

*На правах рукописи*

**ЛИПИН ДАНИИЛ ЕВГЕНЬЕВИЧ**

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЯГКИХ  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ, СОДЕРЖАЩИХ ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ  
SERRATULA CORONATA L.**

14.04.01 – Технология получения лекарств

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2015

Диссертационная работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Научный руководитель:

**Молохова Елена Игоревна** доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России

Научный консультант:

**Володин Владимир Витальевич** доктор биологических наук, заведующий лабораторией ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук

Официальные оппоненты:

**Егорова Светлана Николаевна** доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой фармации ФПК и ППС

**Петров Александр Юрьевич** доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий кафедрой фармации

**Ведущая организация:** ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Минздрава России

Защита состоится «15» декабря 2015 г. в 14-00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. Тел/факс (342)233-55-01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: г. Пермь, ул. Крупской, 46.

Текст диссертации размещен на сайте ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России <http://www.pfa.ru> «14» сентября 2015 г.

Дата размещения объявления о защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Автореферат, отзыв научного руководителя и объявление о защите диссертации размещены на сайте ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России <http://www.pfa.ru> «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Н.В. Слепова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Одним из интенсивно исследуемых классов биологически активных веществ (БАВ) являются гормоны линьки насекомых – экдистероиды – обладающие широким спектром фармакологического действия, высокой активностью и отсутствием токсического действия. Фитоэкдистероиды (ФЭ) представляют собой группу природных соединений, родственных по структуре и физиологическому действию гормону линьки насекомых – экдизону [Странски К., 1998, Володин В.В., 2013].

Установлено, что ФЭ обладают противовоспалительным действием, что дает основание полагать наличие у них регенерирующих свойств. Известны составы мазей на основе индивидуальных ФЭ, а также суммарных фитопрепаратов из растений родов *Silene* и *Ajuga*. В. Н. Дармограем разработаны составы мазей для применения в дерматологии и стоматологии [пат. РФ № 2119331, № 2141816, № 2168979, № 2173980], в которых ФЭ вводились в адсорбционную основу (смесь вазелина и ланолина в соотношении 4 : 1) в виде спиртовой настойки.

А. Меубек с соавторами [pat. EP 0436650] показал, что включение экдистероидов в структуру липосом приводит к усилению ранозаживляющего действия, а также к снижению частоты образования келлоидных рубцов. В своей работе ученые использовали экдизон – экдистероид с низкой фармакологической активностью. Е. А. Пшунетлевой [2000] разработан состав липосом с более активным ФЭ - 20-гидроксиэкдизоном, но в работе отмечается низкое включение соединения в липосомы – около 8 %. Исследования последних лет [Acharya N.S., 2011] показывают, что между фосфолипидом, образующим липосомы, и некоторыми БАВ растительного происхождения образуется водородная связь, обеспечивающая стабильность липидного комплекса.

Учеными Института биологии Коми НЦ УрО РАН под руководством д.б.н., проф. В. В. Володина ведется многолетняя работа по изучению флоры России на предмет изучения закономерностей накопления ФЭ в растениях. Результатом их работы является интродукция серпухи венценосной, разработка технологии фармакологически активного ингредиента «Серпистен», получаемого из листьев серпухи венценосной и содержащего 7 индивидуальных ФЭ, основным из которых является 20-гидроксиэкдизон и капсулированных форм на его основе. Представляет интерес разработка мягких лекарственных форм (МЛФ) с серпистеном, обладающих регенерирующим действием.

Расширение номенклатуры лекарственных препаратов, содержащих в качестве действующего вещества серпистен, делает актуальной разработку технологий и стандартизацию МЛФ с серпистеном, в том числе липосомальных.

**Цель работы** – разработка состава, технологии и стандартизация мази и липосомального геля серпистена, обладающих регенерирующим действием.

### **Задачи исследования:**

1. Экспериментально обосновать состав и разработать технологию мази серпистена;

2. Разработать методику количественного определения серпистена в МЛФ;
3. Отработать параметры технологического процесса получения липосомальной суспензии серпистена;
4. Выбрать и обосновать состав и технологию геля на основе липосомальной суспензии серпистена;
5. Провести биологические исследования по определению специфической активности лекарственных форм серпистена для наружного применения;
6. Разработать нормативную документацию и провести апробацию мягких лекарственных форм серпистена.

**Научная новизна.** Впервые в технологии МЛФ использована фармакологически активная субстанция серпистен, представляющая собой сумму фитоэкдистероидов, получаемую из листьев серпухи венценосной. Разработана технология мази серпистена, обладающая удовлетворительными реологическими параметрами, наилучшим профилем высвобождения и эффективностью в испытаниях *in vivo*. Установлены основные условия проведения спектрофотометрии в УФ-области для определения серпистена в составе МЛФ.

Впервые получен липосомальный гель серпистена. Установлены показатели контроля технологического процесса и качества липосомальной суспензии: однородность и средний диаметр липосом, дзета-потенциал, фотометрический показатель дисперсности (ФПД), эффективность включения серпистена в липосомы. Получены гомогенные стабильные липосомальные дисперсии с высоким включением серпистена (88 %), со средним диаметром частиц 70-90 нм, дзета-потенциал которых составлял минус 37 мВ.

При помощи ЯМР  $^{31}\text{P}$  спектроскопии доказано образование фитосом с серпистеном.

**Практическое значение работы.** На основании проведенных и экспериментальных исследований:

- Разработаны рациональные технологии мази дифильной природы и липосомального геля серпистена;
- Разработана и валидирована методика количественного определения серпистена в мази. Разработан проект ФСП на мазь серпистена 0,02 %;
- Предложен способ контроля технологического процесса получения липосомальных суспензий серпистена с использованием фотометрического показателя дисперсности (ФПД);
- МЛФ с серпистеном представляют интерес в качестве потенциального лекарственного средства для местного применения с регенерирующим действием;
- Результаты научной работы использованы при составлении нормативной документации и апробированы на базе ОАО «Татхимфармпрепараты» (акт внедрения от 24 марта 2015 года);
- Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России на факультете очного обучения при изучении тем «Мягкие лекарственные формы» и «Нанотехнологии в производстве лекарств».

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 10 работ, из них 3 статьи в изданиях Перечня ВАК.

**Апробация.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на международной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации» (г. Пермь, 2011); VII Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ» (г. Сыктывкар, 2011); XVI Международном съезде «Фитофарм – 2012» (г. Санкт-Петербург, 2012); Международной научно-методической конференции «Сандеровские чтения» (г. Санкт-Петербург, 2012); III Международной научной конференции «Молодая фармация – потенциал будущего» (г. Санкт-Петербург, 2013); финальном туре VIII Студенческого краевого конкурса научных проектов по программе «УМНИК» (г. Пермь, 2013); межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Современная фармация: образование, наука, бизнес» (г. Тюмень, 2014); научно-практической конференции памяти проф. А. В. Казьянина (г. Пермь, 2014).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.01 – технология получения лекарств. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3 и 6 паспорта специальности – технология получения лекарств.

**Личный вклад автора.** Все приведенные в диссертации данные были получены лично автором на базе ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, в лаборатории биотехнологии растений ФГУН Института Биологии Коми НЦ УрО РАН, Институте экологии и генетики микроорганизмов Пермского НЦ УрО РАН.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 187 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания материалов и методов исследования (глава 2), изложения собственных результатов (3-5 главы), выводов и приложения. Библиографический указатель включает 180 источников, в том числе 98 отечественных и 82 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 38 таблицами и 42 рисунками.

Во введении сформулированы актуальность, цель и задачи исследований, научная новизна и практическая значимость диссертации.

Первая глава посвящена характеристике растительных ресурсов, пригодных для промышленного выделения экистероидов. Показана перспективность использования травы серпухи венценосной для выделения экистероидов. Представлен анализ биологической активности ФЭ и описания технологических приемов получения мазей, липосом и фитосом.

В главе 2 описаны объекты и методы исследования.

В третьей главе приведены результаты разработки состава и технологии мазей с серпистеном. Представлена технологическая схема получения, установлены нормы и показатели качества мази с серпистеном, определена ее стабильность.

В главе 4 представлены материалы по созданию липосомального геля с серпистеном. Разработана технологическая схема производства, а также установлены нормы и показатели качества полученного геля с серпистеном, определена их стабильность при хранении.

В главе 5 отражены результаты исследований регенерирующего действия 0,02 % мази и липосомального геля с серпистеном.

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

1. Разработка составов и технологий мази и липосомального геля серпистена;
2. Результаты контроля физико-химических, технологических и биофармацевтических свойств лекарственных форм с серпистеном;
3. Стандартизация мази серпистена и валидация методики количественного определения;
4. Оценка регенерирующего действия МЛФ с серпистеном.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Объекты и методы исследования**

Для получения мази и липосомального геля использовали серпистен (производство ООО «Комибиофарм»), содержащий 20-гидроксиэкдизона не менее 75 %, 25S-инокостерона не менее 10 % и экдизона не менее 7 %. При создании МЛФ с серпистеном использовали вспомогательные вещества, которые соответствовали по качественным показателям и количественному содержанию требованиям НД (ГФ XII изд., ГОСТ, ОСТ, ТУ, НД зарубежных производителей, зарегистрированных в РФ).

Степень высвобождения серпистена из МЛФ изучали с использованием метода диализа через полупроницаемую мембрану, количественное содержание серпистена определяли на спектрофотометрах СФ-103 и СФ-2000 (Россия), реологические параметры изучали на ротационном вискозиметре Rheotest 2.1 (Германия).

Тонкую липидную пленку получали на ротационном испарителе ИР-1МЗ (Россия), гомогенизацию больших мультислойных липосом (БМЛ) проводили в ультразвуковой ванне УЗВ-12 (Россия), средний диаметр липосом,  $\zeta$ -потенциал и индекс полидисперсности измеряли на анализаторе размеров частиц Zetasizer Nano ZS (Великобритания), оптическую плотность суспензии малых однослойных липосом (МОЛ) измеряли на фотоэлектроколориметре КФК-2 (Россия) и спектрофотометре Biowave II (Великобритания), определение остаточных растворителей осуществляли на газовом хроматографе GS-2010 (Япония), степень включения серпистена определяли на приборе жидкостном хроматографе Varion (США), спектры ЯМР  $^{31}\text{P}$  получали с помощью Bruker-500 (Германия).

Статистическую обработку результатов проводили по методикам ГФ XII с использованием стандартных компьютерных программ Excel.

### **Разработка и исследование мази серпистена**

Выбор состава мази определялся физико-химическими и фармакологическими свойствами серпистена, который вводили в мазевые основы, предварительно растворив в спирте этиловом 40 % в соотношении 1:5, в количестве 0,02 %.

На начальном этапе выбора природы основы мази серпистана нами изучены технологические и биофармацевтические параметры мазевых композиций дифильного (состав 1), гидрофобного (состав 2) и гидрофильного (состав 3) типов с применением вспомогательных веществ, часто используемых в технологии МЛФ (табл. 1). Состав модельной гидрофобной основы максимально приближен к рецептуре мази «Витадерм» (пат. РФ № 2119331).

Таблица 1.

Составы модельных образцов мазей серпистана

Компоненты	Серпистен	Аэросил	Вазелин	Вазелиновое масло	Глицерин	Моноглицери ды дистиллирова	Ланолин безводный	Na-КМЦ	Спирт этиловый	Вода очищенная
№ состава	Серпистен	Аэросил	Вазелин	Вазелиновое масло	Глицерин	Моноглицери ды дистиллирова	Ланолин безводный	Na-КМЦ	Спирт этиловый	Вода очищенная
1	0,02	3,0	-	44,0	-	3,0	-	-	1,0	До 100,0
2	0,02	-	79,0	-	-	-	20,0	-	1,0	-
3	0,02	-	-	-	8,0	-	-	3,0	1,0	До 100,0

Результаты изучения влияния природы основы на степень и скорость высвобождения серпистана из модельных композиций в процентах представлены на рис. 1. Из рис. 1 видно, что высвобождение серпистана в значительной степени зависит от природы мазевой основы. В ходе исследования установлено, что степень высвобождения серпистана из состава 1, обладающего дифильной природой, выше, чем у остальных композиций.

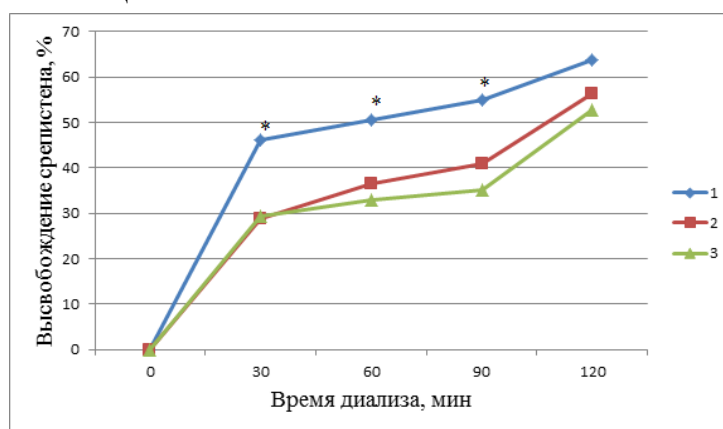


Рис. 1. Зависимость степени высвобождения серпистана из различных основ от времени диализа (среда для диализа – вода очищенная, рН=7,0, n=3, \* - различия достоверны при  $p > 0,95$ ).

1 – мазь серпистана на дифильной основе; 2 – мазь серпистана на гидрофобной основе; 3 – мазь серпистана на 5 % геле Na-КМЦ.

При исследовании реологических параметров выявлено, что модельные композиции гидрофобной и гидрофильной природы не входят в область реологических оптимумов, которые для мазей гидрофильной природы составляет 0,34–108 Па\*с, а для гидрофобной – 0,32–93,3 Па\*с [Малкин А.Я., 2010]. Мазь на дифильной основе укладывается в реологический оптимум, однако имеет более низкое значение напряжения сдвига по сравнению с мазью «Бепантен», что говорит о

необходимости внесения в состав композиции загустителей. Введение спиртового раствора серпистена не изменяет реологических характеристик мази.

Для дальнейшего совершенствования состава мази серпистена исследования влияния свойств вспомогательных веществ на технологические параметры (агрегативная стабильность и концентрация водородных ионов водных извлечений мазей (ОСТ 29188.3-91, ОФС 42-0048-07)) проводили по плану греко-латинского квадрата 4x4 с повторными наблюдениями. По данным литературы и предварительными экспериментами отобраны факторы, существенно влияющие на качество мазевых композиций с серпистеном: процент гидрофильной фазы ( $A_1$  – 10 %,  $A_2$  – 30 %,  $A_3$  – 50 %,  $A_4$  – 75 %), вид эмульгатора ( $B_1$  – МГД,  $B_2$  – эмульгатор Т-2,  $B_3$  – твин-80,  $B_4$  – смесь эмульгатора Т-2 и МГД), вид загустителя ( $C_1$  – Na – КМЦ,  $C_2$  – ПВС,  $C_3$  – алюминия гидроксид,  $C_4$  – аэросил) и природа гидрофобной фазы ( $D_1$  – вазелин,  $D_2$  – вазелиновое масло,  $D_3$  – смесь вазелина и вазелинового масла,  $D_4$  – подсолнечное масло).

При приготовлении 16 экспериментальных дифильных мазевых композиций использовали следующие технологические приемы: эмульгаторы сплавляли с гидрофобной основой, загустители – ПВС, Na-КМЦ, гидроксид алюминия и аэросил – вводили в виде гелей и суспензий. Водно-спиртовой раствор серпистена вводили вместе с остальными гидрофильными компонентами в сплав основы и эмульгатора по типу эмульсии.

При обработке экспериментальных данных установлено, что лучшую агрегативную устойчивость мазей серпистена обеспечивает введение в качестве загустителя аэросила ( $C_4$ ) или ПВС ( $C_2$ ), использование эмульгатора Т-2 ( $B_2$ ) или МГД ( $B_1$ ), приготовление мази на основе смеси вазелина и вазелинового масла ( $D_3$ ). Известно, что рН регенерирующих мазей должен быть близок к водородному показателю кожи. Для достижения этого определена значимость влияния факторов на концентрацию водородных ионов эмульсий (табл. 2).

Таблица 2

Дисперсионный анализ результатов определения рН эмульсионных систем

Источник дисперсии	Число степеней свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F расч.	F табл.
A	3	0,18	0,06	5,13	4,76
B	3	0,29	0,10	8,29	4,76
C	3	0,30	0,10	8,45	4,76
D	3	0,05	0,02	1,36	4,76
Остаток	6	0,07	0,01	-	-

Дисперсионный анализ показателя рН по критерию Фишера, показал, что на водородный показатель водной вытяжки существенное влияние оказывают процент гидрофильной фазы ( $F_{расч.} 5,14 > F_{кр.} 4,76$ ), вид эмульгатора ( $F_{расч.} 8,29 > F_{кр.} 4,76$ ) и загуститель ( $F_{расч.} 8,45 > F_{кр.} 4,76$ ). Для статистически значимых факторов проведены множественные сравнения с использованием рангового критерия Дункана. Ряды предпочтительности для фактора А имели следующий вид: 10 % гидрофильной фазы ( $A_1$ ) > 50 % ( $A_3$ ), для фактора В: эмульгатор Т-2 ( $B_2$ ) > МГД ( $B_1$ ), а для фактора



C: аэросил (C<sub>4</sub>) = ПВС (C<sub>2</sub>). Полученные результаты позволяют сделать вывод о целесообразности получения мази в виде эмульсий обратного типа.

В результате проведенного комплекса работ по оптимизации мази с серпистеном дифильной природы предложен следующий состав (состав 20):

Серпистен	0,02
T-2	3,0
Аэросил	3,0
Вазелин	23,0
Вазелиновое масло	23,0
Спирт этиловый 40 %	1 мл
Вода очищенная	До 100,0

Сравнительный анализ эффективной вязкости показал, что предлагаемый состав максимально приближен к мази Бепантен (рис. 2).

При оценке динамики высвобождения серпистена из составов 1 и 20 установлено, что состав 20 обладает лучшим профилем высвобождения серпистена из МЛФ (рис. 3).

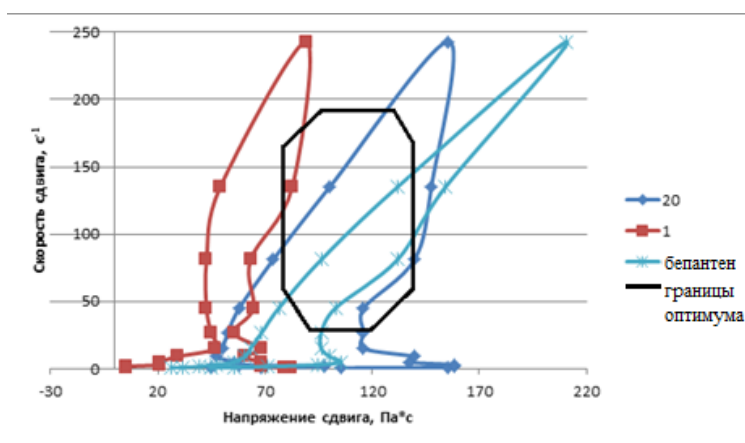


Рис. 2. Реограммы течения мазевых композиций.

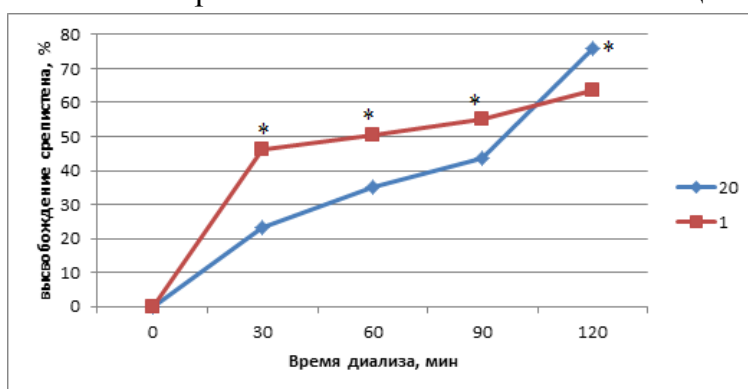


Рис. 3. Динамика высвобождения серпистена из мазевых композиций.

Примечание: \* - различие достоверно при  $p < 0,05$ .

Разработана методика качественного и количественного определения серпистена в мази методом УФ-спектрометрии с применением градуировочного графика.

Экспериментально выбраны условия анализа: природа экстрагента, температурный режим и кратность экстракции, соотношение навески лекарственного препарата и объема экстрагента. Установлено, что водное извлечение серпистена

характеризуется максимумом светопоглощения при длине волны  $250 \pm 2$  нм. Спектры поглощения серпистена в воде очищенной, полученные при извлечении лекарственного средства из мази оказались идентичными спектру поглощения серпистена.

Определены границы подчинения основному закону светопоглощения водных растворов серпистена (рис. 4).

Результаты количественного определения серпистена и его метрологические характеристики представлены в табл. 3.

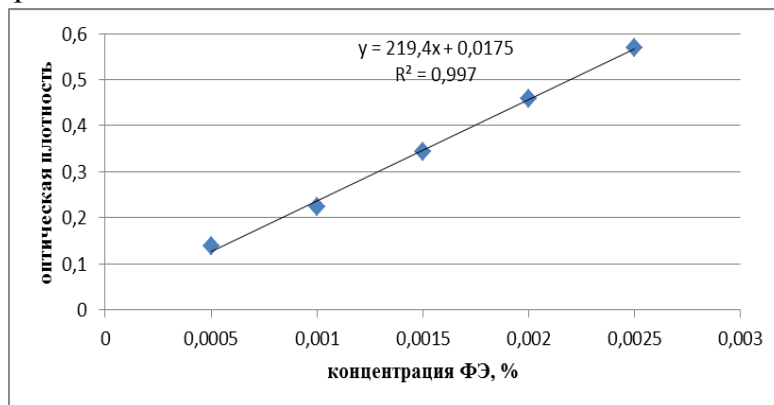


Рис. 4. График зависимости оптической плотности серпистена от концентрации.

При валидации предлагаемой методики определения серпистена в МЛФ установлено, что она не отягощена систематической ошибкой, результаты анализа являются правильными, точными и имеют достоверно не различающуюся воспроизводимость.

Таблица 3

Результаты количественного определения серпистена в мази и метрологические характеристики

Навеска мази, г	Содержание серпистена в навеске мази, мкг	Оптическая плотность извлечения	Найдено серпистена, мкг	Оценка открываемости серпистена, %	Метрологические характеристики
1,996	399,2	0,3752	399,7	100,12	$\bar{X} = 98,85 \%$ $S = 2,74, S_{\bar{X}} = 1,23$ $\Delta \bar{X} = 1,66 \cdot 10^{-4}$ $\varepsilon = \pm 7,70 \%$
1,998	399,6	0,3730	397,3	99,43	
1,991	398,2	0,3609	384,4	96,53	
1,998	399,6	0,3843	409,3	102,44	
1,974	394,8	0,3554	377,9	95,72	

Определенный нами состав и технология мази серпистена признана рациональной и использована нами при разработке лабораторного регламента «0,02 % мазь серпистена». Разработанная технологическая схема получения мази серпистена представлена на рис. 5 и включает несколько этапов: приготовление спиртового раствора серпистена, получение мазевой основы, введение раствора серпистена в основу, гомогенизация мази и фасовка в тубы алюминиевые.

При изучении стабильности мази серпистена 0,02 % образцы закладывались на хранение при температуре (12-15) °С. и с периодичностью 0,5 года анализировались в течение срока наблюдения 2,5 года. Параметры, включенные нами в раздел

«спецификация» ФСП: внешний вид, рН, эффективная вязкость, количественное содержание (табл. 4), находились в допустимых пределах, что позволило установить срок годности лекарственной формы – 2 года.

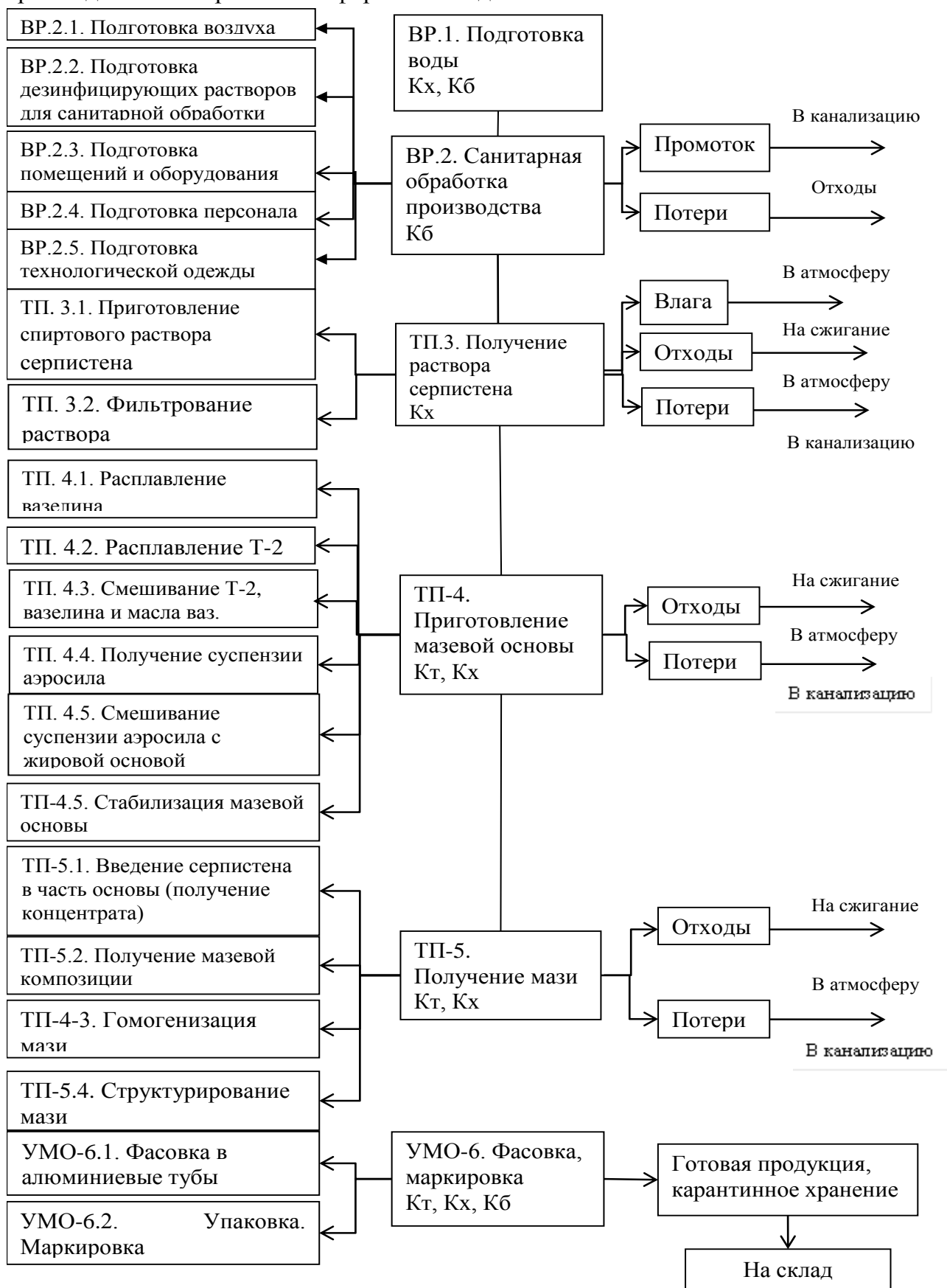


Рис. 5. Технологическая схема получения мази серпистен 0,02 %.

## Спецификация мази серпистена 0,02%

ПОКАЗАТЕЛИ	МЕТОДЫ	НОРМЫ
Однородность по внешнему виду	Визуальный	Мягкая эластичная гомогенная матовая мазь от белого до белого с желтоватым оттенком цвета со слабым характерным запахом
Масса содержимого упаковки	Гравиметрический	Средняя масса содержимого 10 туб должна быть не менее 30 г, масса содержимого каждой тубы должна быть не менее 27 г.
рН водного извлечения	Потенциометрический (ГФ XII, Ч. 1. С. 89-92)	От 5,7 до 6,0
Вязкость	Ротационная вискозиметрия	70,0 – 108,0 Па*с
Идентификация	Спектрофотометрический (ГФ XII, Ч. 1. С. 56-61)	На УФ-спектре поглощения испытуемого раствора, полученного в разделе «Количественное определение», в области 220-350 нм должен иметь максимум при длине волны 250±2 нм
	Хроматографический (ГФ XII, Ч. 2. С. 42-48)	Испытуемый раствор в системе растворителей хлороформ-метанол 5:1 на пластинках Silufol UV-254 должен обладать фактором удерживания 0,24
Размер частиц		Не более 90 мкм
Количественное определение серпистена	Спектрофотометрический (ГФ XII, Ч. 1. С. 56-61)	Содержание серпистена должно быть 0,18 – 0,22 мг в 1,0 г мази
Микробиологическая чистота	ГФ XII, Ч. 1. С. 160-194.	Категория 2.
Упаковка.	В алюминиевые тубы по 30 г, с контролем первого вскрытия и пластмассовой крышкой. 1 туба с инструкцией по применению помещается в картонную пачку.	
Маркировка	В соответствии с ФСП	
Хранение	При температуре от 12°C до 15°C	
Срок годности	2 года (срок наблюдения)	

**Технологические аспекты получения липосомального геля серпистена**

В ходе работ по созданию липосомального геля с серпистеном изучали параметры, оказывающие определяющее влияние на качество липосом: метод получения БМЛ, природа буферного раствора и режим гомогенизации. В качестве фосфолипида использован яичный лецитин [UA/13014/01/01]. Для уплотнения липосомальной стенки в композицию введены холестерол и  $\beta$ -ситостерин.

При выборе оптимального буферного раствора получили 9 составов «пустых» липосом (табл. 5). Для подбора оптимального режима гомогенизации проводили ультразвуковую обработку БМЛ в течение 35 мин.

Составы исследуемых липосомальных композиций

№ состава	Буфер	Объем буфера, мл	pH	Лецитин, мг	Холестерол, мг	$\beta$ -ситостерин, мг	Объем органического растворителя, мл
1	трис-НСI	30	7,25	100	–	–	10
2	трис-НСI	30	7,25	100	20	–	10
3	трис-НСI	30	7,25	100	–	5	10
4	Ацетатный	30	5,5	100	20	–	10
5	Ацетатный	30	5,5	100	–	–	10
6	Ацетатный	30	5,5	100	–	5	10
7	Фосфатный	30	6,4	100	–	–	10
8	Фосфатный	30	6,4	100	20	–	10
9	Фосфатный	30	6,4	100	–	5	10

Полученные МОЛ оценивались по параметрам: средний размер, индекс полидисперсности и дзета-потенциал. Результаты приведены в табл. 6.

Таблица 6

Параметры липосомальных суспензий после стадии гомогенизации

Характеристика	№ состава								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Средний размер частиц, нм	*	989,5	181,6	397,0	407,0	523,7	<b>102,2</b>	146,9	116,7
Индекс полидисперсности	1,000	0,909	0,457	0,578	0,563	0,657	0,267	<b>0,223</b>	0,597
$\zeta$ -потенциал, мВ	*	-3,17	-2,31	2,69	*	*	-6,85	<b>-39,7</b>	-4,13

Примечание: \* – определить параметр не удалось.

Исследования показали, что МОЛ состава 8, ресуспендированные в фосфатном буфере, обладают наименьшим диаметром, наибольшей однородностью и  $\zeta$ -потенциалом. На следующем этапе в липосомальные составы 7-9 включен серпистен в количестве 20 мг (составы 10-12). Для этого к хлороформному раствору лецитина добавляли 20 мг серпистена и уплотнитель, выпаривали при температуре 45 °С и давлении 30 кПа. Полученную тонкую липидную пленку гидратировали фосфатным буфером (55 °С, 1 ч) и помещали в прохладное место на 24 ч для структурирования.

Выбранный режим получения тонкой липидной пленки позволяет добиться полноты удаления органических растворителей, соответствующей требованиям ОФС 42-0057-07 «Остаточные органические растворители» (99,96 % хлороформа и 93,71 % спирта этилового).

Динамика гомогенизации БМЛ, представленная на рис. 6, показывает, что интенсивнее всего процесс измельчения липосом проходит в течение первого цикла гомогенизации, когда размер липосом уменьшался в 2-4 раза и к концу гомогенизации диаметр МОЛ для составов 10 и 11 составляет около 70 нм.

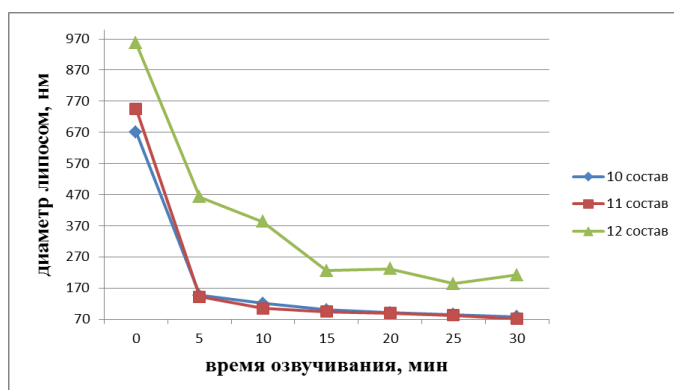


Рис. 6. Зависимость диаметра липосом с серпистеном от времени озвучивания.

Показатели индекса полидисперсности, представленные в табл. 7., подтверждают, что критерии однородности ( $\leq 0,3$ ) липосом с серпистеном для составов 10 и 11 достигаются после 20 и 25 мин гомогенизации, соответственно. При этом установлено, что применение холестерина в сравнении с  $\beta$ -ситостерином позволяет добиться более однородных липосом.

Таблица 7.

Динамика изменения индекса полидисперсности липосомальных суспензий

№ состава	Время озвучивания, мин						
	0	5	10	15	20	25	30
10	0,608	0,409	0,400	0,372	<b>0,296</b>	0,290	0,385
11	0,616	0,451	0,355	0,353	0,355	<b>0,269</b>	0,263
12	1,000	1,000	1,000	0,848	0,688	0,771	0,772

В ходе гомогенизации выявлено, что для составов 10 и 11 отмечается увеличение  $\zeta$ -потенциала в сравнении с «пустыми» липосомами. Самой высокой седиментационной устойчивостью обладает состав 11, о чем свидетельствует значение модуля поверхностного заряда  $-\geq |30|$  мВ (рис. 7).

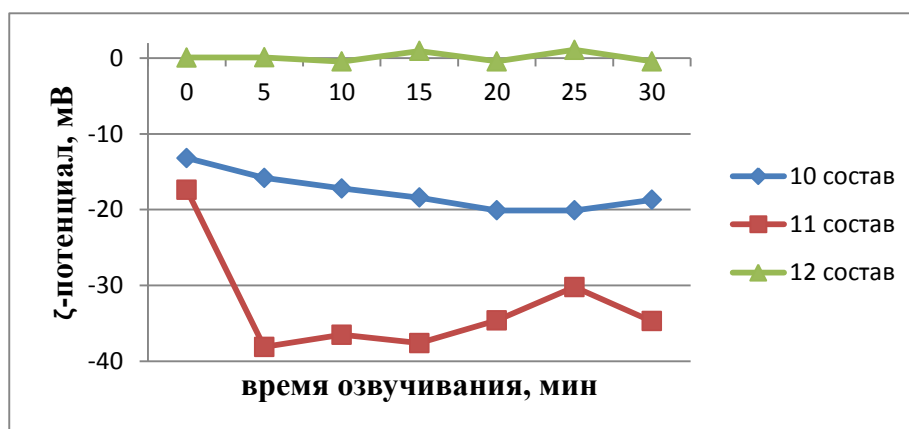


Рис. 7. Значения  $\zeta$ -потенциала в составах липосом с серпистеном.

Для постоянного мониторинга технологического процесса образования липосомальной суспензии представляло интерес возможность оценки диаметра липосом с использованием ФПД. При определении диапазона линейных значений ФПД замеряли оптическую плотность в липосомальных суспензиях составов 7-9, а также в их разведениях при длинах волн 400 и 540 нм с последующим расчетом ФПД по формуле:

$$\text{ФПД} = \frac{\lg \frac{D_{400}}{D_{540}}}{K}, \text{ где}$$

$D_{400}$  – оптическая плотность при длине волны 400 нм;

$D_{540}$  – оптическая плотность при длине волны 540 нм;

$$K = 0,1303 \left( \lg \frac{540}{400} \right).$$

На основании расчетных данных ФПД составов липосом 7-12 и средних диаметров липосом до и во время гомогенизации устанавливалась корреляционная связь. Данные приведены в табл. 8.

Таблица 8.

Значения коэффициентов корреляции ФПД от диаметра липосом в составах 7-

12

	Прибор	№ состава	Концентрация фосфолипидов, мг/мл				
			3,33	1,67	1,11	0,83	0,67
Коэффициент корреляции	КФК-2, Россия	7	0,92	0,88	0,92	0,93	0,92
		8	0,89	0,89	0,94	0,94	0,86
		9	0,75	0,88	0,91	0,90	0,76
		10	0,89	0,89	0,94	0,94	0,86
		11	0,96	0,91	0,91	0,95	0,95
		12	*	0,80	0,88	0,83	0,94
	Biowave II, Великобритания	7	0,79	0,92	0,98	0,99	0,81
		8	*	0,98	0,95	0,98	0,95
		9	0,97	0,98	0,95	0,94	0,97
		10	*	0,98	0,95	0,98	0,95
		11	0,93	0,92	0,75	0,52	0,71
		12	*	*	*	0,27	0,20

Примечание: \* данных недостаточно для статистической обработки;

В ходе проведенных исследований установлено, что коэффициент корреляции превышает 0,9 в 34 рядах из 54. Результаты зависимости ФПД от диаметра липосом с использованием предложенной пробоподготовки представлены на рис. 9 и 10.

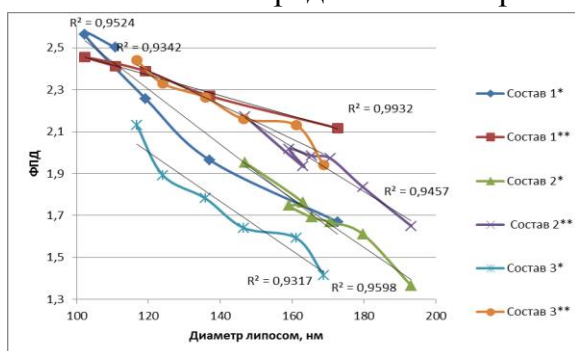


Рис. 9. Графики зависимости ФПД от диаметра липосом в составах 7-9.

Примечание: \* - значения получены на приборе КФК-2;

\*\* - значения получены на приборе Biowave II.

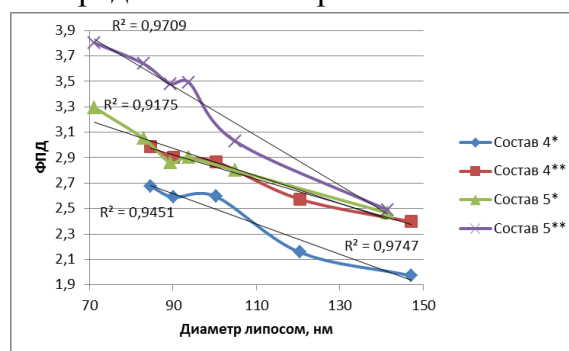


Рис. 10. Графики зависимости ФПД от диаметра липосом в составах 10-11.

Доказанная закономерность позволяет контролировать технологический процесс измельчения липосом в диапазоне значений диаметра от 70 до 200 нм при помощи ФПД с коэффициентом корреляции 0,92-0,99.

Высокая стабильность состава 11 позволяет предположить о формировании липосомального комплекса лецитина с участием гидроксильных групп молекулы ФЭ, подобно фитосомам. С целью доказательства образования комплекса получены ЯМР  $^{31}\text{P}$ -спектры фосфолипидов лецитина и тонкой липидной пленки с серпистеном в дейтерированном хлороформе и диметилсульфоксиде (ДМСО). В спектрах, снятых в хлороформе, видно смещение основного пика с 1,05 м.д. в случае лецитина до 1,20 м.д. для комплекса с серпистеном (рис. 11, 12), что говорит об образовании водородных связей.

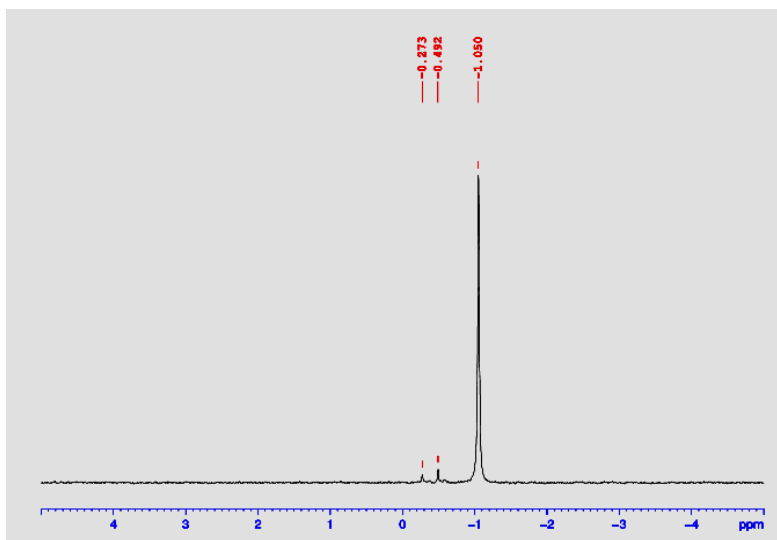


Рис. 11. ЯМР  $^{31}\text{P}$ -спектр лецитина в дейтерированном хлороформе

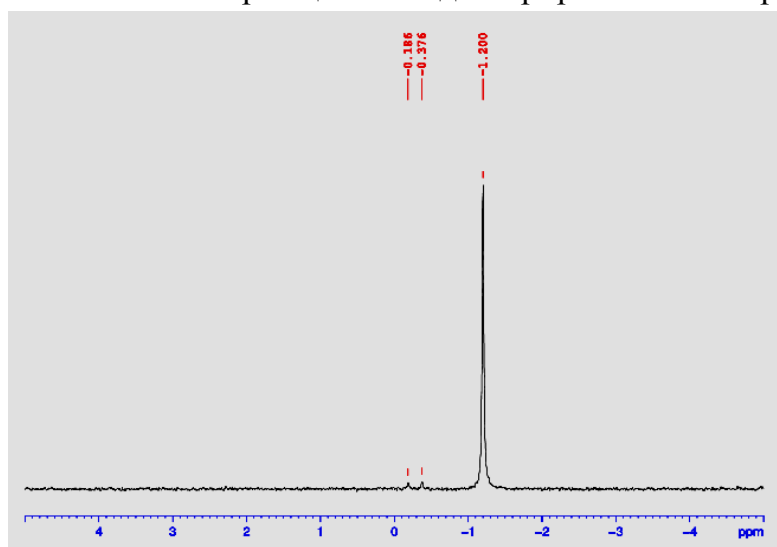


Рис. 12. ЯМР  $^{31}\text{P}$ -спектр комплекса с серпистеном в дейтерированном хлороформе.

Наличие связи подтверждается отсутствием смещения пиков (в области 1,48-1,50) в ДМСО.

Результаты расчетов степени включения серпистена в липосомы обобщены в табл. 9, из которой видно, что степень включения серпистена в липосомы, полученных по разработанной технологии, превышает 88 %.



## Результаты определения степени включения серпистена в липосомы

Введено серпистена в состав липосом, мг	Концентрация серпистена в супернатанте, мг/мл	Обнаружено серпистена в супернатанте, мг	Степень включения серпистена в липосомы, %	Метрологические данные (n=5)
20	0,0752	2,256	88,72	$X_{\text{средн}} = 88,75$ $S^2 = 0,015$ $S_x = 0,054$ $\Delta X = 0,15$ $\varepsilon = 0,17\%$
	0,0763	2,289	88,56	
	0,0744	2,232	88,84	
	0,0743	2,229	88,86	
	0,0748	2,244	88,78	

Хроматограмма супернатанта соответствовала хроматограмме стандартного образца серпистена с четко выраженным пиком, характерным для 20-гидроксиэкдизона (рис. 13).

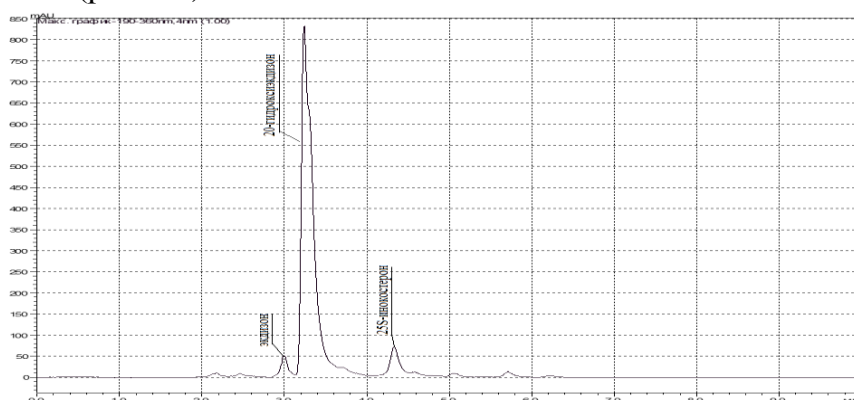


Рис. 13. Хроматограмма супернатанта, содержащего серпистен.

При создании гелевой липосомальной композиции в качестве структурообразателя выбран карбопол марки 940 (Acros, США), который известен широким использованием в технологии липосомальных гелей и своей способностью образовывать в воде устойчивый гель.

Получены 3 состава 0,02 % липосомальных гелей с серпистеном, среди которых наилучшими реологическими параметрами обладал гель с концентрацией карбопола 1,0 %. В результате проведенных исследований определен следующий состав липосомального геля серпистена 0,02 %:

Серпистен	0,02
Яичный лецитин	0,1
Холестерол	0,02
Фосфатный буферный раствор	30 мл
Карбопол марки 940	1,0
Калия гидроксид	0,056
Вода очищенная	До 100,0

Технологическая схема получения липосомального геля серпистена 0,02 % представлена на рис. 14. Получение липосомального геля серпистена включает несколько этапов: приготовление фосфатного буферного раствора, растворение в хлороформно-спиртовом растворе фосфолипида, серпистена, хлороформа, фильтрация полученного раствора, получение тонкой липидной пленки, гидратирование пленки с серпистеном фосфатным буфером, структурирование БМЛ,

гомогенизация, приготовление основы геля, введение суспензии МОЛ с серпистеном в состав геля, гомогенизация геля, фасовка в тубы алюминиевые.

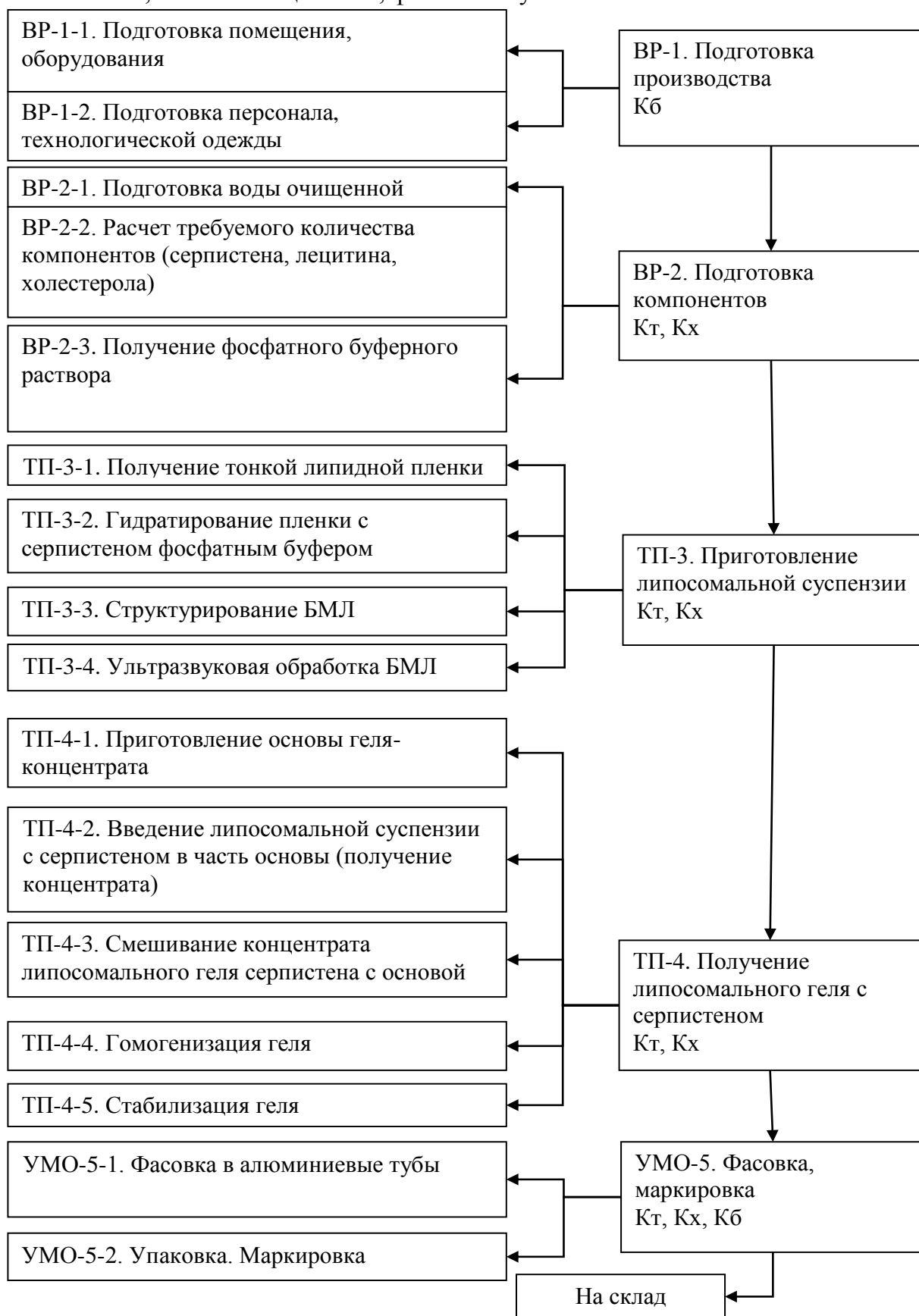


Рис. 14. Технологическая схема 0,02 % липосомального геля с серпистеном.

Суспензия МОЛ с серпистеном имеет следующие показатели: средний диаметр липосом –  $71,1 \pm 20,7$  нм; индекс полидисперсности –  $0,263 \pm 0,030$ ;  $\zeta$ -потенциал –  $(-34,7 \pm 4,5)$  мВ; степень включения серпистена  $88,75 \pm 0,15$  %; ФПД – не менее 3,0. Липосомальный гель с серпистеном характеризуется рН –  $6,35 \pm 0,1$ ; эффективной вязкостью –  $70,0-108,0$  Па\*с.

Стандартизацию липосомальной формы серпистена проводили по показателям качества, представленным в спецификации (табл. 10): внешний вид геля, размер липосом, рН водного извлечения, эффективная вязкость, подлинность, микробиологическая чистота и количественное содержание серпистена, которое проводилось согласно методике, предложенной для мази серпистена.

Таблица 10

Спецификация липосомального геля с серпистеном 0,02 %

ПОКАЗАТЕЛИ	МЕТОДЫ	НОРМЫ
Однородность по внешнему виду	Визуальный	Прозрачный гель
Масса содержимого упаковки	Гравиметрический	Средняя масса содержимого 10 туб должна быть не менее 30 г, масса содержимого каждой тубы должна быть не менее 27 г.
рН водного извлечения	Потенциометрический (ГФ XII, Ч. 1. С. 89-92)	От 6,0 до 6,8
Вязкость	Ротационная вискозиметрия	70,0 – 108,0 Па*с
Идентификация	Спектрофотометрический (ГФ XII, Ч. 1. С. 56-61)	На УФ-спектре поглощения испытуемого раствора, полученного в разделе «Количественное определение», в области 220-350 нм должен иметь максимум при длине волны $250 \pm 2$ нм
	Хроматографический (ГФ XII, Ч. 2. С. 42-48)	Испытуемый раствор в системе растворителей хлороформ-метанол 5:1 на пластинках Silufol UV-254 должен обладать фактором удерживания 0,24
Остаточные растворители	Хроматографический (ГФ XII, Ч. 115-118)	Спирта этилового менее 0,2 %; хлороформа менее 0,02 %
Степень включения серпистена	Хроматографический (ГФ XII, Ч. 53-64)	Степень включения серпистена должна быть не менее 88 %.
ФПД суспензии липосом	Спектрофотометрический (ГФ XII, Ч. 1. С. 56-61)	Фотометрический показатель дисперсности не менее 3,0 и не более 4,0
Количественное определение серпистена	Спектрофотометрический (ГФ XII, Ч. 1. С. 56-61)	Содержание серпистена должно быть 0,18 – 0,22 мг в 1,0 г мази
Микробиологическая чистота	ГФ XII, Ч. 1. С. 160-194.	Категория 2.
Упаковка.	В алюминиевые тубы по 30 г, с контролем первого вскрытия и пластмассовой крышкой. 1 туба с инструкцией по применению помещается в картонную пачку.	
Маркировка	В соответствии с ФСП	
Хранение	При температуре от 2°C до 8°C	
Срок годности	1 год (срок наблюдения)	

Для изучения стабильности при хранении (+2 - +8) °С липосомальный гель с серпистеном анализировали с периодичностью 0,5 года в течение срока наблюдения 1,25 года.

Результаты исследований показали, что показатели качества изменяются в допустимых пределах, липосомальный гель серпистена стабилен в течение 12 месяцев хранения, количественное содержание серпистена находится в диапазоне 0,18-0,22 мг в 1 г геля.

### **Биологические исследования по оценке специфической активности МЛФ с серпистеном**

Биологические эксперименты проводили согласно методическим указаниям для дерматотропных мазей [Миронов, А. В., 2012]. В качестве референтных препаратов использованы мазь «Бепантен» (GP Grenzach Produktions GmbH, Германия) и крем «Актовегин» (Nycomed Austria GmbH, Австрия), которых относят к стимуляторам регенерации тканей.

При оценке местно-раздражающего действия мази серпистена на модели слизистой оболочки глаза кроликов выявлено, что нанесение мази серпистена не вызывает раздражающего действия. Мазь серпистена и крем «Актовегин» оказывают умеренную гиперемии третьего века и дискомфорт при нанесении свыше 3 минут с момента закладывания препарата и открытия глаза кроликом.

Исследование ранозаживляющего действия мази серпистена на модели линейной раны у крыс показало высокую регенерирующую активность серпистена (табл. 10).

Таблица 10

Влияние мази серпистена на прочность рубца

Образцы препаратов	Сила разрыва рубца, Н	
	На 5 сутки	На 7 сутки
Контроль	1,23±0,20	1,93±0,22
Мазь серпистена	2,82±0,40*	5,94±0,41*, **, ***
Основа мази	1,61±0,18	5,48±0,59*, ***
Крем «Актовегин» 5%	3,23±0,17*	4,50±0,48*
Мазь «Бепантен» 5 %	2,29±0,16*	3,35±0,51*

Примечание:

\* – различие достоверно по сравнению с контролем при  $p \leq 0,02$ ;

\*\* – различие достоверно по сравнению с кремом «Актовегин» при  $p \leq 0,05$ ;

\*\*\* – различие достоверно по сравнению с мазью «Бепантен» при  $p \leq 0,05$ .

Применение мази серпистена достоверно увеличивало прочность рубца относительно контроля на 229,3 % на 5-ые сутки наблюдения и на 307,8 % к концу наблюдения. Прочность рубца при использовании мази серпистена на 7-ые сутки после нанесения травмы выше, чем у основы на 8,2 %, на 31,9 % и 77,3 % выше крема «Актовегин» и мази «Бепантен» соответственно.

На модели ожоговой раны у крыс установлено, что в случае использования мази серпистена выживаемость равна 100 %, в то время как в контрольной группе и группе сравнения – 87,5 %. По состоянию раневой поверхности, выраженности

воспаления, мазь серпистена оказывают схожее регенерирующее действие с кремом «Актовегин» (рис. 15).

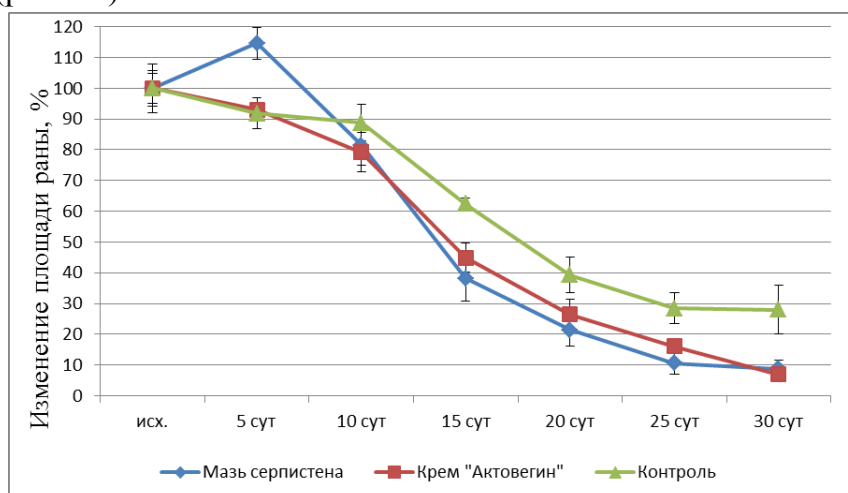


Рис. 15. Динамика заживления ожоговых ран при нанесении мази серпистена.

В ходе оценки местно-раздражающего действия липосомального геля серпистена на слизистой оболочке глаза кроликов установлено, что использование геля не оказывает раздражающего действия. Липосомальный гель серпистена не вызывает гиперемии третьего века. Применение геля является комфортным для животных, т. к. после инстилляции геля кролик сразу же открывает глаза.

Изучение регенерирующей активности липосомального геля с серпистеном выявило (табл. 11), что к концу эксперимента прочность рубца геля серпистена на 76,1 % выше, чем у основы, на 9,4 % и 47,2 % прочнее, чем у крема «Актовегин» и мази «Бепантен» соответственно.

Таблица 11

Влияние липосомального геля с серпистеном на прочность рубца

Образцы препаратов	Сила разрыва рубца, Н	
	На 5 сутки	На 7 сутки
Контроль	1,23±0,20	1,93±0,22
Липосомальный гель серпистена	2,92±0,51*	4,93±0,66*,**
Основа геля	1,94±0,20	2,80±0,32
Крем «Актовегин» 5%	3,23±0,17*	4,50±0,48*
Мазь «Бепантен» 5 %	2,29±0,16*	3,35±0,51*

Примечание:

\* – различие достоверно по сравнению с контролем при  $p \leq 0,02$ ;

\*\* – различие достоверно по сравнению с мазью «Бепантен» при  $p \leq 0,05$ .

При результате проведенного эксперимента на модели термического ожога установлено, что выживаемость в контрольной группе и группе, получавшей крем «Актовегин», составила 87,5 %, в группе, получавшей гель серпистена – 100 %. Данные, представленные на рис. 16, показывают высокую регенерирующую активность липосомального геля с серпистеном, сопоставимую с кремом «Актовегин».

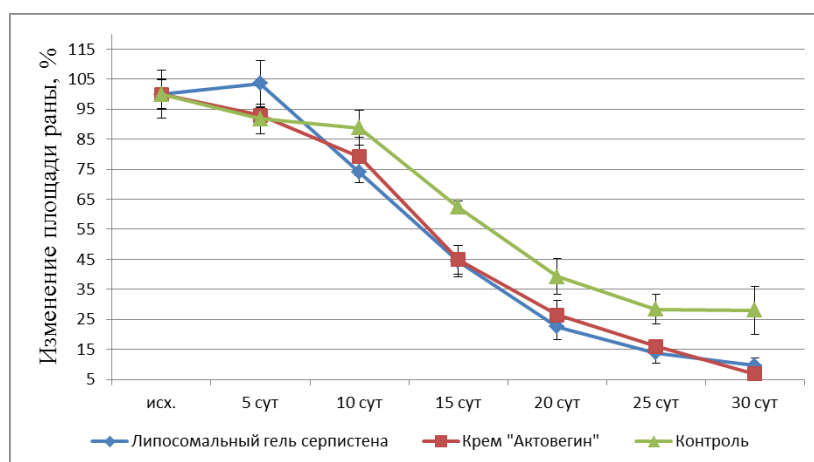


Рис. 16. Динамика заживления ожоговых ран при нанесении липосомального геля с серпистеном.

## ВЫВОДЫ

1. Выполнен комплекс технологических и биофармацевтических исследований по выбору состава мази серпистена. Разработанный состав и технология позволила приблизить водородный показатель мази к рН кожи человека, добиться параметров, входящих в реологический оптимум для дерматологических мазей (0,34–108 Па\*с), и увеличить степень высвобождения серпистена из МЛФ.
2. Разработана методика качественного и количественного определения серпистена в мази спектрофотометрическим способом с открываемостью  $98,85 \pm 3,41$  %. Проведенный статистический анализ установил, что выбранный метод является специфичным, правильным, прецизионным и линейным. Коэффициент корреляции равен 0,997. Изучением стабильности мази серпистена установлен срок годности 24 мес при температуре хранения (+12-+15) °С в алюминиевых тубах (срок наблюдения).
3. Выбран режим гомогенизации, позволяющий получать МОЛ с серпистеном со степенью включения серпистена  $88,75 \pm 0,15$  %, со средним диаметром  $71 \pm 20,7$  нм, индексом полидисперсности  $0,263 \pm 0,030$ ,  $\zeta$ -потенциалом  $(-34,7 \pm 4,5)$  мВ. При помощи ЯМР  $^{31}\text{P}$  спектроскопии доказано образование фитосом с серпистеном. Зависимость между ФПД и диаметром липосом в диапазоне 70-140 нм с коэффициентом корреляции линейности, превышающей 0,95, может быть использована для технологического контроля процесса гомогенизации. Диализом липосомального геля подтверждена стабильность липосомальной структуры.
4. Технологическими и реологическими исследованиями подобран рациональный состав геля, содержащего МОЛ с серпистеном. Теоретически и экспериментально обоснован выбор карбопола 940 в концентрации 1 % в качестве гелеобразователя. Исследование стабильности липосомального геля позволило установить срок годности 12 мес при температуре хранения +2 - +8 °С в алюминиевых тубах (срок наблюдения).
5. Установлено, что липосомальный гель с серпистеном при инстиляции в конъюнктивальный мешок не вызывает ощущения дискомфорта у кроликов. На модели линейной раны установлено, что прочность рубца мази серпистена на 8,2 % выше, чем у основы, в случае липосомального геля – на 76,1 %. Изучение

регенерирующего действия на модели термического ожога выявило, что по динамике заживления, выраженности воспаления мазь и липосомальный гель с серпистеном не уступают крему Актовегин.

6. Предложены рациональные технологические схемы и контролируемые параметры критических стадий получения мази и липосомального геля серпистена. Разработаны проект ФСП и лабораторный регламент на производство мази серпистена 0,02 %, которые апробированы на базе ОАО «Татхимфармпрепараты» (акт внедрения от 24 марта 2015 г).

#### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Молохова, Е. И. Репаративные свойства фитоэкдистероидной фракции Серпухи венценосной / Е. И. Молохова, Д. Е. Липин, С. В. Чащина // Химия и технология растительных веществ: тез. докл. VII Всерос. науч. конф. – Сыктывкар, 2011. – С. 102–103.
2. Перспективы развития наружных лекарственных форм на основе фитоэкдистероидов / Е. И. Молохова, В. В. Володин, Д. Е. Липин [и др.] // Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 75-летию ПГФА, Пермь, 7–9 дек. 2011 г. – Пермь, 2011. – С. 108–110.
3. Поиск состава мазевой композиции с фитоэкдистероидами. Сообщение 1. Реологические исследования / Е. И. Молохова, Д. Е. Липин, Ю. В. Сорокина, В. В. Володин // «Сандеровские чтения», посвящ. памяти выдающегося отечеств. учен. в обл. технологии лекарств Ю. К. Сандера: сб. науч. тр. междунар. науч.–метод. конф. – Санкт-Петербург, 2012. – С. 116–119.
4. **Molokhova, E. Biopharmaceutical aspects of the development of an ointment composition phytoecdisteroids / E. Molokhova, V. Volodin, D. Lipin // Обзоры по клин. фармакологии и лекарств. терапии. Материалы XVI международного конгресса Фитофарм.– 2012. – Т. 10, Вып. 2. – С. 78.**
5. Левочкина, Н. А. Выбор аналитической длины волны для количественного определения суммы фитоэкдистероидов / Н. А. Левочкина, Д. Е. Липин // Молодая фармация – потенциал будущего : сб. материалов III Всерос. науч. конф. студентов и аспирантов с междунар. участием. – Санкт-Петербург, 2013.– С. 184–185.
6. Липин, Д. Е. Определение параметров для количественного определения суммы фитоэкдистероидов в лекарственных формах / Д. Е. Липин, Н. А. Левочкина // Вестн. Перм. гос. фармац. акад. – 2013. – № 10. – С. 84–85.
7. **Молохова, Е. И. Выбор композиции для ранозаживляющей мази на основе фитоэкдистероидов / Е. И. Молохова, Д. Е. Липин, В. В. Володин // Современ. проблемы науки и образования. – 2014. – № 1; URL: [www.science-education.ru/115-11986](http://www.science-education.ru/115-11986) (дата обращения: 06.02.2014).**
8. Перспективы использования крема с фитоэкдистероидами для лечения ожогов / Д. Е. Липин, Е. И. Молохова, С. В. Чащина, С. А. Поспелов // Современная фармация: образование, наука, бизнес: сб. материалов межрегион. науч. – практ. конф. с

междунар. участием, посвящ. 50-летию фармац. факультета. – Тюмень, 2014. – С. 181–182.

9. Нигамаева, Л. Ф. Обоснование состава мази с «Серпишеном» для детей / Л. Ф. Нигамаева, Д. Е. Липин, Ю. В. Сорокина // Вестн. Перм. гос. фармац. акад. – 2014. – № 12. – С. 149–151.

10. Молохова, Е. И. Получение и оценка качества липосомальных носителей для трансдермальных средств / Е. И. Молохова, Д. Е. Липин, А. В. Иванов // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Серия медицина. Фармация. – 2014. – Вып. 28, № 24. – С. 177–180.

**Липин Даниил Евгеньевич (Россия)**

**Разработка технологии и стандартизация мягких лекарственных форм, содержащих фитостероиды *Serratula coronata* L.**

Технологическими и биофармацевтическими исследованиями разработана технология 0,02 % мази серпишена на дифильной основе. Установлены валидационные характеристики количественного определения серпишена в мази. В опытах на животных мазь серпишена оказывала регенерирующие свойства сопоставимые с аналогичными коммерческими препаратами.

Методами гидратации тонкой липидной пленки и ультразвуковой обработкой получены малые однослойные липосомы с серпишеном, обладающие следующими параметрами: средний диаметр –  $71,1 \pm 20,7$  нм; индекс полидисперсности –  $0,263 \pm 0,030$ ;  $\zeta$ -потенциал –  $(-34,7 \pm 4,5)$  мВ. При помощи ЯМР  $^{31}\text{P}$  спектроскопии доказано образование фитосом с серпишеном. Показана высокая степень включения серпишена в фитосомы ( $88,75 \pm 0,15$  %). Введение липосом с серпишеном в 1 % гель карбопола 940 позволило получить липосомальный гель с серпишеном по регенерирующей активности превосходящие базовые препараты. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о перспективности использования мази и липосомального геля с серпишеном в качестве регенерирующих препаратов.

**Lipin Daniel (Russia)**

**The development of technology and standardization of mild drug formulations containing phytoecdysteroids of *Serratula coronata* L.**

By technological and biopharmaceutical investigations the technology of 0,02 % serpisten ointment based on amphiphilic nature has been developed. The validation characteristic of serpisten quantitative determination in the ointment has been established. In experiments on animals the ointment based on serpisten revealed regenerating properties comparable with similar commercial preparations.

By thin lipid film hydration method and sonication small unilamellar liposomes with serpisten having following parameters: average diameter –  $71,1 \pm 20,7$  nm; polydispersity index -  $0,263 \pm 0,030$ ;  $\zeta$ -potential -  $(-34,7 \pm 4,5)$  mV are obtained. Using  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy the formation a phytosomes with serpisten has been demonstrated. Serpisten loaded phytosomes showed higher encapsulation efficiency ( $88,75 \pm 0,15$  %). Serpisten loaded phytosomes incorporated in 1 % gel of carbopol 940 is allowed to obtain the liposomal gel with serpisten which regenerating activity is exceeded basic preparations. The results of performed studies suggest about prospective usage ointment and liposomal gel with serpisten as regenerating medicines.