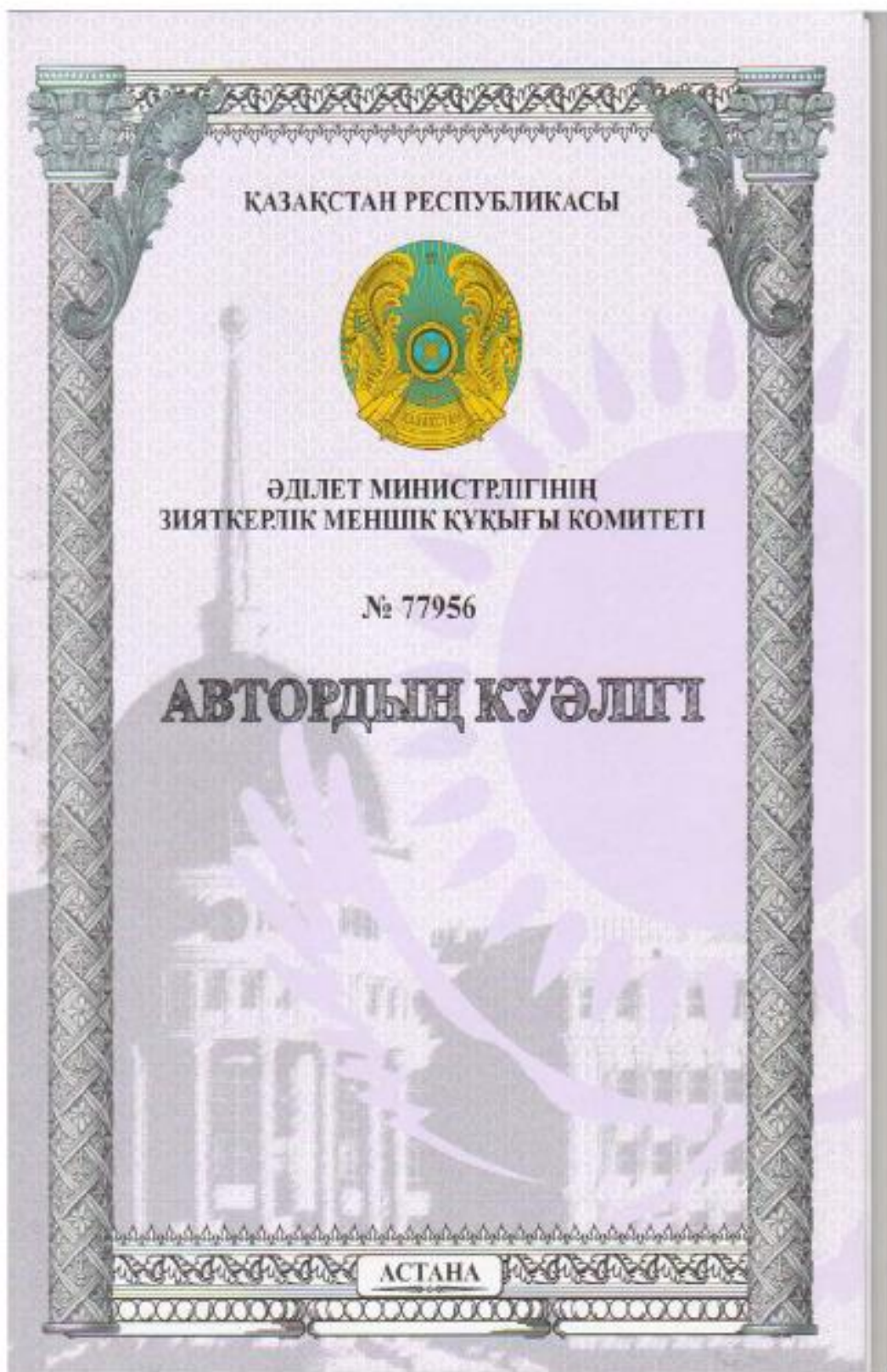
- Марченко, М.В. Слепнев, А.Л. Чубарова // Тезисы докладов X Российского национ.конгресса «Человек и лекарство».- М.,2003.- С.636.
128. Resin Handling and Storage // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 5.-B.F.Goodrich, 2002.
129. Hooper Н.Н. Swelling Equilibrium for Positively Ionized Poly(acrylamide) Hydrogels / Н.Н. Hooper // *Macromolecules*. – 1990.- №23 (40). –Рр.1096-1104.
130. Астахова А.В., Демина Н.Б. Современные технологии получения лекарственных форм: получение, исследование и применение комплексов включения лекарственных веществ с циклодекстринами (обзор). *Хим.-фарм. Журн.*, 2004. – т.38. № 2. 46-49
131. Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 1. – Алматы: Изд.дом «Жибек Жолы», 2009
132. Заприметов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования / Заприметов// *Биохимические методы в физиологии растений*. М.-Наука.1971, 185-207
133. Климкина Е.А. Состав и технология акарацидных гелей с серой. Тезисы докладов рег. Науч. Конф. Студентов и аспирантов «Молодые ученые – практическому здравоохранению». СПб.,2007, 23-24
134. Лиходед В.А., Кадырова З.Р., Кадыров Р.З., Шикова Ю.В. Перспективность использования сополимера стирола с малеиновым ангидридом в качестве глазной мазевой основы, содержащей метронидазол. *Башкирский химический журнал*. 2003, Т.10, №3, 63-65
135. Багирова В.Л., Демина Н.Б., Девяткина И.А., Тенцова А.И., Денисов А.А. Современные аспекты использования вспомогательных веществ в технологии лекарственных препаратов. *Фарматека*, 1998, №6, 34-36
136. Кочергин Н.Г., Петрунин Д.Д. Современный взгляд на проблему выбора лекарственной формы средств наружной терапии. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*, № 4 (47) ,2012, 59-67
137. Алюшин М.Т. Роль новых вспомогательных веществ в совершенствовании технологии мягких лекарственных форм. *Фармация*, 1980, Т.29, №1, 51-52
138. Оборотова Н.А. Липосомальные лекарственные формы противоопухолевых препаратов (обзор). *Хим.-фарм. Журн.*, 2001, т.35 (4), 32-35
139. Гаврилин М.В. Компанцева Е.В., Ушакова Л.С. Изучения возможности использования геля полиэтиленоксида в фармации. *Фармация*, 1998, №2, 20-22
140. Полимеры в фармации. Под ред. А.И. Тенцовой и А.М. Алюшина. М.: Медицина, 1985, 90-108

141. Кацусевич Е.В., Леплянин Г.В., Сангалов Ю.А. Реологические свойства водных растворов сополимера акриловой и фенилакриловой кислот. Коллоидный журнал, 1995, Т.57, № 2, 207-210
142. Алтынбаев А.М., Шикова Ю.В., Лиходед В.А. Изучение влияния вида мазевой основы на биологическую доступность оксиметилурацила. Актуальные проблемы теории и практики фармации. Сб. науч. Статей. Барнаул, 2000, 107-110
143. Мальханов В.Б., Зайнутдинова Г.Х., Хафизов Г.Г. с соавт. Патент на изобретение № 2135187 «Средство для лечения герпетического кератита», М., 27.08.99
144. Лиходед В.А., Мельников М.В., Жеребцова И.В. Шикова Ю.В., Кадырова З.Р. Влияние стирола малеинового ангидрида на биодоступность лекарственных веществ в мазевых основах. Медицинский вестник Башкортостана, 2008, Т.3, № 1, 40-42
145. Аркуша А.А., Перцев И.М., Безуглый В.Д. Исследование структурно-механических свойств мазей с целью определения оптимума консистенции Хим.фарм.журн., 1981, №10, 95-98
146. Кутузова И.В., Степанов Ю.В., Бабанова Н.К., Тенцова А.И. Реологические свойства мазей с полиненасыщенными жирными кислотами микробиологического происхождения. Фармация, 1991, № 2, 30-35
147. Насыбуллина Н.М., Алексеев К.В., Астраханова М.М. Экспериментально-теоретическое обоснование технологии и состава геля пироксикама. Фармация, 1998, № 5, 20-22
148. Блатун Л.А., Светухин А.М., Пальцин А.А., Ляпунов Н.А., Агафонов В.А. Клинико-лабораторная эффективность современных мазей на полиэтиленгликолевой основе при лечении гнойных ран. Антибиотики и химиотерапия. 1999, №7, 25-31
149. Вайнштейн С.Г. Основные направления в создании готовых лекарственных средств. Перспективы создания лекарственных средств методами биологического и химического синтеза. М., 1990, 211-215
150. Фомина Е.В., Чибилев Т.Х., Вайнштейн В.А., Сапожкова С.М. Коллоидная устойчивость и структурно-механические свойства эмульсионных мазей. Фармация, 1998, № 2, 22-25
151. Polymers for Pharmaceutical Applications // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 1.-B.F.Goodrich, 2002.-5p.
152. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. М., 2005. 832 с.
153. Государственная фармакопея Республики Казахстан, 2008г.
154. E. Banfi, G. Scialino, J.C. Monti-Bragadin. *Antimicrob.Chemother.*52: 796–800 pp. 2003.

155. F. Espinel-Ingroff, K.Boyle, D.J. Sheehan // *Mycopathologia*. V. 150. 101–115pp.2001.
156. J.H. Rex, M.A.Pfaller, J.N. Galgiani, M.S. Bartlet, A.Espinel-Ingroff, M.A. Ghannoum, M. Lancaster, F.C. Odds,M.G. Rinaldi, T.J. Walsh, A.L.Barry. // *Clin.Infect. Dis*. V. 24. N2. 248–249pp.1997.
157. Jiri Pazourek, Jiri Vaclavik, Milan Zemlicka. An optimised method for the rapid measurement and calculation of radical scavenger profiles in plant extracts by HPLC. *Food Chem*. 2011.V.125. Pp. 785-790.
158. Wei A., Shibamoto T. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils // *J. Agric. Food Chem*.2007. V. 55, N5. Pp. 1737–1742.
159. Шутова А.Г. Антирадикальная активность индивидуальных фенольных и терпеновых соединений, входящих в состав эфирных масел семейства *Lamiaceae* // Молекулярная медицина и биохимическая фармакология: Материалы республиканской науч.конф. Гродно, 2007. С. 215-223.
160. Niessen W.M.A. Current practice of gas chromatography—mass spectrometry. NY: Marcel Dekker, 2001.
161. Alzaga R., Ortiz L., Sánchez-Baeza F., et al. Accurate determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines at low parts per trillion by solid-phase microextraction followed by GC-ECD // *J. Agric. Food Chem*. 2003.V. 51, N 12. P. 3509–3514.
162. М.В. Белоусов, Р.Р. Ахмеджанов, В.Н. Дмитрук, М.С. Юсубов, Л.Г. Бабешина, С.Е. Дмитрук. Фармакологическая активность этанольного экстракта из сфагнума бурового (SPHAGNUM FUSCUM (SHIMP) KLINGGR). Химия растительного сырья. 2008 №3. С.129-134.
163. Schilderman P., ten Vaarwerk F.J., Lutgerink J.T., Van der Wurff A., ten Hoor F., Kleinjans J.C. Induction of oxidative DNA damage and early lesions in rat gastro-intestinal epithelium in relation to prostaglandin H synthasemediated metabolism of butylated hydroxyanisole // *Food Chem. Toxicol*. 1995. V. 33. Pp. 99–109.
164. Carbomers. - European Pharmacopoeia, 2000.-Pp.488-489.
165. British Pharmacopoeia, London, 2001. (Электронный ресурс).
166. Шагалиева Н.Р., Куркин В.А., Авдеева Е.В., Байриков И.М., Щербовских А.Е. Актуальные аспекты разработки и стандартизации стоматологического фитопрепарата «Дентос». Журнал Фундаментальные исследования. №10, 2013г.
167. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармац. вузов. – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. – 1239 с.
168. Zhelyazkov V.D., Cantrell C.L., Tekwani B., Khan S.I. Content, composition, and bioactivity of the essential oils of three basil genotypes as a function of harvesting // *J. Agric. Food Chem*. 2008. V. 56, N2. Pp. 380–385.

169. Murcia M.A., Egea I., Romojaro F., Parras P., Jimenez A.M., Martı́nez-Tomea M. Antioxidant evaluation in dessert species compared with common food additives. Influence of irradiation procedure // *J. Agric. Food Chem.* 2004.V. 52, N7. Pp. 1872–1881.
170. Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., Bruni R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods // *Food Chem.* 2005. V. 91, N4. Pp. 621–632.
171. El-Ghorab A., Shaaban H.A., El-Nassry K.F., Shibamoto T. Chemical composition of volatile extract and biological activities of volatile and less-volatile extracts of juniper berry (*Juniperus drupacea* L.) fruit // *J. Agric. Food Chem.* 2008. V. 56, N13. Pp. 5021–5025.
172. Lee K.-G., Shibamoto T. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices // *J. Agric. Food Chem.* 2002. V. 50, N17. Pp. 4947–4952.
173. Dorman H.J.D., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Deans S.G. *In vitro* evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components // *Flavour Fragr. J.* 2000. V. 15. Pp. 12–16.
174. Lee K.-G., Shibamoto T. Antioxidant properties of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry] // *Food Chem.* 2001. V. 74, N4. Pp. 443–448.
175. Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H. J., Rauha J.-P., Pihlaja K., Kujala T.S., Heinonen M. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds // *J. Agric. Food Chem.* 1999. V. 47, N10. Pp. 3954–3962.
176. Areias F., Valentao P., Andrade P.B., Ferreres F., Seabra R.M. Flavonoids and Phenolic Acids of Sage: Influence of Some Agricultural Factors // *J. Agric. Food Chem.* 2000. V. 48, N12. Pp. 6081–6084.
177. Ruberto G., Baratta M.T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems // *Food Chem.* 2000. V. 69, N2. Pp. 167–174.
178. Yanishlieva N.V., Marinova E.M., Gordon M.H., Raneva V.G. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems // *Food Chem.* 1999. V. 64, N1. Pp. 59–66.
179. Marie E. Lucchesi , Jacqueline Smadja , Steven Bradshaw , Willem Louw , Farid Chemat .Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering.* 2007. Vol. 79. P. 1079–1086.
180. Chun-hui Maa, Ting-ting Liua, Lei Yanga, Yuan-gang Zua, Xiaoqiang Chena, Lin Zhanga, Ying Zhanga, Chunjian Zhaoa. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of essential oil and biphenyl cyclooctene lignans from *Schisandra chinensis* Baill fruits. *Journal of Chromatography A.* 2011. Vol. 1218. P. 8573– 8580.

181. Mohamed A. Ferhat, Brahim Y. Meklati , Jacqueline Smadja , Farid Chemat. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 2006. Vol. 1112. P. 121–126.
182. Asma Farhat , Anne-Sylvie Fabiano-Tixier , Mohamed E Maataoui, Jean-Francois Maingonnat , Mehrez Romdhane , Farid Chemat. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: Kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food Chemistry*. 2011. Vol. 125. P. 255–261.
183. Kurkin V.A. Phenylpropanoids as biologically active compounds and standards of the medicinal plants V.A. Kurkin, V.N. Ezhkov, E.V. Avdeeva, I.Yu. Klimova // XXII International Conference on Polyphenols «Polyphenols communication 2004»: Abstracts. – Helsinki, 2004. – P. 619–620.
184. Баранова И.И. Сравнительная характеристика реопараметров гелеобразователей различного происхождения /Баранова И.И., Запорожская С.Н. // Запорожский медицинский журнал. – 2008. – №4. – С. 81-84.
185. Тулегенова А.У. Концепция эффективности и безопасности лекарственных средств, в Государственной фармакопее Республики Казахстан // Фармация Казахстана. – А., 2007.- С.12-14.
186. Тулегенова А.У. Некоторые аспекты испытаний стабильности лекарственных средств (сообщение) // Фармация Казахстана. - 2006.- №3.- С.29-31.
187. Тулегенова А.У. Некоторые аспекты испытаний стабильности лекарственных средств (сообщение) // Фармация Казахстана. - 2006.- №4.- С.38-40.
188. Тулегенова А.У. Некоторые аспекты испытаний стабильности лекарственных средств (сообщение) // Фармация Казахстана. - 2006.- №5.- С.31-34.
189. Stability of drug dosage forms WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical preparations. Thirty-first Report. Geneva. World Health Organization. 1990 (WHO Technical Report Series №790).
190. Stability Testing of New Drug Substances and Products. ICN Harmonised Tripartite guideline. ICN Expert Working Grup. Geneva. 1993.
191. Brian R. Mallhews. Regulatory Aspects of stability testing in Europe//Drug Develop and Industrial Pharmacy - 1999.-Vol. 27(7).- P.831-856.
192. Марченко Л.Г. Технология мягких лекарственных форм. Учебное пособие для ВУЗов /Л.Г. Марченко, А.В. Русак, И.Е. Смехова.- Спб.:Спецлит.-2004.-174 с.
193. Toxicology Studies // The proven polymers in pharmaceuticals. Bulletin 4. – B.F. Goodrich, 2002.-24 p.





(10) ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ  
ЗІЯТКЕРЛІК МЕНШІК ҚҰҚЫҒЫ КОМИТЕТІ

**ӨНЕРТАБЫСҚА**

(11) № 27004

(12) **ИННОВАЦИЯЛЫҚ ПАТЕНТ**

(54) **АТАУЫ:** ФАРМАЦИЯДА ҚОЛДАНУ ҮШІН СІБІР САМЫРСЫНЫНАН  
САМЫРСЫН МАЙЫН АЛУ ТӘСІЛІ

(73) **ПАТЕНТ ИЕЛЕНУШІСІ:** Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің  
"С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті" шаруашылық жүргізу  
құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорны

(72) **АВТОР (АВТОРЛАР):** Аюпова Ризвангүль Батдаулетовна, Сақипова Зурридди  
Бектимиронна, Дильбарханов Рахим Дильбарханович

(21) № Өтінім 2012/1348.1

(22) Өтінім берілген күні 20.12.2012

Қазақстан Республикасы өнертабыстардың мемлекеттік тізімінде тіркелді 28.05.2013ж

Инновациялық патенттің күші Қазақстан Республикасының бұқалд, ұлматғында, оны күшіне  
ұстау үшін ақы уақтылы төленген жағдайда сақталады.

Қазақстан Республикасы Әділет министрлігі  
Зияткерлік меншік құқығы комитетінің  
торағасы

Қазақстан Республикасының Әділет министрінің орынбасары  
Қазақстан Республикасының Әділет министрінің орынбасары  
Күні: 2013 ж. 07 айының 13 күні  
А. Естаев

Өнертабыс үшін тұлғалық қолжетпейтіндігі туралы патенттік қызығушылық туралы және тағайындау туралы

000560



Министерство здравоохранения Республики Казахстан

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМ. С. ДАСФЕНДИЯРОВА

УДК 615.451.582.475.2:615.012-616.5  
№ гос. регистрации 0112РК01173  
Изм. №



«УТВЕРЖДАЮ»  
Ректор КазНМУ  
им. С. Д. Асфендиярова,  
д.м.н., профессор  
А. А. Аманжол  
2012 г.

ОТЧЕТ  
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ОБЛАДАЮЩИХ  
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ И АНТИМИКРОБНЫМ ДЕЙСТВИЕМ НА ОСНОВЕ  
ПИХТОВОГО МАСЛА  
(заключительный)

Руководитель темы,  
д. фарм. н., проф.

З.Б. Сапкота

Алматы, 2012 г.

«НУТРИТЕСТ» Жауапкершілігі шектеулі Серіктестірі		Товарищество с ограниченной ответственностью «НУТРИТЕСТ»
--	--	--

Учредитель ТОО «ОО Казахская Академия питания»

050008, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Клочкова, 66, тел/факс (8 727) 375 82 23,  
Расчетный счет KZ879261802121361000 в АО Казкоммерцбанк, БИК KZKOKZKX, Кбс 18, КНП 859,  
РНН 600700204801

№ 11 subaps 2013 ж.№ 2-16/22

## ПРОТОКОЛ ИСПЫТАНИЙ

Дата поступления в лабораторию: 03.01.2013 г.

Наименование и адрес заказчика: Аюпова Р.Б.

Наименование и обозначение испытываемого образца: Масло пихты сибирской

Обозначение НД на продукцию: Спецификация фирмы-изготовителя

Условия проведения испытаний: Температура 20 °С; влажность 66 %

Наименование показателей, единица измерений	Допустимые нормы по НД	Фактически получено	Обозначение НД на методы испытаний
1	2	3	4
<b>Физико-химические:</b>			
Относительная плотность, г/см <sup>3</sup>	0,885-0,895	0,892	ГФ РК I, т. 2.2.5
Показатель преломления, при 20 °С	1,465-1,480	1,471	ГФ РК I, т. 2.2.6
Эфирное число, мг КОН/г	0,7-1,4	1,35	ГФ РК I, т. 2.5.2
<b>Показатели окислительной порчи, не более:</b>			
Кислотное число, мг КОН/г	1,0	0,9	ГФ РК I, т. 2.5.1
Перекисное число, ммоль активного кислоро- да на кг	20,0	18,28	ГФ РК I, т. 2.5.5

Исполнитель

Заведующая И.Л.



Полученные результаты распространяются только на образец, подвергнутый испытаниям



## FACULTY OF PHARMACY

UNIVERSITY OF VETERINARY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES

Palackého třída 1/3, 612 42 Brno, Czech Republic

+420 602 317 094

E-mail: ivvodo@fvb.cz

Declaration of implementing the results of scientific research and innovation projects

**Rizvangul Ayupova**

(surname, first name)

1. Name of scientific innovative project: *Development and technology of medicinal forms possessing an antimicrobial and antiinflammatory action from medicinal plants.*
2. Name of the organization: Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno
3. Field of research: 6D074800 - Pharmaceutical Manufacturing Technology
4. The main content of the results, developed in the framework of scientific research and innovation (describe any specific proposals that were accepted for practical use): The analysed plant contains terpenoids with antimicrobial and antiinflammatory activity, potentially usable in treatment. The work will result in formulation of methods, enabling standardization of plant material according to the demands of the Pharmacopeia of the Republic of Kazakhstan.
5. Forms and methods of implementation (events, presentation conferences, education, the development of research tools, others...): presentation at conferences, publication in a journal with IF, draft of an article for the Pharmacopeia of the Republic of Kazakhstan.
6. Impact of the research: the results will enable quality control of the drug made from the analysed plant used in treatment.
7. Protectability of scientific innovative results: according to the Laws and regulations of the Republic of Kazakhstan.

С.ЖАСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ  
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ



КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА

ЛОКАЛЬНАЯ ЭТИЧЕСКАЯ КОМИССИЯ  
ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА ЗАСЕДАНИЯ

### ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА

Заседания № 2

Локальная Этическая Комиссия (ЛЭК)

Казakhского национального медицинского университета им. С. Д. Асфендиярова

Дата заседания: 24 февраля 2014 г.

Присутствовали:

Председатель: д.м.н., Рамазанова Б.А. – проректор по научной работе и инновационным проектам КазНМУ им. С.Д.Асфендиярова;

Зам. председателя: к.м.н., магистр биотехники MScBioethics Кудайбергенова Т.А. – ассистент-профессор КазНМУ им. С.Д.Асфендиярова;

Секретарь: Шалабаева М.Т. Ст. методист ОМИНИР НИИ ФПМ им. Б. Агчабарова КазНМУ им. С. Д. Асфендиярова.

Члены ЛЭК:

1. Ералына Л.Т. – директор НИИ и ФПМ им. Б. Агчабарова, д.м.н., доцент кафедры детских инфекционных болезней;

2. Калмаханов С. Б. - к.м.н. руководитель по научным проектам ШКО;

3. Касенова С. Л. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней;

4. Кошкарбаев Е.Е. – старший преподаватель, магистр международного права, юриспруденция.

5. Куажықов Е.У. - д.м.н., профессор, зав. кафедрой молекулярной биологии и генетики;

6. Кулмагамбетов И. Р. – д.м.н., профессор, директор института клинической фармакологии;

7. Кызкыров Ж. Н. – д.м.н., профессор кафедры хирургии;

8. Максүтова Д. Ж. – д.м.н., доцент кафедры гинекологии;

9. Наушанбаева А. Е. - д.м.н., доцент модуля нефрологии;

10. Соколов А. Д. - д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии;

11. Спббаева Г. С. – к.м.н., заместитель директора института стоматологии;

12. Сушиев Т. К. – д.м.н., профессор кафедры стоматологии ПНО.

13. Утевцова Г.О. – д.ф.н., профессор кафедры фармация;

Комиссия заседала в полном составе.

### ПОВЕСТКА ДНЯ

Дата: 24.02.2014г.

Рассмотрение материалов исследования: Регистр № 48. «Фармацевтическая разработка антифунгального стоматологического геля с эфирным маслом из *Abies sibirica* на основе гелей карбомеров». Диссертационная работа на соискание научной степени PhD. Научный руководитель: Дильбарханов Р.Д. Соисполнители: Аюпова Р.Б., PhD-докторант. Научные консультанты, курирующие планируемое исследование: Пичпадзе Г.М. д.м.н., профессор кафедры «Фармакологии»; Салбаева Э.М. к.мед.н., доцент, кафедры «Фармакологии»; Амиркулова М.К. преп., кафедры «Фармакологии».

ПРОФЕССОР  
РУЗУДДИНОВТЫҢ  
СТОМАТОЛОГИЯЛЫҚ  
КОЛЛЕДЖІ  
МЕКЕМЕСІ



УЧРЕЖДЕНИЕ  
СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ  
КОЛЛЕДЖ  
ПРОФЕССОРА  
РУЗУДДИНОВА

Алматы қаласы, Толе би көсі, 101, 050101,  
БИН 990340109028  
ДБ АО Сбербанк России  
с/сч KZ719143989148C01177  
БНҚ SABRKZKA, КӨБЕ 17  
Тел./факс: 8 (727) 292-01-53, 292 65 83

г. Алматы, ул. Толе би, 101, 050101,  
БИН 990340109028  
ДБ АО Сбербанк России  
р/с KZ719143989148C01177  
БНҚ SABRKZKA, КӨБЕ 17  
Тел./факс: 8 (727) 292-01-53, 292 65 83

№ 01-02-54 от 02-04 2019г.

### СПРАВКА

о внедрении результатов диссертационной работы в учебный процесс

Настоящим удостоверяем, что результаты диссертационной работы Аюповой Ризвангуль Багдаулетовны на тему «**Фармацевтическая разработка антифунгального стоматологического геля с эфирным маслом из *Abies sibirica* на основе карбомеров**» включены в лекционные и практические курсы по дисциплине «Технология лекарственных форм», проводимые со студентами очной формы обучения, специальности 0306000 - «Фармация» стоматологического колледжа профессора Рузуддинова.

Исп. директор, к.м.н.

Н.Б. Рузденова

**СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ**

Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова» Министерства здравоохранения Республики Казахстан

КПВЭД 20.53.10

УДК 668.5  
МКС 71.100.60

СОГЛАСОВАНО  
Директор  
Департамента КГСЭН МЗ РК  
по г. Алматы  
\_\_\_\_\_ Е.Е. Дурумбетов  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Утверждаю  
Ректор РГП на ПХВ «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова» МЗ РК,  
д.м.н., профессор  
\_\_\_\_\_ А.А. Аканов  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.



**ПИХТЫ СИБИРСКОЙ МАСЛО**

СТ 1509-1910-02-ГП-05-2012

(Вводится впервые)

Дата введения с

Разработано

д.фарм.н., профессор

\_\_\_\_\_ Сакина З.Б.

РиД-докторант

\_\_\_\_\_ Аюпова Р.Б.

д.фарм.н., профессор

\_\_\_\_\_ Дильбарханов Р.Д.

д.фарм.н., профессор

\_\_\_\_\_ Датхаев У.М.

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Директор, подлинник  
РГП на ПХВ «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова» МЗ РК  
г. Алматы, ул. Төле би, 88

г.АЛМАТЫ


ҮЙЫМ СТАНДАРТЫ

Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің  
«С.Ж.Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті»  
шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік  
кәсіпорны

ЭКТ ӨЖ 20.53.10


ӨОЖ 668.5  
МСЖ 71.100.60

КЕЛІСІЛІ

Алматы қ. бойынша  
ҚР ДСМ МСЖК  
департаментінің директоры  
 Е.Е. Дүрүмбетов  
«12» 06 2013 ж



Бекітетін

Қазақстан Республикасы  
Денсаулық сақтау министрлігінің  
«С.Ж.Асфендияров атындағы Қазақ  
ұлттық медицина университеті»  
ШЖК РМК ректоры,  
профессор  
 А. Ақанов  
2013 ж



СЫР САМЫРСЫННЫҢ МАЙЫ

СТ 1509-1910-02-МК-05-2012

(Алғашқы рет енгізілді)


Енгізілген күні 2013 ж 06 31

Әзірлеген


фарм.ғ.д., профессор

 Сакипова З.Б.

PhD-докторанты

 Аюпова Р.Б.

фарм.ғ.д., профессор

 Дильбарханов Р.Д.

фарм.ғ.д., профессор

 Дилтаев У.М.

«10» 12 2012 ж

Түпнұсқаны ұстаушы  
Қазақстан Республикасы  
Денсаулық сақтау министрлігінің  
«С.Ж.Асфендияров атындағы Қазақ  
ұлттық медицина университеті» ШЖК РМК  
Алматы қ., Төле би к-сі, 88

Алматы қ.

Для служебного пользования. Эск. №1

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
ТОВАРИЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«ФитОлеум»

 УТВЕРЖДАЮ  
Директор ТОО «ФитОлеум»  
А.П.Кураева  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

ОПЫТНО-ПРОМЫСЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ  
на производство Пасты сабарской масло

СОГЛАСОВАНО

Руководитель научно-  
практической контрольно-  
аналитической лаборатории  
ТОО «ФитОлеум»  
Кушпетова Е.В.

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

РЕКОМЕНДОВАНО К  
УТВЕРЖДЕНИЮ  
Начальник производства  
ТОО «ФитОлеум»

Наден Г.Б.

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

г. Алматы





М.П.

**ЭКСПЕРТИЗА ПРОВЕДЕНА**

РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники» МЗ РК

« » 201\_\_ г.

**ПРИКАЗ**

Комитета контроля медицинской и фармацевтической деятельности МЗ РК

« » 201\_\_ г.

№ \_\_\_\_\_

**ВРЕМЕННЫЙ  
 АНАЛИТИЧЕСКИЙ НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ  
 (ПРОЕКТ)**

**Наименование лекарственного препарата**

АбиДент, гель 30 г

АбиДент, гель 30 г

**МНН:** ---

**Наименование и страна организации-производителя**

ТОО «ФитОлеум», Казахстан

**Наименование и страна владельца регистрационного удостоверения**

ТОО «ФитОлеум», Казахстан

**Наименование и страна организации-упаковщика**

ТОО «ФитОлеум», Казахстан

**ВАНД РК**

Срок введения установлен с  
 « » 201\_\_ г.

Срок действия до  
 « » 201\_\_ г.

**ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА**



Для служебного пользования. Экз. №1

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
ТОВАРИЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«ФитОлеум»**

**УТВЕРЖДАЮ**  
Директор ТОО «ФитОлеум»  
А.Ш.Курдоголы




«    »    20    г.

**ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ**  
на производство геля с пихтовым маслом под условным названием  
«АбиДент»

**СОГЛАСОВАНО**

Руководитель научно-  
практической контрольно-  
аналитической лаборатории  
ТОО «ФитОлеум»  
Кузнецова Е.В.



«    »    20    г.

**РЕКОМЕНДОВАНО К  
УТВЕРЖДЕНИЮ**  
Начальник производства  
ТОО «ФитОлеум»

Наден Г.Б.



«    »    20    г.

г. Алматы

Приложение П

Приложение Р

Приложение С

