

На правах рукописи

**Накарякова Наталья Ивановна**

**РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ  
ПИОНА САДОВЫХ СОРТОВ**

14.04.01 – технология получения лекарств

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

кандидат фармацевтических наук, доцент **Смирнова Марина Мироновна**

**Официальные оппоненты:**

**Панкрушева Татьяна Александровна** – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармацевтической технологии;

**Петров Александр Юрьевич** – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, исполняющий обязанности заведующего кафедрой фармации и химии.

**Ведущая организация:**

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара

Защита диссертации состоится 26 марта 2019 г. в 15.00 на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. Тел./факс (342)233-55-01).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46) и на сайте (<http://www.pfa.ru>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

В настоящее время важным вопросом в медицине, требующим решения, является терапия неврозов и неврозоподобных состояний, рост которых обусловлен возросшим числом и интенсивностью психотравмирующих факторов, действующих на человека в современном обществе [Стукалова Л.А., 1991].

При лечении невротических расстройств и фармакологической коррекции стресса широко используются транквилизаторы, антидепрессанты и седативные средства [Дикевич Е.А., 2008].

Поскольку данные состояния требуют длительного лечения, особое значение приобретает безопасность и переносимость применяемых лекарственных средств. Использование синтетических лекарственных препаратов для лечения заболеваний ЦНС сопровождается рядом побочных эффектов: гиперседация, нарушения памяти и внимания, метаболические, гормональные изменения, развитие лекарственной зависимости и т.д. [Малинин Д.И., 2000, Машковский М.Д., 2002]. Данные факторы ограничивают возможность их применения.

Поэтому особый интерес вызывают препараты растительного происхождения, применяющиеся для лечения расстройств тревожно-депрессивного спектра. К таким растениям относятся зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum L.*) и зверобой пятнистый (*Hypericum maculatum Crantz*), мята перечная (*Mentha piperita L.*), валериана лекарственная (*Valeriana officinalis L.*), пустырник пятилопастный (*Leonurus quinquelobatus Gilib.*), пустырник сердечный (*Leonurus cardiaca L.*) и т.д. Кроме того, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 80% населения планеты отдают предпочтение именно препаратам растительного происхождения [Boullata J.I., 2000].

Одним из перспективных источников для получения фитопрепаратов являются растения рода Пион (*Paeonia*). Пион уклоняющийся (*Paeonia anomala L.*) – ценное лекарственное растение, широко применяемое в медицине. Лечебные препараты на его основе обладают успокаивающим, противосудорожным, анксиолитическим, противовоспалительным, обезболивающим, тонизирующим, бактерицидным действием [Романова Р.С., 2014]. Однако в настоящее время объем заготовок сырья этого вида ограничен: пион уклоняющийся произрастает рассеянно, не образуя продуктивных зарослей, необходимо использование ручного труда при заготовке, повторные заготовки допускается проводить только через 5 лет. Помимо этого, растение занесено в Красную книгу Среднего Урала в 1996 году, а также красные книги Пермского, Алтайского края, Республик Башкортостан и Коми, Кировской, Архангельской, Свердловской, Челябинской, Курганской и Тюменской областей, ХМАО и ЯНАО, Казахстана. Морфологически близким видом пиона уклоняющегося является пион садовых сортов. Использование травы пиона садовых сортов в качестве сырья для разработки лекарственных препаратов позволит решить вопрос недостаточности сырьевой базы.

В настоящее время из сырья пиона уклоняющегося предложено изготавливать водные извлечения, кроме того, выпускается настойка, которая является седативным препаратом растительного происхождения. Однако данная лекарственная форма имеет ряд существенных недостатков (неточность дозирования, неудобство применения и транспортировки), имеет ограничения в применении у детей и лиц пожилого возраста, пациентов с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Решением данной проблемы является разработка сухого экстракта из сырья пиона садовых сортов с целью получения субстанции для создания новых лекарственных препаратов.

Усиленное развитие научных исследований в области биофармации убедительно показало, что важное значение имеет правильно выбранная лекарственная форма, которая обеспечивает и удобство применения, и эффективность действия содержащихся в ней фармакологически активных веществ. С этой точки зрения разработка пленок лекарственных на основе экстракционных препаратов травы пиона открывает новые возможности для применения данного растения.

Таким образом, актуальным вопросом современной медицины является разработка и внедрение новых препаратов растительного происхождения для профилактики и лечения заболеваний нервной системы.

#### **Цель и задачи исследования**

Целью настоящего исследования является сравнительное изучение пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов и разработка экстракционных и полимерных лекарственных форм на основе пиона садовых сортов.

Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие задачи:

1. провести сравнительный анализ травы пиона уклоняющегося и травы пиона садовых сортов по морфологическим признакам и химическому составу;
2. подобрать оптимальные условия экстракции основных групп биологически активных веществ (БАВ) из травы пиона садовых сортов и разработать технологию экстракта сухого – «Пионифит»;
3. разработать методики качественного и количественного анализа основных групп БАВ в траве пиона садовых сортов и «Пионифит» экстракте сухом;
4. разработать состав и технологию пленок лекарственных (ПЛ) «Пионифит»;
5. установить оптимальные условия и сроки хранения «Пионифит» экстракта сухого и пленок лекарственных «Пионифит»;
6. изучить безопасность и фармакологическую активность «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит».

#### **Научная новизна**

На основании фитохимических исследований установлено сходство пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов по морфологическим признакам

и химическому составу. Адаптированы методики, и впервые проведено количественное определение флавоноидов и пеоноифлорина в траве пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов.

В результате проведенных научно-экспериментальных исследований подобраны условия выделения комплекса БАВ из травы пиона садовых сортов, которые легли в основу способа получения экстракта сухого – «Пионифит». Предложены методы анализа, валидированы методики определения основных групп БАВ, и проведена стандартизация «Пионифит» экстракта сухого. Определены условия и срок хранения «Пионифит» экстракта сухого.

Впервые подобран состав и разработана технология пленок лекарственных «Пионифит». Проведена стандартизация разработанной лекарственной формы по содержанию основных групп БАВ, технологическим и физико-химическим показателям. Изучена стабильность ПЛ при хранении. Проведено исследование острой токсичности и различных видов специфической фармакологической активности препаратов на основе травы пиона садовых сортов, доказано противовоспалительное и анксиолитическое действие.

Подано и зарегистрировано заявление о выдаче патента Российской Федерации на изобретение «Способ переработки травы пиона садовых сортов», регистрационный № 2018115893 от 28.04.2018.

#### **Теоретическая и практическая значимость**

Предложена технологическая схема «Пионифит» экстракта сухого. На основании проведенных исследований разработаны и внедрены:

– опытно-промышленный регламент на производство пиона садовых сортов экстракта сухого, апробированный в промышленных условиях ОАО «Биохиммаш» (акт апробации от 14.12.2016)

– методики количественного определения флавоноидов и монотерпеновых гликозидов в пиона садовых сортов экстракте сухом, апробированные в условиях лаборатории ФКП «Армавирская фабрика» (акты апробации от 20.02.2017);

Разработан состав, технология и показатели качества пленок лекарственных «Пионифит». На основании проведенных исследований разработаны и внедрены:

– учебно-методическое пособие «Пленки лекарственные на основе извлечений из травы пиона садового» (утверждено и одобрено Центральным методическим советом ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (протокол № 6 от «15» мая 2018 г.) (акт внедрения от 08.06.2018);

– технология пленок лекарственных «Пионифит» апробирована в условиях ООО «Межбольничные аптеки» (акт апробации от 20.06.2018);

– методики контроля качества пленок лекарственных «Пионифит», апробированные в условиях лаборатории РИЦ «Фарматест» ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (акт апробации от 04.07.2018).

Результаты исследований используются в учебном процессе:

– на кафедре фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (акт внедрения от 08.06.2018);

– на кафедре Фармации и химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Южно-уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акты внедрения от 30.04.2018).

### **Методология и методы исследования**

Методология исследования основана на фармакогностическом изучении лекарственного растительного сырья, основных технологических условиях разработки экстракционных и полимерных лекарственных форм, а также базируется на комплексном подходе разработки унифицированных методик сквозной стандартизации лекарственного растительного сырья и готовых препаратов.

В диссертационном исследовании использованы теоретические, технологические, химические, физико-химические, микробиологические биофармацевтические, фармакологические и статистические методы, обеспечивающие разработку эффективных и безопасных лекарственных препаратов.

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

– результаты изучения морфологических признаков, качественного химического анализа и количественного определения БАВ в траве пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов;

– результаты изучения оптимальных условий экстрагирования БАВ травы пиона садовых сортов с целью получения экстракта сухого;

– результаты стандартизации «Пионифит» экстракта сухого по органолептическим, технологическим, химическим, микробиологическим параметрам и определения его стабильности;

– результаты по выбору оптимального состава и технологии ПЛ «Пионифит», включая биофармацевтические исследования кинетики высвобождения активных компонентов;

– результаты стандартизации ПЛ «Пионифит» по показателям подлинность, количественное определение БАВ, физико-химическим параметрам, а также изучения их стабильности в процессе хранения;

– результаты исследования безопасности и специфической фармакологической активности «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит».

### **Степень достоверности и апробация работы**

Экспериментальные исследования проводились с использованием современных технологических, химических, физико-химических, биофармацевтических и фармакологических методов, позволяющих получать воспроизводимые и однозначные результаты. Все полученные данные статистически обработаны и достоверны. Статистическая обработка результатов исследований проведена согласно ГФ XIII с использованием программы «Microsoft Excel», статистического пакета «Statistica 6.0».

Заключения и научные положения, изложенные в диссертационной работе, достоверны и вытекают из полученных результатов.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях и конгрессах: межрегиональной студенческой научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы студенческой молодежной медицинской науки» (г. Рязань, 2014 г.); всероссийской научно-практической конференции с международным участием «YSRP–2015» (г. Саратов, 2015 г.); научно-практической конференции памяти профессора А.В. Казьянина «Инновации в биофармацевтике» (г. Пермь, 2015 г.); научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука и практика: достижения, инновации, перспективы» (г. Пермь, 2015 г.); XXII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, 2015 г.); научно-практической конференции с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление инновационного развития фармацевтической науки» (г. Пермь, 2016 г.); VI всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (г. Санкт–Петербург, 2016 г.); научно-практической конференции с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление инновационного развития фармацевтической науки» (г. Пермь, 2017 г.); всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти доцента Пешковой В.А. «Инновационные технологии в фармации» (г. Иркутск, 2018 г.).

#### **Личный вклад автора**

Автором диссертационной работы осуществлен научно-информационный поиск и обоснование темы диссертационной работы, выбор объектов исследования, постановка целей и задач. Все экспериментальные фрагменты выполнены при личном участии автора, произведен комплекс лабораторных исследований и статистическая обработка полученных результатов. Оформлены результаты исследования и подготовлены публикации по теме работы.

#### **Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России при поддержке программы «УМНИК» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (г. Пермь, 2015 г.)

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

Основные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.01 – технология получения лекарств. Результаты исследования соответствуют области исследований специальности по пунктам 1, 3, 6.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 4 в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России и 1 – в журнале, индексируемом реферативной базой Scopus.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа содержит основные разделы: введение, обзор литературы, объекты и методы, 4 главы экспериментальных исследований, заключение, список литературы и приложения.

Диссертация изложена на 190 страницах печатного текста, содержит 59 таблиц и 31 рисунок. Список литературы включает 137 литературных источников, в том числе 32 иностранных.

*Глава 1* посвящена обзору отечественной и зарубежной литературы по исследованию травы пиона. Изложены данные по распространению рода *Paeonia L.*, ареалу обитания, химическому составу, применению пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов в научной и народной медицине, анализу ассортимента препаратов пиона. Показана необходимость использования пиона садовых сортов, а также расширения номенклатуры препаратов на основе изучаемого сырья.

*В главе 2* описаны объекты и методы исследования, использованные в работе.

*В главе 3* приведены результаты сравнительного фитохимического исследования травы пиона уклоняющегося и травы пиона садовых сортов.

*В главе 4* представлены данные по установлению условий экстрагирования травы пиона садовых сортов и получению экстракта сухого – «Пионифит», изучению основных показателей качества, условий и сроков его хранения.

*В главе 5* представлены результаты исследования состава, технологии, стандартизации ПЛ «Пионифит».

*Глава 6* посвящена изучению безопасности и фармакологического действия препаратов на основе пиона садовых сортов.

*В приложении* представлены материалы, подтверждающие практическую значимость проведенных исследований.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Объекты и методы исследования**

Объектами исследования служили: образцы травы пиона уклоняющегося *Paeonia anomala L.* и смешанный образец пиона садовых сортов «Barbara», «Big Ben», «Gladys Hodson», «Mons Jules Elie», заготовленные в 2013-2014 гг.; водно-спиртовые извлечения из сырья, полученные в лабораторных условиях; «Пионифит» экстракт сухой; пленки лекарственные «Пионифит». В работе использовали стандартные образцы: рутин (ФС 42-2508-87), кверцетин (ФС 42-1290-79), Paeoniflorin  $\geq 98\%$  (HPLC, производства Sigma-Aldrich). В качестве вспомогательных веществ для создания полимерных лекарственных форм использовали натрий-карбоксиметилцеллюлозу (Na-КМЦ) (ТУ 6-55-39-90), альгинат натрия (ГОСТ 33310-2015), пектин цитрусовый (ГОСТ 29186-91),



пектин яблочный (ГОСТ 29186-91), глицерин (ФС.2.2.0006.15), воду очищенную (ФС.2.2.0020.15), агар-агар (ГОСТ 16280 – 2002).

Подлинность сырья определяли макро- и микроскопическими методами анализа. Макроскопический анализ проводили визуально в соответствии с общими правилами проведения макроскопического анализа, указанными в статьях ГФ XIII, ОФС «Листья», «Травы», «Цветки», и ФС 42-99-98 «Трава пиона уклоняющегося». Микроскопический анализ проводили согласно ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Определение товароведческих показателей (влажности, золы общей и золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, допустимых примесей) проводили по стандартным методикам ГФ XIII.

Качественные реакции на основные группы биологически активных веществ проводили по известным методикам. Образцы травы пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов, «Пионифит» экстракта сухого и пленок лекарственных «Пионифит» исследовали на присутствие: монотерпеновых гликозидов, флавоноидов.

Количественное определение суммы монотерпеновых гликозидов в пересчете на пеонофлорин проводили в соответствии с ФС 42-99-98 «Трава пиона уклоняющегося» спектрофотометрическим методом по реакции комплексообразования со щелочным раствором гидроксиламина и раствором железа (III) хлорида.

Определение потери в массе при высушивании экстракта проводили в соответствии с ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании». Растворимость экстракта определяли в соответствии с ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость». Технологические характеристики «Пионифит» экстракта сухого изучали в соответствии с ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков».

Определение микробиологической чистоты проводили по методике ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота».

Вязкость растворов пленкообразователей определяли с помощью капиллярного вискозиметра согласно ОФС.1.2.1.0015.15 «Вязкость».

Технологические и биофармацевтические исследования ПЛ методом кондуктометрии проводили по методикам, сформулированным в работах Голованенко А.Л. (2000 г), Блиновой О.А. (2009 г), Алексеевой И.В. (2009 г).

Исследование острой токсичности «Пионифит» экстракта сухого проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [Миронов А.Н., 2012].

Противовоспалительный эффект «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит» оценивали в тесте «Каррагениновый отек».

Анксиолитическое действие «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит» оценивали в тестах: «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темная камера с отверстиями».

### Сравнительное исследование травы пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов

С целью обеспечения эффективности и безопасности лекарственных препаратов обязательным является установление соответствия качества исходного сырья регламентируемым нормам.

При проведении макро- и микроскопического анализа установлены общие морфологические и анатомические признаки пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов.

Результаты товароведческого анализа образцов травы пиона садовых сортов и пиона уклоняющегося показали, что по показателям влажность, зола нерастворимая в 10% р-ре HCl, стебли с остатками корневищ, органическая и минеральная примесь, сырье удовлетворяет требованиям ФС 42-99-98 «Трава пиона уклоняющегося» (таблица 1).

Таблица 1 – Товароведческие показатели травы пиона садовых сортов и травы пиона уклоняющегося (n=5)

Показатель	Пион садовых сортов	Пион уклоняющийся	Норма по ФС 42-99-98
Влажность, %	8,15±0,10	7,90±0,15	Не более 13
Зола общая, %	7,20±0,21	8,18±0,20	Не более 7
Зола нерастворимая в 10% р-ре HCl, %	0,160±0,001	0,190±0,002	Не более 1
Стебли с остатками корневищ, %	1,40±0,03	1,90±0,01	Не более 20
Органическая примесь, %	0,020±0,001	0,020±0,002	Не более 2
Минеральная примесь, %	Не обнаружено	Не обнаружено	Не более 1

В результате анализа частных фармакопейных статей на морфологическую группу «Травы», определено, что показатель «Зола общая» регламентируется в среднем на уровне не более 10 %. На основании полученных данных целесообразно данный числовой показатель для травы пиона уклоняющегося и травы пиона садовых сортов установить также – не более 10 %.

Присутствие флавоноидов и монотерпеновых гликозидов подтверждено общепринятыми качественными реакциями.

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводили спектрофотометрическим методом с использованием реакции комплексообразования с 2% раствором алюминия хлорида по модифицированной нами фармакопейной методике.

Содержание суммы монотерпеновых гликозидов в пересчете на пеонифлорин определяли спектрофотометрическим методом по реакции комплексообразования со щелочным раствором гидроксилamina и раствором железа (III) хлорида.

Для определения содержания пеонифлорина использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), предложенный Японской фармакопеей XVI издания для анализа сырья пиона

молочноцветкового, по методике, адаптированной применительно к траве пиона садовых сортов. Исследования проводились на базе лаборатории химических и инструментальных методов регионального испытательного центра «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России под руководством доцента кафедры токсикологической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, к.ф.н. Карпенко Ю.Н.

При валидации предложенных методик установлено, что они отличаются специфичностью, сходимостью (прецизионностью в условиях повторяемости) линейностью и правильностью.

Результаты количественного определения БАВ в траве пиона уклоняющегося и траве пиона садовых сортов, представленные в таблице 2, свидетельствуют об идентичности химического состава исследуемых объектов.

Таблица 2 – Результаты количественного определения БАВ в траве пиона уклоняющегося и пиона садовых сортов (n = 5)

№	Образец сырья	Содержание, %		
		сумма флавоноидов	сумма монотерпеновых гликозидов	пеонифлорин
1	Трава пиона уклоняющегося, 2014 г.	3,69±0,15	6,15±0,30	0,103±0,004
2	Трава пиона садовых сортов, 2013 г.	3,15±0,12	7,06±0,33	1,203±0,020
3	Трава пиона садовых сортов, 2014 г.	3,31±0,17	5,83±0,25	1,190±0,010
4	Трава пиона садовых сортов, 2014 г.	3,59±0,17	7,81±0,38	1,214±0,010

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования травы пиона садовых сортов в качестве лекарственного растительного сырья.

### **Разработка технологии «Пионифит» экстракта сухого и его стандартизация**

При получении препаратов растительного происхождения решающее значение имеет процесс экстрагирования лекарственного растительного сырья, задача которого состоит в том, чтобы наиболее полно перевести вещества из растительной ткани в среду растворителя, для чего необходимо подобрать условия, облегчающие данный процесс.

Основными факторами, влияющими на процесс экстракции, являются вид экстрагента, соотношение сырья и экстрагента, степень измельчения сырья, температура процесса, продолжительность и кратность экстракции. Эффективность процесса экстракции оценивали по содержанию суммы монотерпеновых гликозидов в пересчете на пеонифлорин и суммы флавоноидов в пересчете на рутин.

Рационально подобранный экстрагент позволяет повысить выход БАВ и снизить количество веществ, ухудшающих качество препарата. Для решения поставленной задачи получены извлечения методом мацерации с

использованием в качестве экстрагента воды очищенной и водно-спиртовых растворов различной концентрации (20, 30, 40, 50, 70 и 90%) с учетом коэффициента спирто- и водопоглощения. Результаты, представленные в таблице 3, показывают, что флавоноиды лучше извлекаются из травы пиона садовых сортов этанолом в концентрации 70 – 90%, монотерпеновые гликозиды – водой очищенной и спиртом этиловым в концентрации 20 – 40%. Поскольку целью исследования является получение суммарного экстракционного препарата, а также учитывая технолого-экономические и экологические преимущества, в качестве экстрагента нами выбран спирт этиловый 40%.

Таблица 3 – Содержание БАВ в зависимости от типа экстрагента (n=5)

Экстрагент	Содержание, %		Степень истощения сырья, %	
	флавоноиды	монотерпеновые гликозиды	флавоноиды	монотерпеновые гликозиды
Вода	1,25±0,06	4,46±0,18	39,80±3,03	76,50±3,20
20% этанол	1,59±0,02	4,20±0,14	50,40±1,01	72,08±2,48
30% этанол	1,69±0,04	4,09±0,14	53,70±2,02	70,22±2,48
40% этанол	1,88±0,02	4,08±0,18	59,60±1,01	70,09±3,10
50% этанол	1,89±0,05	3,57±0,08	60,10±2,52	61,29±1,36
70% этанол	1,97±0,04	2,24±0,14	62,40±1,53	55,58±2,35
90% этанол	1,97±0,03	–	62,40±1,51	–

С целью установления оптимального гидромодуля, использовали соотношения сырья и экстрагента: 1:5, 1:10, 1:15, 1:20. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты определения содержания флавоноидов и монотерпеновых гликозидов в зависимости от соотношения сырье – экстрагент (n=5)

Соотношение «сырье – экстрагент»	Содержание, %		Степень истощения сырья, %	
	флавоноиды	монотерпеновые гликозиды	флавоноиды	монотерпеновые гликозиды
1:5	1,06±0,03	1,74±0,06	33,50±1,09	29,80±1,39
1:10	2,21±0,05	3,92±0,09	70,07±1,82	67,20±2,36
1:15	2,29±0,06	4,34±0,19	72,60±2,19	74,40±3,12
1:20	2,27±0,04	4,26±0,17	72,20±1,46	73,10±3,15

Полученные данные свидетельствуют о том, что максимальный выход БАВ наблюдается при соотношении сырья и экстрагента 1:10.

В результате изучения влияния температурного фактора на процесс экстрагирования флавоноидов и монотерпеновых гликозидов установлено, что максимальный выход БАВ происходит при температуре 70 °С. Повышение температуры экстракции до 80 – 90 °С приводит к снижению концентрации флавоноидов и монотерпеновых гликозидов, в то же время увеличивается выход балластных веществ (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты определения содержания флавоноидов и монотерпеновых гликозидов в зависимости от температуры (n=5)

Температура, °С	Содержание, %		Степень истощения сырья, %	
	флавоноиды	монотерпеновые гликозиды	флавоноиды	монотерпеновые гликозиды
20	0,50±0,03	0,87±0,03	15,79±3,15	14,92±0,51
30	1,82±0,02	2,26±0,11	57,80±2,10	38,77±1,89
50	1,96±0,02	2,62±0,15	62,30±2,10	44,94±2,57
70	2,28±0,01	3,60±0,09	72,40±1,05	61,74±1,54
90	1,95±0,03	2,65±0,13	61,90±3,15	45,45±2,23

Общеизвестно влияние размера частиц сырья растительного материала на интенсификацию процесса экстрагирования и выход БАВ. В результате измельчения увеличивается удельная поверхность обрабатываемого материала и увеличивается скорость экстракции.

Для исследования влияния размера частиц сырья на интенсивность процесса экстракции использовали сырье, измельченное до размера частиц от 1 до 5 мм. На основании экспериментальных данных выбрана степень измельчения сырья 3 мм, которая обеспечивает высокий выход БАВ. Уменьшение размера частиц до 1 мм приводит к незначительному увеличению выхода БАВ, но при этом затрудняется процесс фильтрования, за счет повышения количества взвешенных частиц (рисунок 1).

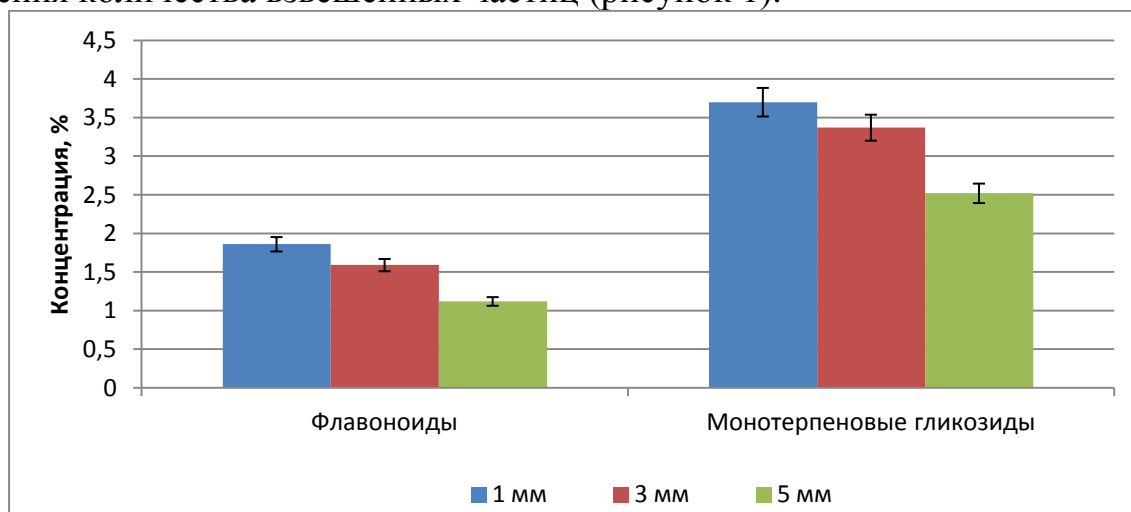


Рисунок 1 – Результаты определения содержания флавоноидов и монотерпеновых гликозидов в зависимости от степени измельчения сырья

Для установления времени наступления равновесной концентрации экстракцию осуществляли с учетом выбранных ранее условий. Концентрацию флавоноидов определяли через 15, 30, 45, 60, 90 и 120 минут.

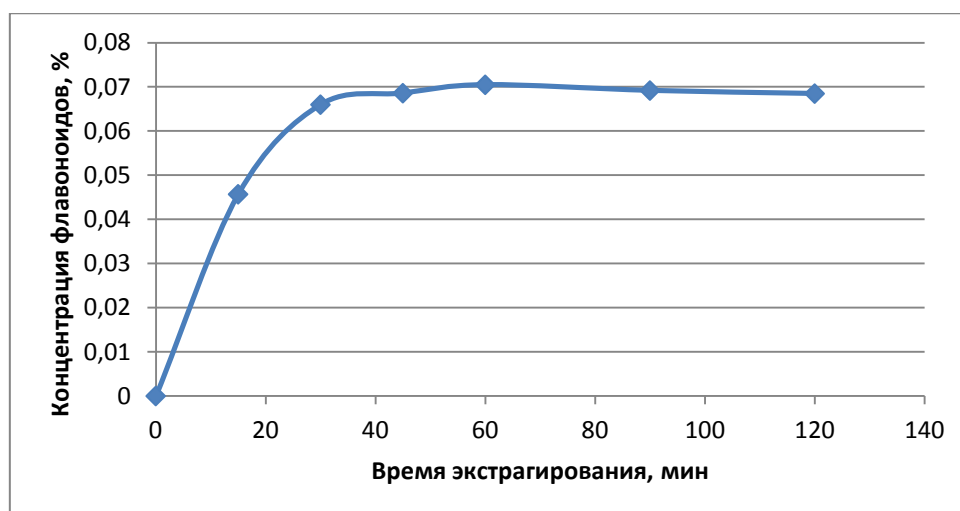


Рисунок 2 – Результаты определения времени наступления равновесной концентрации флавоноидов

Экспериментальные данные, представленные на рисунке 2, свидетельствуют о том, что равновесная концентрация устанавливается через 30 минут от начала экстрагирования. Более продолжительная экстракция не рациональна, так как увеличение времени экстракции свыше 30 минут не приводит к значительному повышению выхода БАВ из травы пиона садовых сортов.

Для определения кратности экстракции изучали содержание БАВ при первом, втором и третьем контакте фаз при продолжительности экстракции 30 минут. Результаты, представленные в таблице 6, показывают, что трехкратная экстракция обеспечивает высокий выход флавоноидов и монотерпеновых гликозидов из травы пиона садовых сортов.

Таблица 6 – Результаты исследования влияния кратности экстракции на выход БАВ из травы пиона садовых сортов (n=5)

Степень экстракции	Концентрация, %		Степень истощения сырья, %	
	флавоноиды	монотерпеновые гликозиды	флавоноиды	монотерпеновые гликозиды
1	2,13±0,03	4,03±0,15	67,68±1,51	69,13±2,57
2	0,82±0,02	1,46±0,13	25,96±1,16	25,04±2,23
3	0,15±0,01	0,29±0,09	4,90±0,24	4,97±1,54
<b>Итого:</b>			<b>98,54</b>	<b>99,14</b>

В результате проведенных исследований установлены оптимальные условия экстрагирования травы пиона садовых сортов, апробированные на промышленном оборудовании ОАО «Биохиммаш» г. Москва:

- экстрагент – спирт этиловый 40%;
- степень измельчения сырья – 3 мм;
- соотношение сырья и экстрагента 1:10;
- температурный режим экстракции – 70 °С;
- кратность экстракции – трехкратная экстракция по 30 минут.

Экстрагирование сырья проводили в реакторе, оснащенном якорной мешалкой, паровой рубашкой для подогрева, перемешивающим устройством и термопарой. Объединенное водно-спиртовое извлечение, после очистки отстаиванием при температуре не выше 10 °С и фильтрования, упаривали на вакуум выпарной установке УВВ-50 при температуре 40±5°С и давлении 0,01 МПа. Концентрированный экстракт сушили на распылительной сушилке РС-20. Режим работы: температура теплоносителя на выходе 50 – 100 °С, давление сжатого воздуха 0,4 МПа, производительность по испаренной влаге 20 кг/ч.

Технологическая схема «Пионифит» экстракта сухого, представлена на рисунке 3.

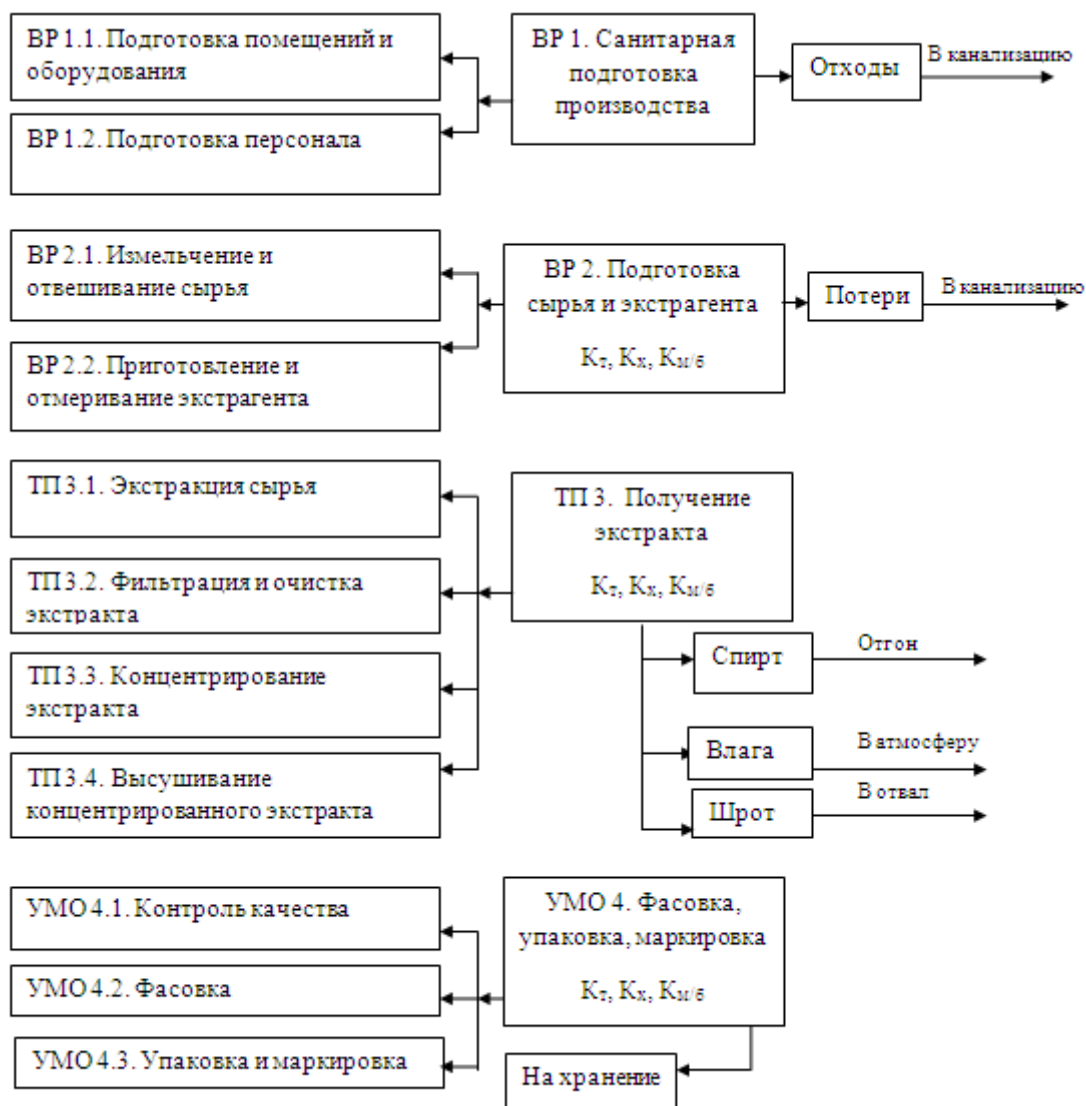


Рисунок 3 – Технологическая схема получения «Пионифит» экстракта сухого (Кт – контроль технологический, Кх – контроль химический, Км/б – контроль микробиологический).

Стандартизацию «Пионифит» экстракта сухого осуществляли на нескольких сериях по показателям: подлинность, содержание основных групп БАВ, потеря в массе при высушивании, растворимость, насыпной объем, тяжелые металлы, микробиологическая чистота.

Подлинность «Пионифит» экстракта сухого подтверждена качественными реакциями на монотерпеновые гликозиды и флавоноиды. Подобраны условия идентификации флавоноидов методом ТСХ, в присутствии стандартных образцов установлено наличие рутина и кверцетина.

Идентификацию пеонифлорина осуществляли методом ВЭЖХ. Установлено, что время удерживания вещества на хроматограмме раствора экстракта совпадает со временем удерживания пика пеонифлорина на хроматограмме раствора стандартного образца (рисунок 4).

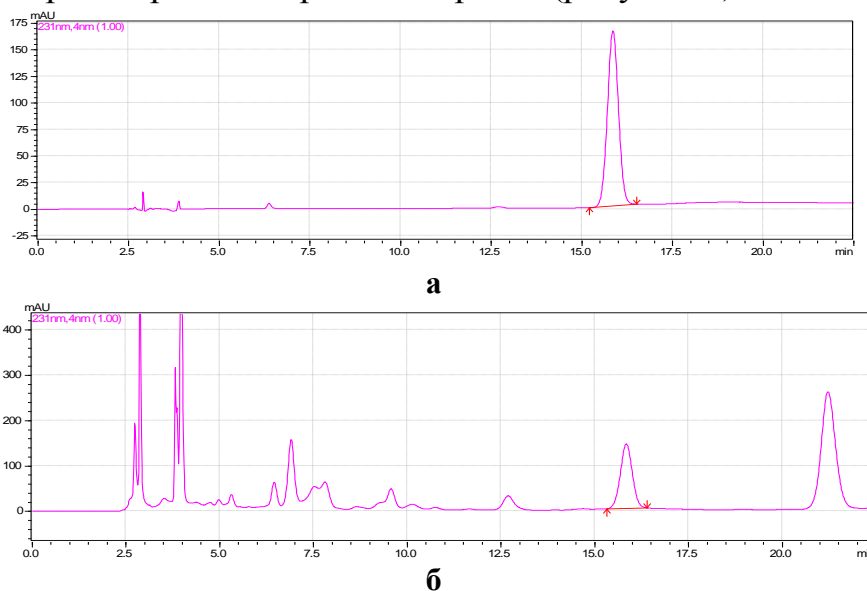


Рисунок 4 – Хроматограммы раствора стандартного образца пеонифлорина (а) и испытуемого раствора «Пионифит» экстракта сухого (б)

Количественное определение БАВ в «Пионифит» экстракте сухом осуществляли по методикам, предложенным для анализа сырья. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Результаты количественного определения БАВ в «Пионифит» экстракте сухом (n=5)

№ серии	Содержание, %		
	сумма монотерпеновых гликозидов в пересчете на пеонифлорин	сумма флавоноидов в пересчете на рутин	пеонифлорин
1	13,71±0,42	5,60±0,28	1,54±0,05
2	12,31±0,62	5,83±0,31	1,50±0,05
3	12,18±0,61	5,69±0,23	1,57±0,04
4	13,30±0,39	5,78±0,20	1,55±0,05
5	13,38±0,49	5,27±0,18	1,51±0,04

Определены физико-химические свойства «Пионифит» экстракта сухого в соответствии с ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты»: описание, потеря в массе при высушивании (не более 5%), содержание тяжелых металлов (не более 0,01%), растворимость. Полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт сухой отвечает требованиям нормативной документации (НД).



В результате исследования технологических свойств экстракта установлено, что «Пионифит» экстракт сухой обладает удовлетворительной сыпучестью (3,0 – 6,5 г/с) и входит в группу средних порошков ( $1,1 > \rho_n > 0,6$ ).

Определение микробиологической чистоты проводили под руководством заведующего кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, к.ф.н. Новиковой В.В. Все исследованные серии «Пионифит» экстракта сухого соответствуют требованиям ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота» для категории 3.2.

Стабильность «Пионифит» экстракта сухого определяли методом долгосрочных испытаний стабильности при хранении в полиэтиленовых пакетах, запаянных термосвариванием и стеклянных банках темного стекла, герметично укупоренных. Установлен срок хранения «Пионифит» экстракта сухого 2 года при температуре не выше 25 °С и относительной влажности воздуха не более 60±5%.

### **Разработка состава, технологии и исследование пленок лекарственных «Пионифит»**

Разработка пленок лекарственных представляет собой комплекс технологических, биофармацевтических и физико-химических исследований, включающий: выбор оптимального состава, технологии и контроль качества согласно требованиям НД, установление срока годности.

Основным принципом, определяющим качество и обеспечивающим эффективное функционирование пленок, является научно-обоснованный выбор состава полимерной матрицы-носителя.

На первом этапе проводили отсеивающий эксперимент, оценивая органолептические и технологические свойства 11 образцов пленок, полученных с использованием различных полимерных композиций. Для обеспечения оптимальных параметров технологического процесса необходимо учитывать вязкость пленкообразующего раствора. Данный показатель характеризует внутреннее трение и текучесть, что определяет способность пленочной массы к равномерному распределению на подложке и, как следствие, однородность распределения БАВ. Результаты определения вязкости поливочного раствора с помощью капиллярного вискозиметра Оствальда представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты определения относительной вязкости ( $\eta$ ) растворов пленкообразователей (n=5)

	Na-КМЦ			Na-КМЦ + агар-агар	Na альгинат			Пектин цитрусовый		Пектин яблочный	
	2%	3%	4%	3%+0,5%	2%	3%	4%	4%	6%	4%	6%
$\eta$	11,67 ±0,43	38,15 ±0,90	111,34 ±1,57	126,5 ±2,15	1,45 ±0,06	2,18 ±0,09	3,63 ±0,12	8,55 ±0,35	13,09 ±0,48	20,18 ±0,85	34,81 ±1,30

На основании полученных данных выбраны составы, содержащие в качестве пленкообразователя Na-КМЦ в концентрации 3% и Na-КМЦ в концентрации 4%. Кроме того, изучена возможность использования загустителя – агар-агара. Добавление к 3%-ному раствору Na-КМЦ агар-агара в

концентрации 0,5% позволило значительно увеличить вязкость (до 126,5), что дало возможность повышения качества пленочной массы и готовых пленок.

Кинетические исследования процесса высвобождения лекарственных средств (ЛС) из полимерных основ проводили кондуктометрическим методом анализа. Биофармацевтические исследования проводились под руководством доцента кафедры общей и органической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, к.х.н. Рюминой Т.Е. Кинетические кривые растворения пленок лекарственных с экстрактом сухим, а также плацебо, представленные на рисунках 5 и 6, показывают, что растворение полимерных матриц и высвобождение из них БАВ для ПЛ на основе Na-КМЦ в концентрации 3 и 4% происходит за  $52 \pm 0,5$  и  $51 \pm 0,5$  минут, соответственно, а пленок на основе Na-КМЦ в концентрации 3% с агар-агаром в концентрации 0,5% – за  $45 \pm 0,5$  минут.

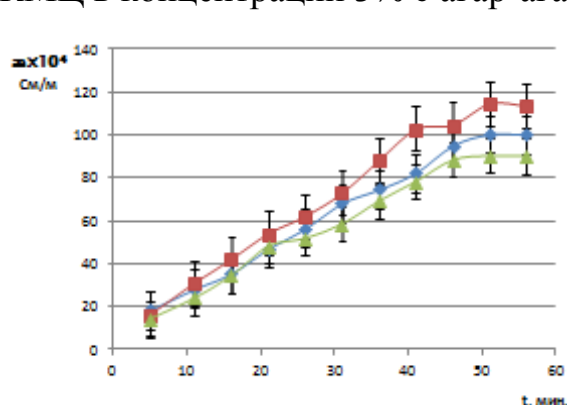


Рисунок 5 – Кинетическая закономерность высвобождения БАВ из ПЛ с экстрактом

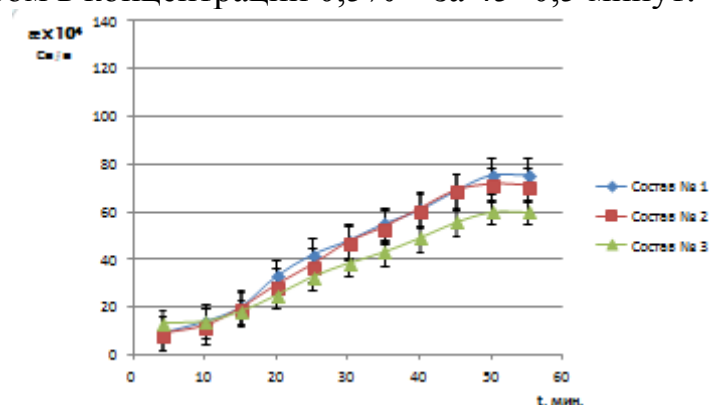


Рисунок 6 – Кинетическая закономерность растворения плацебо ПЛ

Значение констант растворения составило: пленок на основе Na-КМЦ в концентрации 3 и 4%  $k=0,69 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$  и  $k=0,89 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ , соответственно. Добавление агар-агара к Na-КМЦ увеличивает растворимость пленок, что выражается в увеличении константы растворения  $k=1,39 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ , что в 2 раза больше, чем у пленок на основе Na-КМЦ в концентрации 3%.

На основании проведенных исследований установлено, что пленки лекарственные на основе Na-КМЦ в концентрации 3% имеют удовлетворительный внешний вид, а добавление загустителя агар-агара к пленкообразователю обеспечивает оптимальные структурно-механические характеристики поливочного раствора, а также увеличивает растворимость ПЛ, что выражается в увеличении константы растворения.

В результате проведенных исследований разработан состав пленок лекарственных «Пионифит»:

Содержание в одной дозе пленки, г:

«Пионифит» экстракт сухой	0,050
Na-КМЦ	0,050
Агар-агар	0,008
Глицерин	0,033

Технологическая схема ПЛ «Пионифит», представленная на рисунке 7, апробирована на базе аптечной организации ООО «Межбольничные аптеки», г. Пермь.

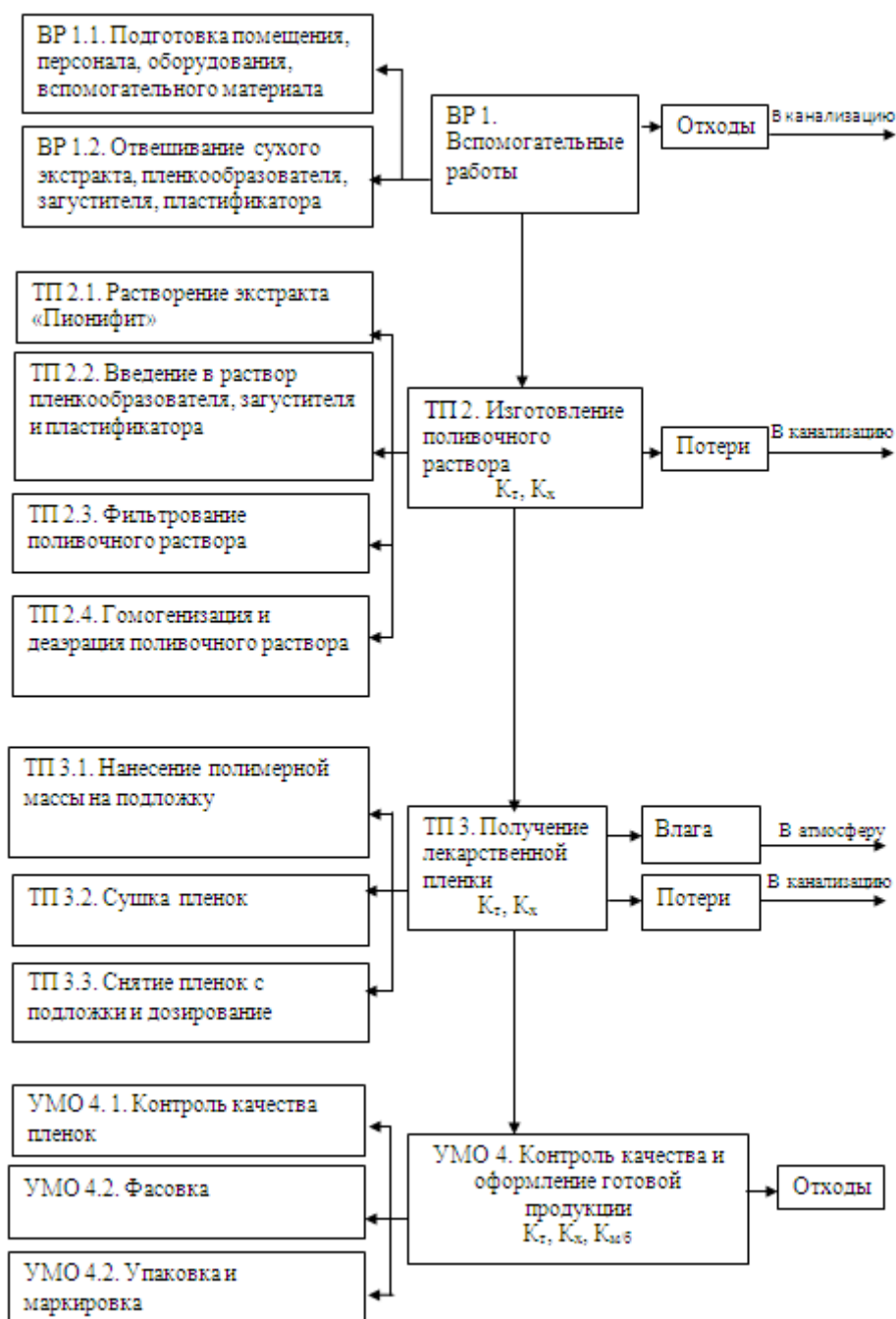


Рисунок 7 – Технологическая схема получения ПЛ «Пионифит»

(Кт – контроль технологический, Кх – контроль химический, Км/б – контроль микробиологический).

Стандартизацию ПЛ «Пионифит» проводили на 5 сериях по показателям: подлинность, количественное определение БАВ, физико-химические и технологические параметры (описание, однородность массы, толщина, время растворения, рН водного раствора, потеря в массе при высушивании, подлинность и содержание БАВ).

По внешнему виду ПЛ представляют собой плоские эластичные пластины коричневого цвета со специфическим запахом. Не содержат механических включений, пузырьков и микротрещин.

Показатель «Однородность массы» влияет на точность дозирования и составляет для одной терапевтической дозы (пленки площадью 2 см<sup>2</sup>) 0,115±0,003 г.

Толщина ПЛ обеспечивает равномерность контакта лекарственного средства со слизистой оболочкой полости рта. Для разработанного состава толщина составила 0,22±0,06 мм.

Время растворения ПЛ «Пионифит» составило 40,0±0,5 минут. Данный показатель указывает, что высвобождение действующих веществ обеспечивается постепенно в течение установленного времени.

рН водного раствора исследуемых пленок (5,60±0,04) имеет близкое значение к рН ротовой полости, что является показателем комфортности применения.

Потеря в массе при высушивании в исследуемых пленках составила 5,20±0,02% и позволяет обеспечить стабильность при хранении.

Подтверждено наличие основных групп БАВ в ПЛ и определено содержание монотерпеновых гликозидов в одной дозе 6,430±0,208 мг, флавоноидов – 2,350±0,056 мг, пеонофлорина – 0,725±0,008 мг.

Стабильность показателей качества ПЛ «Пионифит» при хранении установлена в течение 1 года при температуре от 15 до 25 °С и относительной влажности не более 60±5% в термосвариваемых полиэтиленовых пакетах.

Полученные данные свидетельствуют об удовлетворительном качестве разработанного состава пленок.

### **Фармакологические исследования препаратов пиона садовых сортов**

Исследование острой токсичности «Пионифит» экстракта сухого проводили в лаборатории биологических методов регионального испытательного центра «Фарматест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России под руководством ассистента кафедры физиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Булатова И.П. В результате исследования установлено, что ЛД<sub>50</sub> при пероральном введении «Пионифит» экстракта сухого составила более 1000 мг/кг. С учетом классификации токсичности по Hodge и Sterner, испытуемый экстракт можно отнести к IV классу (малотоксичный препарат).

Исследования противовоспалительной активности препаратов пиона садовых сортов проводили на базе ФГБОУ ВО ПГНИУ под руководством заведующего лабораторией экспериментальной фармакологии ФГБОУ ВО ПГНИУ Марковой Л.Н. Противовоспалительный эффект «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит» оценивали в тесте «Каррагениновый отек» при пероральном введении в суточной дозе. Установлено, что противовоспалительный эффект препаратов пиона в дозе 25 мг/кг сопоставим с эффектом настоя ромашки и при этом обладает большей длительностью и амплитудой (таблица 9).

Таблица 9 – Результаты исследования противовоспалительной активности «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит» при остром воспалении конечности у крыс

Время измерения, мин	Показатели					
	Прирост объёма конечности, %	Угнетение отека, %	Прирост объёма конечности, %	Угнетение отека, %	Прирост объёма конечности, %	Угнетение отека, %
	60		180		300	
Контроль	31,8±1,4	–	135,1±2,5	–	163,7±4,0	–
Группа сравнения (настой ромашки)	30,5±1,3	4,1	<b>63,1±1,8*</b>	<b>53,3*</b>	123,0±1,1	24,8
«Пионифит» экстракт 25 мг/кг	23,5±1,2	26,1	<b>60,6±1,1**</b>	<b>55,1**</b>	<b>104,2±13,2*</b>	<b>36,3*</b>
«Пионифит» экстракт 125 мг/кг	25,9±2,0	18,5	109,6±3,8	18,8	<b>121,1±22,0*</b>	<b>26,0*</b>
ПЛ «Пионифит» 25 мг/кг	24,3±1,0	23,6	<b>60,0±1,4**</b>	<b>55,6**</b>	<b>111,8±11,4*</b>	<b>31,7*</b>
ПЛ «Пионифит» 125 мг/кг	26,4±1,3	17,0	110,4±4,8	18,3	<b>118,1±14,9*</b>	<b>27,9*</b>

\*изменение достоверно относительно контроля ( $p \leq 0,05$ )

\*\*изменение достоверно относительно эталона ( $p \leq 0,05$ )

Изучение анксиолитического действия «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит», в сравнении с сухим экстрактом из травы, корневищ и корней пиона уклоняющегося («Пиона экстракт, таблетки покрытые оболочной 150 мг»; производитель: ЗАО «Вифитех»), проводили в структурном подразделении «Фармаскрин» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России под руководством ассистента кафедры физиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Булатова И.П. Результаты представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Результаты изучения анксиолитического действия препаратов пиона в тесте «Темная камера с отверстиями»

Группа	Верхнее отверстие		Боковое отверстие		Полувыход	
	Первое заглядывание, сек	Общее число	Первое заглядывание, сек	Общее число	Первый полу-выход, сек	Общее число
Контроль	80,7±0,9	7,2±0,4	33,5±0,3	4,3±0,3	56,8±0,8	1,0±0,1
Пиона уклоняющегося экстракт 50 мг/кг (группа сравнения)	<b>32,3±0,5*</b>	<b>12,5±0,2*</b>	<b>14,7±0,2*</b>	<b>8,8±0,1*</b>	33,8±0,6	2,2±0,1
«Пионифит» экстракт 50 мг/кг	<b>22,0±0,4*</b>	<b>14,8±0,2*</b>	<b>11,5±0,2*</b>	<b>9,0±0,1*</b>	55,3±0,8	1,7±0,1
ПЛ «Пионифит» 50 мг/кг	<b>23,3±0,5*</b>	<b>13,4±0,2*</b>	<b>12,8±0,2*</b>	<b>8,5±0,1*</b>	51,1±0,6	2,1±0,1

\*изменение достоверно относительно контроля тест Манна-Уитни ( $p \leq 0,05$ )

Результаты исследования препаратов пиона в тесте «Темная камера с отверстиями» свидетельствуют об уменьшении тревожности крыс в условиях стрессовых ситуаций, что выражается в увеличении общего числа заглядываний в отверстия и уменьшении латентного время первого заглядывания в исследуемых группах и группе сравнения. По результатам проведенных исследований можно судить об эквивалентном анксиолитическом действии «Пионифит» экстракта сухого, ПЛ «Пионифит» и пиона уклоняющегося экстракта.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате морфолого-анатомического исследования травы пиона уклоняющегося и травы пиона садовых сортов установлены идентичные морфолого-анатомические признаки. Установлено содержание основных групп биологически активных веществ: флавоноидов в пересчете на рутин в траве пиона уклоняющегося 3,69±0,15%, в траве пиона садовых сортов – от 3,15±0,12 до 3,59±0,17 %; монотерпеновых гликозидов в пересчете на пеонифлорин в траве пиона уклоняющегося 6,15±0,30%, в траве пиона садовых сортов – от 5,83±0,29 % до 7,81±0,38%; пеонифлорина в траве пиона уклоняющегося 0,103±0,004%, в траве пиона садовых сортов от 1,190%±0,010 до 1,214±0,010%.

2. Подобраны оптимальные условия экстракции травы пиона садовых сортов, позволяющие извлечь 98,54% суммы флавоноидов и 99,14% суммы монотерпеновых гликозидов от общего содержания в сырье. Разработана технологическая схема получения «Пионифит» экстракта сухого.

3. Разработаны методики качественного анализа и количественного определения биологически активных веществ в пиона садовых сортов траве и «Пионифит» экстракте сухом. Установлено содержание основных групп биологически активных веществ в «Пионифит» экстракте сухом: флавоноидов

в пересчете на рутин 5,27 – 5,83%, монотерпеновых гликозидов в пересчете на пеонифлорин 12,18 – 13,71%, пеонифлорина 1,53±0,03%.

4. В результате проведенных органолептических, реологических и биофармацевтических исследований разработан состав и технология пленок лекарственных «Пионифит». Установлено содержание основных групп БАВ на 1 дозу ПЛ: флавоноидов в пересчете на рутин 2,350±0,056 мг, монотерпеновых гликозидов в пересчете на пеонифлорин 6,430±0,208 мг, пеонифлорина 0,725±0,008 мг. Определены физико-химические параметры ПЛ «Пионифит»: описание, однородность массы, толщина, время растворения, рН водного раствора, потеря в массе при высушивании. Данные показатели подтверждают доброкачественность разработанного состава и позволяют контролировать качество лекарственной формы в процессе изготовления и хранения.

5. Исследованы условия и сроки хранения «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит». Определен срок хранения «Пионифит» экстракта сухого 2 года при температуре не выше 25 °С и относительной влажности воздуха не более 60±5%. Установлена стабильность ПЛ «Пионифит» в течение 1 года при хранении при температуре 15 – 25 °С и относительной влажности не более 60±5%.

6. Установлено, что «Пионифит» экстракт сухой относится к IV классу (малотоксичный препарат) согласно классификации токсичности по Hodge и Sterner. Доказано наличие противовоспалительной активности «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит» в дозах 25 мг/кг и 125 мг/кг на модели каррагенинового отека. Подтверждено анксиолитическое действие «Пионифит» экстракта сухого и ПЛ «Пионифит» в дозе 50 мг/кг в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Темная камера с отверстиями».

**Рекомендации** заключаются в расширении доклинических токсикологических исследований, в частности оценке хронической токсичности, проведении клинических исследований лекарственных форм, расширении ассортимента лекарственных форм на основе пиона садовых сортов.

**Перспективы дальнейшей разработки темы** заключаются во внедрении в экстенпоральное изготовление аптечных организаций ПЛ, разработке проектов НД на лекарственное растительное сырье и ПЛ.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Изучение влияния температуры на степень извлечения биологически активных веществ из травы пиона садового / **Н. И. Накарякова**, М. М. Смирнова, А. А. Петрова, Е. Н. Люст// Актуальные вопросы студенческой молодежной медицинской науки: материалы межрегиональной студенческой научной конференции с международным участием. – Рязань: ФГБОУ ВО РязГМУ, 2014. – С. 341 – 342.

2. Изучение флавоноидов пиона садового экстракта сухого / **Н. И. Накарякова**, М. М. Смирнова, О. В. Яборова, О. А. Олешко // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2015. – № 15. – С. 186 – 188.

3. Исследование анксиолитического действия экстракта пиона садового сухого / **Н. И. Накарякова**, И. П. Булатов, М. М. Смирнова, О. А. Олешко // Инновационные технологии в фармации: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти доцента Пешковой В. А. – Иркутск: ИГМУ, 2018. – Вып. 5. – С. 272 –276.
4. Исследование острой токсичности пиона садового экстракта сухого / **Н. И. Накарякова**, М. М. Смирнова, И. П. Булатов, О. А. Олешко // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2015. – № 16. – С. 81 – 82.
5. Исследование по созданию новых лекарственных средств на основе травы пиона садового / М. М. Смирнова, Е. Н. Люст, **Н. И. Накарякова**, О. А. Олешко [и др.] // Биофармацевтический журнал. – 2016. – Т. 8. – № 1. – С. 9 – 12.
6. Калимуллина, З. Р. Разработка состава пленок лекарственных с экстрактом пиона садового сухим / З. Р. Калимуллина, Т. Е. Рюмина, **Н. И. Накарякова** // Вестник ПГФА. – 2017. – № 19. – С. 157 –158.
7. **Накарякова, Н. И.** Исследование противовоспалительной активности экстракта пиона садового сухого / Н. И. Накарякова, М. М. Смирнова, А. И. Андреев // Сеченовский Вестник. – 2018. – № 2(32). – С. 63 – 66.
8. **Накарякова, Н. И.** Исследование состава экстракционных препаратов пиона садового методом ГХ-МС / Н. И. Накарякова, П. С. Мащенко, М. М. Смирнова // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2016. – № 18. – С. 20 – 23.
9. **Накарякова, Н. И.** Микроскопический анализ травы пиона садовых сортов / Н. И. Накарякова, М. М. Смирнова, О. А. Олешко // Бюллетень медицинских интернет-конференций: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «YSRP-2015», 2015. – Том 5. – Выпуск 12. – С. 1772.
10. **Накарякова, Н. И.** Разработка пленок лекарственных с экстрактом пиона садового сухим / Н. И. Накарякова, М. М. Смирнова, О. А. Олешко // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2017. – № 20. – С. 190 – 192.
11. Определение суммы флавоноидов в траве пиона / М. М. Смирнова, О. В. Яборова, Е. Н. Люст, **Н. И. Накарякова** [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – №12. – С. 164 – 168.
12. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в экстракте пиона садового сухом / **Н. И. Накарякова**, Е. Н. Люст, М. М. Смирнова, О. А. Олешко // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – № 4. – Т. 21. – С. 3 – 7.
13. Сравнительное изучение пиона уклоняющегося и пиона садового / **Н. И. Накарякова**, М. М. Смирнова, О. В. Яборова, О. А. Олешко // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 11. – С. 372 – 376.
14. **Nakaryakova, N. I.** Selection conditions of determine the extractives in the herb peony / N. I. Nakaryakova, M. M. Smirnova // Topical issues of new drugs development. – Kharkiv: NUPh. – 2016. – Vol. 1. – P. 94.