

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Крюкова Анна Ігорівна

УДК: 615.11:615.322:615.072

ДИСЕРТАЦІЯ

**Розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування
при ревматичних захворюваннях суглобів**

15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

А.І. Крюкова

Науковий керівник Владимирова Інна Миколаївна, доктор фармацевтичних наук,
доцент

Харків – 2019

АНОТАЦІЯ

Крюкова А.І. Розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів. – Кваліфікаційна праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 «Стандартизація та організація виробництва лікарських засобів». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2019.

Дисертаційна робота присвячена розробці та стандартизації комбінованих рослинних засобів – капсул «Остеоверт» та збору «Ревмаверт»; фітохімічному вивченню та стандартизації лікарської рослинної сировини – гарпагофітуму лежачого корені, софори японської квітки, софори японської плоди, софори японської бутони, квасолі звичайної стулки плодів; одержанню та стандартизації гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого; дослідженню протизапальної та аналгетичної активності отриманих засобів.

За представленими у роботі результатами проведеного аналітичного огляду сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату, встановлено наявність 18 торгових найменувань у різних лікарських формах. Серед яких найбільшу частку займають таблетки (42,4 %), розчини для ін'єкцій та краплі для перорального застосування займають 24,2 % та 9,1 % відповідно, м'які лікарські форми представлені мазями та гелями (по 6,1 %), інші лікарські форми (капсули, гранули) представлені незначною часткою. У даній групі лікарських засобів (ЛЗ) переважаючу частку займають гомеопатичні препарати (34,6 %) та хондропротектори (26,9 %).

Досліджено асортимент добавок дієтичних (ДД), що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату, який, в основному, представлений засобами імпортного виробництва. Серед монокомпонентних – «Ревмафіт» і «Босвелін» містять екстракти гарпагофітуму лежачого та босвелії відповідно; комбіновані з синтетичним хондропротектором метілсульфонілметаном – «Картіліум» і «Артромакси-

мум 5 днів» та багатокомпоненті рослинні ДД – «Ревмагерб», «Ревмасол», «Артроведа», «Котячий кіготь екстра плюс».

Обґрунтовано вибір рослинних об'єктів, перспективних для розробки на їх основі фітотерапевтичних засобів – софори японської бутони, квітки, плоди; гарпагофітуму лежачого корені; квасолі звичайної стулки плодів; напівпродукт – гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий; готові лікарські форми – добавка дієтична у вигляді м'яких желатинових капсул «Остеоверт» та рослинний збір «Ревмаверт».

Проведено дослідження сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності до вимог монографій Європейської фармакопеї (ЄФ) «*Sophora Flower-buds*», «*Sophora Flower*», «*Devil's claw Root*» із апробації методик контролю якості монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки» та ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» відповідно. Визначено якість сировини софори японської бутони та софори японської квітки за такими показниками як ідентифікація, що включає макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки, тонкошарову хроматографію (визначення рутину та гіперозиду); показники якості (втрата в масі при висушуванні, загальна зола, сторонні домішки); кількісне визначення (вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин, вміст рутину). Визначено якість сировини гарпагофітуму лежачого коренів за такими показниками як ідентифікація, що включає макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки, тонкошарову хроматографію (визначення гарпагозиду та фруктози); показники якості (втрата в масі при висушуванні, сторонні домішки, крохмаль); кількісне визначення (вміст гарпагозиду). Результати досліджень були використані при розробці монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки», ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені», які представлені без введення додаткових національних частин.

Проведено дослідження сировини софори японської плоди та квасолі звичайної стулки плодів з розробки проектів національних монографій ДФУ «Софори плоди^N» і «Квасолі звичайної стулки плодів^N». Досліджено якість сировини софори японської плоди за такими показниками як ідентифікація, що включає макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки, тонкошарову хроматографію (визначення рутину та гіперозиду); показники якості (втрата в масі при висушуванні, загальна зола, сто-

ронні домішки); кількісне визначення (вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин). Розроблено проект національної монографії ДФУ «Квасолі звичайної стулок плодів^N» за такими показниками: макроскопія, мікроскопія, ідентифікація методом ТШХ (аргінін, глютамінова кислота), сторонні домішки (почорнілі з обох сторін стулки плодів не більше 8,0 %, інші частини рослини не більше 3,0 %), втрата в масі при висушуванні (не більше 15,0 %), загальна зола (не більше 10,0 %), вміст екстрактивних речовин (не менше 15,0 %), кількісне визначення (вміст амінокислот у перерахунку на аргінін не менше 0,03 %). На основі отриманих даних розроблено інформаційний лист про нововведення у системі охорони здоров'я № 22-2018 «Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії».

Методом атомно-емісійної спектрографії був визначений вміст 12 макро- та мікроелементів у софорі бутонів, софорі квітках, гарпагофітуму лежачого кореня та квасолі звичайної стулок плодів. Вміст макро- і мікроелементів у софори квітках переважав їх вміст у софори бутонів. Софора характеризувалась високим вмістом кровотворних мікроелементів: феруму – 23,00 мг/100г у квітках та 7,40 мг/100 г у бутонів і купруму – 0,65 мг/100г у квітках і 1,55 мг/100г у бутонів. У гарпагофітуму лежачого кореня серед макроелементів переважали калій (800 мг/100 г), серед мікроелементів – залізо (24 мг/100 г). У квасолі звичайної стулок плодів серед макроелементів переважали калій (2520,00 мг/100 г), серед мікроелементів сіліцій – 335,00 мг/100 г.

Методом ВЕРХ у гарпагофітуму лежачому кореня визначений вміст амінокислот. Встановлений переважний вміст загальних амінокислот (14,43 мкг/мг) у порівнянні з вмістом вільних амінокислот (2,21 мкг/мг). Мажоритарними компонентами вільних амінокислот є – аргінін та аспарагінова кислота, їх вміст складав – 1,55 мкг/мг та 0,26 мкг/мг відповідно. Найбільша частка від суми зв'язаних амінокислот припадала на глютамінову, аспарагінову кислоти та пролін та складала – 2,76 мкг/мг, 1,26 мкг/мг та 1,03 мкг/мг відповідно. Кількісний вміст амінокислот після повного гідролізу зростав у 6,5 раз, що свідчило про переважний вміст амінокислот у зв'язаному стані.

Методом ГХ-МС у гарпагофітуму лежачому коренях було виявлено 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів. Домінантними є пропіонова, стеаринова та пальмітинова кислоти (2,08 мг/г, 1,17 мг/г та 0,89 мг/г відповідно). Серед незамінних кислот найважливішою є ліолева, яка входить до складу клітинних мембран, бере участь в обміні речовин. У гарпагофітуму лежачому коренях встановлено, що у кількісному співвідношенні переважали *n*-гексадеканова кислота (29,92 мг/кг), 9,12-октадекаденієнова кислота (21,39 мг/кг) та пентакозан (5,85 мг/кг). Ідентифіковані хімічні сполуки представлені групами: ароматичні вуглеводні, складні естери, алкани та алкени.

Методом ГХ-МС у гарпагофітуму лежачому коренях встановлена наявність та визначено кількісний вміст 18 моносахаридів після кислотного гідролізу. Основними з яких визначені глюкоза – 64,12 мг/кг, галактоза – 77,98 мг/кг, рамноза – 4,38 мг/кг, арабіноза – 3,80 мг/кг, ксилоза – 2,33 мг/кг. Після гідролізу значно збільшився вміст галактози та глюкози.

Методом ВЕРХ з мас-спектрометричним детектуванням у п'яти зразках квасолі звичайної стулках плодів ідентифіковано наявність 14 амінокислот, з них 6 незамінних: валін (від 0,34 до 1,91 мкг/100 мг), *DL*-метіонін (від 0,02 до 0,43 мкг/100 мг), *L*-лізін (від 0,19 до 0,74 мкг/100 мг), *DL*-фенілаланін (від 0,14 до 0,94 мкг/100 мг), *DL*-лейцин (від 0,28 до 1,24 мкг/100 мг), ізолейцин (від 0,21 до 1,22 мкг/100 мг). Серед заміненних амінокислот за кількісним вмістом у всіх зразках сировини переважали глютамінова кислота (від 1,60 до 5,56 мкг/100 мг), *L*-аланін (від 1,41 до 2,23 мкг/100 мг), *L*-аргінін (від 0,65 до 2,12 мкг/100 мг). Мінорними амінокислотами були *D*-серин (від 0,04 до 0,13 мкг/100 мг), *DL*-метионін (від 0,02 до 0,43 мкг/100 мг).

З метою визначення та підвищення ефективності процесу екстрагування і визначення витратних норм сировини та екстрагента для гарпагофітуму лежачого коренів визначені технологічні параметри: подрібненість ($3-5 \pm 0,03$ мм), об'ємна маса ($0,83 \pm 0,03$ г/см³), насипна маса ($0,50 \pm 0,02$ г/см³), питома маса ($1,40 \pm 0,02$ г/см³), пористість сировини ($1,69 \pm 0,03$ г/см³), нарізність сировини ($0,40 \pm 0,02$ г/см³), вільний об'єм шару ($2,01 \pm 0,04$ г/см³), коефіцієнт поглинання води ($1,02 \pm 0,04$ мл/г), коефіцієнт поглинання етанолу 20 %, 80 % – $1,09 \pm 0,04$ мл/г та $0,69 \pm 0,02$ мл/г відповідно.

Проведені дослідження з обґрунтування вибору оптимального екстрагенту для отримання гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого. За отриманими результатами визначено, що найбільший вихід екстрактивних речовин відбувався під час екстрагування протягом 2 год із застосуванням лопатевої мішалки при використанні в якості екстрагента спирту етилового 20 %; кількісний вміст гарпагозиду в отриманому екстракті становив $2,54 \pm 0,02$ %.

Отримано гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий та визначені параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ: опис, ідентифікація гарпагозиду та фруктози методом ТШХ, втрата в масі при висушуванні, вміст важких металів, мікробіологічна чистота, кількісне визначення гарпагозиду (не менше 1,2 %). Для отриманого сухого екстракту визначені фармако-технологічні показники.

Для гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого вивчені анальгетична та протизапальна активності на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів. Препаратом порівняння був обраний зареєстрований в Україні засіб «Фонг Те Тхап» (виробник «ЛТД «ФІТО ФАРМА Ко.», В'єтнам), що представляє собою гарпагофітуму коренів настойку. Встановлено, що гарпагофітуму коренів екстракт сухий у дозі 1500 мг/кг (що відповідає не менше ніж 37 мг/кг гарпагозиду) мав більш виражені анальгетичні та протизапальні властивості у порівнянні з референтним засобом.

Вперше розроблено добавку дієтичну комбінованого складу «Остеоверт», визначені її параметри стандартизації та розроблено методики контролю якості.

Розроблено склад та технологічну схему виробництва нового рослинного збору «Ревмаверт», що містить гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*), софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*), квасолі звичайної ступки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), споришу звичайного трава (*Polygoni avicularis herba*) (50:20:20:10), який захищено патентом України на корисну модель № 129448 «Рослинний збір з анальгетичною та протизапальною активністю». У відповідності до вимог ДФУ, визначені параметри стандартизації та показники якості збору: макро- та мікрокопічні діагностичні ознаки компонентів збору, ідентифікація з визначенням речовин-маркерів компонентів збору методом ТШХ, втрата в масі

при висушуванні ($9,46 \pm 0,29$ %), зола загальна ($4,53 \pm 0,32$ %), вміст екстрактивних речовин, що екстрагуються водою ($55,24 \pm 0,02$ %), кількісний вміст суми амінокислот у перерахунку на аргінін ($0,36 \pm 0,01$ %), вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин ($4,93 \pm 0,01$ %), вміст гарпагозиду ($0,41 \pm 0,01$ %).

Вивчено вплив режиму настоювання розробленого збору на якість одержаних водних витягів протягом 15, 30, 45, 60 хв та до повного охолодження. Встановлено, що оптимальним є настоювання збору протягом 60 хв, оскільки вміст екстрактивних речовин та флавоноїдів в отриманому водному витязі був найбільшим і складав $49,57 \pm 0,52$ % та $0,52 \pm 0,03$ % відповідно.

Для розробленого рослинного збору «Ревмаверт» досліджена анальгетична та протизапальна активності на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів та встановлено, що рослинний збір у дозі 11,3 мл/кг (що відповідає не менше ніж 37,0 мг/кг гарпагозиду) мав виражені анальгетичні та протизапальні властивості.

Ключові слова: гарпагофітум лежачий, софора японська, квасоля звичайна, корені, плоди, квітки, бутони, стулки плодів, екстракт, капсули, збір, речовини-маркери, стандартизація, протизапальна активність, анальгетична активність.

Список публікацій здобувача

1. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату. ScienceRise. Фармацевтичні науки. 2015. № 10/4 (15). С. 24-31. *(особистий внесок – проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у написанні статті).*
2. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Визначення діагностичних морфолого-анатомічних ознак плодів софори японської та їх стандартизація. Фітотерапія. Часопис. 2015. № 3. С. 48–51 *(особистий внесок - підготовка лікарської сировини до аналізу, обробка отриманих експериментальних даних, участь у написанні статті).*
3. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація квіток софори японської за макроскопічними та мікроскопічними ознаками. Фітотерапія.

- Часопис. 2016. № 1. С. 42–45 (особистий внесок – підготовка лікарської сировини до аналізу, участь у проведенні експериментальних досліджень, участь у написанні статті).*
4. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація стулок квасолі звичайної за макро– та мікроскопічними ознаками. *ScienceRise. 2016. № 2/4 (19). С. 32–37(особистий внесок – підготовка лікарської сировини до аналізу, участь у проведенні експериментальних досліджень, участь у написанні статті).*
 5. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Софори квітки», «Софори бутони». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. 2017. № 4 (52). С. 12–19 (особистий внесок - проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, підготовка статті до друку).*
 6. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Гарпагофітуму лежачого корені». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. 2018. № 1 (53). С. 6–13 (особистий внесок - проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, підготовка статті до друку).*
 7. Kriukova A. I., Vladymyrova I. M. The study of the technological and microbiological parameters of a dietary supplement «Osteovert». *Vіsник Farmacії. 2018. № 2 (94). Р. 41–47 (особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, участь у написанні статті).*
 8. Kriukova A., Vladymyrova I. Determination of technological parameters and indicators of the quality of new herbal collection. *EUREKA: Health Sciences. 2018. № 6. Р. 61-68 (особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, участь у написанні статті).*

9. Рослинний збір з аналгетичною та протизапальною активністю : пат. 129448 України № u201805966; заявл. 29.05.18 ; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 20. (*особистий внесок – участь у патентному пошуку, плануванні та проведенні експериментальних досліджень та оформленні матеріалів*).
- 10.Крюкова А. І., Губарь С. М., Владимірова І. М. Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії : інформ. лист № 222018 / Український центр наукової медичної інформації та патентноліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. Вип. 4. 4 с. (Рішення ПК «Фармація» Протокол № 103 від 25.10.2017 р.).
- 11.Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Мартиния душистая перспективное растение для создания лекарственных средств. *Наука в современном мире* : I Междунар. науч. практ. конф. для студентов, аспирантов и молодых ученых, 19 сент. 2015 г. К., 2015. С. 65–66.
- 12.Крюкова А. И, Владимірова И. Н. Анализ лекарственных средств, содержащих гарпагофитум. *Vestnik*. 2015. Т. IV, № 4 (73) : Перспективы развития биологии, медицины и фармации : III междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, 9–10 дек. 2015 г. С. 115–117.
- 13.Kriukova A., Vladimirova I. The application by thinlayer chromatography for the standardization of Sophora Flower. *Ceska a slovenska farmacie*. 44-th Conference drug synthesis and analysis, Brno, 2th to 4th September 2015. Part 3. 2016. С. 34–35.
- 14.Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Макроскопический анализ бутонов софоры японской. *Университетская наука: взгляд в будущее* : материалы междунар. науч.–практ. конф., посвящ. 81–летию Курского гос. мед. ун–та и 50–летию фармац. ф–та, г. Курск, 4–5 февр. 2016 г. Курск : ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, 2016. Т. III. С. 56–59.
- 15.Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Изучение минерального состава створок фасоли обыкновенной. *IV International scientific conference of young researchers*. Baku, Azerbaijan, 29–30 April, 2016. Baku, 2016. С. 261–262.

- 16.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Вивчення мінерального складу коренів гарпагофітуму лежачого (*Harpagophytum procumbens* DS.). *Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації* : Всеукр. наук.–практ. конф., м. Вінниця, 16 берез. 2016 р. Вінниця, 2016. С. 72–74.
- 17.Kriukova A., Vladymyrova I. The definition of numeric indicators for the root of *Harpagophytum procumbens*. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of xxiii international scientific and practical conference of young scientists and student, Kharkiv, April 21, 2016. Kharkiv, 2016. Vol. 1. P. 188.
- 18.Крюкова А. І., Серая Л. М., Владимірова І. М. Изучение макроскопических признаков корня *Harpagophytum procumbens* DC. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : II Міжнарод. наук.–практ. internet–конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. Х., 2016. С. 144–145.
- 19.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Ідентифікація флавоноїдів пуп'янок софори японської. *Інновації в медицині* : 85–а наук.–практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, м. Івано–Франківськ, 24–25 берез. 2016 р. Івано–Франківськ, 2016. С. 236–337.
- 20.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Ідентифікація біологічно активних речовин коренів гарпагофітуму лежачого. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24-25 берез. 2016 р. Х., 2016. С 158–159.
- 21.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Питання стандартизації стулок квасолі звичайної за вмістом амінокислот. *Хімія природних сполук* : матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 21-22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 121–122.
- 22.Kriukova A., Vladymyrova I. The macroscopic study of *Sophora Japonica* flowers. *Be in progress 2* : International Conference of Pharmacy Students, Lublin, April 21–25 2016. Lublin, 2016. P. 6.
- 23.Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М. Розробка методики ідентифікація амінокислот стулок квасолі звичайної. *Науково-технічний прогрес і оп-*

- тимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 56.
- 24.Kriukova A., Vladimirova I. Quantitative determination of carbohydrates in radix harpagophytum procombens. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student, April 20, 2017. – Kh. : Publishing Office NUPh, 2017. – Vol. 1. – P.87.
 - 25.Kriukova A., Vladymyrova I. GCMS determination of chemical constituents of Radix Harpagophytum procumbens DS. *Technology transfer: innovative solutions in medicine* : proceedings of the 1–st Annual Conference, Tallinn, Estonia, 26 October 2017. Tallinn, 2017. P. 52–54.
 - 26.Kriukova A., Vladymyrova I. The element composition study of Sophora Japonica. *Topical problems of modern science* : II International Scientific and Practical Conference, Warsaw, Poland, 18 November, 2017. Warsaw, 2017. Vol. 5. P. 53–54.
 - 27.Крюкова А.І., Владимірова І. М. Визначення технологічних параметрів коренів гарпагофітуму лежачого (Harpagophytum procombens DC). *XXI міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60–річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України*. Тернопіль, 2017. С. 244.
 - 28.Kriukova A., Vladymyrova I., Tishakova T. Rationale for choosing of extraction solvent for obtaining liquid extract from the roots of Harpagophytum Procumbens DC. *Innovations and prospects in pharmaceutical practice* : Fourth Pharmaceutical Business Forum and Scientific and Practical Conference, Varna, October 27–29, 2017. Varna, 2017. P. 37.
 - 29.Kriukova A., Vladymyrova I., Gubar S. Development of standardization parameters of herbal species. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student, Kharkiv, April 18–20, 2018. Kharkiv : NUPh, 2018. P. 22.

- 30.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Вивчення показників безпечності добавки дієтичної «Остеоверт». *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів та дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали І Міжнарод. наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 5 квіт. 2018 р. Х., 2018. С. 71–72.

ANNOTATION

Kriukova A. Development and standardization of combined plant drugs for use in rheumatic diseases of the joints. - Qualification work on the rights of the manuscript.

Thesis for a Ph.D. in Pharmaceutical Sciences by specialty 15.00.03 "Standardization and organization of the manufacture of drugs". - National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The dissertation is devoted to the development and standardization of combined plant products - capsules "Osteovert" and herbal collection "Rheumavert"; phytochemical study and standardization of medicinal plant material – devil's claw roots, *Sophora japonica* flowers, *Sophora japonica* fruits, *Sophora japonica* buds, common bean fruits; obtaining and standardizing the dry extract of the devil's claw roots; the study of anti-inflammatory and analgesic activity of the received drugs.

According to the results of the conducted analytical review of modern drugs of plant origin, used in diseases of the musculoskeletal system, the existence of 18 trade names in different dosage forms has been established. Among those, the largest share is taken by tablets (42.4%), injectable solutions and drops for oral use occupy 24.2% and 9.1% respectively, soft forms are presented with ointments and gels (6.1%), other dosage forms (capsules, granules) are insignificant. In this group of medicines the dominant share is occupied by homeopathic preparations (34.6%) and chondroprotectors (26.9%).

The range of dietary supplements (DS) used in diseases of the musculoskeletal system, which is represented mainly by drugs of imported production, was researched. Among the monocomponent - "Revmafit" and "Boswellin" contain extracts of devil's claw and bosvelia respectively; combined with synthetic chondroprotectomers, methylsulfon-

ylmethane - "Kartilium" and "Arthromaximum 5 days" and multicomponent plant DS - "Revmaherb", "Revmasol", "Artroveda", "Cat's claw extra plus".

The choice of plant objects promising for the development on their basis of phytotherapeutic drugs - *Sophora japonica* buds, flowers, fruits is substantiated. devil's claw root; common bean fruit's glume; semi-finished product - the dry extract of the devil's claw roots; ready dosage forms - diet supplement in the form of soft gelatin capsules "Osteovert" and herbal collection "Rheumavert".

The research of the raw materials of the *Sophora japonica* buds, *Sophora japonica* flowers and devil's claw roots in accordance with the requirements of the monographs of the European Pharmacopoeia (EP) "Sophora Flower-buds", "Sophor Flower", "Devil's claw root" on approbation of methods for quality control monographs, SPHU 2.1 "Sophora buds", "Sophora flowers" and SPHU 2.0 "Devil's claw root" respectively. The quality of the raw materials of the *Sophora japonica* buds and *Sophora japonica* flowers is determined by indicators such as identification, including macroscopic and microscopic diagnostic features, thin-layer chromatography (determination of routine and hyperoside); quality indices (mass loss during drying, total ash, related substances), quantitative determination (content of flavonoids in terms of routine, content of routine). The quality of the raw materials of devil's claw roots is determined according to indicators such as identification, which includes macroscopic and microscopic diagnostic features, thin layer chromatography (definition of garpagoside and fructose); quality outcomes (loss in mass during drying, foreign impurities, starch), quantitative significance (the content of harpagoside). The results of the research were used in the development of monographs of the SPHU 2.1 "Sophora japonica buds", "Sophora japonica flowers", SPHU 2.0 "Devil's claw root", which are presented without the introduction of additional national units.

The research of raw materials of *Sophora japonica* fruits and common bean fruit's glumes for the development of projects of national monographs SPHU "Sophora fruits"^N and "Common bean fruit's glumes"^N were conducted. The quality of *Sophora japonica* fruits raw materials is studied, with identification as including macroscopic and microscopic diagnostic signs, thin layer chromatography (determination of routine and hyperoside); quality indices (mass loss during drying, total ash, related substances); quantita-

tive determination (the content of flavonoids in terms of routine). The project of the SPHU national monograph "Common bean fruit's glumes^N" was developed on the following indicators: macroscopy, microscopy, HPLC identification (arginine, glutamic acid), related substances (blackened on both sides of the glumes not more than 8.0%, other parts of the plant not more 3.0%), mass loss at drying (not more than 15.0%), total ash (not more than 10.0%), extractives content (not less than 15.0%), quantitative determination (amino acid content in recalculation for arginine not less than 0.3%). On the basis of the received data, an information letter on innovations in the health care system No. 22-2018 "Quantitative determination of the sum of amino acids in the common bean fruit's glumes by the method of spectrophotometry" was developed.

The method of atomic emission spectroscopy determined the content of 15 macro- and microelements in a *Sophora japonica* buds, a *Sophora japonica* flowers, devil's claw roots and common bean fruits. The content of macro- and micronutrients in the *Sophora* flowers predominated their content in the *Sophora* buds. The *Sophora* was characterized by a high content of hematopoietic cells: Ferrum - 23.00 mg / 100 g in flowers and 7.40 mg / 100 g in buds and Cuprum - 0.65 mg / 100 g in flowers and 1.55 mg / 100 g in buds. In devil's claw roots among the macroelements, Potassium (800 mg / 100 g) was dominant, among the trace elements – Ferrum (24 mg / 100 g). In the common bean fruit's glumes, among the macro-elements, there were Potassium (2520.00 mg / 100 g) and Silicon - 335.00 mg / 100g.

The HPLC method determines the content of amino acids in the devil's claw roots. The predominant content of bond amino acids (14.43 µg / mg) was determined in comparison with the content of free amino acids (2.21 µg / mg). Majority components of free amino acids are arginine and aspartic acid, their content was -1.55 µg / mg and 0.26 µg / mg, respectively. The largest proportion of the amount of bond amino acids was on glutamine, aspartic acid and proline, and comprised 2.76 µg / mg, 1.26 µg / mg and 1.03 µg / mg, respectively. The quantitative content of amino acids after complete hydrolysis increased by 6.5 times, indicating a predominant amino acid content in the bond state.

The method of GC-MS in devil's claw roots revealed 19 carboxylic acids, derivatives of alkanes and alkenes. Dominating is propionic, stearic and palmitic acid (2.08 g / g,

1.17 mg / g and 0.89 mg / g, respectively). Among the essential acids, the most important is linoleic, which is part of cell membranes, is involved in the metabolism. In devil's claw roots, it was found that in the quantitative ratio dominance-hexadecanoic acid (29.92 mg / kg), 9,12-octadecandenic acid (21.39 mg / kg) and pentacosan (5.85 mg / kg). Identified chemical compounds are represented by the groups: aromatic hydrocarbons, complex esters, alkanes, and alkenes.

The GC-MS method in devil's claw roots has established the presence and defined quantitative content of 18 monosaccharides after acid hydrolysis. The main ones are glucose 64.12 mg / kg, galactose 77.98 mg / kg, rhamnose - 4.38 mg / kg, arabinoza - 3.80 mg / kg, xylose - 2.33 mg / kg. After hydrolysis, the content of galactose and glucose increased significantly.

The HPLC method with mass spectrometric detection in five common bean fruit's glumes identifies the presence of 14 amino acids, of which 6 are irreplaceable: valine (from 0.34 to 1.91 μg / 100 mg), DL-methionine (from 0.02 to 0.43 μg / 100 mg), L-lysine (from 0.19 to 0.74 μg / 100 mg), DL-phenylalanine (0.14 to 0.94 μg / 100 mg), DL-leucine (from 0.28 to 1.24 μg / 100 mg), isoleucine (0.21 to 1.22 μg / 100 mg). Among the replaceable amino acids, glutamic acid (from 1.60 to 5.56 μg / 100 mg), L-alanine (from 1.41 to 2.23 μg / 100 mg), L-arginine (from 0.65 to 2.12 μg / 100 mg). Minor amino acids were D-serine (0.04 to 0.13 μg / 100 mg), DL-methionine (0.02 to 0.43 μg / 100 mg).

In order to determine and increase the efficiency of the extraction process and the determination of the consumable norms of the raw material and the extractant for the devil's claw roots, the technological parameters were determined: crushing (3.5 ± 0.03 mm), bulk density (0.83 ± 0.03 g / cm^3), specific density (0.50 ± 0.02 g / cm^3), specific gravity (1.40 ± 0.02 g / cm^3), porosity of raw material (1.69 ± 0.03 g / cm^3), variety of raw materials (0.40 ± 0.02 g / cm^3), free volume of the layer (2.01 ± 0.04 g / cm^3), the absorption coefficient of water (1.02 ± 0.04 ml / g), ethanol absorption coefficient (20%, 80% v / v) – 1.09 ± 0.04 ml / g and 0.69 ± 0.02 ml / g, respectively.

Studies have been done to substantiate the choice of an optimal extractant for the production of the dry extract of the devil's claw roots. On the basis of the obtained results, it was determined that the highest yield of extractives was obtained during extraction for 2

hours using a blender mixer using 20% ethanol as an extractant; the quantitative content of harpagoside in the extract obtained was $2.54 \pm 0.02\%$.

The dry extract of the devil's claw roots was obtained and the standardization parameters were determined in accordance with the requirements of the SPHU: description, identification of harpagoside and fructose by TLC, mass loss during drying, heavy metal content, microbiological purity, quantitative determination of harpagoside (not less than 1.2%). Pharmacotechnological indices have been determined for the obtained dry extract.

Analgesic and anti-inflammatory effects on the model of formalin edema of the lower extremity in rats have been studied for the dry extract of the devil's claw roots. The product of the comparison was the "Fong Te Thap" (manufactured by "PHYTO PHARMA Co.", Vietnam), registered in Ukraine, which represents the devil's claw roots tincture. It was found that the dry extract of the devil's claw roots in a dose of 150 mg / kg (equivalent to not less than 3.7 mg / kg of harpagoside) had more pronounced analgesic and anti-inflammatory properties compared with the referent drug.

For the first time a dietary supplement of combined composition "Osteovert" was developed, its standardization parameters were determined and quality control techniques was developed.

The developed composition and technological scheme of the production of the new vegetative collection "Rheumavert" containing the devil's claw roots (*Harpagophyti radix*), the *Sophora japonica* buds (*Sophorae alabastra*), common bean fruit's glumes (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), the grass of the common knotgrass (*Polygoni avicularis herba*) (50:20:20: 10), which is protected by the Ukrainian patent on utility model No. 129448 "Herbal collection with analgesic and anti-inflammatory activity". In accordance with the requirements of the SPHU, the specified parameters and quality collection indicators: macro and microscopic diagnostic assays for the detection of synchronicity, ash total ($4.53 \pm 0.32\%$), incl. extractives extracted with water ($55.24 \pm 0.02\%$), the quantitative content of the sum of amino acids in terms of arginine ($0.36 \pm 0.01\%$), the content of flavonoids in terms of routine ($4.93 \pm 0.01\%$), the content of harpagoside ($0.41 \pm 0.01\%$).

The influence of the method of infusion on the developed herbal collection on the quality of the obtained water extracts during the 15, 30, 45, 60 minutes and until complete

cooling was studied. It was found that the method of insisting the collection for 60 minutes is optimal, since the content of extractives and flavonoids was the highest in the aqueous extract that was $49.57 \pm 0.52\%$ and $0.52 \pm 0.03\%$ respectively.

The analgesic and anti-inflammatory effects on the model of formalin edema of the lower extremity in rats were studied for the developed plant collection "Rheumavert " and it was established that the herbal collection in the dose of 11.3 ml / kg (corresponding to not less than 37.0 mg / kg of harpagoside) had expressed analgesic and anti-inflammatory properties.

Key words: devil's claw, Sophora japonica, common bean, roots, fruits, flowers, buds, fruit's glumes, extract, capsules, herbal collection, substance markers, standardization, anti-inflammatory action, analgesic action

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	23
ВСТУП.....	25
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПОШИРЕНІСТЬ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СУГЛОБІВ В УКРАЇНІ ТА СВІТІ. ФАРМАКОТЕРАПІЯ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ. ЗАСТОСУВАННЯ ФІТОТЕРАПЕВТИЧНИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СУГЛОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	34
1.1 Сучасний стан та поширеність ревматичних захворювань в Україні та світі.....	34
1.2 Фармакотерапія ревматичних захворювань.....	38
1.3 Застосування фітотерапевтичних засобів для профілактики та лікування ревматичних захворювань суглобів.....	45
РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ОБ'ЄКТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	54
2.1 Обґрунтування вибору об'єктів дослідження.....	54
2.1.1 Аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату.....	54
2.1.2 Аналітичний огляд добавок дієтичних, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату.....	57
2.1.3 Розробка алгоритму вибору лікарських рослин при ревматичних захворюваннях і вибір об'єктів дослідження.....	59
2.2 Об'єкти дослідження.....	65
2.3 Матеріали та методи дослідження.....	66
2.3.1 Фізичні, хімічні та фізико-хімічні методи аналізу.....	66
2.3.2 Випробування на граничний вміст домішок.....	74
2.3.3 Фармакогностичні методи аналізу.....	75

2.3.4 Фармако-технологічні випробування.....	76
2.3.5 Фармакологічні дослідження.....	76
2.3.6 Біологічні випробування.....	79
2.3.7 Статистична обробка результатів.....	79
Висновки до розділу 2.....	79
РОЗДІЛ 3 ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ – СОФОРИ ЯПОНСЬКОЇ БУТОНИ, КВІТКИ ТА ПЛОДИ, ГАРПАГОФІТУМУ ЛЕЖАЧОГО КОРЕНІ, КВАСОЛІ ЗВИЧАЙНОЇ СТУЛКИ ПЛОДІВ.....	81
3.1 Дослідження з апробації методик контролю якості софори японської бутонів та софори японської квіток.....	81
3.1.1 Ідентифікація за макро- та мікроскопічними діагностичними ознаками.....	82
3.1.1.1 Софори японської бутони.....	82
3.1.1.2 Софори японської квітки.....	85
3.1.2 Ідентифікація біологічно активних сполук софори японської бутонів та софори японської квіток.....	87
3.1.3 Визначення показників якості софори японської бутонів та софори японської квіток.....	88
3.1.4 Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук софори японської бутонів та софори японської квіток.....	89
3.1.4.1 Визначення кількісного вмісту флавоноїдів.....	89
3.1.4.2 Визначення вмісту макро- та мікроелементів софори японської бутонів і софори японської квіток.....	90
3.2 Фармакопейна стандартизація лікарської рослинної сировини та розробка проекту національної монографії Державної фармакопеї України «Софори плоди ^N ».....	91
3.2.1 Ідентифікація за макро- та мікроскопічними діагностичними ознаками.....	91

3.2.2 Ідентифікація біологічно активних сполук софори японської плодів.....	96
3.2.3 Визначення показників якості софори японської плодів та їх нормування.....	97
3.2.4 Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук софори японської плодів.....	97
3.2.4.1 Визначення кількісного вмісту флавоноїдів.....	97
3.2.4.2 Визначення вмісту макро- та мікроелементів софори японської плодів.....	101
3.3 Дослідження з апробації методик контролю якості гарпагофітуму лежачого коренів.....	102
3.3.1 Ідентифікація за макро- та мікроскопічними діагностичними ознаками гарпагофітуму лежачого коренів.....	102
3.3.2 Визначення показників якості гарпагофітуму лежачого коренів.....	106
3.3.3 Ідентифікація біологічно активних сполук гарпагофітуму лежачого коренів.....	106
3.3.4 Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук гарпагофітуму лежачого коренів.....	107
3.3.4.1 Визначення вмісту гарпагозиду.....	107
3.3.4.2 Визначення вмісту амінокислот.....	108
3.3.4.3 Визначення вмісту карбонових кислот.....	113
3.3.4.4 Визначення вмісту моносахаридів	116
3.3.4.5 Визначення компонентного складу леткої фракції.....	118
3.3.4.6 Визначення вмісту макро- та мікроелементів.....	120
3.4 Фармакопейна стандартизація лікарської рослинної сировини та розробка проекту національної монографії Державної фармакопеї України «Квасолі звичайної стулки плодів ^N ».....	121
3.4.1 Дослідження з визначення макро- та мікроскопічних діагнос-	

тичних ознак квасолі звичайної стулки плодів.....	122
3.4.2 Розробка методики ідентифікації біологічно активних сполук квасолі звичайної стулки плодів.....	124
3.4.3 Визначення показників якості квасолі звичайної стулки плодів та їх нормування.....	132
3.4.4 Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук квасолі звичайної стулки плодів.....	132
3.4.4.1 Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот.....	132
3.4.4.2 Визначення вмісту амінокислот методом ВЕРХ.....	134
3.4.4.3 Розробка методики кількісного вмісту суми амінокислот квасолі звичайної стулки плодів методом спектрофотометрії.....	136
3.4.4.4 Визначення елементного складу квасолі звичайної стулки плодів.....	144
Висновки до розділу 3.....	145
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ДОБАВКИ ДІЄТИЧНОЇ «ОСТЕОВЕРТ».....	151
4.1 Обґрунтування складу добавки дієтичної «Остеоверт».....	151
4.2 Одержання та стандартизація гарпагофітуму лежачого коренів екстракту – рослинного компонента добавки дієтичної.....	153
4.2.1 Визначення оптимальних умов екстрагування гарпагофітуму лежачого коренів.....	153
4.2.2 Одержання гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого та визначення параметрів стандартизації.....	156
4.2.3 Вивчення анагетичної та протизапальної активності гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого (обговорення результатів фармакологічних досліджень).....	161
4.3 Одержання та стандартизація добавки дієтичної «Остеоверт».....	163
Висновки до розділу 4.....	173

РОЗДІЛ 5 РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ РОСЛИННОГО ЗБОРУ	176
«РЕВМАВЕРТ».....	
5.1 Обґрунтування компонентного складу рослинного збору	
«Ревмаверт».....	178
5.2 Визначення показників якості та технологічних параметрів збору	179
5.3 Розробка технології одержання збору.....	179
5.3.1 Дослідження з вибору оптимального режиму отримання ви- тяжки зі збору.....	182
5.4 Розробка параметрів стандартизації збору.....	183
5.4.1 Ідентифікація збору за макро- та мікроскопічними ознаками	183
5.4.2 Ідентифікація речовин-маркерів збору.....	188
5.4.3 Визначення показників якості та кількісного вмісту біологіч- но активних речовин збору.....	191
5.4.4 Вивчення мікробіологічних показників збору.....	192
5.5 Вивчення аналгетичної та протизапальної активності збору (обговорення результатів фармакологічних досліджень).....	194
Висновки до розділу 5.....	196
ВИСНОВКИ.....	198
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	200
ДОДАТКИ.....	226

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР	– біологічно активні речовини
ВЕРХ	– вискоєфективна рідинна хроматографія
ВООЗ	– Всесвітня Організація Охорони Здоров'я
ГАГ	– глюкозаміноглікан
ГН	– гігієнічні нормативи
ГХ	– газова хроматографія
ГХ/МС	– хроматографія з мас-детектором
ДД	– добавки дієтичні
ДНДЛ з КЯЛЗ	– Державна науково-дослідна лабораторія з контролю якості лікарських засобів
ДР	– діацереїн
ДФ РБ	– Державна Фармакопея Республіки Білорусь
ДФ СРСР	– Державна Фармакопея Союзу Радянських Соціалістичних Республік
ДФУ	– Державна Фармакопея України
ЄФ	– Європейська Фармакопея
ЛЗ	– лікарські засоби
ЛОГ	– Ліпооксигенази
ЛР	– лікарські рослини
ЛРС	– лікарська рослинна сировина
МКХ-10	– Міжнародна статистична класифікація хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я
МКЯ	– методи контролю якості
ММП	– матриксні металопротеази
НПЗП	– нестероїдні протизапальні препарати
ОА	– остеоартроз
ОП	– остеопороз
ОРА	– опорно-руховий апарат

РА	–	ревматоїдний артрит
РЗ	–	ревматичні захворювання
СЗ	–	стандартний зразок
ТУ У	–	технічні умови України
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія
УФ	–	ультрафіолетова область
ФСЗ ДФУ	–	фармакопейний стандартний зразок Державної фармакопеї України
ХС	–	хондроїтина сульфат
ЦОГ-2	–	циклооксигеназа-2
ШКТ	–	шлунково-кишковий тракт

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Ревматичні захворювання є однією з найбільш поширених груп патологій людини. Функціональні обмеження та підвищений ризик розвитку коморбідних станів з часом призводять до інвалідизації. За поширеністю дана група захворювань займає четверте місце після захворювань серцево-судинної системи, органів травлення і респіраторних захворювань. У структурі первинної інвалідності ревматичні захворювання посідають друге місце серед захворювань внутрішніх органів (Шафранський В.В., 2016 р.).

Важливим є той факт, що за лікарською допомогою з приводу різних симптомів, обумовлених ураженням суглобів, все частіше звертаються не тільки пацієнти літнього віку, а й молодші особи з активним способом життя, для яких постійний біль і деформація суглобів означає обмеження працездатності, а різке зниження рухової активності призводить до вираженого зниження рівня якості життя.

Серед ревматичних захворювань найбільше медико-соціальне значення мають остеоартроз, ревматоїдний артрит та остеопороз, зважаючи на високий рівень захворюваності (у тому числі з тимчасовою втратою працездатності), інвалідності, істотного зниження якості життя хворих (Якименко О.О., 2014 р.).

Комплексне лікування ревматичних захворювань включає немедикаментозну терапію з регулярними освітніми програмами, зниження маси тіла, фізичними вправами, підтримуючими засобами (фіксатори, ортези), фармакотерапію та хірургічне втручання.

Застосування лікарських рослин при даних захворюваннях базується на знаннях стосовно хімічного складу рослин, чіткому розумінні природи біологічно активних сполук та їх фармакологічної дії. Такий підхід дозволяє раціонально розробляти нові рослинні лікарські засоби, пропонувати успішні схеми лікування, складати ефективні лікарські прописи та фітокомпозиції. Кокранівський систематичний огляд підтверджує доцільність і ефективність клінічного застосування рослинних засобів для лікування остеоартриту.

Вивченню лікарських рослин, що застосовуються при ревматичних захворюваннях, присвячені роботи вітчизняних і іноземних вчених. Так, проведені дослідження з визначення оптимального екстрагенту активних речовин стулок квасолі звичайної (Вронська В.В., 2014 р.), з визначення амінокислотного та мінерального складу деяких видів в *Phaseolus L.* (Ковальов С.В., Ковальов В.М., 2010 р., 2011 р.). У роботах (Чолак І.С., 2012 р.) досліджено полісахариди софори японської пуп'янок, (Котов А.Г., Галкін О.Ю.) проведені дослідження з розробки методик ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів у софори японської плодах. Ефективності застосування гарпагофітуму лежачого при остеоартритах присвячені роботи (Савустьяненко А.В., 2014 р.; Fiebich B. L, 2012 р.; Abdelouahab N., 2008 р.). Вивчення антиартиритної активності похідних солей глюкозаміну представлено у роботах (Зупанець І.А., Дроговоз С.М., 2014 р.).

Тому актуальним і доцільним є проведення комплексних досліджень щодо розробки та стандартизації вітчизняних комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України та є фрагментом комплексної теми «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946) та «Управління якістю у сфері розробки, виробництва та обігу лікарських засобів» (№ державної реєстрації 0114U000950).

Мета і завдання дослідження

Метою нашої роботи була розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів, фітохімічне вивчення і стандартизації вихідної лікарської рослинної сировини, напівпродуктів та дослідження їх протизапальних і анальгетичних властивостей.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати сучасний стан та поширеність ревматичних захворювань, напрямки їх фармакотерапії та фітотерапії;
- провести аналітичний огляд сучасних лікарських засобів та добавок дієтичних рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату;
- обґрунтувати вибір об'єктів дослідження в залежності від стратегії лікування ревматичних захворювань та розробити алгоритм вибору лікарських рослин;
- провести дослідження з апробації методик контролю якості софори японської бутонів, софори японської квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності до вимог монографій ДФУ та ЄФ;
- розробити методики ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних сполук сировини софори японської плоди та квасолі звичайної стулки плодів, визначити їх валідаційні параметри, розробити проекти національних монографій ДФУ «Софори плоди^N», «Квасолі звичайної стулки плодів^N»;
- визначити вміст діючих біологічно активних речовин у софори бутонах, софори квітках, софори плодах, гарпагофітуму лежачого коренях та квасолі звичайної стулках плодів, що мають безпосереднє значення при ревматичних захворюваннях суглобів;
- провести дослідження з визначення оптимальних умов одержання гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого, визначити параметри стандартизації, дослідити анальгетичні та протизапальні властивості;
- розробити склад, технологію одержання, визначити параметри стандартизації та розробити методики контролю якості добавки дієтичної «Остеоверт» та збору «Ревмаверт», дослідити анальгетичні та протизапальні властивості.

Об'єкт дослідження – розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів, фітохімічне вивчення та стандартизація вихідної рослинної сировини та отриманих субстанцій, дослідження протизапальної та анальгетичної активності одержаних засобів.

Предмет дослідження – стандартизація лікарської рослинної сировини – софори японської квітки, плоди та бутони, квасолі звичайної стулки плодів, гарпагофі-

туму лежачого корені; дослідження хімічного складу даних видів сировини (визначення флавоноїдів, амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, макро- та мікроеlementів); одержання та стандартизація гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого; розробка та визначення параметрів стандартизації комбінованих рослинних засобів у вигляді м'яких желатинових капсул «Остеоверт» та збору «Ревмаверт»; дослідження протизапальної та анальгетичної активності отриманих засобів.

Методи дослідження

Для вирішення поставлених завдань були використані методи дослідження: ТШХ, ВЕРХ, ГХ/МС, атомно-емісійний спектрографічний, гравіметричні, спектрофотометричні, титриметричні, технологічні, фармако-технологічні, фармакологічні, мікробіологічні. Макроскопічні дослідження сировини проводили за допомогою збільшуваної лупи та неозброєним оком. Мікроскопічні ознаки сировини вивчали методом світлової мікроскопії з фотофіксацією. Фармакологічні дослідження проводили *in vivo*. Результати експериментальних досліджень статистично оброблені, запропоновані методики контролю якості є прийнятними відповідно до вимог ДФУ.

Наукова новизна отриманих результатів

Проведено дослідження сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності з вимогами монографії ЄФ «*Sophora Flower-buds*», «*Sophora Flower*», «*Devil's claw Root*» із апробації методик контролю якості монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки» та ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» відповідно.

Розроблені методики ідентифікації методом ТШХ амінокислот квасолі звичайної стулок плодів, як речовини маркери обрані аргінін та глютамінова кислота та спектрофотометрична методика кількісного вмісту суми амінокислот у перерахунку на аргінін; методика ідентифікації методом ТШХ флавоноїдів софори плодів, як речовини маркери обрані рутин та гіперозид. Для розроблених методик визначені валідаційні характеристики.

Проведено дослідження сировини софори японської плоди та квасолі звичайної стулки плодів з розробки проектів національних монографій ДФУ «Софори плоди^N» і «Квасолі звичайної стулки плодів^N».

Вперше у гарпагофітуму лежачому коренях визначений вміст 12 макро- та мікроелементів; вміст 16 амінокислот, який після повного гідролізу зростав в 6,5 рази, що свідчило, що амінокислоти знаходяться у сировині переважно у зв'язаному стані; 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів. Домінантними були пропіонова, стеаринова та пальмітинова кислоти (2,08 мг/г, 1,17 мг/г та 0,89 мг/г відповідно); встановлена наявність та визначено кількісний вміст 18 загальних моносахаридів після кислотного гідролізу, основними з яких були глюкоза – 64,12 мг/кг, галактоза – 77,98 мг/кг, рамноза – 4,38 мг/кг, арабіноза – 3,80 мг/кг.

Вперше проведено дослідження з обґрунтування вибору оптимального екстрагенту та способу отримання гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого, для якого визначені параметри стандартизації та фармако-технологічні показники у відповідності до вимог ДФУ. Для одержаного гарпагофітуму коренів екстракту сухого вивчені анальгетична та протизапальна дії на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів.

Вперше розроблено добавку дієтичну комбінованого складу «Остеоверт», що містить гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий, глюкозаміну сульфат і хондроїтину сульфат, визначені її параметри стандартизації та розроблені методики контролю якості.

Вперше розроблено склад нового рослинного збору «Ревмаверт», що містить гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*), софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*), квасолі звичайної стулки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), споришу звичайного трава (*Polygoni avicularis herba*) (50:20:20:10). Для отриманого збору досліджені анальгетична та протизапальна активності на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 129448 «Рослинний збір з анальгетичною та протизапальною активністю». Визначені параметри стандартизації та показники якості розробленого збору у відповідності до вимог ДФУ.

Вплив способу настоювання отриманого збору на якість одержаних водних витягів зі збору та встановлений оптимальний спосіб настоювання збору при використанні споживачем.

Практичне значення отриманих результатів

В результаті проведених досліджень з апробації методик контролю якості сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів розроблені монографії ДФУ 2.1 «Софори бутони» (Акт впровадження від 22.05.18 № 11/626-5), «Софори квітки» (Акт впровадження від 22.05.18 № 11/625-5) та ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» (Акт впровадження від 22.05.18 № 11/628-5).

Розроблено проекти національних монографій ДФУ «Софори плоди^N» (Акт впровадження від 06.12.18 № 11/1370-5) і «Квасолі звичайної стулки плодів^N» (Акт впровадження від 22.05.18 № 11/629-5).

Розроблено методику визначення амінокислот у квасолі звичайної стулках плодів. За результатами отриманих експериментальних даних оформлено інформаційний лист про нововведення у системі охорони здоров'я № 22-2018 «Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії».

Результати досліджень з розробки параметрів стандартизації квасолі звичайної стулок плодів, софори японської плодів, гарпагофітуму лежачого коренів були використані при розробці ТУ У 15.8-31062507-022:2009 «Сировина рослинна, натуральна для виробництва добавок дієтичних» (Акт впровадження від 24.10.17).

Розроблено зміну № 1 до ТУ У 10.8-31062507-059:2016 від 07.04.2017 р. «Добавки дієтичні на основі олій рослинних та жирів тваринних». Розроблена в результаті досліджень добавка дієтична «Остеоверт» впроваджена у промислове виробництво в умовах ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС» на замовлення ТОВ «Фармацевтична фірма «Вертекс» (м. Харків) (Акт впровадження від 24.10.17).

Розроблено МКЯ для вхідного контролю лікарської рослинної сировини квасолі звичайної стулок плодів в умовах ТОВ ДКП «Фармацевтична фабрика» (Акт впровадження від 24.09.18).

Результати наукових досліджень впроваджено у науково-практичну діяльність кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ФПО Запорізького державного медичного університету; кафедри фітотерапії, гомеопатії та біоенергоінформаційної медицини ПВНЗ «Київський медичний університет»; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського»; кафедри фармації Буковинського державного медичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача

Усі експериментальні дослідження, наведені у дисертаційній роботі, виконані дисертантом особисто: аналіз наукових даних літератури щодо сучасного стану та поширеності ревматичних захворювань в Україні та світі, розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів; фітохімічне дослідження та стандартизація вихідної лікарської рослинної сировини та напівпродуктів; узагальнення та інтерпретація отриманих результатів.

Експериментальні дослідження виконані на базі ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС», Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ та кафедри біологічної хімії НФаУ.

Персональний внесок у всіх опублікованих зі співавторами (Сіра Л.М., Владимирова І.М., Губарь С.М., Котов А.Г., Котова Е.Е., Загайко А.Л., Литкін Д.В., Тішакова Т.С.) працях наводиться за текстом дисертації та в авторефераті у списку фахових публікацій.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації

Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях: Наука в современном мире : I Международной научно-практической конференции для студентов, аспирантов и молодых ученых, (Киев, 19 сентября 2015 г.); III Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, Республика Казахстан, 9-10 декабря 2015 г.); 44-th Conference drug synthesis and analysis (Brno, 2-4 September 2015.); IV International scientific conference of young researchers (Azerbaijan, Baku, April 29–30, 2016.); Международной научно-практической конференции посвященной 81-летию Курского государственного медицинского университета и 50-летию фармацевтического факультета, «Университетская наука: взгляд в будущее» (Курск, 4-5 февраля 2016 г.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації» (Вінниця, 16 березня 2016 р.); 85-й Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р.); I Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (м. Харків, 24-25 березня 2016 р.); II Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 21-23 березня 2016 р.); IV Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.); International Conference of Pharmacy Students (Poland, Lublin, April 21–25, 2016.); XXIII International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 21, 2016); VI науково-практична конференція з міжнародною участю (Тернопіль, 10–11 листопада, 2016 р.); XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 20, 2017); Proceedings of the 1st Annual Conference (Ukrainian Section) «Technology transfer: innovative solutions in medicine» (Estonia, Tallinn, October 26, 2017); II International Scientific and Practical Conference «Topical problems of modern science» (Warsaw,

Poland, November 18, 2017); XXI міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (Тернопіль, 24-26 квітня, 2017); Fourth Pharmaceutical Business Forum and Scientific and Practical Conference «Innovations and prospects in pharmaceutical practice» (Varna, October 27-29, 2017); XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 18-20, 2018); I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів та дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 5 квітня 2018 р.).

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 262 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 13 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 72 таблицями, 73 рисунками. Список використаних джерел містить 254 найменування, з них 149 кирилицею та 105 латиницею.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПОШИРЕНІСТЬ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СУГЛОБІВ В УКРАЇНІ ТА СВІТІ. ФАРМАКОТЕРАПІЯ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ. ЗАСТОСУВАННЯ ФІТОТЕРАПЕВТИЧНИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СУГЛОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Сучасний стан та поширеність ревматичних захворювань в Україні та світі

Ревматичні захворювання (РЗ) є однією з найбільш поширених груп патологій людини. Функціональні обмеження та підвищений ризик розвитку коморбідних станів з часом призводять до інвалідизації. За поширеністю дана група захворювань займає четверте місце після захворювань серцево-судинної системи, органів травлення і хвороб органів дихання. У структурі первинної інвалідності РЗ посідають друге місце серед хвороб внутрішніх органів [12, 146, 224, 243].

За даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ), поширеність РЗ серед світової популяції складає до 1%. Серед загальної структури захворюваності 30 % випадків тимчасової непрацездатності та 10 % інвалідизації пов'язані з РЗ [229]. Важливим є той факт, що за лікарською допомогою з приводу різних симптомів, обумовлених ураженням суглобів, все частіше звертаються не тільки пацієнти літнього віку, а й молодші особи, які ведуть активний спосіб життя, для яких постійний біль і деформація суглобів означає обмеження працездатності, а різке зниження рухової активності призводить до вираженого зниження рівня якості життя [14, 33].

Діагностика, особливо у ранній період, супроводжується значними труднощами, що зумовлено відсутністю специфічних лабораторних тестів, поліморфізмом і подібністю клінічних проявів багатьох РЗ, незначним їх проявом на ранніх етапах. Несвоєчасність діагностики призводить до пізньої раціональної терапії, проблема ефективності якої на сьогодні ще повною мірою не вирішена [109].

За даними Центру медичної статистики Міністерства охорони здоров'я України, поширеність усіх форм ревматизму за останні десять років зменшилася на 17,5 %; захворюваність – майже на 60 %; первинна інвалідність – на 55 %, однак зросла смертність від цієї патології на 78,2 %. У Рівненській і Закарпатській областях значно зріс показник захворюваності серед усього населення, він становить 80 % та 63 % відповідно. Найвищі показники смертності зареєстровано в Кіровоградській (6,7 %), Житомирській (6,3 %) і Хмельницькій (6,0 %) областях, у той час як середній показник по Україні становить 4,1 на 100 тис. населення [38, 106, 147]. Аналіз свідчить про часто атиповий перебіг захворювань (невідповідність класичній соціальній структурі хвороби та клінічним проявам), що зумовлює помилкові діагнози та неадекватне лікування. У зв'язку з цим спостерігають значну кількість ускладнень – кардіальних, суглобово-кісткових (виражені деформації, деструкція, знерухомлення, інвалідизація), ниркових (за деякими даними, уратну нефропатію спостерігали у 10 % хворих з подагрою, на стадії хронічної ниркової недостатності – у 2 %) [22, 138, 139].

Згідно з міжнародною статистичною класифікацією хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я (МКХ-10), ревматичні захворювання віднесені до IX класу - хвороби органів кровообігу (I00-I99) і до XIII класу - хвороби кістково-м'язової системи та сполучної тканини (M00-M99), включаючи понад 100 різних за походженням і клінічними проявами нозологічних форм і синдромів [108].

Різноманітність хвороб XIII класу – хвороби кістково-м'язової системи та сполучної тканини (M00- M99) розподілено по блокам:

M00–M25 Артропатії;

M00–M03 Інфекційні артропатії;

M05–M14 Запальні поліартропатії (серопозитивний ревматоїдний артрит, інші ревматоїдні артрити, псоріатичні і ентеропатичні артропатії, юнацький (ювенільний артрит), подагра, інші специфічні артропатії, інші артрити);

M15–M19 Артрози (поліартроз, коксартроз, гонартроз, артроз першого зап'ястно-п'ясткового суглоба та інші артрози);

M20–M25 Інші ураження суглобів;

M30–M36 Системні ураження сполучної тканини (вузликовий поліартеріт і споріднені стани, системний червоний вовчак, системний склероз, інші системні ураження сполучної тканини);

M40–M54 Дорсопатії;

M40–M43 Деформуючі дорсопатії (остеохондроз хребта);

M45–M49 Спондилопатії (анкілозуючий спондиліт та інші);

M50–M54 Інші дорсопатії;

M60–M79 Хвороби м'яких тканин;

M60–M63 Хвороби м'язів (міозит, кальцифікація та осифікація м'язів);

M65–M68 Ураження синовіальних оболонок і сухожиль;

M70–M79 Інші ураження м'язів;

M80–M94 Osteopatії і хондропатії;

M80–M85 Порушення щільності структури кісток (остеопороз з патологічним переломом, остеопороз без патологічного перелому, інші остеопорози);

M86–M90 Інші остеопатії;

M91–M94 Хондропатії;

M95–M99 Інші порушення кістково-м'язової системи та сполучної тканини.

R3 представляють собою велику групу окремих нозологічних форм, різних за своїм походженням і об'єднаних головним чином за локалізацією основного патологічного процесу в сполучній тканині та клінічними проявами. Основним з яких є суглобовий синдром, що проявляється болями в суглобах, їх дефігурацією та деформацією, обмеженням рухів у суглобах, змінами сухожильно-зв'язочного апарату суглобів та оточуючих м'язів. В основі патогенезу суглобового синдрому відмічають запальні або дистрофічні зміни у кістково-зв'язочному апараті [116].

R3, незважаючи на різноманіття нозологічних форм, мають цілий ряд загальних факторів ризику. Основними з яких є стать, вік, етнічна приналежність, зайва маса тіла (ожиріння), попередні травми, гормональний фон. Найчастіше розвиток R3 спостерігається в певні вікові періоди – запальних у 20–50 років, а дегенеративно-дистрофічних – у 55–65 років. Переважна частина хворих є жінки (75–85 %). Однак це характерно не для всіх форм, а в більшій мірі для остеоартрозу (ОА) суглобів ки-

сті і колінних суглобів. Зайва вага та ожиріння є значущим фактором ризику, що підвищує захворюваність ОА в 2-3 рази. Також необхідно відмітити спадкову схильність, що притаманна ревматичним захворюванням. Наприклад, в родинах, де є хворі на РА, частота захворюваності у 9 разів більше, ніж в цілому в популяції (відповідно 4,5 % і 0,4 %), анкілозуючий спондилоартрит та інші спондилоартропатії виявляються ще частіше, і потенційно можуть вражати до 10-20 % членів однієї родини [120, 248].

Серед РЗ найбільше медико-соціальне значення складають ОА, ревматоїдний артрит (РА) та остеопороз (ОП), зважаючи на високу захворюваність (у тому числі з тимчасової втратою працездатності), інвалідності, істотного зниження якості життя хворих, формування підвищених витрат на охорону здоров'я як з боку держави, так і пацієнтів [52].

Остеоартроз – найбільш поширене та інвалідизуюче дегенеративно-дистрофічне захворювання суглобів, що характеризується прогресуючою деструкцією суглобового хряща, проліферативною реакцією хрящової і кісткової тканин і супроводжується реактивним синовітом. За даними National Health and Nutrition Examination Survey, суглобова патологія займає третє місце за поширеністю серед хронічних станів у осіб віком старше 65 років (50 % випадків). Поширеність ОА значно вища у людей похилого віку, з коморбідними метаболічними порушеннями, у тому числі ожирінням, гіперурикемією, цукровим діабетом. За останні роки встановлено, що коморбідна патологія істотно погіршує порушення фізичної функції та спричиняє вищу смертність у хворих на ОА [102, 126].

ОА виявляється вираженими болями і деформацією суглобів, що призводять до порушення їх функцій. Найчастіше до процесу залучаються навантажувальні суглоби (колінні, тазостегнові), дрібні суглоби кистей (дистальні і проксимальні міжфалангові суглоби кистей, перший п'ястно-зап'ястний суглоб кисті та хребет. Найбільш важливе клінічне значення має ураження кульшових і колінних суглобів, що є основною причиною зниження якості життя та інвалідизації при остеоартрозі. На відміну від запальних захворювань суглобів позасуглобні прояви при ОА не спостерігаються [156,165,166].

Остеопороз – прогресуюче системне захворювання скелета, при якому спостерігається зниження маси кісткової тканини і порушенням її якості (мікроархітекто-ніки). Це приводить до крихкості кісток, що в подальшому підвищує ризик виникнення переломів: компресійними переломи хребців, переломами дистального відділу передпліччя (Перелом Коллеса), переломами проксимального відділу стегнової кістки і проксимального відділу плечової кістки тощо [157].

Відсутність характерної ранньої клінічної симптоматики при ОП ускладнює своєчасну діагностику. Єдиний клінічний прояв – це переломи, що відбулися при такій травмі, при якій здорова кістка залишилася б цілісною. Болі з’являються тільки при клінічно маніфестному остеопорозі з переломами кісток периферичного скелета і / або хребців [34].

Ревматоїдний артрит – аутоімунне ревматичне захворювання невідомої етіології, яке характеризується хронічним ерозивним артритом (синовітом) і системним ураженням внутрішніх органів. У більшості випадків захворювання починається з поліартриту, рідше з моно- і олігоартриту, іноді прояви артрити можуть бути виражені помірно, а переважають артралгії, ранкова скутість в суглобах, погіршення загального стану, слабкість, схуднення, субфебрильна температура, лімфаденопатія, які можуть передувати клінічно вираженого ураження суглобів [119,152].

РЗ відзначаються поширеністю, складністю ранньої діагностики, швидким розвитком інвалідності та несприятливим прогнозом для життя. Відсутність ефективної терапії через 10–15 років від початку захворювання приводить більшість хворих до повної інвалідизації та потреби у високовартісних хірургічних втручаннях (ендопротезування суглобів). Основні цілі лікування цієї категорії хвороб – це зменшення болю, корекція функціональної недостатності суглобів, уповільнення прогресування захворювання і, як наслідок, поліпшення якості життя хворих [98,129].

1.2 Фармакотерапія ревматичних захворювань

Терапію конкретного хворого необхідно розробляти з урахуванням тяжкості і поширеності суглобового ураження, загального статусу хворого і наявності супутніх

захворювань [150]. Комплексне лікування РЗ включає немедикаментозну терапію з регулярними освітніми програмами, зниження маси тіла, фізичними вправами, підтримуючими засобами (фіксатори, ортези), фармакотерапію та хірургічне втручання [134,184]. Лікарські засоби (ЛЗ) для лікування даних захворювань поділяються на дві основні групи:

- симптоматичні засоби швидкої дії (анальгетики, нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), опіоїдні анальгетики, кортикостероїди та ін.). Дана група препаратів впливає на клінічні симптоми захворювання (біль, запалення і ін.) [6, 34, 239];

- модифікуючі засоби уповільненої дії (глюкозамін, хондроїтин, гіалуронова кислота), ефект яких проявляється більш повільно в порівнянні з симптоматичними засобами і триває після закінчення їх застосування. На думку деяких дослідників, зазначені фармакологічні агенти мають хондромодифікуючу дію, попереджаючи деградацію суглобового хряща [21, 39, 88] .

НПЗП відносяться до числа найважливіших «симптоматичних» засобів при РЗ, що зумовлено унікальною комбінацією протизапальної, анальгетичної, жарознижувальної та антитромбоцитарної дії. Дана група ЛЗ впливає на весь спектр основних клінічних симптомів, характерних для РЗ, зменшує біль та запалення [92, 148]. До поширених побічних ефектів відносять ерозивне ураження шлунково-кишкового тракту (ШКТ), порушення агрегації тромбоцитів, функції нирок, негативний вплив на систему кровообігу і кровоутворення. Найбільш значущою з точки зору загрози життю і здоров'ю пацієнтів є НПЗП-гастропатія – патологія, що характеризується пошкодженням слизової верхніх відділів ШКТ з формуванням ерозій, виразок і небезпечних ускладнень, таких як шлунково-кишкова кровотеча (ШКК) [98, 99, 115].

Опіоїдні анальгетики – опіоїдні препарати центральної дії, які використовуються при сильному больовому синдромі, у випадках неефективності НПЗП. Фармакологічні ефекти пов'язані з впливом на опіоїдні рецептори ЦНС, у зв'язку з чим виникають такі побічні явища, як: пригнічення дихання; нудота, блювання; підвищення тонуусу гладких м'язів; гіперемія і свербіж шкіри; брадикардія; закріп; психічна і фізична залежність [140].

Глюкокортикостероїди – це ЛЗ, що є структурними аналогами гормонів, які синтезуються пучковою зоною кори наднирників. Дана група препаратів виявляє виражену протизапальну та імуносупресивну дію, завдяки яким застосовується для лікування ревматичних захворювань [247, 253]. Основними показаннями до застосування є:

- 1) швидкопрогресуючий РА та наявність при ньому системних проявів (ревматоїдний васкуліт, ураження очей, полісерозити, синдром Фелті);
- 2) висока активність РЗ чи системного захворювання сполучної тканини, особливо системного червоного вовчаку, дерматоміозиту поліміозиту;
- 3) тяжкі форми системних васкулітів;
- 4) пригнічення запального процесу у суглобах до початку дії базисних протизапальних препаратів (БПЗП) (так звана міст-терапія), або при загостренні РЗ чи розвитку ускладнень застосування БПЗП;
- 5) неефективність терапії БПЗП та НПЗП;
- 6) протипоказання до призначення БПЗП та/чи НПЗП [1, 208].

Однак, у зв'язку з багатогранністю фармакологічних властивостей, глюкокортикоїди втручаються у функціонування багатьох органів і систем, впливають на всі види обміну речовин в організмі, а тому нерідко можуть викликати значні побічні ефекти. Глюкокортикоїди протипоказані хворим при гіперфункції кори надниркових залоз (хвороба Іценко-Кушинга), цукровому діабеті, виразковій хворобі шлунка, тяжких формах психоневрозу, гострих інфекційних процесах. Однак, у випадках короточасної інтенсивної терапії, коли користь лікування глюкокортикоїдами перевищує ризик їх ускладнень, зазначені протипоказання не беруться до уваги [209].

Призначення лише симптоматичних ЛЗ не є ефективним при лікуванні РЗ, необхідним є застосування препаратів, що уповільнюють дегенерацію хряща й сприяють відновленню (покращанню) функції суглобів. До таких лікарських засобів відносять хондропротектори, що уповільнюють прогресування дегенеративних змін суглобів і хребта, надають повільну протизапальну та знеболюючу дію та дозволяють досягти тривалого ефекту [100]. Ефективність дії досліджена та підтверджена в багатьох експериментальних та багатоцентрих клінічних дослідженнях. Механізм

дії хондропротекторів пов'язаний зі стимуляцією хондроцитів, зниженням активності лізосомальних ферментів (металопротеїназ), збільшенням резистентності хондроцитів до впливу прозапальних цитокінів, активацією анаболічних процесів в матриксі хряща і створенням передумов для формування сталого хряща. Основними перевагами хондропротекторів для застосування у медичній практиці є:

- зменшення вираження симптомів захворювання (зменшення болю, поліпшення функції суглобів);
- можливість знизити дозу НПЗП;
- пролонгований ефект;
- уповільнення прогресування захворювань;
- як правило, відсутність значних побічних ефектів [84,222].

На сьогодні в медичній практиці активно застосовуються ЛЗ, до складу яких входять: глюкозаміну сульфат (гідрохлорид) та хондрітину сульфат, гіалуронова кислота, діасцелін, піаскледин, сполуки сої та авокадо.

Хондрітин сульфат (ХС) – сульфатований глюкозамінглікан (ГАГ), молекулу якого складають довгі нерозгалужені полісахаридні ланцюги з повторюваними дисахаридного фрагментами N-ацетилгалактозаміна і глюкуронової кислоти. ХС грає важливу роль в підтримці гідратування хряща. З лікувальною метою використовуються хондрітин-4-сульфат і хондрітин-6-сульфат (рис. 1.1) [212].

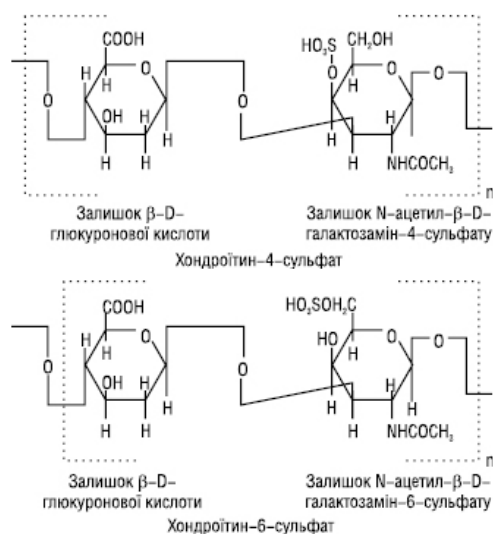


Рис. 1.1 Структурні формули хондрітин-4-сульфату і хондрітин-6-сульфату

Прийом ХС протягом 3 місяців призводить до заповненню синтезу ГАГ і до скасування інтерлейкіно-1 (ІЛ) залежних патологічних ефектів, що відновлює синтетичні процеси, зменшуючи запалення і біль, які пов'язані з впливом агресивних цитокінів, фрагментів фібронектину та матриксних металопротеаз (ММП), вільних радикалів на больові рецептори при дефіциті гіалуронової кислоти. ХС пригнічує синтез ММП і активує синтез інгібіторів ММП, ніж відновлює рівновагу між катаболічними і анаболічними процесами у матриксі хряща [145].

Глюкозамін-амінополісахарід існує у вигляді глюкозаміну гідрохлориду, глюкозаміну сульфату і N-ацетил-глюкозаміну (рис. 1.2).

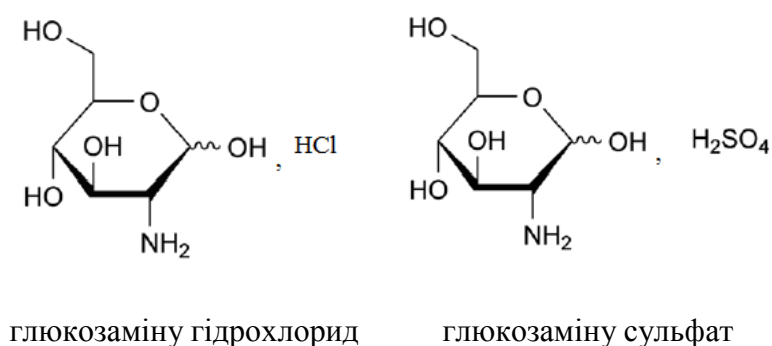


Рис. 1.2 Структурні формули глюкозаміну гідрохлориду та глюкозаміну сульфату

В організмі глюкозамін утворюється у вигляді глюкозаміну-6-фосфату, який є фундаментальним будівельним блоком, необхідним для біосинтезу таких сполук, як гліколіпіди, глікопротеїни, глікозаміноглікани, гіалуронат і протеоглікани. Аналогічно хондрітину сульфату, глюкозамін пригнічує стимульований ІЛ-1 синтез простагландинів фібробластами, стимулює синтез протеогліканів і колагену, зменшує активність лейкоцитарної еластази, колагенази та аггрекінази [93,168]. Однак, існують деякі принципові відмінності у механізмах дії ХС та глюкозаміну. В першу чергу, це стосується їх впливу на субхондральну кістку і синовіальну оболонку. Вважається, що здатність нормалізувати кістковий обмін властива ХС, як і можливість мобілізації фібрину, ліпідів і депозитів холестерину в синовії та субхондральних кровоносних судинах, а також зменшення апоптозу хондроцитів.

Результати експериментальних досліджень свідчать, що спільне застосування ХС та глюкозаміну гідрохлориду збільшувало продукцію глікозаміногліканів хондроцитами на 96,6 % в порівнянні з 32 % при монотерапії [163,233]. Обидва препа-

рати забезпечують довгостроковий симптом-модифікуючий ефект, захист суглобового хряща і уповільнення прогресування захворювання [230].

Гіалуронова кислота є високомолекулярною природною сполукою, сформованою з дісахаридних залишків, з'єднаних $\beta(1,4)$ -глікозидними зв'язками, що містять 1,4-глюкуронову кислоту і 1,3-N-ацетилглюкозамін (рис 1.3).

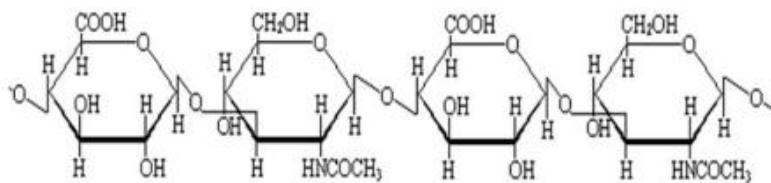


Рис. 1.3 Структурна формула 1,4-глюкуронової кислоти та 1,3-N-ацетилглюкозаміну

Дана речовина представлена в екстрацелюлярному матриксу та біологічних рідинах, зокрема-синовіальній, що забезпечує еластичність сполучної тканини матриксу та в'язко-еластичні властивості рідин. Вплив на функцію клітин відбувається за рахунок взаємодії з CD44-клітинним рецептором; це взаємодія пригнічує деградацію протеогліканів, апоптозхондроцитів, а також утворення ММП. В результаті гіалуронова кислота перешкоджає руйнуванню хряща і сприяє регенерації хондроцитів [130].

В медицині застосовують низькомолекулярні (молекулярна маса 500-730 кДа) і високомолекулярні (молекулярна маса 6000 кДа) препарати гіалуронової кислоти для внутрішньосуглобового введення. Слід зазначити, що високомолекулярна гіалуронова кислота діє ефективніше, ніж низькомолекулярна. Результати клінічних досліджень свідчать про ефективність препаратів гіалуронової кислоти щодо зменшення вираженості больового синдрому, поліпшення функції суглобів.

Внутрішньосуглобове введення гіалуронової кислоти показано пацієнтам, які мають протипоказання для прийому НПЗП або при недостатній їх ефективності. Необхідно враховувати і протипоказання до проведення такої терапії, які включають інфекційні ураження шкіри, порушення її цілісності в області введення, наявність алергічних реакцій на курячий білок [39].

Діацереїн (ДР) (рис. 1.4) являє собою похідне реїну, який стимулює рецептори товстої кишки, завдяки чому проявляє послаблюючу дію, однак крім цього здатний

надавати безліч інших фармакологічних ефектів, в тому числі впливати на розвиток хронічного суглобового запалення [5, 235].

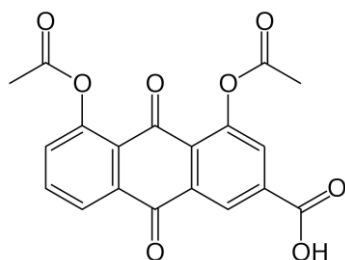


Рис. 1.4 Структурна формула діацереїну

Досліджено, що при пероральному прийомі ДР швидко абсорбується в організмі з подальшим деацетилюванням та перетворенням на активний метаболіт – реїн, максимальна концентрація якого в плазмі досягається через 15–30 хв. Виділяють дві основні дії діацереїну – екстрацелюлярну дію (зменшення кількості рецепторів ІЛ-1 на поверхні клітини шляхом інгібування активності ІЛ-1 на його рецепторах) та інтрацелюлярну дію (запобігання активації неактивного ІЛ-1 β через ІЛ-1-конвертуючий фермент) [176,218,221].

У порівнянні з парацетамолом і НПЗП, ДР має ряд переваг: відносно низький ризик серйозних побічних явищ і збереження дії після припинення прийому препарату. Однак поступовий розвиток ефекту і помірний анальгетичний потенціал в більшості випадків визначають необхідність комбінації ДР зі швидкодіючими анальгетиками в рамках сучасної концепції комбінованого лікування РЗ. При призначенні препарату також слід враховувати послаблюючий ефект реїну.

В літературі відзначено використання сполук сої та авокадо. Механізм їх дії полягає в здатності пригнічувати ряд прозапальних цитокінів, зокрема ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, металопротеїнази (колагенази, стромелізіна), а також збільшувати експресію ТФР- β 1, який надає анаболічну дію на суглобовий хрящ [8].

Для отримання об'єктивно підтверджуючих результатів лікування РЗ, тривалість терапії хондропротекторами повинна складати не менше трьох місяців із повторними курсами у подальшому, які залежить від клінічної картини захворювання.

1.3 Застосування фітотерапевтичних засобів для профілактики та лікування ревматичних захворювань суглобів

Основні лікарські препарати, що застосовуються для лікування РЗ – знеболювальні та протизапальні засоби. Клінічний досвід доводить, що рослинні засоби представляють гідну альтернативу синтетичним препаратам. Основними перевагами яких є малотоксичність, м'якість дії, що дає можливість застосування тривалий час без істотних побічних ефектів, добре поєднання з лікарськими речовинами, посилюючи їх терапевтичний ефект [35, 83, 137].

Застосування лікарських рослинної сировини (ЛРС) базується на знаннях стосовно хімічного складу рослин, чіткому розумінні природи БАР та їх фармакологічної дії. Такий підхід дозволяє грамотно розробляти нові рослинні ЛЗ, пропонувати успішні схеми лікування, складати ефективні лікарські прописи та фітокомпозиції. При призначенні фітопрепаратів для лікування РЗ суглобів слід дотримуватися основних принципів [53] :

1. *Поєднання фармако- та фітотерапії.* Дана комбінація доцільна для підвищення ефективності та безпеки лікування. Застосування рослинних ЛЗ у комплексній терапії підсилює ефективність синтетичних засобів, знижуючи їх побічну дію;
2. *Здійснення профілактичних курсів фітотерапії.* В даному аспекті фітотерапія особливо актуальна в якості імунопрофілактики, при хронічному перебігу захворювання в період можливого сезонного загострення;
3. *Проведення етіотропної і патогенетичної терапії.* В рамках концепції доказової медицини вкрай важливим є розуміння взаємозв'язку хімічного складу рослин та їх фармакологічної дії. Це дозволяє зробити коректний вибір на користь рослини, що надає безпосередній вплив на причину захворювання.
4. *Якість ЛРС.* Використання ЛРС, яка не відповідає вимогам чинної нормативної документації може привести не тільки до неефективності терапії, але й загрожувати здоров'ю пацієнта. Наприклад, внаслідок особливостей

зростання та транспортування вихідна сировина може бути контамінована мікроорганізмами, пестицидами, важкими металами тощо.

5. *Коректне використання дозувань.* При обґрунтуванні терапевтичної дози, особливо екстемпоральних лікарських форм (настої, відвари), слід дотримуватися призначень лікаря.
6. *Дотримання технології приготування і зберігання фітопрепаратів.* Водні витяги з ЛРС (настої, відвари) необхідно готувати кожен день, що пов'язано з їх нетривалим терміном зберігання – не більше однієї доби.
7. *Обмеження використання отруйних, сильнодіючих лікарських рослин* (ЛРС, що містять алкалоїди, і деякі ефіроолійні рослини). Обмежене застосування рослин, які у великих дозах можуть викликати токсичну дію (*багно болотне, чистотіл великий та ін.*) [118, 127].

Вибір ЛР для лікування найбільш поширених РЗ суглобів: ОА, РА та остеопорозу, повинен ґрунтуватись на ретельному аналізі причин захворювання, адекватній оцінці патогенезу. При формуванні лікувальних композицій перевагу віддають лікарським рослинам, які мають оптимальний набір біологічно активних речовин (БАР), які забезпечують широкий спектр фармакологічної активності [78].

У даному контексті необхідно виділити кілька універсальних напрямків лікувальної дії, які будуть доцільними при всіх видах РЗ.

Етіотропна фітотерапія у полягає у застосуванні лікарських рослин:

- з протиалергічною дією (*череди трироздільної трава, солодки голої корені, фіалки триколірної трава*);
- з нормалізуючим впливом на імунну систему організму (*солодки голої корені, череди трироздільної трава, нагідок лікарських квітки, парила звичайного трав, кропиви дводомної корені, деревію звичайного корені, фіалки триколірної трава, підмаренника справжнього трава*).

Патогенетична фітотерапія спрямована на застосування ЛРС з протизапальною дією (ефективність має місце на будь-якій стадії захворювання і розвитку хвороби): *верби гостролистої кора, звіробою звичайного трава, айру болотного корені, солодки голої корені, оману високого корені, евкаліпту (різні види) листя, гар-*

пагофітуму лежачого корені, малини звичайної листя і плоди, ожини звичайної листя і плоди.

Симптоматична фітотерапія залежить від клінічних проявів та симптомів захворювання. Застосовують лікарські рослини:

- *з жарознижувальною (полегшують стан хворого) – кульбаби лікарської трава, берези бородавчастої бруньки, кропиви дводомної трава, айру болотного корінь, суниці лісові плоди, материнки звичайної трава, гадючника в'язолистого корінь, шишики коричної плоди;*
- *сечогінною (проти набряковою) – берези бородавчастої бруньки, мучниці звичайної листя, брусниці звичайної листя, квасолі звичайної стручки плодів, гадючника в'язолистого корінь, золотушника звичайного трава, дягелю лікарського кореневище, пирію повзучого корінь;*
- *знеболювальною – півонії незвичайної корінь та кореневище, чистотілу великого трава, верби гостролистої кора;*
- *седативною – первоцвіту весняного корінь та кореневище, арніки гірської квітки, пасифлори інкарнатної трава, м'яти перцевої листя, хмелю звичайного шишки;*
- *загальнозміцнювальною – женьшеню корінь, елеутерококу колючого корінь та кореневище, софори японської (бутони, квітки, плоди), родіоли рожевої корінь та кореневище;*
- *місцевоподразнюючою дією – перцю червоного плоди, гірчиці сарептської насіння, розмарину лікарського листя, лаванди вузьколистого листя, евкаліпту прутоподібного листя.*

ЛР є природним джерелом мінеральних сполук, вітамінів, що підвищують опірність організму до негативних факторів, активують обмін речовин та виявляють підтримуючу функцію при тривалому перебігу захворювання [45, 75, 82, 121,127].

Асортимент рослинних ЛЗ включає різні лікарські форми: ЛРС різного ступеня подрібнення, що випускаються в пачках, фільтр-пакетах та використовується у

вигляді водних витяжок; екстракти; настойки; таблетки; капсули; гранули; мазі; гелі [128].

На сьогоднішній день відомі результати багатьох фітохімічних досліджень ЛРС, що застосовуються при ревматичних захворюваннях, зокрема, софори бутони, квітки, плоди, квасолі звичайній стулок плодів, гарпагофітуму лежачого корені, у яких представлені різні аспекти вивчення даних видів рослинної сировини.

Дисертаційна робота «Фармакогностичне дослідження пуп'янок софори японської (*Sophora japonica* L.)» (Чолак І. С., 2015 р.) містить результати дослідження хімічного складу сировини софори пуп'янків та одержання екстракту на її основі, який виявляє адаптогенну активність [42].

Було проведено ряд експериментальних робіт з розробки методик ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів у софорі плодів (Галкін О.Ю., Котов А.Г.) [11].

Дослідженням хімічного складу різних видів квасолі займалися вчені Національного фармацевтичного університету Ковальов С.В., Ковальов В.М. [42]. У квасолі багатоквіткової траві визначено кількісний вміст фенольних сполук ($3,64 \pm 0,09\%$), флавоноїдів ($2,78 \pm 0,12\%$), гідроксикоричних кислот ($2,50 \pm 0,13\%$), поліфенольних сполук ($3,68 \pm 0,12\%$), аскорбінової ($0,023 \pm 0,001\%$) та органічних ($1,12 \pm 0,02\%$) кислот. Також вивчено якісний склад та кількісний вміст амінокислотного та мінерального складу серій квасолі звичайної чорної, квасолі лімської, квасолі багатоквіткової, квасолі маш червоної, квасолі маш зеленої [41]. Згідно представлених у роботі результатів, ідентифіковано 16 амінокислот, 7 з яких належить до незамінних. Домінуючими є глютамінова та аспарагінова кислоти, фенілаланін, валін, метіонін, аланін, гліцин, лейцин. Встановлено також наявність 19 макро- і мікроелементів у квасолі траві, серед яких переважав кальцій, калій, магній та кремній. Отримані дані були використані при отриманні субстанції гліфазину на основі квасолі трави та стулок, яка виявляє гіпоглікемічну активність [40].

Дослідження Вронської Л.В. були спрямовані на вибір оптимального екстрагенту для квасолі звичайної стулок плодів екстракт та встановлено, що найбільш пов-

не вилучення флавоноїдів з сировини можливе при використанні 60 % спирту етилового, поліфенольних сполук – 40–60 %, амінокислот – 20 % [10].

Дослідженню фармакологічних властивостей присвячені роботи (Савустьяненко А.В., 2014 р.), що містить результати вивчення ефективності застосування гарпагофітуму екстракту у складі засобу «Сустамар» при остеоартритах, болю у попереку, фіброміалгіях [113] та (Abdelouahab N., 2008 р.; Fiebich B. L., 2012 р.), присвячені вивченню протизапальних властивостей гарпагофітуму, реалізація яких обумовлена впливом на ЦОГ-2 [151, 177]. У роботі (Mncwangi N., 2012 р.) представлений результат огляду ботанічних, фітохімічних аспектів гарпагофітуму та його біологічної активності [211].

Кокранівський систематичний огляд також підтверджує доцільність і ефективність клінічного застосування рослинних засобів для лікування остеоартриту [217]. У даному огляді наведено аналіз даних 49 досліджень щодо ефективності різних видів ЛРС та ЛЗ на їх основі (33 лікарських рослини, які зростають у Європі, Африці, Азії, Північній та Південній Америці). На ринку України представлені засоби переважно імпортного виробництва на основі даних рослин:

Імбир лікарський (Zingiber species). Головними компонентами хімічного складу кореневища імбиру, що забезпечують його фармакологічну активність, вважаються ефірна олія і фенольні сполуки - гінгерол і шогоал (рис. 1.5).

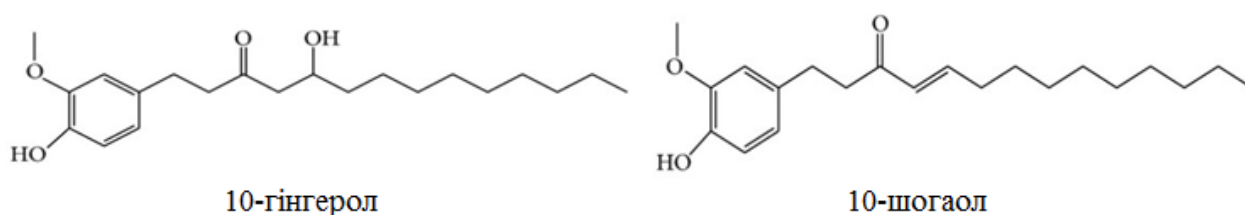


Рис. 1.5 Структурні формули основних БАР імбиру лікарського

До складу ефірної олії входять сесквітерпени (50 % від загальної кількості), α - і β -зингібери, β -сесквіфеландрен, β -бісаболен, α - і β -фарнезени, зінгібериол і інші. Також присутні монотерпени, що надають кореневищам характерний запах, гераніол (9 %), ліналоол, борнеол, гераніаль, гераніацетат, ізоборнеол.

Імбир застосовують як протизапальний засіб при ОА, РА і м'язових болях. Вибіркове пригнічення ферментів циклооксигенази (ЦОГ)-2 і 5-ліпоксигенази зменшує утворення простагландинів, простацикліну, тромбоксану та лейкотрієнів. При цьому імбир не пошкоджує слизову оболонку шлунку на відміну від НПЗП [87].

Куркума довга (*Curcuma longa L.*) містить вуглеводи, ефірні олії, жирні кислоти, куркуміноїди (куркумін, деметоксікуркумін і бісдеметоксікуркумін), вміст яких приблизно становить 2 %, а також інші поліпептиди, такі як турмерін (рис. 1.6) [238].



Рис. 1.6 Структурні формули основних БАР куркуми довгої

Завдяки куркуміну, який відомий своїми антиоксидантними, протипухлинними та протизапальними властивостями, куркума використовується при лікуванні хронічних запальних захворювань (серцево-судинні хвороби, хвороба Альцгеймера, ревматоїдний артрит і метаболічний синдром) [160].

Гарпагофітум лежачий (*Harpagophytum procumbens*). Як лікарську рослину сировину використовують корені, які містять ірідоїдні та тритерпенові глікозиди - гарпагозид, гарпагід і прокумбід (рис.1.7) [225].

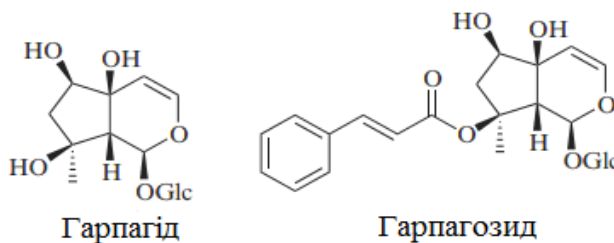


Рис.1.7 Структурні формули основних БАР гарпагофітуму лежачого

Сировина гарпагофітуму пригнічує активність ферменту циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), зменшуючи вміст простагландинів, знижує вивільнення ІЛ-1 і ІЛ-6 і, завдяки чому виявляє дію аналогічну НПЗЗ [151]. Також пригнічує активність ліпооксигенази (ЛОГ), що призводить до зменшення утворення лейкотрієнів, що беруть участь у розвитку ОА та РА [180]. Зменшення запалення, зокрема деструкції в тканинах суглоба знижує вираженість больового синдрому.

Хондропротекторна дія реалізується завдяки зниженню продукції прозапальних цитокінів - ІЛ-1 β , TNF- α , ІЛ-6, що запобігає активації ММП хондроцитів (колагенази, еластази, стромелізіна) і пригнічення синтезу протеогліканів і колагену [177].

Босвелія серата (Boswellia serrata). Активними компонентами босвелії є β -босвелієва, ацетил- β -босвеллієва, 11-кето- β -босвеллієвая і ацетил-11-кето- β -босвеллієва кислоти (рис. 1.8).

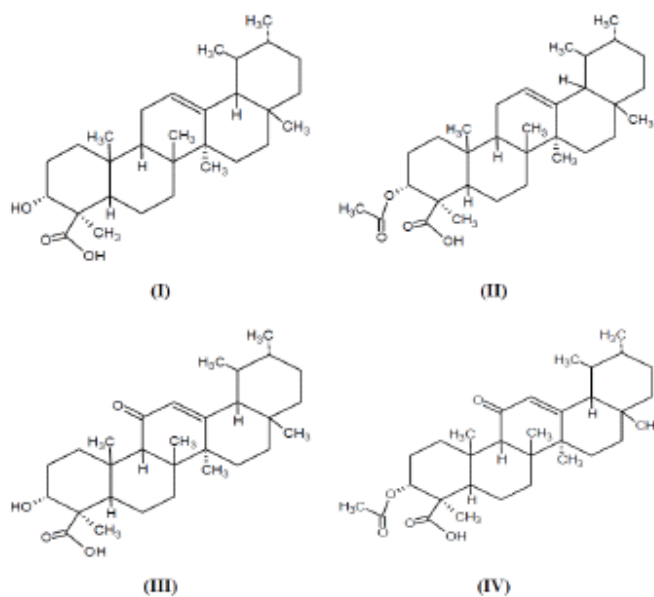


Рис.1.8 Структурні формули основних БАР босвелії: β -босвелієва (I), ацетил- β -босвелієва (II), 11-кето- β -босвелієвая (III) і ацетил-11-кето- β -босвелієва кислоти

Механізм їх дії заснований на інгібуванні синтезу прозапальних медіаторів, зокрема лейкотрієнів, і подібний до механізму дії НПЗП, при цьому рослина проявляє хондронейтральні властивості, не впливаючи на синтез глікозаміногліканів

[237]. Босвелієві кислоти не викликають подразнення слизової ШКТ, бронхоспазмів. Крім того, босвелія сприяє зміцненню та відновленню стінок судин, знижує ознаки запалення при артритих [153,195].

Ункарія томентоза (*Uncaria tomentosa*), або «Котячий кіготь» виявляє імуномодулюючу, протизапальну, адаптогенну, антиоксидантну, гіпотензивну та знеболювальну дії, гальмує проліферацію пухлин [215]. Основні класи БАР: тетра- та пентациклічні оксііндольні алкалоїди, феноли та поліфеноли, глікозиди хінної кислоти, тритерпени та стероїди. Оксііндольні алкалоїди - мітрафілін, птероподин, ринхофілін, ункарин, спеціофілін (рис 1.9) мають виражену імуностимулюючу (стимулятори фагоцитозу), протизапальну, антиаритмічну, антиагрегантну, гіпохолестеринемічну, протівірусну, антиастматичну, протівиразкову та антиканцерогенну дії, здатні інгібувати моноаміноксидазу, мають вазодилатуючу та міорелаксуючу дії. Фенольна фракція представлена катехінами та проантоціанідинами. Епікатехіни виявляє антимутагенну, Р-вітамінну та антиоксидантну дії. Глікозиди хінної кислоти мають протівірусну, а тритерпенові сапоніни – антибактеріальну, антисклеротичну та протипухлинну дії. Стигмастерол і кампестерол (стероїди) мають антибактеріальну та знеболювальну дії [159,170].

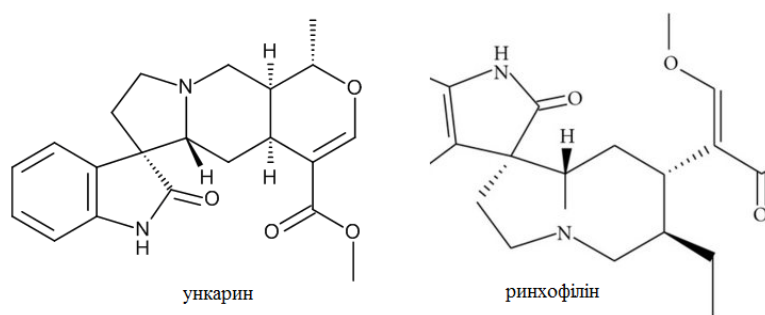


Рис. 1.9 Структурні формули основних БАР ункарії томентоза – ункарин та ринхофілін

Верба гостролиста (*Salix acutifolia*) виявляє широкий спектр терапевтичної дії. В якості ЛРС використовують верби кори, що містить цілий комплекс БАР: фенологлікозиди, флавоноїди, дубильні речовини, фенолокислоти, аскорбінова кислота, амінокислоти, сапоніни, ефірні масла і полісахариди. Перший фенологлікозид, виді-

лений з рослин - саліцин (салікозід), являє собою β -глюкозид саліцилового спирту, який відповідає за фармакологічну активність рослини (рис. 1.10) [164].

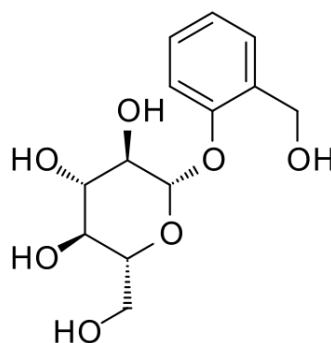


Рис. 1.10 Основна БАР верби гостролистої – саліцин

Кора верби володіє антиревматичною, антисептичною, терпкою, дезинфікуючою, потогінною, жарознижувальною, противогарячковою, сечогінною, жовчогінною, гіпотензивною дією, посилює секрецію шлункового і панкреатичного соків, стимулює роботу бронхіальних залоз, прискорює процес згортання крові. Анальгезуючі та протизапальні властивості верби застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату, при подагрі (сприяє виведенню солей сечової кислоти), при захворюваннях серцево-судинної системи (сприяють розширенню коронарних судин, збільшенню амплітуди серцевих скорочення, викликають зниження ритму серця). Відомі також противірусні та протигрибкові властивості препаратів верби [77,232].

Таким чином, узагальнено дані сучасних наукових джерел літератури щодо поширеності ревматичних захворювань в різних областях України; наведено міжнародну класифікацію основних типів ревматичних порушень; проаналізовано причини та основні фактори, що сприяють їх виникненню, напрямки діагностики та сучасної фармакотерапії даних захворювань; представлено напрямки та можливості застосування фітотерапевтичних засобів при ревматичних захворюваннях. На підставі вищенаведеного обґрунтовано актуальність і доцільність комплексних досліджень щодо розробки та стандартизації комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів.

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ОБ'ЄКТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Обґрунтування вибору об'єктів дослідження

2.1.1 Аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату

З урахуванням відомостей, наведених у розділі 1 щодо етіології, патогенезу та основних тенденцій у стратегії та тактиці лікування РЗ, нами досліджено номенклатуру рослинних ЛЗ, що застосовуються при ревматичних захворюваннях суглобів, зареєстрованих в Україні, їх компонентний склад, фармакотерапевтичні групи, лікарські форми, виробники тощо. У відповідності до класифікаційної системи АТС, препарати даного сегменту ринку розподілені на такі групи:

- М01 – протизапальні та протиревматичні засоби;
- М02 – засоби, що застосовуються місцево при суглобовому та м'язовому болю;
- М03 – міорелаксанти;
- М04 – засоби, що застосовуються при подагрі;
- М05 – засоби, що застосовуються для лікування захворювань кісток;
- М09 – інші засоби, що застосовуються при патології опорно-рухового апарату [44].

У групі М09 – засоби, що застосовуються при патології опорно-рухового апарату, нами досліджена підгрупа М09А Х10** – різноманітні засоби, до якої відносяться засоби рослинного походження, в тому числі, і гомеопатичні. На фармацевтичному ринку в даній підгрупі представлено 18 торгових найменувань препаратів у різних лікарських формах (Додаток А, табл. А1) [59, 128].

Аналіз фірм-виробників препаратів показів, що провідне місце займають німецькі виробники («Biologische Heilmittel Heel GmbH», «Deutsche Homoopathie-Union», «Esparma», «Homviora Arzneimittel», «Mucos Pharma»), крім того на ринку

представлені виробники Австралії (N'Kapharma Pharmaceuticals Export Pty Ltd), Індії («Micro Labs», «Кусум Хелтхкер Пвт.»), «Австрії («Richard Bittner»), Румунії («Biotehnos»), Японія («Takeda Pharmaceutical Company»), Російської Федерації (ЗАТ «Бринцалов-А»), Турції («Tripharma»), В'єтнам («Фіто Фарма Ко. Лтд.») Препарати даної групи представлені також і українськими виробниками: ПрАТ «Національна гомеопатична спілка», ТОВ «Українська фармацевтична компанія», «Про-фарма», «Фармак», «Movi Health GmbH», ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», «Матерія Медика-Україна». Що стосується співвідношення країн-виробників, встановлено, що основну долю українського ринка займають препарати імпортованих виробників (74,1 %), в той час, коли вітчизняних препаратів представлено лише 25,9 % (рис. 2.1) [29, 44, 54].

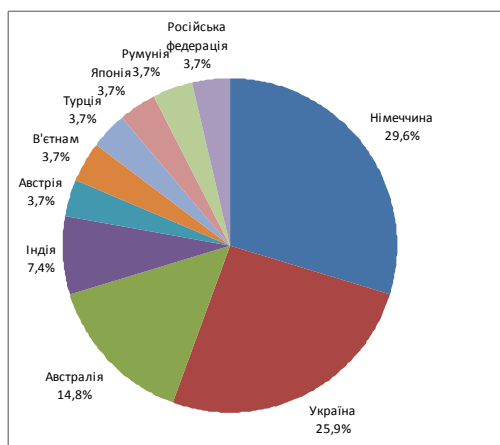


Рис. 2.1 Аналіз країн-виробників рослинних ЛЗ, що застосовуються при патології опорно-рухового апарату

Асортимент препаратів на фармацевтичному ринку України представлений різноманітними лікарськими формами (рис. 2.2) [94, 144].

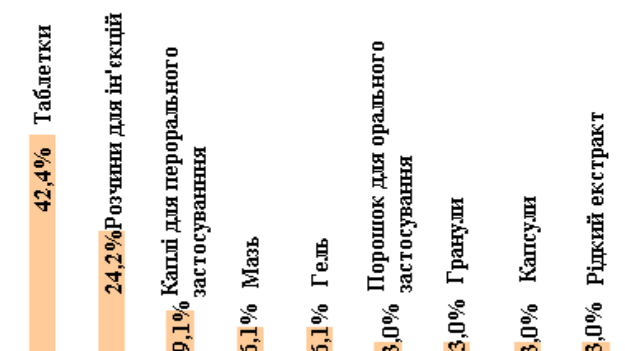


Рис. 2.2 Аналіз рослинних засобів, що застосовуються при патології опорно-рухового апарату, за формою випуску

Згідно з наведеними даними на рис. 2, найбільшу частку займають таблетки (42,4 %), популярність яких зумовлена зокрема зручністю застосування. Розчини для ін'єкцій та краплі для перорального застосування займають 24,2 % та 9,1 % відповідно. М'які лікарські форми представлені мазями та гелями (6,1 % та 6,1 %). Інші лікарські форми (капсули, гранули) представлені незначною часткою.

Аналізуючи походження компонентів лікарських засобів та аспекти їх застосування встановлено, що дана група представлена переважно гомеопатичними препаратами та хондропротекторами. Гомеопатичні препарати («Дискус композитіум», «Траумель С», «Цель Т», «Інцена», «Кальцій флуоратум сіль доктора шюсслера №1», «Хомвіо-ревман», «Артро-гран», «Сольвенцій», «Артрофон») за рахунок наявності речовин рослинного, мінерального та тваринного походження мають метаболічну, регенеруючу, знеболюючу, протизапальну, спазмолітичну та седативну дію.

Такі препарати як «Гіалган», «Сингіал», «Адант», «Артифлекс», «Артрон три актив форте», «Румалон» містять у своєму складі глюкозаміну гідрохлорид, завдяки чому позитивно впливають на регенераційні процеси хрящової тканини. Також представлені ферментні засоби «Мовіназа», «Серрата», «Вобензим», «Флогензим», «Серокс». До складу яких входить серратіопептидаза, що виявляють фібринолітичну, протизапальну протинабрякову дію.

Рослинні ЛЗ представлені незначною часткою: «Сустамар», «Фонг те тхап», «Хомвіо-ревман», які завдяки наявності БАР виявляють протизапальну, знеболюючу та хондропротекторну дії [113]. Детальна характеристика вищенаведених засобів представлена у Додатку А (табл. А2). Серед представлених є полікомпонентні засоби, які містять хондропротектори та рослинні компоненти - «Остеоартізі, N»; ферменти та рутин – «Флогензим», «Вобензим» [57, 254].

Аналізуючи дані, наведені у Додатку А табл. А2, можна зазначити, що серед препаратів даної групи, представлених на ринку України, за відсотковим вмістом переважають гомеопатичні ЛЗ (34,6 %) та хондропротектори (26,9 %). В однаковому процентному співвідношенні представлені ферментні (19,2 %) та рослинні препарати (19,2 %).

2.1.2 Аналітичний огляд добавок дієтичних, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату (ОРА)

На фармацевтичному ринку України представлені добавки дієтичні (ДД), до складу яких входять лікарські рослини (табл. 2.1) [77, 81, 94, 100, 211].

Таблиця 2.1

Характеристика ДД, що застосовуються при захворюваннях ОРА

№	Назва ДД	Склад	Виробник	Показання до застосування
1	2	3	4	5
2	Ревмагерб	Густий екстракт (2-4:1): Гарпагофітуму лежачого корені, <i>Echinaceae purpureae herba</i> , <i>Filipendulae ulmariae flore</i>	Poznan Herbal Company «Herbapol» S.A., Польща	Дегенеративні захворювання ОРА
3	Ревмафіт	Гарпагофітуму лежачого екстракт рідкий (1,5-2,5:1)	Phytopharm Klenka SA, Poland	Патології ОРА
4	Картиліум	Гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий, метилсульфонілметан	«Новалік-Фарм», Україна	Гострі та хронічні захворювання суглобів
5	Ревмасол	Екстракт кореню мартінії запашної (<i>Harpagophytum procumbens</i>), екстракт смоли босвелії пильчастої (<i>Boswellia Serrata</i>)	«Dr. Growth Health Line», Німеччина	Застосовувати при гострих та хронічних захворюваннях суглобів
6	Артро веда	Босвелія Сerrата (<i>Boswellia serrata</i>), куркума довга (<i>Curcuma longa</i>), калган великий (<i>Alpina galangal</i>), імбир лікарський (<i>Zingiber</i>	«Конарк Аюрведа Pvt. Лтд», Індія	Деформуючий остеоартроз, ревматоїдний артрит, остеохондроз, анкілозуючий спон-

Продовж. табл. 2.1

1	2	3	4	5
		officinale), гуньба (Trigonella foenum-graecum), насіння селери (Apium), мускатний горіх (Myristica), перець довгий (Piper longum).		диліт, радикуліт, подагра
7	Атромаксимум 5 днів	Метілсульфонілметан, екстракт босвеллії, екстракт лопуха, екстракт білої верби, екстракт куркуми, екстракт імбиру, екстракт чорного перцю.	«Евалар», Росія	Поліпшення рухливості і гнучкості суглобів
8	Босвелін	Стандартизований екстракт босвеллії 65 %.	«Vitaline», Америка	Суглобові захворювання різної етіології
9	Котячий кіготь екстра плюс	Екстракт кори котячого кігтя, екстракт лимонника китайського, вітаміни групи С, В, Е.	«Вітера», Україна	Знижений імунітет; Захворювання ОРА.

Згідно з даними табл. 2.1, асортимент ДД в основному представлений засобами імпортного виробництва, лише 2 найменування вітчизняного виробництва. Щодо компонентного складу наведених ДД, то є монокомпонентні – «Ревмафіт» і «Босвелін», що містять екстракти гарпагофітуму лежачого та босвеллії відповідно; комбіновані з синтетичним хондропротектором метілсульфонілметаном – «Картіліум» і «Атромаксимум 5 днів» та багатоконпонентні рослинні ДД – «Ревагерб», «Ревмасол», «Артроведа», «Котячий кіготь екстра плюс».

Результати аналізу фармацевтичного ринку України свідчить о перспективності розробки нових вітчизняних засобів для лікування РЗ.

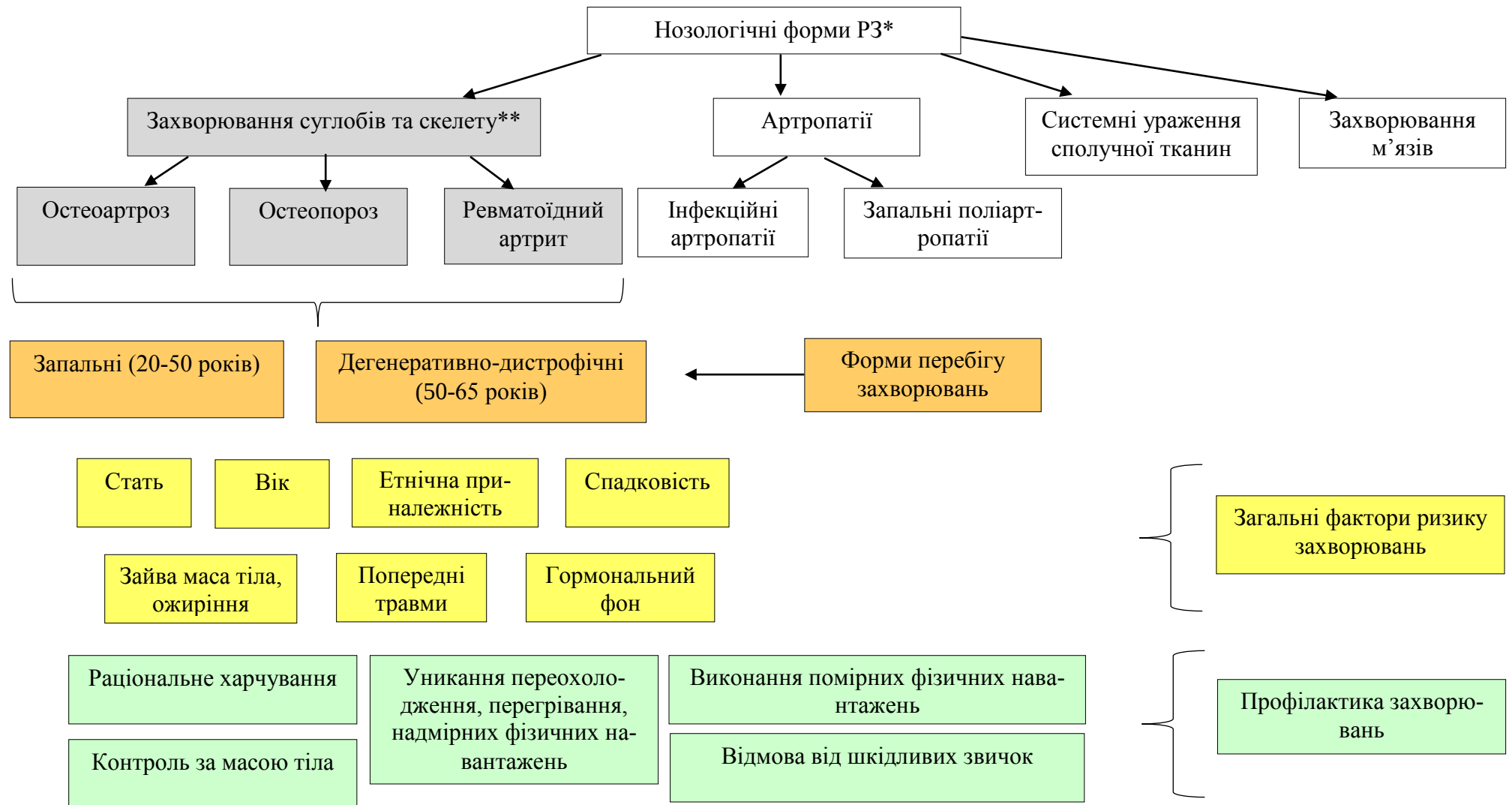
2.1.3 Розробка алгоритму вибору лікарських рослин при ревматичних захворюваннях та вибір об'єктів дослідження

При виборі стратегії лікування РЗ та призначенні ЛЗ рослинного походження першочерговим є визначення його нозологічної форми та форми перебігу захворювання. Важливим є аналіз наявних факторів ризику у пацієнта, а також можливих профілактичних напрямків [76, 118, 253]. Характеристика РЗ за даними аспектами представлена на рис. 2.3.

Згідно з наведеними відомостями у розділі 1 п. 1.2, лікування РЗ є комплексним і включає фармакотерапію, хірургічне втручання, немедикаментозну терапію тощо. Лікарські засоби для лікування даних захворювань представлені на рис. 2.4.

Рослинні препарати досить добре зарекомендували себе і для профілактики, і для лікування РЗ, оскільки, поєднуючи декілька видів фармакологічної дії, ефективно впливають на етіопатогенетичні та симптоматичні чинники захворювання [183]. Терапевтичні властивості лікарських рослин, що застосовуються при терапії РЗ, визначаються БАР, що містять лікарські рослини і переважним вмістом певних груп БАР, відповідальних за той чи інший фармакологічний ефект, - діючими речовинами (рис. 2.5). Проте засоби рослинного походження не завжди можуть повноцінно замінити фармакотерапію, і це обов'язково необхідно пам'ятати при їх призначенні [186].

Фітотерапія РЗ базується на тих самих принципах, що і лікування синтетичними лікарськими засобами (рис. 2.5). По-перше, необхідно визначитись з етіопатогенетичними факторами захворювання. Серед основних етіологічних чинників РЗ виділяють аутоімунні реакції, порушення обміну пуринів, наявні вогнища запалення в організмі. Якщо говорити про фітотерапію ревматоїдного артрити, то першочерговим є призначення лікарських рослин з імунотропними та цитостатичними властивостями, оскільки визначальну роль у перебігу даного захворювання мають аутоімунні порушення в організмі [137]. Перелік лікарських рослин, що мають указані фармакологічні властивості наведений у розділі 1 п. 1.3.



Примітка.*Міжнародна статистична класифікація хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я

**РЗ, що мають найбільше медико-соціальне значення

Рис. 2.3 Характеристика ревматичних захворювань

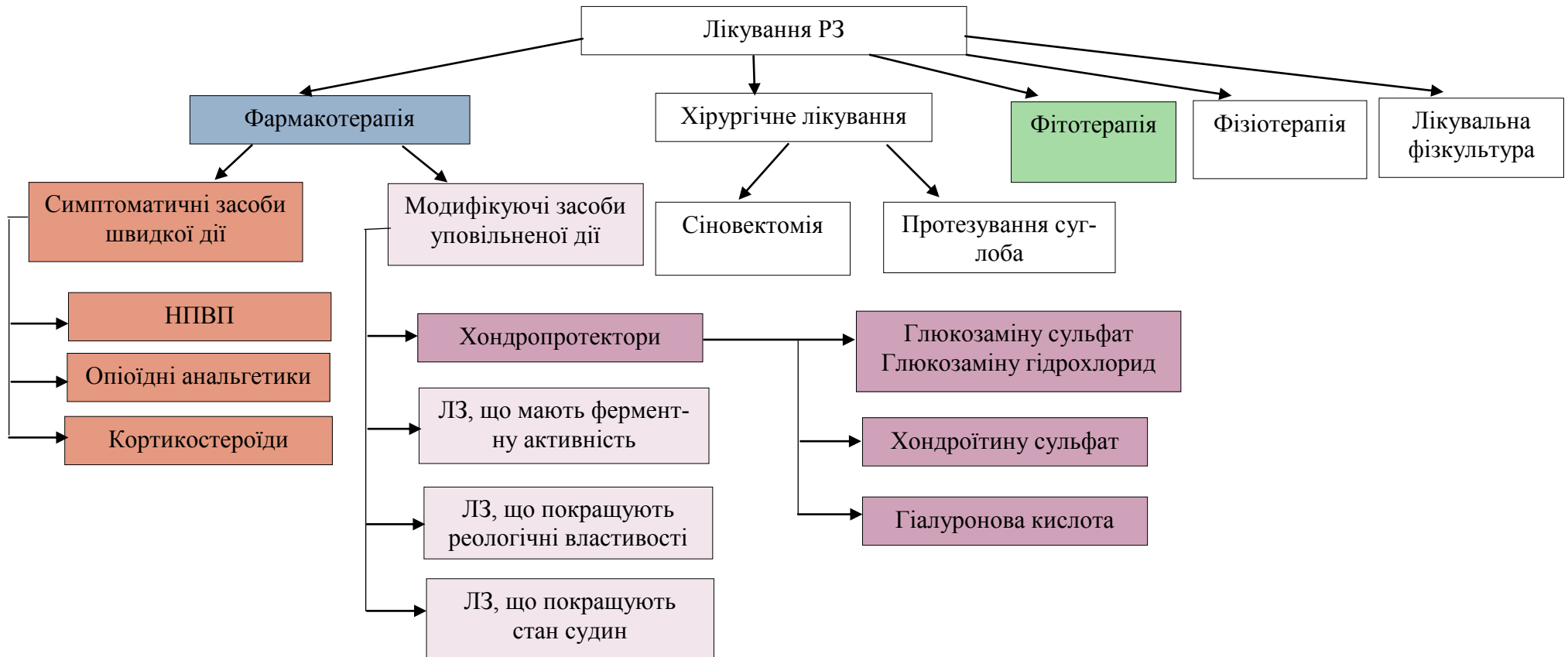


Рис. 2.4 Методи лікування ревматичних захворювань

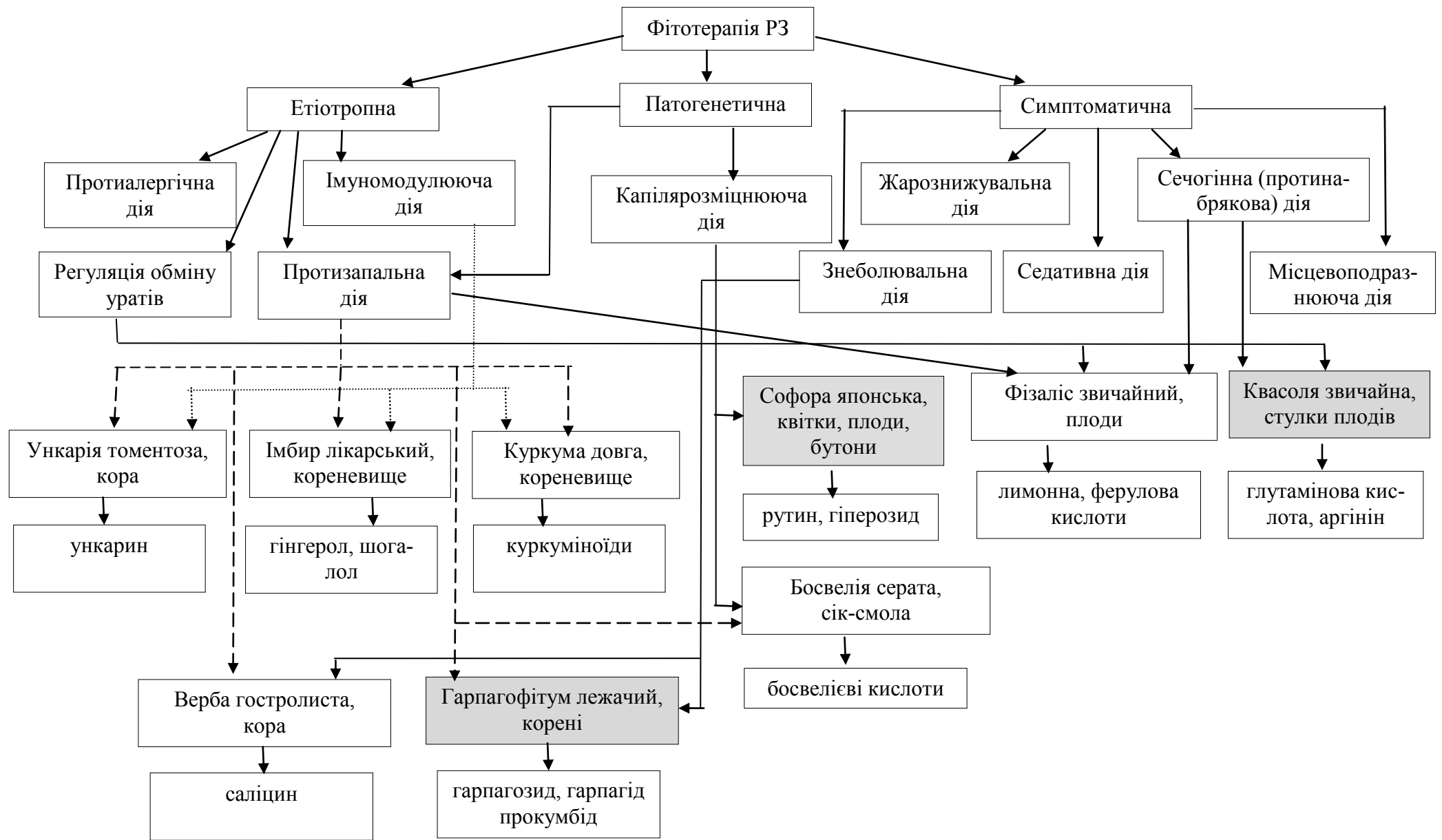


Рис. 2.5 Алгоритм вибору лікарських рослин при ревматичних захворюваннях

Однією з найбільш поширених причин прогресуючого розвитку артриту є порушення обміну солей сечової кислоти (уратів) в організмі та їх відкладання у суглобах. Для регуляції обміну уратів та виведення їх надлишку з організму застосовують *спориш звичайний, марена красильна, гісон лікарський, квасоля звичайна*, що мають також сечогінні властивості [193].

Другим базисним принципом фітотерапії РЗ є застосування лікарських рослин з антимікробними та протизапальними властивостями. Лікарські рослини протизапальної дії можна умовно поділити на три групи в залежності від класу хімічних сполук, відповідальних за дану дію.

До першої групи відносять рослини, що містять саліцилати (*верба гостролиста, гадючник в'язолистий, малина звичайна, тополя чорна*) [249], до другої – рослини, що містять фітостерини, ди- і тритерпеноїди та інші речовини, що мають стероїдну будову (*динне дерево, смоківниця, ананас звичайний, юкка, агава, босвелія серата*) [153]. До третьої групи відносять лікарські рослини – джерела речовин фенольної природи, перш за все таніну та галової кислоти (*вільха клейка, дуб звичайний, бадан товстолистий*) [167].

На рис. 2.5 наведені лікарські рослини, що поєднують імуномодулюючі та протизапальні властивості, що є безумовною перевагою при їх застосуванні – *гарпагофітум лежачий, куркума довга, імбир лікарський, ункарія томентоза*; протизапальні та знеболюючі властивості – *гарпагофітум лежачий, верба гостролиста* [179, 141].

Крім зниження вираженості запальних процесів в організмі, важливим напрямком патогенетичної терапії є регуляція реологічних властивостей крові та зміцнення судинної стінки [241]. Серед лікарських рослин, що мають виражені капіляррозміцнюючі властивості та широко застосовуються, слід відзначити *гречку посівну, гадючник в'язолистий, софору японську, аронію чорноплідну* [161, 178].

Третім принципом фітотерапії РЗ є призначення лікарських засобів зовнішньо. Для цього застосовують вищенаведені лікарські рослини у вигляді спиртових настоек, мазей, лініментів тощо [144].

Таким чином, при виборі лікарських рослин для подальшого дослідження з метою їх стандартизації та розробки фітотерапевтичних засобів для профілактики та лікування ревматичних захворювань суглобів нами були враховані представлені вище принципи фітотерапії РЗ. Особливу увагу привернули ЛР, які поєднують декілька видів фармакологічної дії, тобто впливають на різні чинники захворювання, що дає можливість зменшити кількість найменувань лікарських рослин при розробці складу фітокомпозиції, зменшуючи при цьому ризик виникнення небажаних побічних явищ при їх застосуванні. До таких рослин, що вже представлені вище, відносяться, зокрема, *гарпагофітум лежачий* та *квасоля звичайна* [213].

Наступний критерій вибору лікарських рослин – достатність сировинної бази для дослідження, стандартизації сировини, отримання у промислових масштабах та стандартизації рослинних засобів. У даному аспекті слід звернути увагу на *квасолю звичайну*, її лікарська рослинна сировини – стулки плодів, що є, фактично, відходами при вирощуванні квасолі як харчової рослини, та *софору японську*, яке має достатнє розповсюдження у світі та Україні (південь), і широкий вибір видів лікарської рослинної сировини – плоди, квітки, бутони, що мають подібні фармакологічні властивості [236, 246].

Важливим аспектом при розробці лікарського засобу є не лише достатня сировинна база, а й відповідна якість лікарської рослинної сировини. Проаналізувавши це питання, нами було визначено, що, незважаючи на достатньо широке і багаторічне застосування квасолі звичайної стулок плодів в Україні відсутня нормативна документація на даний вид сировини. Діючою нормативною документацією в Україні на сировину софори японської є монографії ЄФ 8.3 «*Sophora Flowerbuds*», «*Sophora Flower*», сировину гарпагофітуму лежачого ЄФ 8.0 «*Devil's claw Root*», а також монографії ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки» та ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені», які є адаптованим перекладом відповідних монографій ЄФ [26, 27, 171, 172]. Однак відсутність експериментальних даних щодо якості даних видів сировини в Україні викликало необхідність проведення дослідних робіт із підтримки розробки проектів монографій до ДФУ 2.1 на ці види сировини. Нормативна документація на софори японської плоди та на квасолі

звичайної стулки плодів відсутня, що вимагає проведення досліджень з їх розробки та введення до ДФУ.

2.2 Об'єкти дослідження

Лікарська рослинна сировина:

- Софори японської квітки (*Sophorae japonicae flos*). Досліджували п'ять серій квіток, заготовлених в період 2015-2016 рр., постачальник (Фітомаркет «Світ трав»; Фітомаркет «Хлорофітум»; ТОВ «Сумифітофармація»; Фітомаркет «Лічець травник»; ТОВ Аптека «Лікарські рослини») (зразки №№ 1-5 відповідно).

- Софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*). Досліджували п'ять серій бутонів, заготовлених в період 2015-2016 рр. в період бутонізації, постачальник (Фітомаркет «Світ трав»; Фітомаркет «Хлорофітум»; ТОВ «Сумифітофармація»; Фітомаркет «Лічець травник»; ТОВ Аптека «Лікарські рослини») (зразки №№ 1-5 відповідно).

- Софори японської плоди (*Sophorae japonicae fructus*). Досліджували шість серій плодів, заготовлених в період 2014-2017 рр. в період плодоношення, постачальник (Фітомаркет «Світ трав»; Фітомаркет «Хлорофітум»; ТОВ «Сумифітофармація»; Фітомаркет «Лічець травник»; ТОВ Аптека «Лікарські рослини» (дві серії)) (зразки №№ 1-6 відповідно).

- Гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*). Досліджували п'ять серій коренів, заготовлених в період 2015-2016 рр., постачальник («Starwest Botanicals», США; «Frutarom Switzerland Ltd.»; «Nature et Plantes», Франція; «Shaanxi Joryherb Bio-Technology Co., Ltd.», Китай; «Frontier CO-OP», США) (зразки №№ 1-5 відповідно).

- Квасолі звичайної стулки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*). Досліджували три серії стулок плодів, заготовлених в період 2015-2017 рр. в період серпень-вересень, постачальник (Фітомаркет «Світ трав» (зразок №1); ТОВ Аптека «Лікарські рослини» (зразки №№2-3), а також чотири серії стулок плодів, заго-

товлених в період 2016-2017 рр. в період серпень-вересень, на території Харківської (зразки №№ 4, 5) та Сумської областей (зразки №№ 6, 7).

Нарізви продукти: гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий (*Harpagophyti extractum siccum*).

Готові форми:

- добавка дієтична «Остеоверт» (виробник ТОВ «Фармацевтична фірма «Вертекс», м. Харків);

- рослинний збір «Ревмаверт» за прописом: гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*), софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*), квасолі звичайної стулки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), споришу звичайного трава (*Polygoni avicularis herba*) при наступному співвідношенні: (50:20:20:10).

2.3 Матеріали та методи дослідження

При проведенні ідентифікації досліджуваної ЛРС були використані ТШХ-пластини різного виробництва, що містять в якості сорбенту *силікагель Р* («Supelco» Silica gel on TLC AL foils, Sigma-Aldrich; TLC Silica gel 60 F254 / Glass plates, Merck), *силікагель G* («Alugram» Sil G /UV254, Macherey-Nagel; «Polygram» Sil G, Macherey-Nagel) та *целюлозу Р* («TLC Cellulose», Merck).

Для досліджень використовували розчинники кваліфікації *ч.д.а.* або для *хроматографії*; співвідношення розчинників, позначені цифрами, взяті в об'ємних одиницях. Використані реактиви були приготовлені відповідно до вимог, описаних у відповідних розділах ДФУ. Всі реактиви використовували свіжо-приготованими.

2.3.1 Фізичні, хімічні та фізико-хімічні методи аналізу

Методика 1. Визначення вмісту макро- та мікроелементів. Визначення елементного складу проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Атомно-

абсорбційна спектрографія» (2.2.23) [24]. Дослідження проведені на базі НТК «Інститут монокристалів» НАН України у відділі аналітичної хімії функціональних матеріалів і об'єктів навколишнього середовища ім. А.Б. Бланка. Використовували спектрофотометр ДФС-8 із дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою освітлення щілини та спектрометрі iCE 3500 (Thermo Scientific, США). Проби випарювали з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А при експозиції 60 с. Як джерело збудження спектрів було використано ІВС-28 [133].

Методика 2. Ідентифікацію БАР у досліджуваних зразках ЛРС проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Тонкошарова хроматографія» (2.2.27) [24]. Монографії ДФУ 2.0. «Гарпагофітуму лежачого корені» [26], ДФУ 2.1 «Софори квітки» [27] та «Софори бутони» [27], ДФУ 2.2 «Гарпагофітуму лежачого екстракт сухий» [27].

Методика 3. Визначення кількісного вмісту рутину. Проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Рідинна хроматографія» (2.2.29) [24], за методиками, які наведені у монографіях ДФУ 2.1 «Софори бутони» [27] та «Софори квітки» [27]. Відтворення методики проводилось за допомогою рідинного хроматографа Shimadzu LC-20A та колонки Wates Symmetry Shield RP-18 з розміром часток 5 мкм (250мм×4,60 мм).

Методика 4. Визначення кількісного вмісту гарпагозиду. Проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Рідинна хроматографія» (2.2.29) [24], за методикою, яка наведена у монографії ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» [26], ДФУ 2.2 «Гарпагофітуму лежачого екстракт сухий» [28]. Методика була адаптована до роботи з використанням хроматографа Prostar (фірми Viran). Дослідження проводили на базі Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів (ДНДЛ з КЯЛЗ) під керівництвом завідуючої лабораторії к. фарм. наук Губарь С. М.

Умови хроматографування: колонка хроматографічна Phenomenex Luna C18(2) з розміром часток 3 мкм (150мм×4,60 мм); температура колонки - 40 °С; рухома фаза: метанол *P* - вода *P* (50:50); швидкість рухомої фази - 0,7 мл/хв; де-

тектування спектрофотометрично за довжини хвилі 278 нм; об'єм інжекції – 10 мкл; час хроматографування – 15 хв.

Методика 5. Визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин. Проводили згідно вимог статті ДФУ 2.0 «Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях» (2.2.25) [24], за методиками кількісного визначення ДФУ 2.1 «Софори бутони» [27] та «Софори квітки» [27].

Методика 6 Визначення вмісту амінокислот методом рідинної хроматографії з передколоночною дериватизацією. Проводили відповідно до вимог статей ДФУ 2.0 «Рідинна хроматографія» (2.2.29) та «Амінокислотний аналіз» (2.2.56) [24]. Хроматографування проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 з флуоресцентним детектором (Agilent technologies, USA). Поділ амінокислот в досліджуваних зразках проводили за допомогою колонки Zorbax AAA (150 мм×4,6 мм×3 мкм). Рухома фаза А – 0,040 моль буферний розчин гідрофосфата натрію доведеного до рН $7,8 \pm 0,05$ ортофосфорною кислотою; В – ацетонітрил Р-метанол Р-вода Р (45:45:10). Хроматографування проводять у градієнтному режимі, швидкість потоку 1,5 мл/хв. Температура термостату колонки 40 °С.

Підготовка тестових розчинів:

Тестовий розчин вільних амінокислот корінь *H. procumbens*: 0,148 г здрібненої на порошок сировини (проходити крізь сито з розміром отворів 355 мкм) поміщають у віалу, додаються 4 мл Розчин 0,1N соляної кислоти Р та вітримують на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 3 годин;

Тестовий розчин загальних амінокислот корінь *H. procumbens*: 0,043 г здрібненої на порошок сировини (проходити крізь сито з розміром отворів 355 мкм) поміщають у віалу, додаються 1 мл Розчин 6 N соляної кислоти та поміщають до термостата при 110 °С. Гідроліз проводять впродовж 24 годин.

Для видалення соляної кислоти аліквоту відцентріфугованого екстракту та гідролізату упарюють на роторному випаровувачі. Сухий залишок ресуспендують у 0,5 мл води очищеної та фільтрують крізь RC-membrane Filters (13 mm i.d., 20 мікролітрів). Гідролізовані зразки та розчини стандартної амінокислотної суміші автоматично дериватизували з о-фталевим альдегідом (OPA) та 9-

флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (FMOС) шляхом програмування автосамплера. Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримання з сумішшю стандартів амінокислот (Agilent 5061-3334). Кількісний вміст амінокислот, обчислювали за формулою:

$$X_{(\text{мкг/мг})} = \frac{C \cdot V}{m}, \quad (2.1)$$

де C – концентрація за даними хроматографічної системи, мкг/мг;

V – об'єм розчинника для екстракції, мл;

m – наважка сировини, мг.

Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних амінокислот від їх загального вмісту [143, 169].

Методика 7. Визначення вмісту амінокислот методом мас-спектрометрії. Проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Мас-спектрометрія» (2.2.43) [24]. Дослідження проведені на базі фітофармацевтичної лабораторії кафедр фармакогнозії і аналітичної та токсикологічної хімії Литовського університету наук про здоров'я (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas) при консультативній підтримці зав. кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Liudas Ivanauskas.

Хроматографування проводили за допомогою рідинного хроматографа моделі моделі Acquity H-class UPLC system (Waters, USA) з триквадрупольним мас-детектором (Xevo, Waters, USA) з іонізацією методом електростатичного розпилення (ESI). Поділ амінокислот в зразках проводили за допомогою колонки ZIC-HILIC з розміром часток 3 мкм (150 мм × 2,1 мм). Умови хромаграфування: температура колонки – 40 °С; об'єм проби – 1 мкл; швидкість потоку – 0,5 мл/хв; температура джерела іонізації – 150 °С; температура десольватації – 400°С; швидкість потоку газу десольватації – 1000 (л/год); напруга на капілярі – 3,21 (kV); конус – 71 V; енергія зіткнень – 20 V; вимірювання мас іонів в діапазоні від 10 до 2048 Да; моніторинг виділених фрагментів в режимі MS.

Градiєнтне елюювання проводили з використанням рухомої фази А – 0,050 М буферний розчин амонію ацетату, доведеного до рН 4,5 ± 0,05 оцтовою

кислотою розведеною; рухома фаза В - ацетонітрил. Хроматографування проводили при наступній програмі градієнта (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Програма градієнта для хроматографування

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0-5	20%	80%
5-6	20→35%	80→65%
6-10	35→50%	65→50%
10-11	50%	50%
11-11,2	50→20	50→80%

Підготовка тестових розчинів. 100 мг (точна наважка) подрібненого в порошок сировини, просіяного через сито з діаметром отворів 355 мкм, поміщають в мірну колбу місткістю 20 мл, додають 15 мл *води Р*. Потім обробляють ультразвуком при температурі 45 °С протягом 10 хв і відстоюють до охолодження. Доводять об'єм розчину до мітки *водою Р*, перемішують і фільтрують через мембранний фільтр Q-max Syringe filters (13 мм, 45 мкм, Nylon) у віали.

Підготовка стандартних розчинів. Для дослідження був використаний стандартний зразок (СО) амінокислот (фірма Sigma-Aldrich, серія №BCBQ0950V), який складається з суміші 17 амінокислот розчинених в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти: L-аланін, L-аргінін, DL-аспарагінова кислота, L-цистин, глютамінова кислота, гліцин, L-триптофан, ізолейцин, DL-лейцин, L-лізин, DL-метионін, DL- фенілаланін, L-пролін, D-серин, L-треонін, L-тірозин, валін. Зміст кожної з них в суміші становить $(2,5 \pm 0,01)$ ммоль/л. Зміст 1 ампули (2,0 мл) СО амінокислот струшують, доводять до температури 20 °С і розводять *водою Р* в 2; 5; 10; 20; 50 і 100 разів, перемішують і фільтрують через мембранний фільтр Q-max Syringe filters (13 мм, 45 мкм, Nylon) у віали [250].

Методика 8. Визначення жирнокислотного складу. Проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Газова хроматографія» (2.2.28) [4]. Хроматографічне розділення проводили на газовому хроматографі Agilent 6890N/5973inert (Agilent

technologies, USA) з хромато-мас-спектрометричним детектором. Умови хроматографування: колонка капілярна HP-5ms з розміром часток 0,25 мкм (30м×0,25мм), Agilent technologies, USA; температура випаровувача – 250 °С; температура інтерфейсу – 280 °С; режим програмування температури - початкова температуру 60 °С витримували впродовж 4 хв., піднімали з градієнтом 4 °С/хв до 250 °С, витримували 6 хв., з градієнтом 20°С піднімали до 300 °С, витримували 5 хв; об'ємом проби – 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку – 1:20; детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z); швидкість потоку газу носія через колонку 1,0 мл/хв.

Ідентифікацію метилових ефірів жирних кислот досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримання стандартної суміші метилових ефірів жирних кислот бактерій (Supelco, USA) та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007, з використанням програм для ідентифікації AMDIS і NIS. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. В якості внутрішнього стандарту використовували розчин ундеканової кислоти.

Проби ліпофільних фракцій для аналізу отримували екстрагуванням *гексаном* *P*, після чого розчинник видаляли у струмі нітрогену для запобігання пероксидації ненасичених жирних кислот. Потім проби піддавали негайній переестерифікації за модифікованою методикою Пейскера сумішшю *хлороформ P* -*метанол P* – *сірчана кислота P* (100:100:1). У скляні ампули відміряли по 30-50 мкл ліпофільні фракції, додавали 2,5 мл метилюючої суміші та запаювали. Потім їх вміщували до термостату на 3 год при температурі 105 °С. Після закінчення процесу метилювання ампули розкривали, їх вміст переносили в пробірки, додавали порошок цинку сульфату на кінчику скальпеля, 2 мл *води P* очищеної та 2 мл *гексану P* для екстракції метилових естерів. Після ретельного збовтування та відстоювання гексановий екстракт використовували для проведення хроматографічного аналізу [231].

Для ідентифікації жирних кислот проводили порівняння часу утримання метилових естерів жирних кислот та часу утримання стандартної суміші метилових

естерів (Supelco, США). Вміст жирних кислот розраховували (у відсотках від їх суми) за площею піків методом внутрішньої нормалізації за загальноприйнятою методикою. Маса кислоти жирної на 1 г сировини в мг розраховували за формулою:

$$X, (мг/г) = \frac{S_x \cdot m_{ст} \cdot 1000}{S_{ст} \cdot m}, \quad (2.2)$$

де S_x – площа піку кислоти жирної;

$m_{ст.}$ – маса внутрішнього стандарту на пробу;

$S_{ст}$ – площа піку внутрішнього стандарту;

m – наважка сировини.

Методика 9. Визначення вільних та суми вільних та загальних моносахаридів. Проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Газова хроматографія» (2.2.28) [24]. Хроматографічне розділення проводили на газовому хроматографі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) з хромато-мас-спектрометричним детектором. Умови хроматографування: колонка капілярна HP-5ms з розміром часток 0,25 мкм (30м×0,25мм), Agilent technologies, USA; температура випаровувача 250 °С, температура інтерфейсу 280 °С; розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 160 °С витримували впродовж 8 хв., піднімали з градієнтом 5 °С /хв до 240 °С, кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв.; об'єм проби 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:50; детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z); швидкість потоку газу носія через колонку 1,2 мл/хв.

Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартів моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 05. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби [197, 252].

Методика 10. Визначення компонентного складу легкої фракції. Проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Газова хроматографія» (2.2.28) [24]. Хроматографічне розділення проводили на газовому хроматографі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) з хромато-мас-спектрометричним детектором. Умови хроматографування: колонка капілярна HP-5MS з розміром часток 0,25 мкм (30м×0,25мм), Agilent technologies, USA; розділення проводили в

градієнтному режимі: початкова температура 50 °С витримувалась впродовж 5 хв. з наступним градієнтом 4 °С /хв до 220 °С, градієнт 10 °С до 300 °С – витримували впродовж 10 хв.; газ – носій гелій; швидкість потоку через колонку – 1,0 мл/хв.; температура випаровувача – 300 °С; об'єм проби – 2 мкл; вводили в режимі поділу потоку 1:50.

Підготовка проб для аналізу: 5,00 г (точна наважка) подрібненої сировини, поміщали у колбу зі шліфом і додавали 300 мл *води Р* та переганяли зі зворотним холодильником при температурі 100 °С протягом 3 год. Отриману витяжку екстрагували гептаном. Екстракт упарювали до 100–200 мкл у потоці азоту.

Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку компонентів мас-спектрів NIST05 и WILEY 2007 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST. Ідентифікацію досліджуваних компонентів виконували за мас-спектрами та часом утримування компонентів [251].

Методика 11. Визначення гідроксикоричних кислот у перерахунку на кофейну кислоту. Визначення вмісту екстрактивних речовин визначали за методикою, викладеною у монографії ДФУ 2.0 «Ехінацеї пурпурової настойка^N» [26]. Як розчин порівняння використовували *ФСЗ ДФУ кофейної кислоти*.

Вимірювали оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину та розчину порівняння у максимумі за довжини хвилі 512±5 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм відносно компенсаційних розчинів.

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти, у перерахунку на кислоту кофейну та на висушену сировину, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_i \cdot m_{st} \cdot 100 \cdot 10 \cdot P \cdot 100}{A_{st} \cdot m_i \cdot 100 \cdot 100 \cdot (100 - w)}, \quad (2.3)$$

де A_i – поглинання випробовуваного розчину у максимумі за довжини хвилі 509±5 нм;

A_{st} – поглинання випробовуваного розчину стандартного зразка у максимумі за довжини хвилі 512±5 нм;

m_i – маса наважки випробовуваної сировини, у г;

m_{st} – маса наважки *ФСЗ ДФУ кофейної кислоти*, у г;

P – вміст основної речовини у *ФСЗ ДФУ кофейної кислоти*, у відсотках;

w - втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

Методика 12. Ідентифікація глюкозаміну сульфату та хондроїтину сульфату у капсулах «Остеоверт» методом ВЕРХ (2.2.29).

Випробовуваний розчин. Близько 0,20 г (точна наважка) вмісту капсул поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 25 мл рухомої фази, витримують на ультразвуковій бані протягом 5 хв та доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки, перемішують та фільтрують крізь фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 2 мл фільтрату.

Розчин порівняння. Близько 0,100 г (точна наважка) *ФСЗ ДФУ глюкозаміну сульфату* та 0,080 г (точна наважка) *хондроїтину сульфату натрію хлорид «Bioberica» Р* розчиняють у рухомій фазі і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25,0 мл. Розчин використовують свіжоприготовленим.

Умови хроматографування: колонка хроматографічна Spherisorb CNRP з розміром часток 5 мкм (250мм×4,60 мм); температура колонки – 30 °С; рухома фаза: ацетонітрил Р – буферний розчин рН 4,0 (10:90); швидкість рухомої фази – 0,5 мл/хв; детектування спектрофотометрично за довжини хвилі 195 нм; об'єм інжекції – 10 мкл; час хроматографування – 15 хв.

Методика 13. Кількісний вміст хондроїтину сульфату у капсулах «Остеоверт» визначали за методикою, викладеною у монографії ДФУ 2.0 «Хондроїтину натрію сульфат» [25]. Титрування проводили за допомогою автоматичного титратора T50 Mettler Toledo.

Методика 14. Кількісний вміст глюкозаміну сульфату у капсулах «Остеоверт» визначали за методикою, викладеною у монографії ЄФ 9.5 «Глюкозаміну сульфат натрію хлорид» [174]. Титрування проводили за допомогою автоматичного титратора T50 Mettler Toledo.

2.3.2 Випробування на граничний вміст домішок

Методика 1. Важкі метали. Визначали відповідно до вимог загальної статті ДФУ 2.0 «Важкі метали» (2.4.8) методом А [24].

Методика 2. Загальна зола. Визначали відповідно до вимог загальної статті ДФУ 2.0 «Загальна зола» (2.4.16) [24].

2.3.3 Фармакогностичні методи аналізу

Методика 1. Макроскопічний аналіз. Дослідження сировини проводили за допомогою збільшуваної лупи та неозброєним оком [4].

Методика 2. Мікроскопічний аналіз. Проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Мікроскопічне дослідження лікарської рослинної сировини» (2.8.23) [24]. Мікропрепарати робили зі подрібненої на порошок висушеної сировини (355) за відомими методиками [4, 114]. Порошок переглядали використовуючи розчин *хлоралгідрату Р*. Рідиною, що просвітлює, була суміш *хлоралгідрат Р* – *вода Р* – *гліцерин (85 %) Р* (120:100:5).

Для виявлення здерев'янілих клітин паренхіми використовували розчин *флороглюцину Р* у *хлористоводневій кислоті Р*.

Подрібнений рослинний збір (355) переглядали під мікроскопом, використовуючи реактиви: розчин *флороглюцину Р* у *кислоті хлористоводневій Р*, розчин 50% *гліцерину Р*, *молочної кислоти реактив Р*, розчин 0,1 г/л *заліза (III) хлориду Р*, розчин 675 г/л *калію гідроксиду Р*.

Дослідження проводились використовуючи мікроскоп МС 10 та фотокамеру Samsung PL 50. Дослідження проводили на базі кафедри ботаніки НФаУ при консультативній підтримці доц. Сірої Л. М.

Методика 3. Сторонні домішки. Відбір проб і пробопідготовка висушеної ЛРС проводили відповідно до вимог статті «Лікарська рослинна сировина: відбір проб і пробопідготовка» (2.8.20). Визначення сторонніх домішок у ЛРС проводили за загальноприйнятою методикою ДФУ 2.0 «Сторонні домішки в лікарській рослинній сировині» (2.8.2) [24].

Методика 4. Втрата в масі при висушуванні. Визначення цього показнику якості для ЛРС проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Втрата в масі при висушуванні» (2.2.32). Дослідження гарпагофітуму лежачого екстракту сухого

проводили за загальноприйнятою методикою ДФУ 2.0 «Визначення сухого залишку екстрактів» (2.8.16) [24].

Методика 5. Визначення вмісту екстрактивних речовин. Визначення вмісту екстрактивних речовин визначали за методикою, викладеною у монографії ДФУ 2.0 «Полин гіркий^N» [26]. Як екстрагенти використовували воду *P*, спирт етаноловий *P* різної концентрації: 20 %, 40 %, 60 %, 80 %.

2.3.4 Фармако-технологічні випробування

Методика 1. Визначення технологічних показників (питому масу, об'ємну вагу, насипну масу, пористість, порозність сировини та коефіцієнт поглинання екстрагента) проводили за методиками, описаними у літературі [7, 13].

Методика 2. Здрібненість досліджуваної сировини. Проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Ситовий аналіз» (2.9.12), використовуючи сито СЛМ-200 [24].

Методика 3. Розпадання капсул. Проводили до вимог статті ДФУ 2.9.1. «Розпадання таблеток і капсул» (2.9.1). Дослідження проводили за допомогою приладу для визначення розпадання таблеток і капсул «PTZ AUTO» фірми Pharma Test [24].

2.3.5 Фармакологічні дослідження

Методика 1. Дослідження анальгетичної та протизапальної активності отриманого гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого та рослинного збору «Ревмаверт» проводили на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів. Досліди проводили на базі кафедри біологічної хімії під керівництвом завідувача кафедри д. біол. н., професора Загайко А.Л. (з 01.04.2018 р. – проректор з науково-педагогічної роботи НФаУ) та аспіранта кафедри біологічної хімії Литкина Д.В.

Препаратом порівняння було доцільно обрати зареєстрований на території України рідкий екстракт для внутрішнього застосування Фонг Те Тхап (ЛТД «ФІТО ФАРМА Ко.», В'єтнам), який за АТС-класифікацією належить до засобів, що застосовуються при патології опорно-рухового апарату (M09AX10**) й позиціонується як рослинний препарат з протизапальними й анальгетичними властивостями для симптоматичного лікування ревматичних артралгій, артрозо-артритів різної етіології та остеохондрозу [44].

Для визначення релевантної експериментальної дози екстракту сухий гарпагофітуму лежачого були опрацьовані літературні дані попередніх досліджень анальгетичних й протизапальних властивостей гарпагофітуму та гарпагозиду інших авторів. Протизапальна активність екстракту (1,5-1,7% гарпагозиду) з ефективністю ігібування карагенінового набряку в 20,3% була доведена на щурах в дозі 2000 мг/кг. Екстракт з 1,8% гарпагозиду на моделі оцетовокислих корчів проявляв значні анальгетичні властивості (78%) в дозі 400 мг/кг. В інших дослідженнях максимальна анальгетична активність екстракту, що містив 2,2% гарпагозиду була продемонстрована в дозі 1200 мг/кг (62%) [211, 213]. Таким чином, експериментальні дози досліджуваних засобів прогнозувалися згідно вмісту в них гарпагозиду й встановлювали – 1,500 мг/кг для екстракту сухого (що відповідає не менше ніж 37,0 мг/кг гарпагозиду).

Експериментальні дози для збору комбінованого складу та для референтного засобу Фонг Те Тхап розраховували із використанням дози еквівалентних для тварин (AED) із урахуванням середньо терапевтичних добових доз препаратів для людини й міжвидової різниці маси та площі поверхні тіла [158]. Згідно з цим, експериментальна доза готового, настояного та профільтрованого збору для тварин склала – 11,3 мл/кг в об'ємному вираженні. Доза препарату порівняння Фонг Те Тхап склала – 4 мл/кг в об'ємному вираженні, що в перерахуванні на гомаломени кореневище (один з основних компонентів препарату) дорівнювало 340 мг/кг.

В експерименті були використані 50 аутбредних самиць білих щурів масою 150-180 г, поділених на контрольну та 4 експериментальних групи, тварини з яких отримували лікування. За 1 год до ін'єкції формаліну тваринам внутрішньошлун-

ково вводили необхідні дози препаратів за допомогою спеціального зонду. Контрольна група тварин отримувала еквівалентну кількість води очищеної, а гарпагофітуму екстракт сухий розчиняли в 1-2 мл води очищеної. Через 1 год тваринам субплантарно вводили 0,1 мл 2% водний розчин формаліну [158].

Анальгетичну активність оцінювали за сумарним часом епізодів больових реакцій першої (1-10 хв) та другої фази (30-50 хв), що виражалися в підбиранні, облизуванні, погризуванні або струшуванні лапи. Протизапальну активність на моделі формалінового тесту визначали через 3 год після введення флогогену за допомогою механічного онкометра [111, 112].

Методика 2. Протизапальні антиексудативні властивості гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого та рослинного збору «Ревмаверт» також оцінювали на моделі карагенінового набряку у щурів в динаміці. Гостре асептичне запалення задньої кінцівки моделювали у самиць аутбредних щурів масою 180-200 г при субплантарному введенні 0,1 мл 1% розчину карагеніну. Тварин поділили на 5 груп: на контрольну і 4 експериментальних групи, тварини з яких отримували лікування, по 10 голів в кожній. Ця стандартна модель дозволяє дослідити спроможність тест-зразків впливати на інгібування циклооксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти. За 1 год до введення флогогену щурам внутрішньошлунково вводили розчини досліджуваного гарпагофітуму екстракту сухого та референтного засобу, а тваринам контрольної групи – воду очищену. Розмір набряку вимірювали через 3 год після введення карагеніну за допомогою механічного онкометра.

Антиексудативну активність розраховували за формулою:

$$A = 100\% - [(P_{\text{досл}} / P_{\text{контр}}) \cdot 100], \quad (2.4)$$

де А – антиексудативна активність, %;

$P_{\text{контр}}$ – середня різниця в об'ємі набряклої та здорової лапи в контрольній патології;

$P_{\text{досл}}$ – середня різниця в об'ємі набряклої та здорової лапи в дослідній групі.

2.3.6 Біологічні випробування

Визначення мікробіологічної чистоти досліджуваних субстанцій проводили відповідно до вимог статті ДФУ «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: визначення числа мікроорганізмів» (2.6.12) та «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: випробування на окремі види мікроорганізмів» (2.6.13). Дослідження проводились на базі ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС».

Показники мікробіологічної чистоти для субстанцій, що використовуються при виробництві дієтичних добавок, регламентуються вимогами ГН 4.4.8.073-2001 «Тимчасові гігієнічні нормативи вмісту контамінантів хімічної та біологічної природи у біологічно активних добавках» [125].

2.3.7 Статистична обробка результатів

Отримані результати досліджень були оброблені методом математичної статистики відповідно до монографії ДФУ 5.3 «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів» та 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N» з використанням програми Statistica 8.0 [24, 107].

Висновки до розділу 2

1. За результатами проведеного аналітичного огляду сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату, встановлено наявність 18 торгових найменувань у різних лікарських формах. Серед яких найбільшу частку займають таблетки (42,4 %), розчини для ін'єкцій та краплі для перорального застосування займають 24,2 % та 9,1 % відповідно, м'які лікарські форми представлені мазями та гелями (по 6,1 %), інші лікарські форми (капсули, гранули) представлені незначною часткою. У даній групі ЛЗ переважаючу частку займають гомеопатичні препарати (34,6 %) та хондропр-

тектори (26,9 %).

2. Досліджено асортимент ДД, що застосовуються при захворюваннях ОРА, який, в основному, представлений засобами імпортного виробництва. Серед монокомпонентних – «Ревмафіт» і «Босвелін» містять екстракти гарпагофітуму лежачого та босвелії відповідно; комбіновані з синтетичним хондропротектором метілсульфонілметаном – «Картіліум» і «Артромаксимум 5 днів» та багатокомпонентні рослинні ДД – «Ревмагерб», «Ревмасол», «Артроведа» та ін.

3. Обґрунтовано вибір рослинних об'єктів, перспективних для розробки на їх основі фітотерапевтичних засобів – софори японської бутони, квітки, плоди; гарпагофітуму лежачого корені; квасолі звичайної стулки плодів; напівпродукт – гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий; готові лікарські форми – добавка дієтична у вигляді м'яких желатинових капсул «Остеоверт» та рослинний збір «Ревмаверт».

4. У розділі наведено відомості про прилади, матеріали, методи та методики дослідження, що представлені у роботі.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях:

1. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату. *ScienceRise*. 2015. № 10/4 (15). С. 24–31.
2. Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Мартиния душистая перспективное растение для создания лекарственных средств. *Наука в современном мире : I Междунар. науч. практ. конф. для студентов, аспирантов и молодых ученых*, 19 сент. 2015 г. К., 2015. С. 65–66.
3. Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Анализ лекарственных средств, содержащих гарпагофитум. *Vestnik*. 2015. Т. IV, № 4 (73) : Перспективы развития биологии, медицины и фармации : III междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, 9–10 дек. 2015 г. С. 115–117.

РОЗДІЛ 3

ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ – СОФОРИ ЯПОНСЬКОЇ БУТОНИ, КВІТКИ ТА ПЛОДИ, ГАРПАГОФІТУМУ ЛЕЖАЧОГО КОРЕНІ, КВАСОЛІ ЗВИЧАЙНОЇ СТУЛКИ ПЛОДІВ

Сьогодні інтерес до фітотерапевтичних засобів в Україні і світі постійно зростає. Про це свідчать високі темпи росту реалізації препаратів рослинного походження, впровадження нових сучасних методів їх отримання і створення системи гарантування якості вихідної ЛРС в Україні.

Основним нормативним документом в Україні, що містить загальні вимоги до лікарських засобів, фармакопейні статті, а також методики контролю якості лікарських засобів і лікарської рослинної сировини, є Державна фармакопея України, розробником якої є ДП «Фармакопейний центр» [24-28].

Тому дослідження з апробації методик контролю якості відповідних монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки», ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» ЛРС софори японської бутонів та квіток, гарпагофітуму лежачого коренів та дослідження з розробки національних монографій ДФУ «Софори плоди^N» і «Квасолі звичайної стулки плодів^N» проводились під керівництвом начальника відділу ДФУ ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» докт. фарм. наук, ст.н.с. Котова А. Г. та завідувача сектору «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» ст.н.с. Котової Е. Е.

3.1 Дослідження з апробації методик контролю якості софори японської бутонів та софори японської квіток

Діючою нормативною документацією в Україні на сировину софори японської є монографії ЄФ 8.3 «*Sophora Flower-buds*», «*Sophora Flower*», а також монографії ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки», які є адаптованим перекла-

дом відповідних монографій ЄФ. Однак відсутність експериментальних даних щодо якості бутонів та квіток софори в Україні викликало необхідність проведення дослідних робіт із підтримки розробки проектів монографій до ДФУ 2.1 на дані види ЛРС.

Аналіз методик контролю якості проведено відповідно до вимог ДФУ щодо структури та змісту монографії з використанням специфічних та доступних методик та методів аналізу, які відповідають сучасним вимогам [46, 47, 48].

3.1.1 Ідентифікація за макро- та мікроскопічними діагностичними ознаками

Мікропрепарати готували зі здрібненої на порошок сировини (355) з використанням *хлоральгідрату Р*. В процесі роботи використовували загальноприйняті методики [4].

3.1.1.1 Софори японської бутони

В результаті проведених досліджень було встановлено, що сировина бутонів софори японської відповідала вимогам ЄФ 8.3 монографії «*Sophora Flower-buds*» за морфолого-анатомічними ознаками [56, 66]. Всі діагностичні ознаки, що регламентуються вимогами даної монографії, були визначені у досліджуваних серіях сировини табл. 3.1, 3.2 та на рис. 3.1, 3.2, 3.3, 3.4.

Таблиця 3.1

Макроскопічні діагностичні ознаки софори японської бутонів

Вимоги монографії ЄФ 8.3. « <i>Sophora Flower-buds</i> ». Ідентифікація А	Результати
1	2
Висушені, цільні або поламані пуп'янки мають видовжено-овальну або видовжено-яйцеподібну форму, на коротких опушених квітконіжках. Довжина 7-10 мм, ширина 3-4 мм.	Відповідає

1	2
Чашечка зрослолиста, дзвоникувата, близько 3-4 мм у довжину, зелена або коричнева, густо опушена короткими волосками, з 5 короткими широкотрикутними тупими або ледь загостреними опушеними зубчиками і поздовжніми борозенками біля основи.	Відповідає
Віночок довший за чашечку, блідо- або буро-жовтого кольору метеликового типу невідкритий, огорнений прапорцем.	Відповідає
Наявність 10 тичинок, вільних між собою, зрощених основою з основами чашолистків і пелюсток – частинами квіткової трубки; маточка проста, з опушеною зав'яззю і зігнутих стовпчиком.	Відповідає



Рис. 3.1 Висушені софори японської бутонів та їх складові частини

Таблиця 3.2

Мікроскопічні діагностичні ознаки софори японської бутонів

Вимоги монографії ЄФ 8.3. «Sophora Flower». Ідентифікація В	Результати
1	2
Досліджений порошок блідо жовтого кольору.	Відповідає
Епідермальні клітини чашолистків ізодіаметричні, прямокутні, з горбкуватим восковим нальотом; аномоцитні продихи зовнішньої епідерми чашечки з 4-8 побічними клітинами; більш чи менш зігнуті криючі трихоми довжиною 60-660 мкм, що складаються з 1 або 2 базальних коротких, тонкостінних клітин та довгої загостреної товстостінної верхівкової клітини з бородавчастою кутикулою; розетки епідермальних клітин при основі волосків чи валиків, що залишаються після обламування трихоми; паренхіма з коричневими й жовтими грудками або агрегатами кристалів рутину.	Відповідає

1	2
Епідермальні клітини пелюсток ізодіаметричні, багатокутні, прямо стінні з гладкою або дрібноскладчастою, променисто-хвилястою кутикулою; великі поодинокі продихи; паренхіма з глибокими рутину, кільчасті або спіральні судини тонких жилок.	Відповідає
Епідерма зав'язі маточки з видовженими притислими одноклітинними світлими або коричнюватими волосками; тичинкові нитки та пиляки; округлі трибороздно-орові пилкові зерна діаметром близько 18 мкм з гладкою екзиною.	Відповідає
Переглядають під мікроскопом, використовуючи хлоралгідрату розчин Р, без нагрівання препарату: видимі коричнювато-жовтого кольору кристали рутину, вільні або у клітинах, як кристалічні маси або віялоподібні агрегати дуже тонких голчастих кристалів.	Відповідає

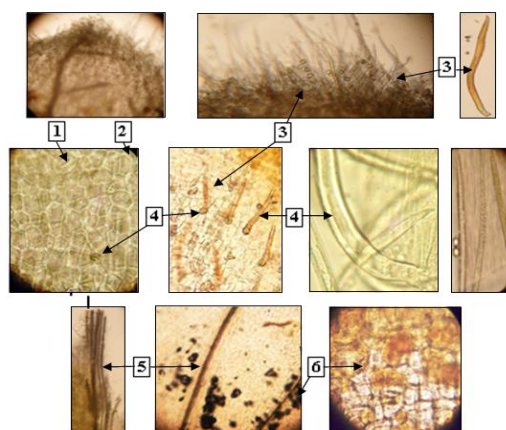


Рис. 3.2 Фрагменти чашечки у складі софори бутонів: 1 – продих, 2 – базисні клітини епідерми, 3 – криючі волоски, 4 – розетка клітин при основі волоска чи його базального валика, 5 – жилки, 6 – скупчення кристалів рутину

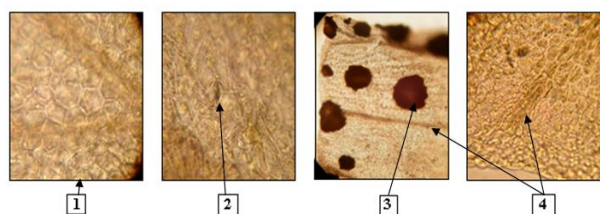


Рис. 3.3 Фрагменти пелюсток у складі софори бутонів: 1 – зовнішня епідерма пелюсток, 2 – продих зовнішньої епідерми, 3 – глибоки рутину у паренхімі пелюсток, 4 – жилки



Рис. 3.4 Фрагменти фертильних частин софори квітки: 1 – волоски на зав'язі маточки, 2 – пиляки тичинок, 3 – пилкові зерна

3.1.1.2 Софори японської квітки

Результати макро- та мікроскопічних досліджень софори японської квіток представлені у табл. 3.3, 3.4 та на рис. 3.5, 3.6, 3.7, 3.8. Всі діагностичні ознаки, що регламентуються вимогами даної монографії, були визначені у досліджуваних серіях софори квіток [72, 202].

Таблиця 3.3

Макроскопічні діагностичні ознаки софори японської квіток

Вимоги монографії ЄФ 8.3. «Sophora Flower». Ідентифікація А	Результати
Розкрита квітка зморщена, згорнута, має дуже тонку квітконіжку.	Відповідає
Квітки зигоморфні, метеликового типу, довжиною приблизно 10-15 мм.	Відповідає
Чашечка темно-зелена або зелено-коричнювата, близько 3-4 мм завдовжки, дзвіночкоподібна, складається із 5 зрослих чашолистків, подовжньо штрихувати біля основи, розділяється на верхівці на 5 майже двогубих лопатей.	Відповідає
Віночок жовтувато-білий або жовтувато-світло-коричневий, п'ятипелюстковий метеликової форми, часто поламаний і досягає близько 10-15 мм завдовжки.	Відповідає
Нижня пелюстка крупніша, заокруглена, зі згорнутою верхівкою та яскраво-жовтим нігтиком на її внутрішній основі. Інші 4 пелюстки видовжені.	Відповідає
Наявні 10 тичинок, що оточують розташований в центрі циліндричний і зогнутий стовпчик.	Відповідає

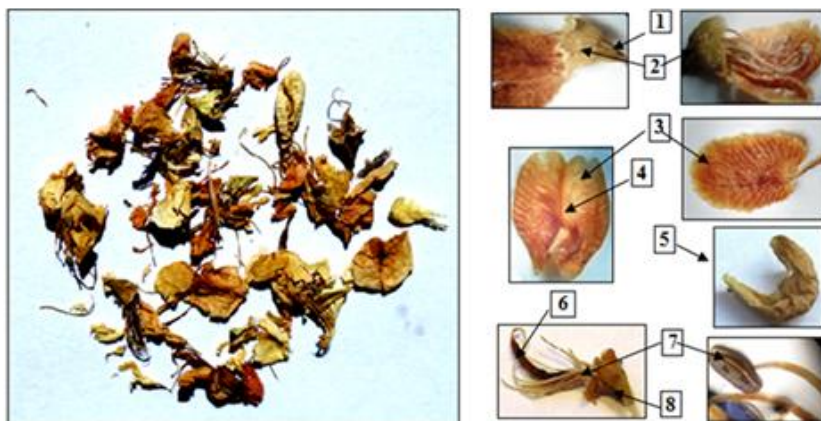


Рис. 3.5 Висушені софори квітки та їх складові частини: 1 – квітконіжка, 2 – чашечка, 3 – крила, 4 – прапорець 5 – човник, 6 – маточка, 7 – тичинки, 8 – грудочки рутину

Таблиця 3.4

Мікроскопічні діагностичні ознаки софори японської квіток

Вимоги монографії ЄФ 8.3. «Sophora Flower». Ідентифікація В	Результати
У порошку жовтаво-зеленого кольору виявляються діагностичні ознаки квітки та її складових частин.	Відповідає
Округлі або трикутні пилкові зерна з 3 порами та гладенькою екзиною, близько 18 мкм у діаметрі.	Відповідає
Ізольовані покривні волоски різноманітні за довжиною 60-600 мкм, дещо зігнуті, звичайно складаються із 1 або 2 базальних клітин і довгої, загостреної дистальної клітини з гладенькими	Відповідає
Фрагменти чашолистків з продиховими апаратами анамоцитного типу, покривними волосками або їх рубцями.	Відповідає
Фрагменти пелюсток із клітин, вкритих тонко складчастою кутикулою, деколи із супутніми тонкими кільчастими або спіральними судинами та паренхімою, що містить кристалічні маси рутину.	Відповідає
Фрагменти паренхіми чашолистків, клітини яких містять призматичні кристали кальцію оксалату та кристалічні маси рутину.	Відповідає
Фрагменти пиляків із характерним фіброзним шаром (у поперечному зрізі або вигляд зверху та недозрілими пилковими зернами).	Відповідає
Переглядають під мікроскопом, використовуючи <i>хлоралгідрату розчин Р</i> , без нагрівання препарату: видимі коричнювато-жовтого кольору кристали рутину, вільні або у клітинах як кристалічні маси або віялоподібні агрегати дуже тонких голчастих кристалів	Відповідає

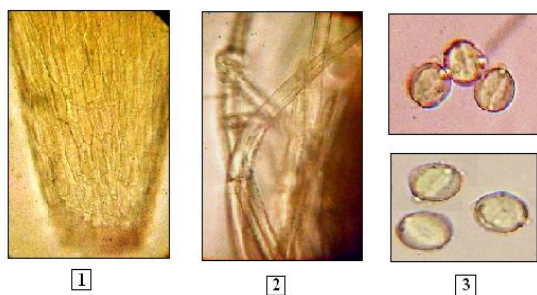


Рис. 3.6 Фрагменти фертильних частин софори квітки: 1 – епідерма тичинкових ниток, 2 – волоски на зав'язі маточки, 3 – пилкові зерн

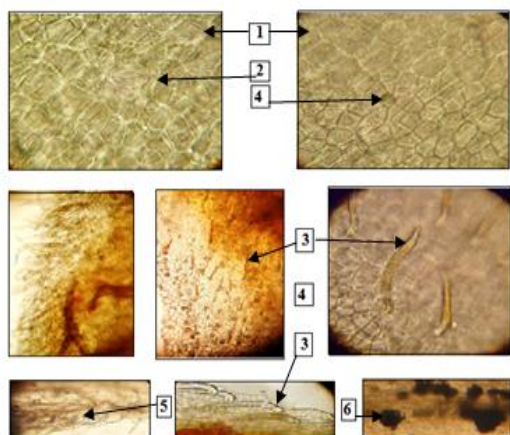


Рис. 3.7 Фрагменти чашечки і квітконіжок у складі софори квіток: 1 – базисні клітини епідерми, 2 – продих, 3 – криючі волоски, 4 – розетка клітин при основі волоска чи його базального валика, 5 – кристали кальцію оксалату, 6 – скупчення кристалів рутину

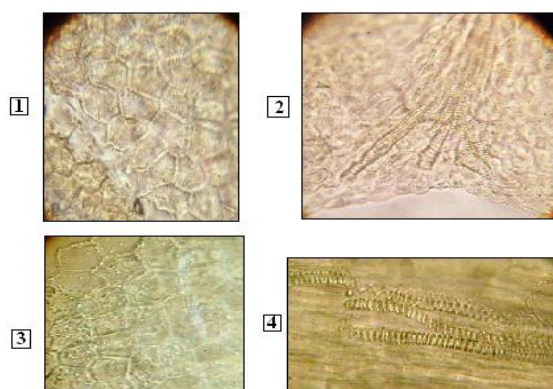


Рис. 3.8 Фрагменти пелюсток у складі софори квіток: 1 – епідерма вітрила, 2 – весло, 3 – епідерма пелюсток човника, 4 – судини жилок

3.1.2 Ідентифікація біологічно активних сполук софори японської бутонів та софори японської квіток

У відповідності до вимог монографій ЄФ 8.3 «*Sophora Flower-buds*», «*Sophora Flower*» ідентифікацію БАР софори бутонів та софори квіток проводили методом ТШХ (розділ 2. п. 2.3.1 методика 2). Використовували ТШХ-пластинки з шаром *силікагелю Р* в системі розчинників *мурашина кислота безводна Р – вода Р – етилацетат Р* (10:10:80). Як випробувані розчини використовували метаноль-

ні екстракти сировини. В якості маркерів використовували *ФСЗ ДФУ рутину Р* і *ФСЗ ДФУ гіперозиду Р* у 10 мл метанолу *Р*. Визначення характерних зон поглинання проводили після висушування хроматографічної пластинки на повітрі та обприскування розчином, що містить 10 г/л *дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р* і 50 г/л *макроголу 400 Р* у метанолі *Р*. Перегляд хроматограм здійснювали через 30 хв в УФ-світлі за довжиною хвилі 365 нм (рис 3.9).

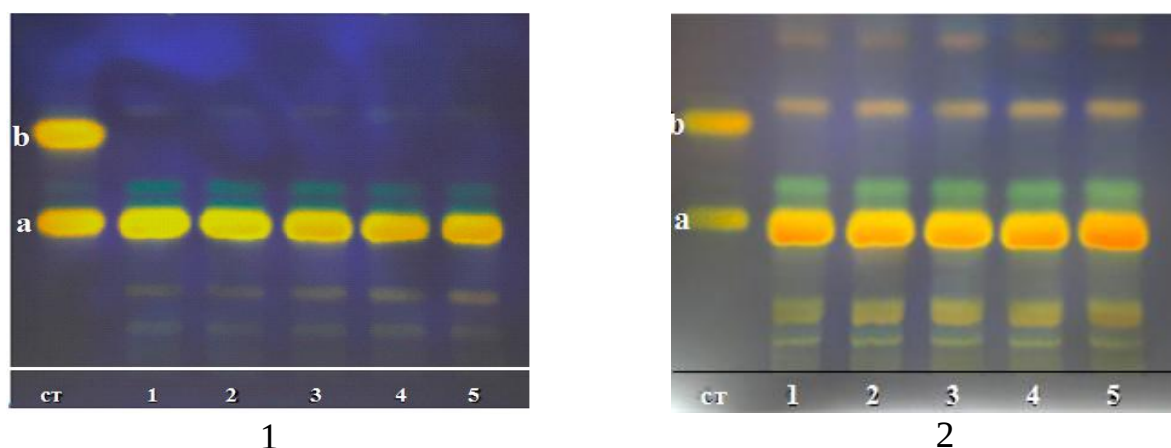


Рис. 3.9 Хроматограма, отримана у процесі ідентифікації С софори бутонів (1) та квіток (2): 1-5 випробувані розчини зразків софори №1-5 відповідно; а – зона рутину; б – зона гіперозиду

При проведенні ідентифікації методом тонкошарової хроматографії було встановлено, що у досліджуваних зразках сировини софори виявляються відповідні хроматографічні зони, що регламентуються монографіями ЄФ «*Sophora Flower-buds*», «*Sophora Flower*» [63, 198].

3.1.3 Визначення показників якості софори японської бутонів та софори японської квіток

За вимогами монографій ЄФ 8.3, для даних видів рослинної сировини нормуються такі показники якості, як «*Втрата в масі при висушуванні*» (2.2.32.), «*Зола загальна*» (2.4.16.), «*Сторонні домішки*» (2.8.2.) Всі досліджувані зразки софори бутонів та софори квіток відповідали даним вимогам (табл. 3.5 та табл. 3.6).

3.1.4 Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук софори японської бутонів та софори японської квіток

Об'єктивна оцінка якості ЛРС перш за все повинна бути заснована на оцінці кількісного вмісту біологічно активних сполук, які визначають можливості медичного застосування і фармакологічну активність [219, 220].

3.1.4.1 Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів

Визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у софори бутонів та софори японської квіток проводили спектрофотометричним методом за методикою, що наведена у монографіях ЄФ 8.3 «*Sophora Flower-buds*» та «*Sophora Flower*» відповідно. Методика заснована на реакції з розчином алюмінію хлориду, яка характерна практично для всіх речовин флавоноїдної природи. Результати кількісного аналізу свідчать, що досліджувана сировина відповідає вимогам ЄФ (табл. 3.5, 3.6), типовий спектр поглинання витяжки з софори квіток наведено на рис. 3. 10.

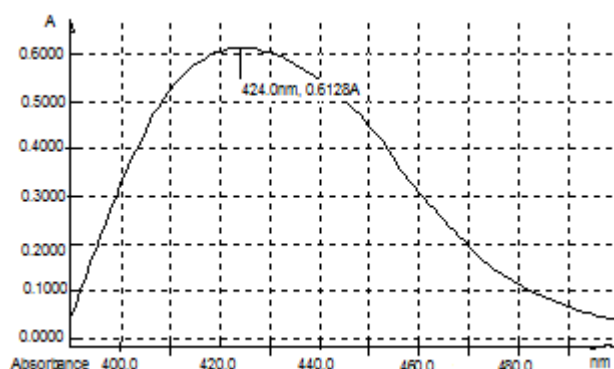


Рис. 3.10 Типовий спектр поглинання випробовуваного розчину софори квіток, отриманий в умовах методики ЄФ 8.3. «*Sophora Flower*»

Монографії ЄФ 8.3. «*Sophora Flower-buds*», «*Sophora Flower*» також регламентують визначення рутину у сировині софори методом ВЕРХ [173]. Відтворення методики проводилось за допомогою рідинного хроматографа Shimadzu LC-20A та колонки Wates Symmetry Shield RP-18 розміром 0,25 м×4.6 мм, з розміром часток 5 мкм. В якості рухомої фази А використовували 1 % розчин льодяної оцтової кислоти, рухома фаза В – метанол. Швидкість подачі елюента складала 0,7 мл/хв. Детектування речовин здійснюють при довжині хвилі 350 нм.

На рис 3.11 наведена типова хроматограма випробуваного розчину сировини софори. Дані представлені у табл.3.5, 3.6. свідчать, що вміст рутину у всіх зразках задовольняє вимоги відповідних монографій.

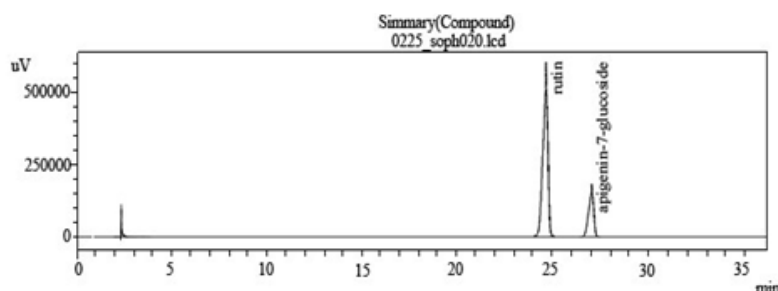


Рис. 3.11 Типова хроматограма випробуваного розчину софори квіток, отриманої в умовах ВЕРХ- методик

3.1.4.2 Визначення вмісту макро- та мікроелементів софори японської бутонів і софори японської квіток

Фармакологічна дія сировини софори японської головним чином обумовлена наявністю флавоноїдів, найбільш цінним з яких є рутин [123]. Однак, не менш важлива роль в нормальному функціонуванні серцево-судинної і кровотворної систем належить і комплексу мінеральних речовин, що міститься в рослинах. Тому вивчення вмісту макро- та мікроелементного складу ЛРС є важливим для повної оцінки корисних властивостей сировини, подальшої її стандартизації та створення фітозасобів.

Для вивчення елементного складу сировини був використаний атомно-емісійний спектрографічний метод (розділ 2 п. 2.3.1 методика 1) [201]. Результати аналізу мінерального складу софори бутонів та софори квіток у перерахунку на суху сировини наведені у табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Результати аналізу елементного складу сировини софори японської

№	Елемент	Вміст, мг/100г		№	Елемент	Вміст, мг/100г	
		Бутони	Квітки			Бутони	Квітки
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Калій	1860,00	2600,00	7	Ферум	7,40	23,00
2	Кальцій	495,00	1040,00	8	Фосфор	125,00	13,00
3	Сіліцій	62,00	520,00	9	Манган	1,90	3,20

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4	5	6	7	8
4	Магній	185,00	260,00	10	Купрум	1,55	0,65
5	Натрій	62,00	65,00	11	Нікель	0,31	0,39
6	Цинк	6,20	26,00	12	Молібден	<0,03	<0,03

Примітка. Pb<0,03; Co<0,03; Cd<0,01; As<0,01; Hg<0,01; Sr<0,01.

За результатами експериментальних даних табл. 3.7 встановлено, що софори квітки характеризуються більшим кількісним вмістом макро- і мікроелементів в порівнянні з софори японської бутонами. Слід відзначити високий вміст кровотворних мікроелементів: феруму – 23,00 мг/100г у софори квітках та 7,40 мг/100 г у софори бутонах і купруму – 0,65 мг/100г у квітках і 1,55 мг/100г у бутонах.

3.2 Фармакопейна стандартизація лікарської рослинної сировини та розробка проекту національної монографії Державної фармакопеї України «Софори плоди^N»

На фармацевтичному ринку України представлені засоби вітчизняного виробництва «Хеліскан», «Равісол» і «Венотон» (ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»), «Гастрофіт» (ТОВ «НВФК «Ейм»), «Аллотон» (ТОВ «Універсальне агенство «Про-Фарма», «Софори японської настойка» (ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика»), до складу яких входять софори японської плоди [29]. Широке використання данного виду ЛРС обумовлює розробку нормативної документації, зокрема національної монографії ДФУ «Софори плоди^N», яка на даний час відсутня в Україні. За результатами аналізу світових Фармакопей встановлено наявність сировини софори плодів лише у Фармакопеї Китаю.

3.2.1 Ідентифікація за макро- та мікроскопічними діагностичними ознаками

Макро- та мікроскопічні дослідження проводились за методиками, які приведені у розділі 2. п. 2.3.3 методика 1 та методика 2 відповідно [71]

Результати дослідження софори японської бутонів на відповідність вимогам ЄФ

Показник	Вимоги	Зразки софори японської бутонів				
		1	2	3	4	5
Ідентифікація А	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+
Ідентифікація В	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+
Ідентифікація С	Послідовність хроматографічних зон	+	+	+	+	+
Сторонні домішки	Наявність відкритих квіток $\leq 5,0$ %	1,75 $\pm$ 0,49	1,87 $\pm$ 0,52	1,75 $\pm$ 0,51	1,33 $\pm$ 0,44	1,42 $\pm$ 0,51
	Наявність інших домішок $\leq 2,0$ %	1,23 $\pm$ 0,42	1,40 $\pm$ 0,54	1,27 $\pm$ 0,53	1,18 $\pm$ 0,42	1,28 $\pm$ 0,56
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 11,0 %	10,22 $\pm$ 0,12	9,14 $\pm$ 0,14	9,84 $\pm$ 0,14	8,32 $\pm$ 0,11	9,14 $\pm$ 0,19
Загальна зола	Не більше 9,0 %	5,84 $\pm$ 0,17	6,66 $\pm$ 0,23	6,52 $\pm$ 0,21	6,67 $\pm$ 0,19	7,02 $\pm$ 0,21
Кількісний вміст	Не менше 20,0 % флавоноїдів у перерахунку на рутин	21,10 $\pm$ 0,02	20,75 $\pm$ 0,01	23,45 $\pm$ 0,01	21,37 $\pm$ 0,01	21,91 $\pm$ 0,01
	Не менше 15,0 % рутину	16,16 $\pm$ 0,01	15,55 $\pm$ 0,01	17,17 $\pm$ 0,01	16,62 $\pm$ 0,02	17,00 $\pm$ 0,01

Примітка. «+» – відповідає вимогам монографії ЄФ 8.3 «Sophora Flower- buds».

Результати дослідження софори японської квіток на відповідність вимогам ЄФ

Показник	Вимоги	Зразки софори японської квіток				
		1	2	3	4	5
Ідентифікація А	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+
Ідентифікація В	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+
Ідентифікація С	Послідовність хроматографічних зон	+	+	+	+	+
Сторонні домішки	Наявність бутонів софори $\leq 5,0$ %	2,00 $\pm$ 0,52	2,00 $\pm$ 0,48	1,87 $\pm$ 0,47	2,17 $\pm$ 0,4	1,68 $\pm$ 0,51
	Наявність інших домішок $\leq 2,0$ %	1,20 $\pm$ 0,53	1,41 $\pm$ 0,50	1,10 $\pm$ 0,46	1,20 $\pm$ 0,49	1,22 $\pm$ 0,44
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 11,0 %	10,54 $\pm$ 0,19	10,09 $\pm$ 0,22	10,22 $\pm$ 0,20	9,37 $\pm$ 0,17	10,00 $\pm$ 0,24
Загальна зола	Не більше 9,0 %	8,61 $\pm$ 0,23	8,32 $\pm$ 0,28	8,50 $\pm$ 0,19	8,43 $\pm$ 0,22	8,12 $\pm$ 0,15
Кількісний вміст	Не менше 8,0 % флавоноїдів у перерахунку на рутин	8,28 $\pm$ 0,01	8,32 $\pm$ 0,01	8,28 $\pm$ 0,01	8,29 $\pm$ 0,01	8,32 $\pm$ 0,01
	Не менше 6,0 % рутину	6,05 $\pm$ 0,01	6,39 $\pm$ 0,01	6,48 $\pm$ 0,02	6,84 $\pm$ 0,01	6,53 $\pm$ 0,02

Примітка. «+» – відповідає вимогам монографії ЄФ 8.3 «Sophora Flower»

Макроскопічні ознаки. Цільна сировина (рис. 3.12). Боби сплюснено-циліндричні, із залишками плодоніжки, від 3 до 10 см завдовжки, 0,5-1 см завширшки, зеленувато- або жовтувато-коричневі, з жовтим швом, чоткоподібні, можуть розділятися по перетяжках на нерозкривні ямчасто-зморшкуваті, голі членики з насінинами; екзокарпій щільний, мезокарпій пухкий, жовтувато-зелений; насінин 1-5, недорозвинені, округло-овальні або бобовидні, до 1 см завдовжки і 0,4-0,7 см завширшки; насінна шкірка гладка, темно-коричнева або майже чорна, дуже тверда, з потовщеним швом біля сім'яніжки, увігнутим рубчиком і мікропіле; сім'ядолі великі.

Різана сировина. Фрагменти опуклих члеників бобів, перетяжок, частки зеленувато- або жовтувато-коричневого оплодня, плодоніжок, темно-коричневих або майже чорних насінних шкірок, слизовмісної паренхіми, сім'ядолей.



Рис. 3.12 Цільна сировина плодів софори японської: 1 – членисті плоди; 2 – насіння; 3 – членик плоду у поздовжньому розрізі: а – оплодень; б – насіннева шкірка; в – зародок; г – сім'ядолі; д – рубчик

Мікроскопічні ознаки. У порошку плодів виявляються фрагменти і тканини члеників оплодня (рис. 3.13) і перетяжок (рис. 3.14), плодоніжок (рис. 3.15) та насіння (рис. 3.16).

Клітини зовнішньої епідерми оплодня дрібні, 4-8-кутні, з поверхні вкриті лускуватим епікутикулярним воском і товстим шаром кутикули, бічні стінки потовщені, прямолінійні або слабозвилисті. Продихи енциклоцитного типу, без певної орієнтації щілини, побічних клітин декілька, дрібні, вузькі, розміщені розеткою, замикаючі клітини з товстим шаром кутикули і кутикулярними брівками.

Зрідка на недозрілих оплоднях та плодоніжках зустрічаються одноклітинні прості волоски з коричневим вмістом або без нього, потовщеною оболонкою і штрихуватою кутикулою. Клітини екзокарпія прямокутні, тонкостінні або тангентально видовжені, вміст клітин пігментований антоціаном. Пухка паренхіма мезокар-

пія члеників порожня або з темно-коричневими грудками БАР, кристалами протеїну та зернами крохмалю.

Також в мезокарпії виявлені дрібні та великі провідні пучки з обкладкою призматичник кристалів кальцію оксалату і окремі судини. Пергаментний шар мезокарпії містить видовжені, лігніфіковані склереїди та кристали рутину.

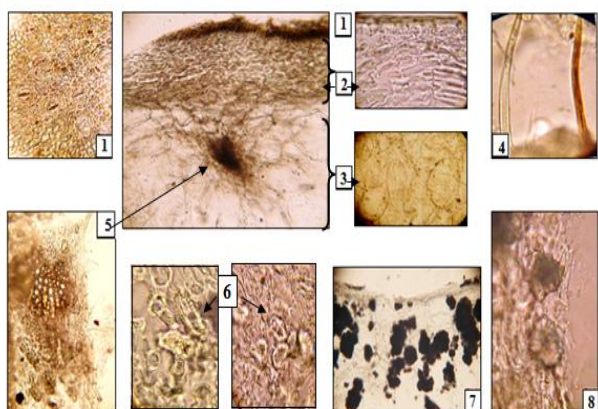


Рис. 3.13 Фрагменти і тканини члеників оплодня софори японської: 1 – зовнішня епідерма з продихами, 2 – клітини екзокарпії, 3 – пухка паренхіма мезокарпії, 4 – прості волоски, 5 – провідні пучки, 6 – судини і кристали кальцію оксалату, 7 – кристали рутину, 8 – склереїди

Повітряносний мезокарпій перетяжок і плодоніжок складається із ланцюжків видовжених клітин і великих порожнин. Виявлені дрібні та великі провідні пучки з обкладкою призматичних кристалів кальцію оксалату чи без неї, окремі судини. Склереїди екзокарпії й пергаментного шару мезокарпії видовжені та лігніфіковані.

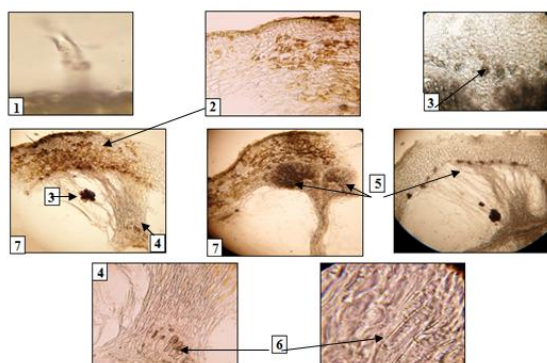


Рис. 3.14 Фрагменти і тканини оплодня софори японської у зоні перетяжок: 1 – прості волоски; 2 – екзокарпій; 3 – сферокристали БАР; 4 – мезокарпій; 5 – провідні пучки; 6 – склереїди; 7 – порожнини

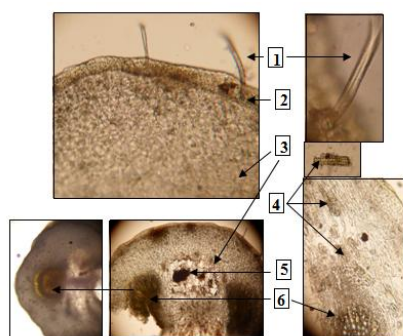


Рис. 3.15 Фрагменти плодоніжки плодів софори японської: 1 – епідерма з простими волосками; 2 – екзокарпій; 3 – мезокарпій; 4 – склереїди; 5 – грудки БАР; 6 – провідні пучки

Частки насінневої шкірки складаються з клітин палісадного шару, витягнутих перпендикулярно поверхні насінини, склерифікованих та пігментованих антоціан, катушковидних товстостінних, підпираючих клітин, паренхімних клітин внутрішнього шару шкірки, клітин ендосперму та крапель жирної олії. Клітини зі слизом між зародком і насінневою шкіркою з великими міжклітинниками, з'єднані тоненькими виростами.

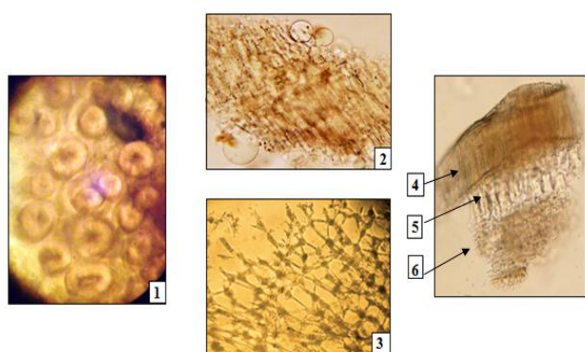


Рис. 3.16 Фрагменти і тканини насінин софори: 1 – епідерма насінної шкірки; 2 – ендосперм з краплями жирної олії; 3 – слизовмісні клітини; 4 – палісадний шар; 5 – катушковидні клітини; 6 – внутрішній шар шкірки

3.2.2 Ідентифікація біологічно активних сполук софори японської плодів

Ідентифікацію біологічно активних сполук софори японської плодів, а саме флавоноїдів проводили методом ТШХ з використанням уніфікованої методики наведеної у монографіях ДФУ 2.1. «Софори бутони» та «Софори квітки» [27, 49].

Шляхом експерименту було підібрано оптимальну наважку сировину та об'єм проб для проведення хроматографування [86, 228, 245]. Хроматограми, які були отримані в ході дослідження приведені на рис. 3.17.

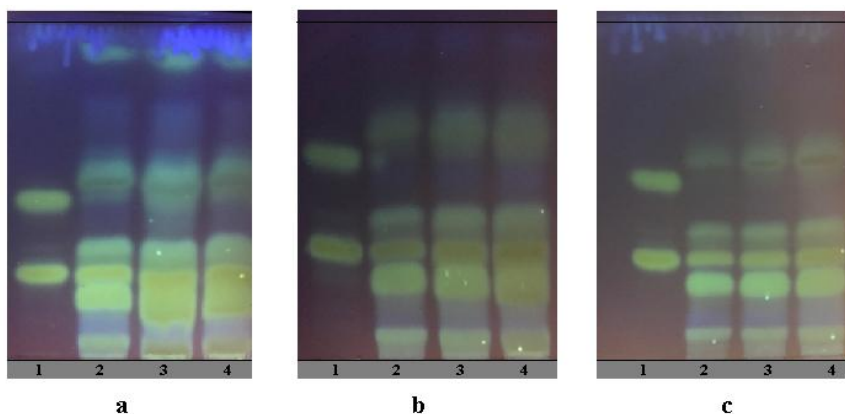


Рис. 3.17 Підбір оптимальної наважки сировини софори плодів та об'єму проби: 1 – ФЗС ДФУ гіперозиду та рутину; 2 – 5 мкл випробовуваного розчину; 3 – 10 мкл випробовуваного розчину; 4 – 15 мкл випробовуваного розчину

З огляду на рис. 3.17 необхідно відзначити, що хроматографічні зони випробовуваних розчинів на хроматографах *a* та *b* не є чіткими. Тому в подальшому для приготування випробовуваного розчину використовували 0,5 г сировини софори плодів у 20,0 мл метанолу *P*. Подальше проведення дослідження проводилось відповідно до методики монографій ДФУ 2.1. «Софори бутони» та «Софори квітки», інші параметри були незмінні. Отримана хроматограма представлена на рис. 3.18.

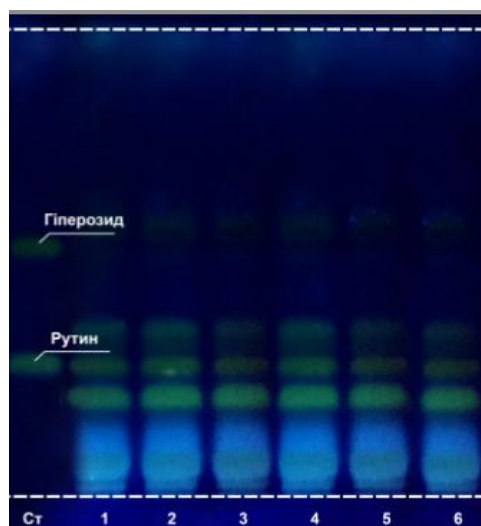


Рис. 3.18 Хроматограма розчину ЛРС софори японської за методикою ідентифікації монографії ДФУ «Софори бутони»

3.2.3 Визначення показників якості софори японської плодів та їх нормування

При проведенні досліджень за показниками якості: «Сторонні домішки», «Втрати в масі при висушуванні», «Загальна зола» були використані загальноприйняті вимоги ДФУ [24]. Встановлені нормування щодо показників якості, виходячи із результатів, одержаних на 6 різних зразків прийнятної якості. Всі досліджувані зразки софори плодів відповідали даним вимогам (табл. 3.11).

3.2.4 Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук софори японської плодів

3.2.4.1 Визначення кількісного вмісту флавоноїдів

Основними флавоноїдами софори плодів є похідні кверцетину, рутин є домінантним компонентом [11]. При розробці методики за основу було обрано

уніфіковану методику ДФУ для визначення аналогічних флавонолпохідних, яка представлена у монографіях ДФУ 2.0 «Собачої кропиви трава», «Спориш» [26, 50], а також результати визначення флавоноїдів у сировині софори плодах статті Галкіна О.Ю. та Котова А.Г. [11]. Зазначена методика основана на утворенні комплексу агліконів з хлористим алюмінієм при довжині хвилі 425 нм. Вміст суми флавоноїдів розраховують в перерахунку на гіперозид, використовуючи питомий показник поглинання гіперозиду, який в умовах методики дорівнює 500. Беручи до уваги той факт, що основним компонентом серед флавоноїдів софори плодів є рутин, пропонується перераховувати вміст флавоноїдів на рутин. Для цього в формулі розрахунку введено молекулярні маси гіперозиду та рутину тригідрату.

Першим етапом при розробці методики було вимірювання УФ-спектру випробовуваного розчину досліджуваної сировини та встановлення, що максимум поглинання знаходиться при довжині хвилі 425 ± 5 нм. Типовий спектр представлений на рис. 3.19.

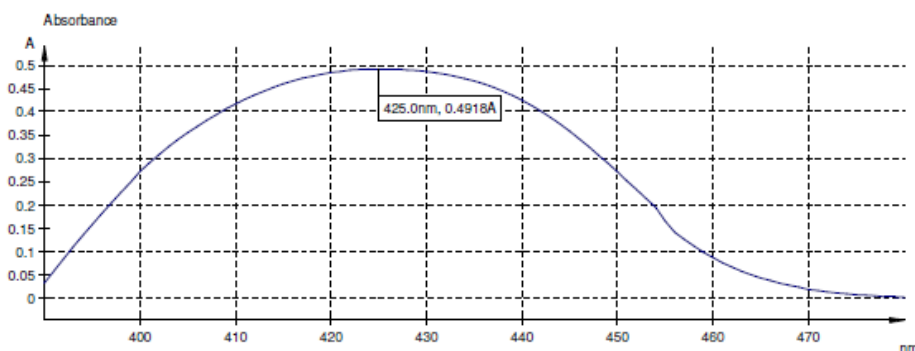


Рис. 3.19 Типовий УФ-спектр випробовуваного розчину софори плодів

Отримані дані, свідчать о можливості використання методики ДФУ та визначати вміст суми флавоноїдів у софори плодах у перерахунку на рутин.

За умовами методики проводять трьохкратну екстракцію ацетоном, що забезпечує повноту витягу флавоноїдів із сировини софори. При проведенні наступної екстракції та визначенні суми флавоноїдів в аналогічних умовах були отриманні малі значення оптичної густини випробовуваних розчинів ($A=0,0035$). Статистично незначущі значення свідчать про повноту екстракції флавоноїдів за даних умов, а також про достатню специфічність представленої методики. Типовий спектр наведено на рис. 3.20.

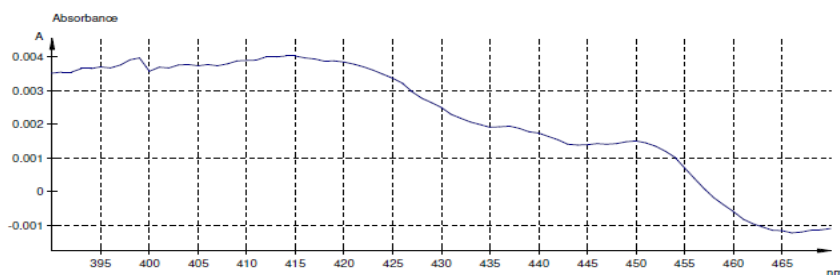


Рис. 3.20 УФ-спектр випробовуваного розчину софори плодів (четверта екстракція ацетоном)

Вміст суми флавоноїдів (X), у перерахунку на рутин і суху речовину за уніфікованою методикою, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X, \% = \frac{100 \cdot 50 \cdot 25 \cdot A \cdot 665,00 \cdot 100}{m \cdot 20 \cdot 5 \cdot 500 \cdot 464,379 \cdot (100 - w)}, \quad (3.1)$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

m – маса наважки сировини софори японської плодів, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, у відсотках;

665,00 – молекулярна маса рутину тригідрату;

464,379 – молекулярна маса гіперозиду.

У табл. 3.8 наведені результати кількісного визначення вмісту суми флавоноїдів у досліджуваних серіях софори плодів. Враховуючи що для ЛРС, як правило регламентуються межа вмісту тільки по нижній межі вмісту [16], для сировини софори плодів вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин встановлено на рівні не менше 5,00 %.

Перевірку лінійності представленої методики проводили на 5 модельних розчинах в межах концентрації від 50 % до 250 % від номінальної концентрації [18, 19]. Отримані значення та спектри поглинання досліджуваних розчинів наведені на рис. 3.21.

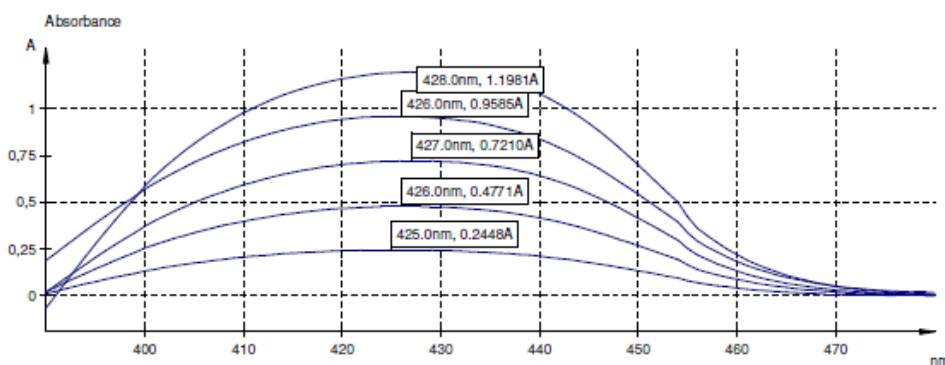


Рис. 3.21 Спектри поглинання випробовуваних розчинів софори плодів за наведеною методикою

Параметри лінійної залежності $Y_i = b \times X_i + a$ розраховували за допомогою методу найменших квадратів. Графік лінійної залежності представлено на рис. 3.21.

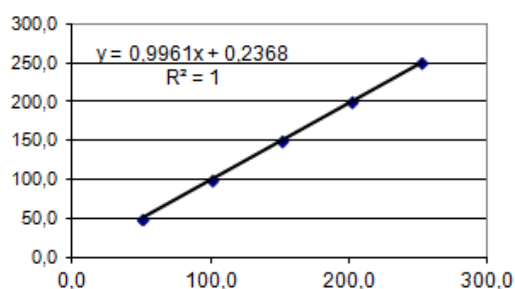


Рис. 3.21 Графік залежності оптичної густини від концентрації випробовуваних розчинів софори плодів

Розраховані критерії прийнятності (табл. 3.9): вільний член лінійної залежності (a), залишкове стандартне відхилення (S_o), (лінійний) коефіцієнт кореляції (r^2). Вимоги до критеріїв наведені у статті ДФУ 2.0. 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань» [17, 24].

Таблиця 3.8

Результати кількісного визначення суми флавоноїдів у сировині софори плодів

№	Постачальник сировини	Маса наважки сировини, г	Втрата в масі при висушванні	Середнє значення оптичної густини	Вміст флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид, %	Вміст флавоноїдів, у перерахунку на рутин, %
1	Фітомаркет «Світ трав», 2015	0,3045	9,37	0,4852	4,40±0,02	6,29±0,02
2	Фітомаркет «Хлорофітум», 2015	0,3069	11,52	0,4915	4,53±0,03	6,48±0,03
3	Фіточай «Натураліс», 2016	0,3086	9,86	0,4860	4,37±0,01	6,26±0,01
4	ТОВ Аптека «Лікарські рослини», 2016	0,3053	10,32	0,4861	4,44±0,01	6,36±0,01
5	Фітомаркет «Лічець травник», 2017	0,3087	10,03	0,4783	4,31±0,03	6,17±0,03
6	ТОВ Аптека «Лікарські рослини», 2017	0,3049	9,59	0,4808	4,36±0,02	6,24±0,02

Таблиця 3.9

Дані перевірки лінійності методики кількісного визначення

п/п	Параметр	Вимоги	Отримане значення	Виконання критерію
1	a	$\leq 10,2$	0,2368	Виконується
2	r^2	$> 0,9691$	1,0000	Виконується
3	S_0	$\leq 3,4$	0,6374	Виконується

Стабільність випробовуваних розчинів софори плодів у часі досліджували протягом двох годин, результати (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Результати дослідження стабільності випробовуваних розчинів

Показник	30 хв	45 хв	60 хв	120 хв	$C_{r,t}$	RSD_t , %	Δt , %	$0,32 \times$ $\max \Delta A_s, \%$
A_{cp}	0,5001	0,5012	0,4990	0,4933	99,66	0,71	1,51	2,048
$Y_i = 100 \times A_{cp} / A_{ном}, \%$	100	100,2	99,79	98,63				

При вимірюванні випробовуваних розчинів протягом перших 15 хв, встановлено відсутність максимуму при довжині хвилі $425 \pm 5 \text{ нм}$, що вказує на недостатню кількість часу для утворення комплексу с алюмінію хлоридом. З огляду на це, в табл. 3.10 представлені результати вимірювань починаючи з 30 хв.

Отже, розраховані валідаційні параметри для представленої методики, свідчать о придатності методики кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у софори плодах. Результати дослідження софори плодів представлені у табл. 3.11.

3.2.4.2 Визначення вмісту макро- та мікроелементів софори японської плодів

Дослідження елементного складу сировини софори плодів проводили за методикою наведеною у розділі 2. п. 2.3.1 методика 1. Результати аналізу наведені у табл. 3.12.

Результати дослідження софори японської плоди на відповідність проекту монографії ДФУ «Софори плоди^N»

Показник	Вимоги	Зразок софори японської плодів					
		1	2	3	4	5	6
Ідентифікація А	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+	+
Ідентифікація В	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+	+
Ідентифікація С	Послідовність зон рутину та гіперозиду	+	+	+	+	+	+
Сторонні домішки	Наявність почорнілих і недозрілих плодів не більше 5,0 %	2,24±0,42	1,54±0,38	2,64±0,52	1,86±0,37	2,08±0,47	1,72±0,45
	Наявність стебел і листків не більше 4,0 %	1,02±0,52	1,03±0,48	0,87±0,36	1,20±0,41	1,58±0,43	0,68±0,51
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 14,0 %	9,37±0,29	11,52±0,31	9,86±0,26	10,32±0,27	10,03±0,30	9,59±0,32
Загальна зола	Не більше 5,0 %	4,29±0,34	3,80±0,29	4,03±0,24	4,08±0,42	3,81±0,35	4,14±0,23
Кількісний вміст	Не менше 5,0 % флавоноїдів	6,29±0,02	6,48±0,03	6,26±0,01	6,36±0,01	6,17±0,03	6,24±0,02

Примітка. «+» – відповідає вимогам проекту монографії ДФУ «Софори плоди^N»

Результати аналізу елементного складу софори плодів, (мг/100г)

№	Елемент	Вміст	№	Елемент	Вміст	№	Елемент	Вміст
1	Калій	1170,00	5	Ферум	5,90	9	Натрій	40,00
2	Кальцій	310,00	6	Фосфор	5,90	10	Цинк	3,90
3	Сіліцій	78,00	7	Манган	66,00	11	Нікель	1,00
4	Магній	115,00	8	Купрум	2,00	12	Молібден	0,23

Примітка. Pb<0,03; Co<0,03; Cd<0,01; As<0,01; Hg<0,01; Sr<0,01.

Як видно з табл. 3.11, у софори плодах було виявлено 12 макро- та мікро елементів. Спостерігався високий вміст калію, кальцію, магнію, мангану. Важливо, що у сировині софори не виявлено таких елементів, як арсен, кадмій, кобальт, ртуть, молібден та свинець, що актуально у зв'язку зі станом навколишнього середовища.

3.3 Дослідження з апробації методик контролю якості гарпагофітуму лежачого коренів

Гарпагофітуму лежачого корені є імпортованою сировиною на території України, проте широкий асортимент лікарських засобів на його основі [54] робить актуальним проведення експериментальних робіт із верифікації методик контролю якості монографії ЄФ 8.0 «Devil's claw Root» та монографії ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені», яка є її адаптованим перекладом [26, 65].

3.3.1 Ідентифікація за макро- та мікроскопічними діагностичними ознаками гарпагофітуму лежачого коренів

За результатами анатомо-морфологічних досліджень серій гарпагофітуму лежачого коренів встановлено, що сировина відповідала вимогам монографії ЄФ 8.0. «Devil's claw Root» та монографії ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» (табл. 3.13 і 3.14, рис. 3.22 і 3.23) [70].

Таблиця 3.13

Макроскопічні діагностичні ознаки гарпагофітуму корені

Вимоги монографії ЄФ 8.0. «Devil's claw Root». Ідентифікація А	Результати
Шматочки сировини різного розміру, товсті або тонкі віялоподібні, округлі, багатогранні; червоно-коричневий або сірувато-коричневого кольору. Запах відсутній, смак приємний.	Відповідає
Зовнішня поверхня бурувата. із звивистими подовжніми складками ребер.	Відповідає
Внутрішню світлу частину переглядають під лупою (рис. 3.12). Під пробкою визначається білувата частина з концентричною смугастістю. темнішою камбіальною зоною. радіальними променями ксилеми та брунотно-червоними або жовтими гранулами на поверхні.	Відповідає
При перегляді під лупою на поверхні зрізу наявні жовті або коричнювато-червоні гранули.	Відповідає



Рис. 3.22 Гарпагофітуму лежачого корені при перегляді під лупою

Таблиця 3.14

Мікроскопічні діагностичні ознаки гарпагофітуму коренів

Вимоги монографії ЄФ 8.0. «Devil's claw Root». Ідентифікація В	Результати
1	2
Порошок коричнювато-жовтого кольору.	Відповідає
У порошку виявляються фрагменти корки із жовтаво-коричневих, тонкостінних клітин.	Відповідає
Фрагменти корової паренхіми із крупних тонкостінних клітин. деколи із червонувато-коричневими гранулярними включеннями та окремими жовтими краплями.	Відповідає

1	2
Фрагменти сітчасто потовщених або пористих судин та фрагменти здерев'янілої паренхіми. деколи з'єднаної із судинами центрального циліндра.	Відповідає
Призматичні кристали та зрідка дрібні голчасті кристали кальцію оксалату в паренхімі.	Відповідає
Можливо наявні прямокутні або багатокутні склереїди із темно-червонувато-коричневим вмістом.	Відповідає
Під дією розчину флороглюцину у хлористоводневій кислоті паренхіма набуває зеленого забарвлення.	Відповідає

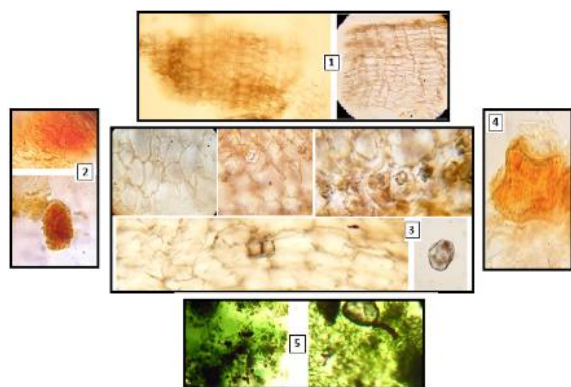


Рис. 3.23 Діагностичні структури гарпагофітуму кореня: 1 - фрагменти корової паренхіми із крупних тонкостінних клітин; 2 - фрагменти корової паренхіми; 3 - фрагменти сітчасто потовщених або пористих судин та фрагменти здерев'янілої паренхіми; 4 - прямокутні або багатокутні склереїди; 5 - паренхіма є зеленого забарвлення

При визначенні мікроскопічних ознак (Ідентифікація В) корені гарпагофітуму лежачого подрібнювали на порошок (355). Порошок коричнювато-жовтого кольору переглядали під мікроскопом, використовуючи розчин *хлоралгідрату Р*.

При проведенні мікроскопічних досліджень в усіх досліджуваних зразках були встановлені наступні діагностичні структури (рис. 3.23): фрагменти корки із жовтаво-коричневих, тонкостінних клітин (рис 3.23.1); фрагменти корової паренхіми із крупних тонкостінних клітин, деколи із червонувато-коричневими гранулярними включеннями та окремими жовтими краплями (рис 3.23.2); фрагменти сітчасто потовщених або пористих судин та фрагменти здерев'янілої паренхіми, деколи з'єднаної із судинами центрального циліндра; призматичні кристали (рис 3.23.3) та зрідка

дрібні голчасті кристали кальцію оксалату в паренхімі. У порошку також можуть бути наявними прямокутні або багатокутні склереїди із темно-червонувато-коричневим вмістом (рис 3.23.4). Під дією розчину флороглюцину у хлористоводневій кислоті паренхіма набуває зеленого забарвлення (рис 3.23.5).

3.3.2 Визначення показників якості гарпагофітуму лежачого коренів

Монографією ЄФ 8.0 «Devil's claw Root» регламентуються такі показники якості, як «Втрата в масі при висушуванні» (2.2.32.), «Зола загальна» (2.4.16.); показник «Крохмаль» встановлює критерії, згідно з якими у досліджуваному порошку гарпагофітуму коренів при додаванні розчину йоду *P1* не має з'являтися синє забарвлення. Досліджувані зразки сировини відповідали зазначеним вимогам (табл. 3.15) [200].

3.3.3 Ідентифікація біологічно активних сполук гарпагофітуму лежачого коренів

Ідентифікацію біологічно активних сполук гарпагофітуму лежачого коренів проводили методом ТШХ (розділ 2. п. 2.3.1 методика 2) [62]. Як рухому фазу використовували суміш розчинників *вода P - метанол P - етилацетат P* (8:15:77). Як розчини порівняння використовували метанольні розчини *СЗ гарпагозиду P (Sigma-Aldrich)* та *ФСЗДФУ фруктози*.

Виявлення А. ТШХ-пластинку висушували у потоці теплого повітря та переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. *Виявлення В:* ТШХ-пластинку обприскували розчином 10 г/л *флороглюцину P* в *етанолі P*, потім *кислотою хлористоводневою P* нагрівали пластинку при температурі 80 °С переглядали при денному світлі (рис. 3.24).

На хроматограмі випробовуваних розчинів було встановлено наявність характерних зон гарпагозиду та фруктози, а також спостерігали додаткові хроматографічні зони, що свідчить про відповідність досліджуваних зразків вимогам монографії ЄФ 8.0 «Devil's claw Root» [172].

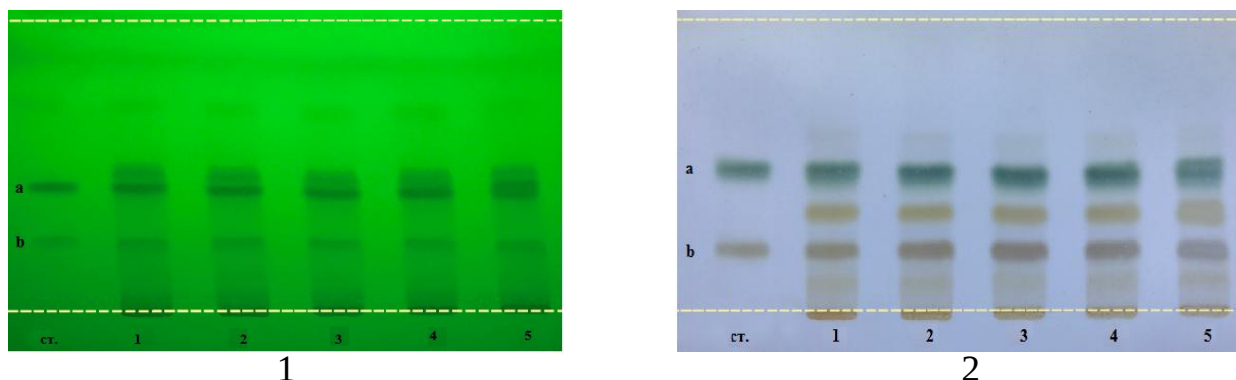


Рис. 3.24 Хроматограми, отримані у процесі ідентифікації *S. гарпагофітуму* коренів: 1 – виявлення А; 2 – виявлення В: а – зона *гарпагозиду Р*; б – зона *ФСЗ ДФУ фруктози*; 1-5 випробовувані розчини зразків №1-5 *гарпагофітуму* коренів відповідно

3.3.4 Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук *гарпагофітуму* лежачого коренів

3.3.4.1 Визначення вмісту *гарпагозиду*

Визначення вмісту *гарпагозиду* у *гарпагофітуму* лежачого коренях проводили методом рідинної хроматографії за методикою, що наведена у монографії ЄФ 8.0 «Devil's claw Root» (розділ 2. п. 2.3.1 методика 4). Виконання вимог придатності хроматографічної системи наведено у табл. 3.15.

Таблиця 3.15

Результати проведення тесту «Придатності хроматографічної системи»

Критерії	Вимоги	Результати
Ефективність хроматографічної колонки	≥ 2000	2500
Коефіцієнт симетрії	$\geq 0,8 \leq 1,5$	0,89
Відносне стандартне відхилення, %	$\leq 2,0\%$	0,87%

В умовах методики час утримування основного піку *гарпагозиду* становив близько 10 хв (рис 3.25). Результати визначення показників якості для 5 серій *гарпагофітуму* лежачого коренів представлені у табл. 3.16.

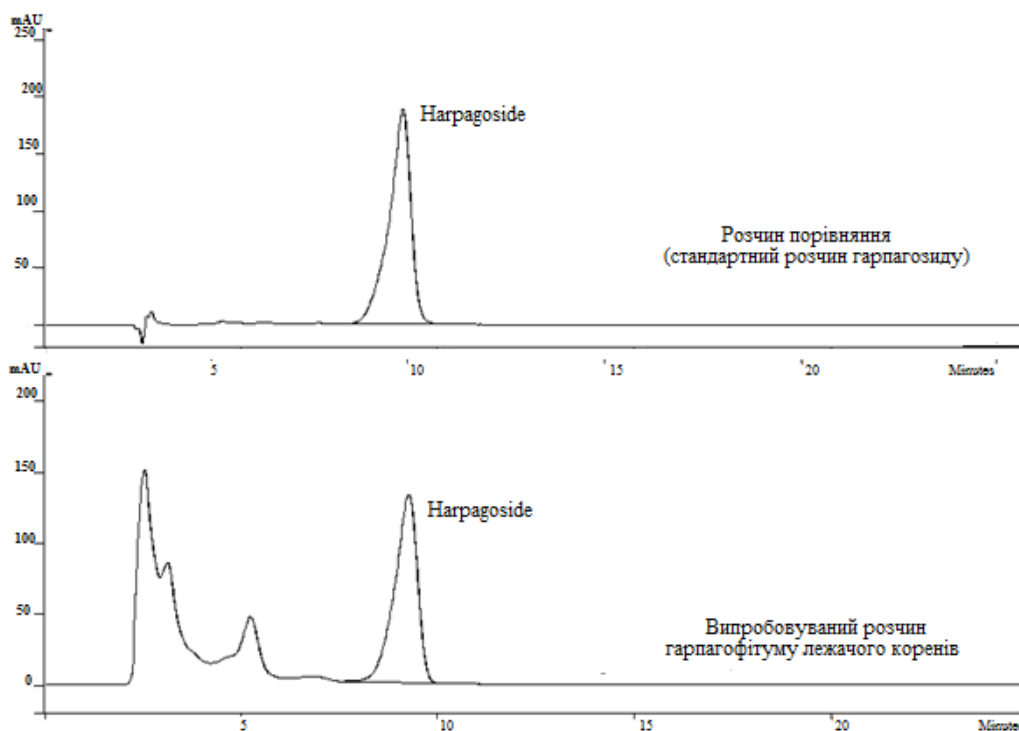


Рис. 3.25 Хроматограми випробовуваного розчину та розчину порівняння гарпагофітуму коренів

3.3.4.2 Визначення вмісту амінокислот

Амінокислоти – речовини первинного синтезу, які містяться у рослинах у вигляді легкозасвоюваних для організму людини комплексів. Амінокислоти необхідні для синтезу як білків, так і активних груп ферментів, вітамінів, фітонцидних речовин, ауксинів, флавоноїдів, алкалоїдів, стероїдних сполук, поліфенолів, пігментів тощо. Організм людини здатний синтезувати лише 10 амінокислот, решта є незамінними і потрапляють в організм тільки з їжею або у складі лікарських засобів та добавок дієтичних (треонін, валін, лейцин, ізолейцин, метіонін, гістидин, триптофан, лізин, аргінін, фенілаланін) [122].

Зважаючи на їх високу біологічну активність, великий науковий і практичний інтерес з розширення відомостей щодо хімічного складу досліджуваної сировини нами було визначено якісний склад та кількісний вміст амінокислот у гарпагофітуму лежачого коренях.

Результати дослідження гарпагофітуму лежачого коренів на відповідність вимогам монографії

ЄФ 8.0 «Devil's claw Root»

Показник	Вимоги	Зразки гарпагофітуму лежачого коренів				
		1	2	3	4	5
Ідентифікація А	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+
Ідентифікація В	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+
Ідентифікація С	Послідовність хроматографічних зон гарпагозиду та фруктози	+	+	+	+	+
Крохмаль	Відсутність синього забарвлення	+	+	+	+	+
Втрата в масі при ви- сушуванні	Не більше 12,0 %	8,84±0,21	8,83±0,19	8,46±0,22	8,54±0,17	8,79±0,20
Загальна зола	Не більше 10,0 %	3,5±0,18	3,95±0,24	3,93±0,17	4,91±0,20	4,96±0,19
Кількісний вміст	Не менше 1,2 % гарпагозиду у перераху- нку на суху речовину	2,0±0,02	2,1±0,02	2,0±0,02	2,5±0,03	2,7±0,02

Примітка. «+» – відповідає вимогам ЄФ 8.0 «Devil's claw Root».

Методом ВЕРХ (розділ 2 п. 2.3.1 методика б) визначали якісний склад і кількісний вміст вільних, зв'язаних та загальних амінокислот у коренях гарпагофітуму лежачого. З огляду на відсутність хромофорних груп в більшості молекул амінокислот для їх визначення при використанні оптичних детекторів необхідна стадія дериватизації. Представлений метод заснований на екстракції вільних амінокислот та кислотному гідролізі загальних амінокислот із рослинної сировини з подальшим аналізом гідролізатів методом ВЕРХ. Попередню дериватизацію амінокислот проводили в автоматичному програмованому режимі з використанням реагента FMOC та реагента ОРА. Приведений підхід допомагає в декілька разів підвищити чутливість визначення амінокислот. Хроматограми стандартної суміші амінокислот приведена на рис 3.16, вільних та загальних амінокислот випробовуваного зразку наведені на рис. 3.17 та рис. 3.18 відповідно.

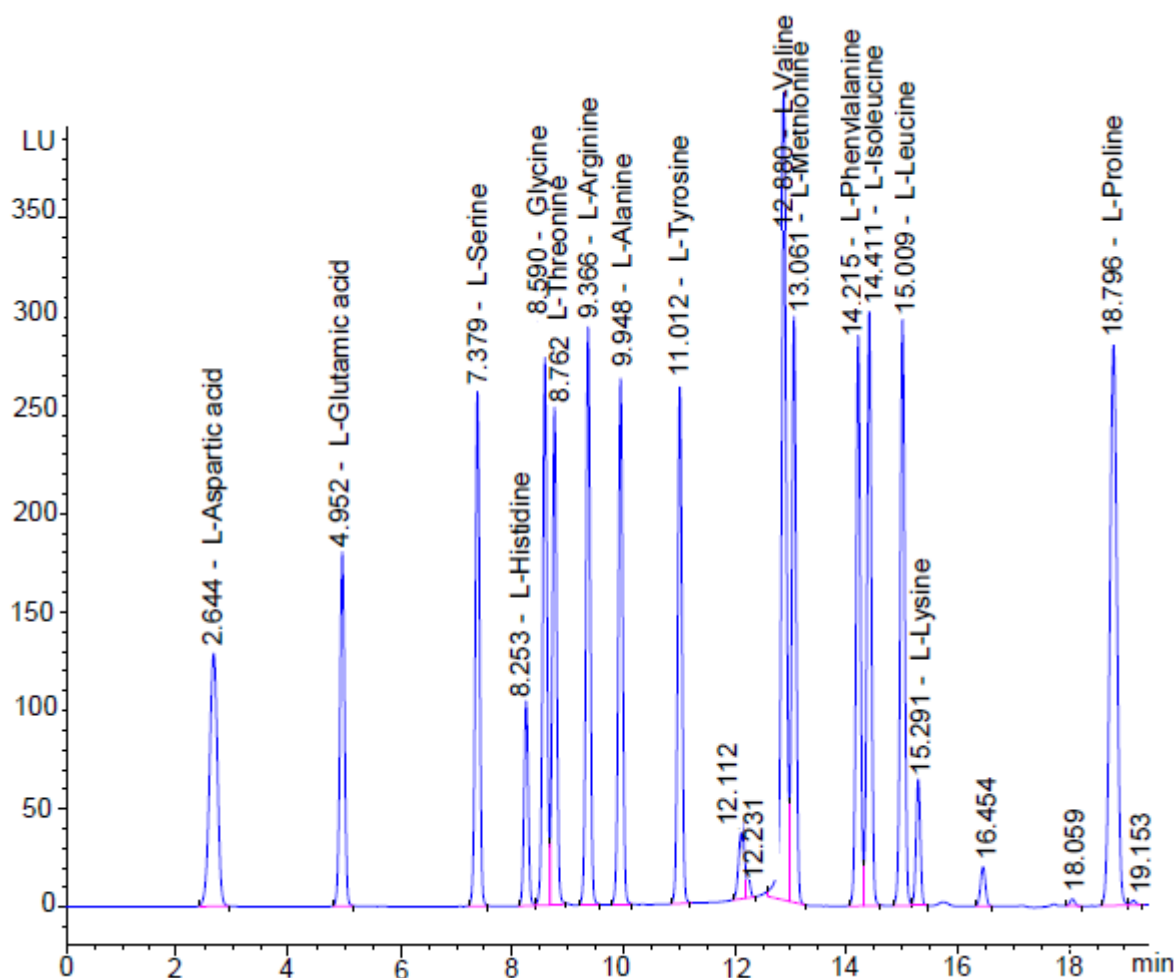


Рис. 3.26 Хроматограма стандартної суміші амінокислот за представленою методикою

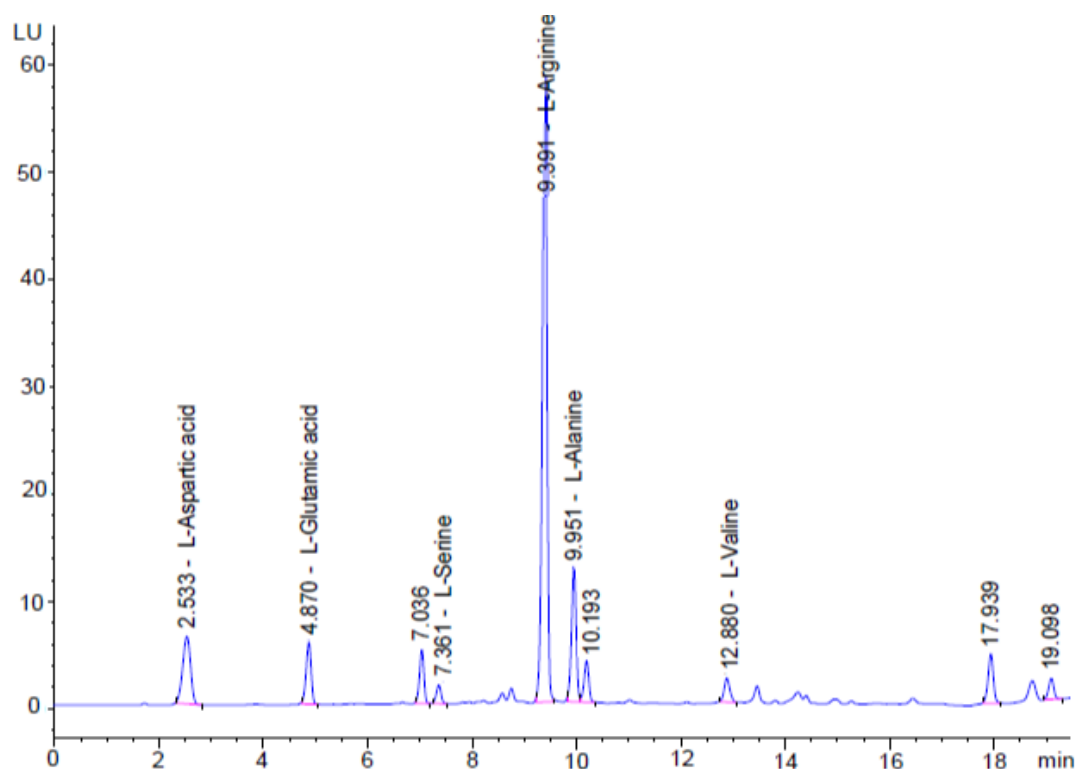


Рис. 3.27 Хроматограма вільних амінокислот гарпагофітуму лежачого коренів

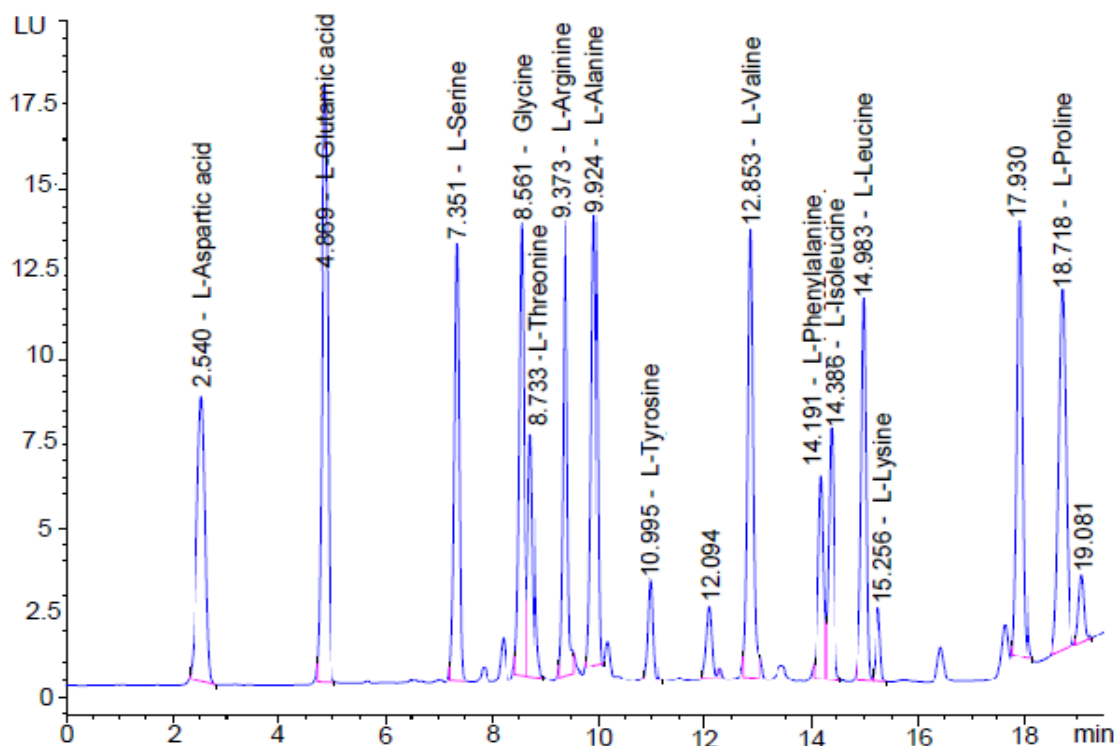


Рис. 3.28 Хроматограма загальних амінокислот гарпагофітуму лежачого коренів

У гарпагофітуму лежачого коренів було ідентифіковано 16 вільних, 13 зв'язаних та 14 загальних амінокислот. Результати амінокислотного аналізу дослі-

джуваної сировини (час утримання та кількісний вміст амінокислот (мкг/мг) від абсолютно сухої сировини (n=5) наведені у табл. 3.17.

Таблиця 3.17

Результати визначення вмісту амінокислот у гарпагофітуму лежачого коренях

№ п/п	Назва амінокислот	Вільні (n=5)		Загальні (n=5)		Зв'язані
		час утриму-	Вміст. мкг/мг	час утри-	Вміст. мкг/мг	Вміст. мкг/мг
1	2	3	4	5	6	7
Незамінні						
1	Треонін	8,73	0,00	8,73	0,66±0,09	0,66±0,02
2	Валін	12,88	0,03±0,01	12,85	0,74±0,01	0,71±0,01
3	Метіонін	13,03	0,00	13,03	0,00	0,00
4	Ізолейцин	14,38	0,00	14,38	0,64±0,04	0,64 ±0,01
5	Лейцин	14,98	0,00	14,98	0,96±0,02	0,96±0,07
6	Фенілаланін	14,18	0,00	14,19	0,71±0,01	0,71±0,09
7	Лізин	15,25	0,00	15,25	0,73±0,08	0,73±0,01
8	Гістидин	8,20	0,00	8,21	0,00	0,00
Замінні						
1	Глутамінова	4,87	0,21±0,05	4,87	2,9±0,11	2,76±0,06
2	Аспарагінова	2,53	0,26±0,06	2,54	1,53±0,03	1,26±0,02
3	Серін	7,36	0,03±0,03	7,35	1,01±0,01	0,98±0,04
4	Аргінін	9,39	1,55±0,01	9,37	1,55±0,02	0,00
5	Гліцин	8,56	0,00	8,56	0,70±0,05	0,70±0,06
6	Аланін	9,95	0,19±0,02	9,92	0,85±0,04	0,66±0,09
7	Тирозин	10,99	0,00	10,99	0,35±0,01	0,35±0,06
8	Пролін	18,72	0,00	18,72	1,03±0,02	1,03±0,01
Сума незамінних			0,03±0,01		4,44±0,01	4,41±0,08
Сума замінних			2,24±0,12		9,99±0,18	7,74±0,17

За результатами експериментальних даних табл. 3.17 встановлений переважний вміст загальних амінокислот (14,43 мкг/мг) у гарпагофітуму коренях у порівнянні з вмістом вільних амінокислот (2,21 мкг/мг). Мажоритарними компонентами вільних амінокислот є – аргінін та аспарагінова кислота, їх вміст складав –1,55 мкг/мг та 0,26 мкг/мг відповідно. Найбільша частка від суми зв'язаних амінокислот припадала на глутамінову кислоту, аспарагінову кислоту та пролін та складала – 2,76 мкг/мг, 1,26 мкг/мг та 1,03 мкг/мг відповідно. Кількісний вміст амінокислот пі-

сля повного гідролізу зростає в 6,5 рази, що свідчило, що амінокислоти знаходяться у сировині переважно у зв'язаному стані.

Біологічна активність ідентифікованих амінокислот досить добре вивчена, так аспарагінова кислота забезпечує перетворення вуглеводів в м'язову енергію, завдяки чому використовується в якості добавок для спортсменів в період підвищених навантажень. підвищує активність імунної системи, підвищує витривалість та зберігає здатність до роботи. Аргінін входить до складу багатьох білків і бере активну участь в регуляції обміну речовин в організмі; активізує процеси регенерації в посттравматичному періоді при загоєнні переломів, при загоєнні трофічних виразок; бере участь в процесах утворення колагену. Пролін – це одна з головних амінокислот, яку організм використовує для синтезу колагену. Колаген є головним будівельним матеріалом організму (кістки, сухожилля) [122]. Отже, сировина гарпагофітуму лежачого є перспективним джерелом амінокислот для застосування при захворюваннях опорно-рухового апарату.

3.3.4.3 Визначення вмісту карбонових кислот

Карбонові кислоти широко представлені в рослинному світі, можуть знаходитися в рослинах як у вільному, так і у зв'язаному стані, у вигляді солей, естерів, димерів тощо. Карбонові кислоти виявляють різноманітні види біологічної активності, Вони беруть участь в обміні речовин, окиснювально-відновних процесах, тканинному диханні, знижують ризик утворення в організмі канцерогенів, покращують роботу серцево-судинної та нервової систем, активізують виділення жовчі, перистальтику кишечника, стимулюють секрецію панкреатичного соку тощо.

Визначення вмісту карбонових, зокрема жирних, кислот у гарпагофітуму коренях проводили методом ГХ-МС, який заснований на отриманні метилових ефірів жирних кислот з подальшим аналізом (розділ 2. п. 2.3.1 методика 8). Ідентифікацію жирних кислот проводили за часом утримування стандартів. Результати хроматографічного розділення метилових естерів жирних кислот наведені на рис. 3.29 та 3.30.

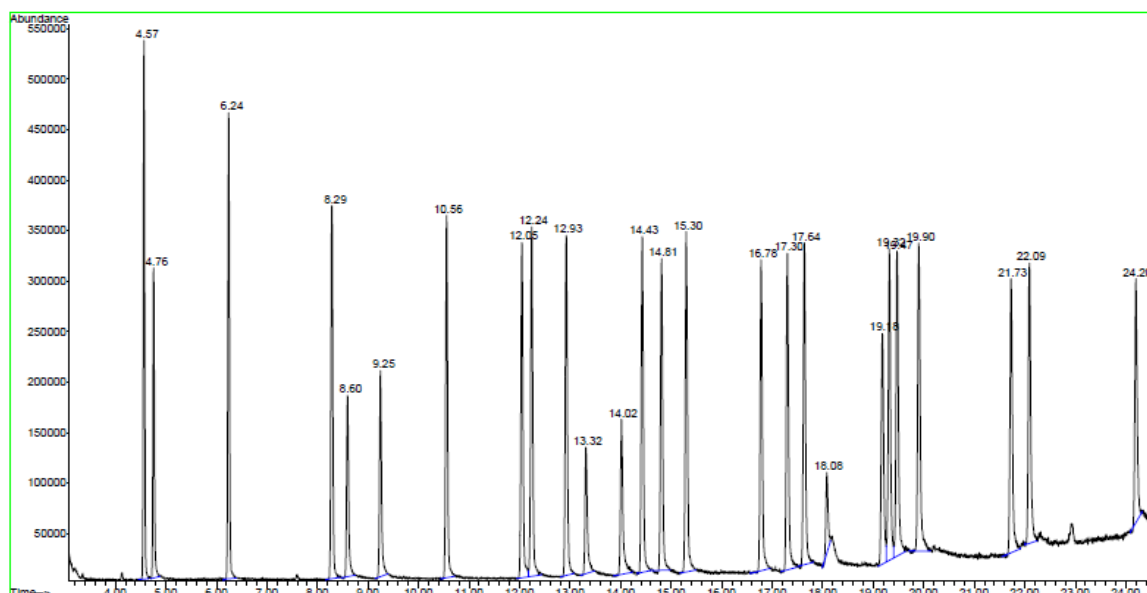


Рис. 3.29 Хроматограма стандартної суміші метилових естерів жирних кислот

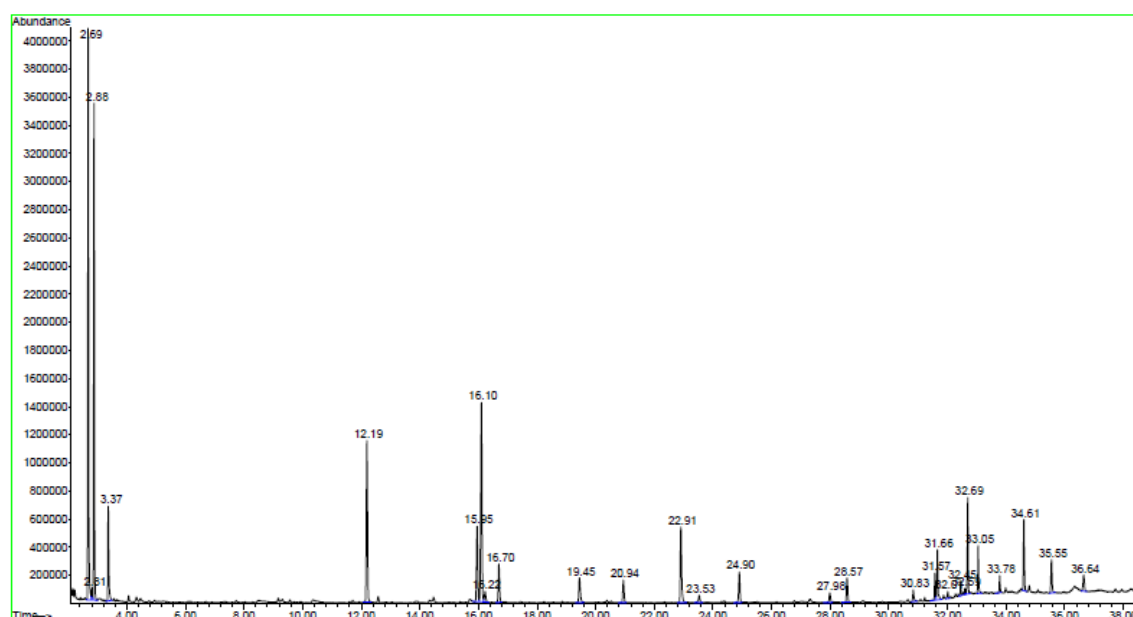


Рис. 3.30 Хроматограма метилових естерів жирних кислот досліджуваної суміші гарпагофітуму лежачого коренів

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у гарпагофітуму лежачого коренів представлені табл. 3.18.

У сировині було виявлено 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів. Домінантними є пропіонова, стеаринова та пальмітинова кислоти (2,08 мг/г., 1,17 мг/г та 0,89 мг/г відповідно). Серед незамінних кислот найважливішою є ліно-

лева, яка входить до складу клітинних мембран, бере участь в обміні речовин і синтезі простагландинів, необхідна для росту і регенерації клітин.

Таблиця 3.18

**Результати визначення вмісту карбонових (жирних) кислот у
гарпагофітуму лежачого коренів, (n=5)**

№	Час	Ідентифікована речовина	Вміст, мг/г
1	2	3	4
Насичені аліфатичні карбонові (жирні) кислоти			
1	2,687	C 3:0 пропанова (пропіонова)	2,08±0,01
2	2,816	C 4:0 бутандіонова кислота (масляна)	0,05±0,03
3	12,193	C 16:0 гексадеканова (пальмітинова)	0,89±0,01
4	19,446	C 13:0 тридеканова кислота	0,17±0,05
6	16,099	C 18:0 октадеканова (стеаринова)	1,17±0,07
7	20,941	C 20:0 ейкозанова (арахінова)	0,13±0,06
8	24,896	C 22:0 докозанова (бегенова)	0,18±0,01
9	28,574	C 24:0 лігноцеринова (тетракозанова)	0,14±0,01
10	31,569	C 26:1 гексакозанова кислота (церотинова кис-	0,11±0,03
11	33,046	C28:0 октакозанова кислота	0,18±0,04
12	33,778	C29:0 нонакозиловая кислота	0,06±0,02
13	34,608	C30:0 тріаконтанова кислота	0,30±0,01
14	35,545	C31:0 гентріаконтанова кислота	0,18±0,09
15	36,643	C22:0 дотріаконтанова кислота	0,10±0,01
Ненасичені аліфатичні карбонові кислоти			
16	16,697	C 18:1 октадеценінова (олеїнова)	0,22±0,08
17	15,951	C 18:2 октадекадієнова (лінолева)	0,42±0,02
18	16,224	C 18:2 октадекадієнова (лінолева)	0,07±0,01
Трьохосновні карбонові кислоти			
19	3,369	лимонна кислота	0,42±0,02
Алкани			
20	27,985	Пентакозан	0,05±0,04
21	30,832	1-октадекан	0,06±0,03
22	32,010	1-метилхолестан-1.3.5 (10) – триен-3-ол	0,03±0,01
Алкени			
23	22,905	метил 2-октилциклопропен-	0,48±0,01
24	32,689	стигмата-3.5-дієн	0,35±0,05
25	31,653	оксид ледену-(II)	0,24±0,02

3.3.4.4 Визначення вмісту моносахаридів

Моносахариди зустрічаються у вільному стані або входять до складу олігосахаридів, полісахаридів та змішаних сполук, які містять вуглеводи, наприклад, глікозидів, глікопротеїнів. Вони беруть участь у вторинному біосинтезі глікозидів, амінокислот, поліфенолів тощо. У рослинах моносахариди містяться у вільному стані та у вигляді високомолекулярних полісахаридів – пентозанів і гексозанів [197].

Визначення вільних та суми вільних та зв'язаних моносахаридів здійснювали методом ГХ-МС, який базувався на екстракції вільних моносахаридів та отриманні ацетатів їх альдонітрильних похідних з подальшим аналізом (розділ 2. п. 2.3.1 методика 9). Отриманні хроматограми вільних моносахаридів та суми вільних та зв'язаних моносахаридів представлені на рис. 3.31. та 3.32 відповідно.

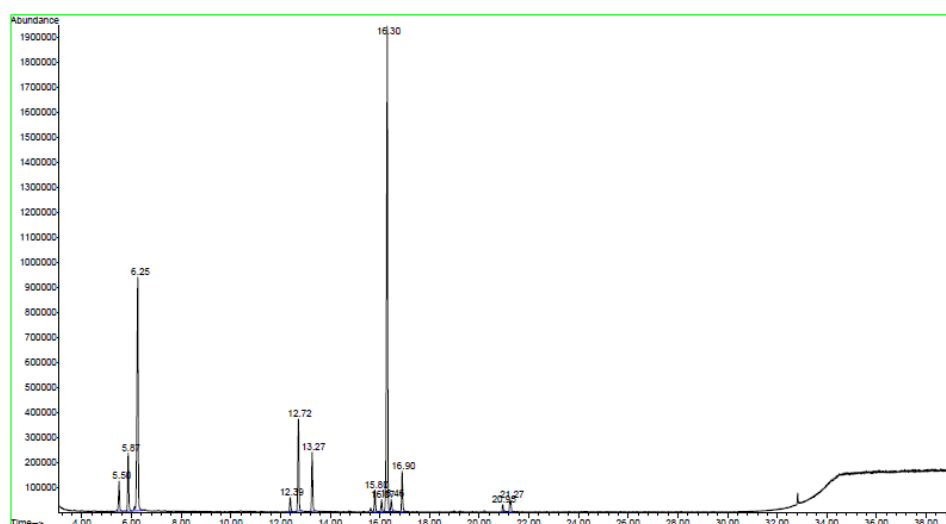


Рис. 3.31 Хроматограма вільних моносахаридів гарпагофітуму лежачого коренів

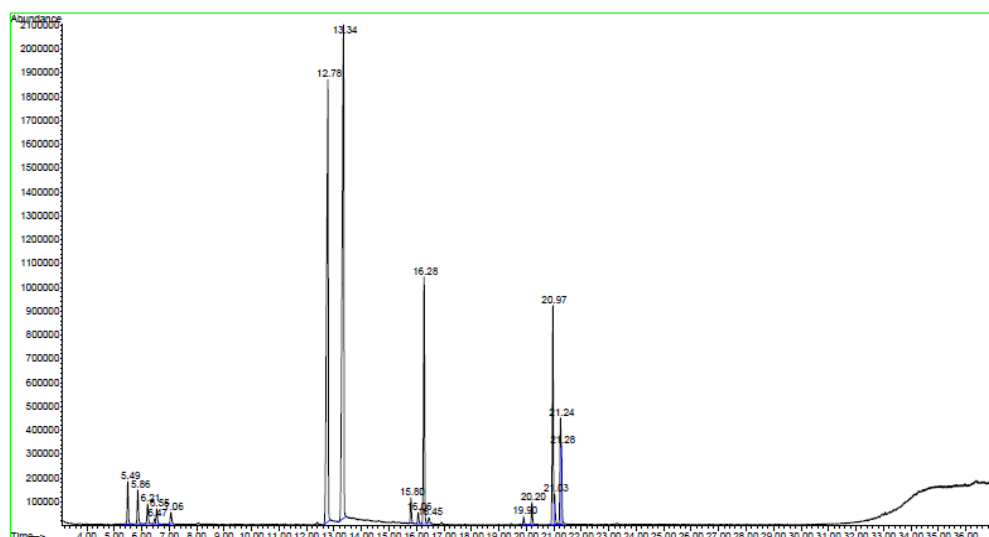


Рис. 3.32 Хроматограма вільних та зв'язаних моносахаридів гарпагофітуму лежачого коренів

Результати визначеного кількісного визначення вільних та суми вільних та зв'язаних моносахаридів представлені у табл. 3.19.

Таблиця 3.19

Результати вмісту вільних цукрів та суми вільних та зв'язаних моносахаридів гарпагофітуму лежачого коренів, мг/кг (n=5)

№ з/п	Назва моносахаридів	Вміст суми зв'язаних та вільних моноцукрів	Вміст вільних моноцукрів
1	D-рахнонітрил, 2,3,4,5-тетраацетату (рамноза)	4,38±0,01	-
2	D-арабінонітрил, 2,3,4,5-тетраацетат (арабіноза)	3,80±0,07	-
3	D-ксилонітрил, 2,3,4,5-тетраацетат (ксилоза)	2,33±0,05	-
4	ідозан тріацетат	0,55±0,07	-
5	галактозан тріацетат	1,83±0,04	-
6	ідозан тріацетат	1,40±0,03	-
7	2,3,4,5,6-пента-O-ацетил-D-глюконітрил (глюкоза)	64,12±0,01	3,80±0,01
8	2,3,4,5,6-пента-O-ацетил-D-галактонітрил (галактоза)	77,98±0,01	1,91±0,09
9	міо-інозитол, гексаацетат	2,40±0,02	2,48±0,01
10	D-маніт, гексаацетат	1,15±0,04	-
11	D-сорбіт, гексаацетат	стандарт	
12	D-дульцит, гексаацетат	0,93±0,01	-
13	2,3,4,5,6-пента-O-ацетил-D-фруктонітрил (фруктоза)		4,99±0,02
14	β-D-глюкопіраноза, 4-O- (2,3,4,6-тетра-O-ацетил-α-D-глюкопіранозил) -, тетраацетат	0,76±0,07	-
15	вініл тетраацетил-β-D-глюкопіранозид	2,19±0,05	-
16	α-D-гулофуранозид, тетра-O-ацетилфеніл-	20,46±0,11	-
17	(E) -2,6-диметил-2,7-октадієн-1,6-діол, 1-O- (β-г-глюкопіранозид тетраацетат)	3,10±0,03	-
18	2'-метилфеніл-1-тіогалактозид S, S-діоксид, тетраацетат (естер)	11,16±0,12	-
19	вінілтетраацетил-β-D-глюкопіранозид	5,00±0,01	-
20	сахарози октаацетат (сахароза)		45,20±0,24

Примітка. «-» - речовина не визначена.

Згідно з даними табл. 3.19 у гарпагофітуму лежачого коренях серед компонентів вільних моносахаридів домінуючою є сахароза та фруктоза у кількості 45,20 мг/г та 4,99 мг/г відповідно. У мінімальній кількості містилась галактоза 1,91 мг/г.

Встановлена наявність та визначено кількісний вміст 18 зв'язаних моносахаридів після кислотного гідролізу. Основними з яких є (мг/кг): глюкоза – 64,12, галактоза – 77,98, рамноза – 4,38, арабіноза – 3,80, ксилоза – 2,33. Після гідролізу значно збільшився вміст галактози и глюкози, що свідчить про те, що вона знаходиться переважно у зв'язаному вигляді.

3.3.4.5 Визначення компонентного складу леткої фракції

Визначення проводили методом ГХ-МС за методикою наведеною у розділі 2 п. 2.3.1 методика 10 [199]. Хроматографічний профіль летких сполук гарпагофітуму лежачого коренів наведено на рис. 3.33.

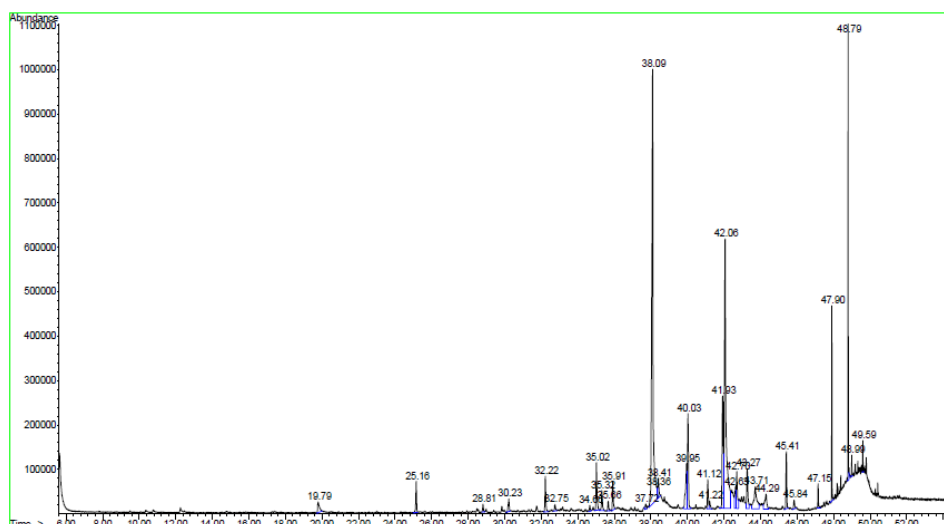


Рис. 3.33 Хроматограма леткої фракції гарпагофітуму лежачого коренів

У досліджуваній сировині було ідентифіковано 31 речовина, кількісний вміст яких наведено у табл. 3.20.

Таблиця 3.20

Результати вмісту визначених БАР у гарпагофітуму лежачого коренях, (n=5)

№	Час	Формула	Назва сполуки	Вміст,мг/кг
1	2	3	4	5
1	19,79	C ₉ H ₁₀ O ₂	2-метокси-4-вінілфенол	0,89±0,05
2	25,16	C ₁₅ H ₂₄	1,4-метаноазулен, декагідро-4,8,8-триметил-9-метилен	1,20±0,02
3	28,81	C ₁₅ H ₂₄	1S,2S,5R-1,4,4-триметилтрицикло	0,30±0,01

Продовж. табл. 3.19

1	2	3	4	5
			[6.3.1.0(2,5)]додек-8(9)-єн	
4	30,22	$C_8H_9NO_2$	2,6-диметил-3-амінобензохінон	0,63±0,06
6	32,75	$C_{12}H_{17}NO_2$	циклогексанкарбоксамід, N-фурфурол	0,33±0,05
7	34,65	$C_{17}H_{34}O_2$	ізопропілміристат	0,26±0,03
8	35,02	$C_8H_9NO_3$	6-метил-нікотинова кислота	2,12±0,02
9	35,32	$C_{17}H_{36}O_2Si$	тетрадеканова кислота, триметилсиліловий ефір	0,96±0,01
10	35,66	$C_{16}H_{22}O_4$	1,2-бензолдикарбонової кислоти, біс- (2-метилпропіл) ефір	0,43±0,01
11	35,91	$C_{14}H_{16}$	2- (2,5-диметоксифеніл) циклогексан- 2-єнон	1,34±0,07
12	37,72	$C_{10}H_{12}$	бензен, 2-бутеніл	0,27±0,07
13	38,09	$C_{16}H_{32}O_2$	н-гексадеканова кислота	28,86±0,08
14	38,36	$C_{16}H_{32}O_2$	пентадеканова кислота	0,20±0,09
15	38,41	$C_{16}H_{32}O_2$	н-гексадеканова кислота	1,06±0,09
16	39,95	$C_{20}H_{30}$	7-ізопропіл-1,1,4а-триметил- 1,2,3,4,4а, 9,10,10а- октагідрофенантрен	2,96±0,11
17	40,03	$C_{19}H_{40}O_2Si$	гексадеканова кислота, триметилсиліловий ефір	4,53±0,02
18	41,11	$C_{16}H_{22}O_4$	1,2-бензендикарбонової кислоти, біс- (2-метилпропіл) ефір	1,21±0,01
19	41,22	$C_{21}H_{44}$	генейкозан	0,38±0,06
21	42,06	$C_{18}H_{32}O_2$	9,12-октадекаденієнова кислота (Z, Z)	21,39±0,07
22	42,63	$C_{18}H_{34}O_2$	9-октадеценієнова кислота	1,18±0,019
23	42,70	$C_{19}H_{34}$	1,3,12- нонадекатриєн	2,03±0,01
25	43,71	$C_{18}H_{22}O_2$	гона-1,3,5 (10) -трієн-17-он, 3- метокси, (13а)	2,99±0,01
26	44,29	$C_{21}H_{42}O_2Si$	цис-9-октадеценієнова кислота, триметилсиліловий ефір	1,54±0,05
27	45,41	$C_{13}H_{28}O_2Si$	деканова кислота, триметилсиліловий ефір	2,15±0,04
28	45,84	$C_{21}H_{44}$	генейкозан	0,42±0,06
29	47,15	$C_{20}H_{30}O$	феруїнол	0,67±0,01
30	47,90	$C_{22}H_{42}O$	гександіолова кислота, біс (2- етилгексил) ефір	2,82±0,02
31	48,79	$C_{25}H_{52}$	пентакозан	5,85±0,01

За результатами проведеного аналізу встановлено, що у кількісному відношенні переважають: н-гексадеканова кислота (29,92 мг/кг), 9,12-октадекаденієнова

кислота (21,39 мг/кг), пентакозан (5,85 мг/кг). Ідентифіковані хімічні сполуки можна поділити на групи: ароматичні вуглеводні (1,4-метаноазулен, декагідро-4,8,8-триметил-9-метилен; циклогексанкарбоксамід, N-фурфурол; 6-метил-нікотинова кислота; 2- (2,5-диметоксифеніл) циклогексан-2-енон; бензен, 2-бутеніл; 7-ізопропіл-1,1,4а-триметил-1,2,3,4,4а, 9,10,10а-октагідрофенантрен), складні ефіри (ізопропіл-міристат; тетрадеканова кислота, триметилсиліловий ефір; 1,2-бензендикарбонової кислоти, біс-(2-метилпропіл) ефір; О-цис-9-октадеценова кислота, триметилсиліловий ефір; 9,12-октадекаденієнова кислота (Z, Z)), алкани та алкени (1,3,12-нонадекатриєн, генейкозан, пентакозан).

Відомо, що лінолева кислота (21,38 мг/кг), відноситься до поліненасичених жирних кислот n-6 (омега-6), є структурним елементом клітинних мембран, регулює обмін холестерину, бере участь в утворенні тканинних гормонів – простагландинів, є біохімічним попередником ліноленової та арахідонової кислот. За участі мікроелементів, ферментів та вітамінів в організмі вона перетворюється в гамма-ліноленову, з якої синтезується простагландин E1, який, у свою чергу, підвищує імунітет, зменшує інтенсивні процеси, підтримує тонус кровоносних судин, прискорює обмін речовин [137].

3.3.4.6 Визначення вмісту макро- та мікроелементів

Макро- і мікроелементи відіграють надзвичайно важливу роль у нормальному функціонуванні організму, їх дефіцит призводить до розвитку патологічних різних станів. Так, катіони натрію беруть участь в підтримці кислотно-лужної рівноваги і осмотичного тиску позаклітинних рідин. Іони кальцію активують дію багатьох ферментів, сприяють згортанню крові, регулюють проникність клітинних мембран. Мінеральні речовини входять до складу вітамінів, гормонів, ферментів і коферментів, які беруть участь в регуляції життєвих процесів [117].

Дослідження вмісту макро- і мікроелементів проводили методом атомно-емісійної спектрографії з фотографічною реєстрацією розкладеного у спектр випромінювання і вимірювання інтенсивності спектральних ліній окремих елементів (роз-

діл 2 п. 2.3.1 методика 1). Результати отриманих експериментальних даних мінерального складу гарпагофітуму лежачого коренів наведені у табл. 3.21.

Таблиця 3.21

Результати елементного аналізу гарпагофітуму лежачого коренів (мг/100г)

№	Елемент	Вміст	№	Елемент	Вміст	№	Елемент	Вміст
1	Калій	800,00	5	Ферум	24,90	9	Натрій	23,00
2	Кальцій	450,00	6	Фосфор	50,00	10	Цинк	2,40
3	Сіліцій	400,00	7	Манган	6,00	11	Нікель	0,32
4	Магній	120,00	8	Купрум	0,60	12	Молібден	0,24

Примітка. Pb<0,03; Co<0,03; Cd<0,01; As<0,01; Hg<0,01; Sr<0,01.

Результати проведеного дослідження свідчать, що у гарпагофітуму лежачого коренях серед макроелементів переважали калій (800,00 мг/100 г), кальцій (450,00 мг/100 г) і сіліцій (400,00 мг/100 г). З мікроелементів слід відзначити високий вміст феруму (24,00 мг/100 г), манган (6,00 мг/100 г). Калій підтримує осмотичний тиск в крові, виявляє діуретичну дію. Кальцій є основною складовою кісткової тканини, входить до складу крові, відіграє важливу роль в регуляції процесів росту і діяльності клітин всіх видів тканин. Особливо важливий кальцій для формування кісток. Сіліцій бере участь у метаболізмі понад 70 мінеральних солей і більшості вітамінів. При його недоліку знижується засвоюваність кальцію, заліза, кобальту, марганцю, фтору та інших речовин і порушується обмін речовин [60].

Вміст важких металів в досліджуваному зразку знаходиться у межах вимог гранично припустимих концентрацій для лікарської рослинної сировини [103, 104].

3.4 Фармакопейна стандартизація лікарської рослинної сировини та розробка проекту національної монографії Державної фармакопеї України «Квасолі звичайної стулки плодів^N»

На сьогоднішній день важливим питанням фармацевтичного сектору галузі охорони здоров'я є контроль якості рослинної сировини, яка використовується для

створення лікарських засобів [194]. Особливу увагу привертає ЛРС вітчизняної флори, яка має достатню сировинну базу, проте нормативна документація відсутня на території України. Однією з таких є сировина квасолі звичайної стулки плодів.

Відповідно до концепції створення та введення до ДФУ монографій на ЛРС, квасолі звичайної стулки плодів відносяться до переліку ЛРС, що відсутня у ДФ СРСР XI і в ЄФ [50]. При розробці національної монографії для цієї рослини необхідно враховувати світовий досвід стандартизації даного виду ЛРС. Проаналізувавши світові фармакопеї було встановлено, що квасолі звичайної стулок плодів описані лише у Державній Фармакопеї Республіки Білорусь (ДФ РБ) [15].

3.4.1 Дослідження з визначення макро- та мікроскопічних діагностичних ознак квасолі звичайної стулки плодів

В ході проведених макроскопічних досліджень (розділ 2. п. 2.3.3 методика 2) цільної сировини були виявлені видовжені, прямі, човникоподібні або жолобчасті стулки, які перекручені тією чи іншою мірою (рис. 3.34). Зовнішня поверхня стулок гладка або злегка горбкувата, має матовий світло-жовтий або жовтий колір, однак внутрішня поверхня блискуча, біла або жовтувато-біла. Інколи була виявлена плодоніжка.



Рис. 3.34 Зовнішній вигляд квасолі звичайної стулок плодів

Мікропрепарати готували з сухого порошку стулок (355) (2.9.12) з використанням розчину *хлоралгідрату Р*; рідиною, що просвітлює, була суміш *хлоралгідрат Р – вода Р – гліцерин (85 %) Р* (120:100:5). Дослідження проводились за загальноприйнятими методиками (розділ 2. п. 2.3.3 методика 2) [73].

При мікроскопічному дослідженні у порошку блідо жовтого кольору виявляються частини і тканини стулок у поздовжніх, поперечних і тангентальних зламах

(рис. 3.35-3.37). Фрагменти стулок з шарами ендокарда, мезодерпа і шкірястого екзокарпа, представленого шаром зовнішньої епідерми та щільно притиснутими до неї одним або декількома шарами гіподерми (рис. 3.35)

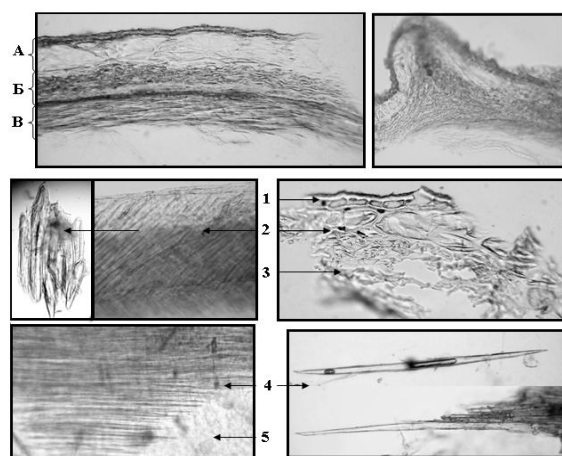


Рис. 3.35 Стулки на зламі: А – екзодерма, Б – мезодерма, В – ендодерма, 1 – зовнішня епідерма, 2 – гіподерма, 3 – зовнішня паренхіма, 4 – склеренхімні волокна, 5 – внутрішня паренхіма

Були виявлені прямокутні 5-6-кутні клітини зовнішньої епідерми зі складчастою кутикулою. Продихи мають 3-4 вузькі біля продихові клітини, оточені додатково 5-6 вузькими клітинами. Криючі волоски не галузисті видовжені загострені з розеткою із 9-14 клітин та коротші волоски з гачкуватою термінальною клітиною і 4-7-клітиною розеткою. Залозисті волоски з багатоклітинною голівкою, часто спалою. Основи відпавших волосків мають вигляд потовщеного валика. Радіальні складочки кутикули розеткових клітин волосків та навколо замикаючих клітин продихів. Наявні веретеноподібні клітини гіподерми з сильно потовщеними, шаруватими целюлозними стінками (рис. 3.26).

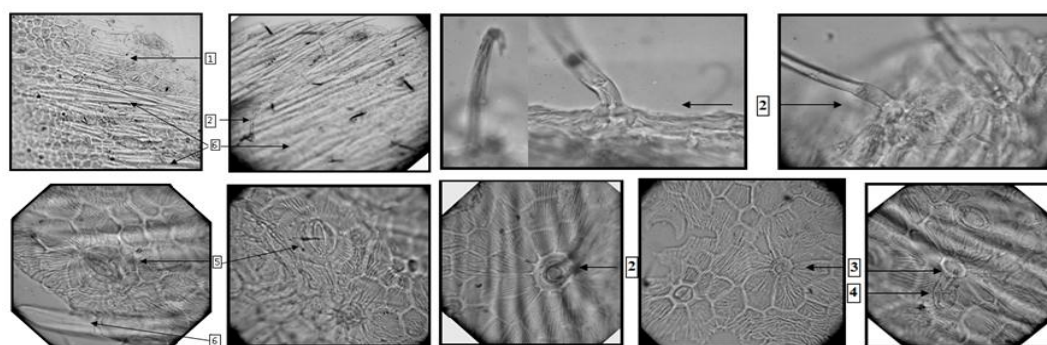


Рис. 3.36 Фрагменти екзокарпу: 1 – клітини епідерми, 2 – прості волоски з гострою гачкоподібною і прямою верхівкою, розеткою при основі зі складчастою кутикулою, 3 – валики від волосків, 4 – залозистий волосок, 5 – продихи, 6 – клітини гіподерми

Були знайдені мертві тонкостінні вакуолізовані клітини паренхіми мезокарпію, судини і трахеїди ксилеми. Провідні пучки різного розміру і складу: дрібні неповні флоемні й повні, серединний і латеральні провідні пучки плодолистика з лігніфікованою склеренхімою і секреторними клітинами. Видовжені гострокінцеві цілісні або сплюснені склеренхімні волокна пергаментного шару ендокарда, орієнтовані по-різному відносно осі стулок. Кристали кальцію оксалату видовжено-призматичної форми. Було встановлено, що внутрішня епідерма не має продихів та трихом, клітини мертві з прямими тонкими стінками. Інколи були знайдені фрагменти плодоніжки безпучкової будови з перициклічною склеренхімою та секреторними клітинами у флоемі (рис. 3.37).

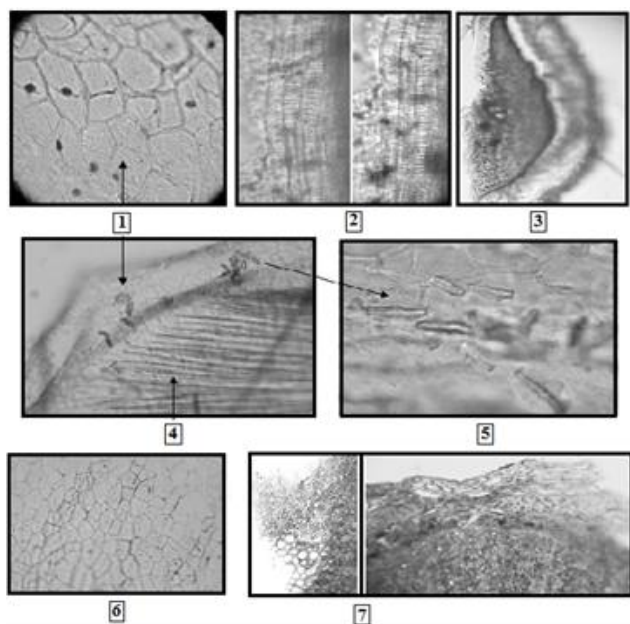


Рис. 3.37 Фрагменти частин і тканин мезо- і ендокарпу: 1 – внутрішня паренхіма мезокарпію, 2 – судини і трахеїди ксилеми, 3 – частина провідного латерального пучка, 4 – склеренхімні волокна, 5 – кристали кальцій оксалату, 6 – внутрішня епідерма, 7 – частини плодоніжки у поперечному січенні

3.4.2 Розробка методики ідентифікації біологічно активних сполук kwasoli звичайної стулки плодів

Одним з етапів стандартизації ЛРС є визначення її речовин-маркерів, які обумовлюють спектр фармакологічної активності [206]. Згідно з результатами українських вчених, у складі kwasoli звичайної стулок плодів наявні флавоноїди та амінокислоти, зокрема аргінін, який регулює вуглеводний обмін та знижує рівень цукру [10, 41, 42]. З огляду на це, як активні маркери використовували аргінін та глютамінову кислоту.

Розроблено спосіб ідентифікації аргініну та глутамінової кислоти у квасолі звичайної стулок плодів методом ТШХ [58, 68, 162, 226]. Завдяки трикратному проходженню елюента в процесі хроматографування було досягнуто повноту розділення та чіткість виявлення хроматографічних зон.

Випробовуваний розчин. До 1,0 г здрібненої на порошок сировини, просіяної через сито з діаметром отворів 355 мкм додають 10 мл *етанолу* (20%, об/об) *P*, витримують на ультразвуковій бані при температурі 45 °С протягом 10 хвилин, фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка».

Розчин порівняння. 1 мг *ФСЗДФУ* аргініну та 1 мг *ФСЗДФУ* глутамінової кислоти розчиняють у 10 мл *метанолу P*.

Пластину з нанесеними пробами поміщають в камеру зі сумішшю розчинників: *бутанол P – кислота оцтова льодяна P – вода P* (40:10:10).

Об'єм проб: 10 мкл випробовуваного розчину та 5 мкл розчину порівняння.

Відстань, що має пройти рухома фаза: у хроматографічній камері тричі по 10 см від лінії старту; між трьома пробігами пластинку висушують до повного видалення запаху розчинника.

Виявлення A: обприскують розчином *нінгідрину P1* та переглядають при денному світлі при нагріванні при температурі (100-105)°С протягом 5 хв.

Результати A: послідовність зон на хроматограмі випробовуваного розчину і розчину порівняння мають відповідати зонам, наведеним на рис. 3.38.

Верхня частина пластинки	
глутамінова кислота: рожева зона	світло-рожева зона рожева зона (глутамінова кислота) інтенсивна фіолетова зона
аргінін: рожева зона	рожева зона (аргінін)
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Рис. 3.38 Схема хроматограми розчину порівняння та випробовуваного розчину за приведеною методикою

Згідно з вимогами ДФУ, при розробці методик ідентифікації ТШХ необхідно вивчати специфічність [28]. Також додатково були вивчені такі валідаційні характеристики, як прецизійність та робасність [181, 185, 223].

Специфічність. При визначенні специфічності порівнювали відповідні значення R_f отриманих для хроматографічних зон випробовуваних розчинів з відповідними значеннями R_f хроматографічних зон *ФСЗ ДФУ аргініну* та *глутамінової кислоти* (рис. 3.30). Використання маркерів паралельно з випробовуваними розчинами на одну і ту ж саму ТШХ-пластинку, забезпечує достовірність аналізу [3, 135].

Прецизійність. При визначенні прецизійності значень R_f хроматографічних зон випробовуваних розчинів вивчали: прецизійність на одній пластинці та внутрішньолабораторну прецизійність.

Прецизійність на одній пластинці. На одну ТШХ-пластинку паралельно наносили *ФСЗ ДФУ аргініну* та *глутамінової кислоти*, а також випробовувані розчини витягів 7 серій квасолі звичайної стулок плодів (20%, об/об). Проводили хроматографування за умов вищенаведеної методики та оцінювали результат (рис. 3.39).

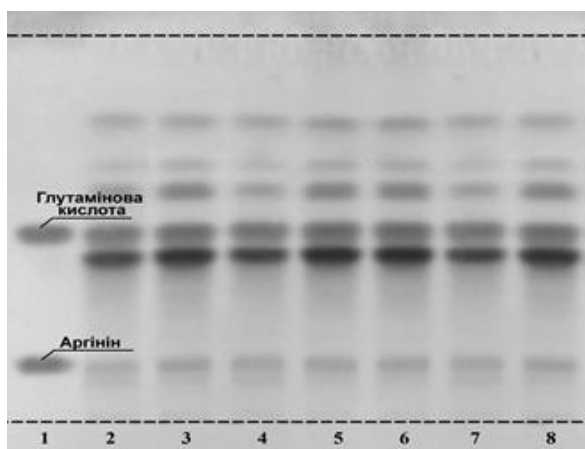


Рис. 3.39 Прецизійність на одній пластинці; 1 – *ФСЗ ДФУ аргініну* та *глутамінової кислоти*; 2-8 – випробовувані розчини

Згідно з даними рис. 3.39, на хроматограмі виявлені хроматографічні зони аргініну, глутамінової кислоти (1) та випробовуваних розчинів (2-8) співпадають за значеннями R_f , інтенсивністю забарвлення, повнотою розділення та чіткістю виявлення.

Внутрішньолабораторна прецизійність. На дві різні ТШХ-пластинки виробництва фірм («Sigma-Aldrich» та «Macherey-Nagel») паралельно наносили аргініну та глутамінової кислоти (1), а також випробовувані розчини 7 серій (2-8) етаноль-

них витягів квасолі звичайної стулок плодів (20%, об/об). Хроматографування проводили у різні дні та різними аналітиками. На отриманих хроматограмах (рис. 3.40 та рис. 3.41) хроматографічні зони речовин маркерів та випробуваних розчинів, що виявились на різних пластинках співпадають за значеннями R_f , інтенсивністю забарвлення, повнотою розділення та чіткістю виявлення.

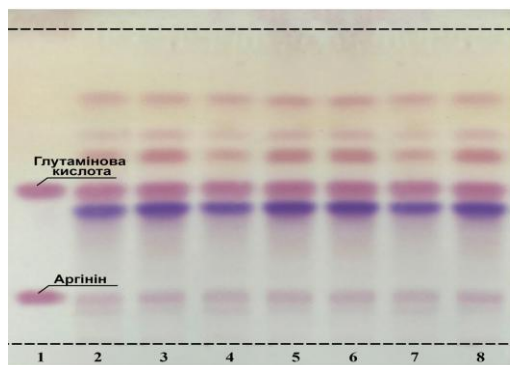


Рис. 3.40 Внутрішньолaborаторна прецизійність («Supelco» Silica gel on TLC AL foils, Sigma-Aldrich)

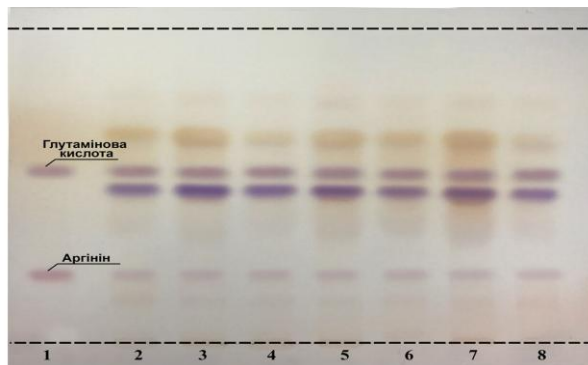


Рис. 3.41 Внутрішньолaborаторна прецизійність («Alugram» Sil G /UV254, Macherey-Nagel)

Прецизійність значень R_f хроматографічних зон, що відповідають $\Phi 3C$ ДФУ аргініну та глутамінової кислоти на пластинах різного виробництва, представлені у таблиці 3.23.

Таблиця 3.23

Прецизійність значень R_f для хроматографічних зон

Прецизійність на пластинці							
№	Хроматографічна пластинка		зона, відповідна аргініну		зона, відповідна глутаміновій к-ті		
			R _f сер.	RSD,%	R _f сер.	RSD,%	
1	пластинка «Supelco» Silica gel on TLC AL foils, Sigma-Aldrich, доба 1		0,23	0,62	0,53	0,17	
Внутрішньолaborаторна прецизійність							
2	пластинка «Supelco» Silica gel on TLC AL foils, Sigma-Aldrich		доба 1	0,20	0,59	0,50	0,26
3			доба 2	0,23	0,63	0,51	0,21
4	пластинка «Alugram» Sil G /UV254, Macherey-Nagel		доба 1	0,21	0,58	0,54	0,65
5			доба 2	0,20	0,52	0,50	0,60

При вивченні робасності методики ідентифікації досліджували стабільність випробовуваних розчинів під час аналізу, насиченість хроматографічної камери, вплив нерухомої фази та умов висушування. Дослідження впливу максимальної кількості факторів, від яких залежить процес хроматографування, забезпечує отримання надійного результату [188, 240, 244].

Стабільність витягу квасолі звичайної стулок плодів до хроматографування на пластинці оцінювали паралельно на одній ТШХ-пластинці. Наносили по 10 мкл випробовуваних розчинів етанольних витягів квасолі звичайної стулок плодів (20%, об/об) на пластинку (A1, A2, A3), витримували протягом 3 год. Через 3 год наносили по 10 мкл тих самих випробовуваних розчинів на ту ж саму пластинку (B1, B2, B3). Висушували на повітрі протягом 10 хв, проводили хроматографування за вищенаведеною методикою та оцінювали результат при денному світлі (рис. 3.42).

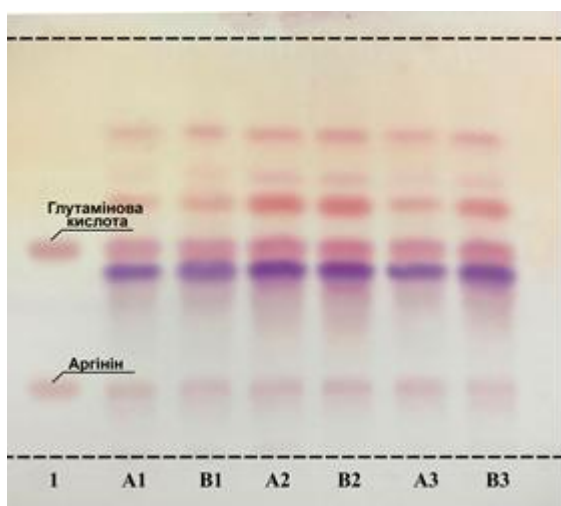


Рис. 3.42 Стабільність випробовуваного розчину на пластинці протягом 3 год: 1 – розчин *ФСЗ ДФУ аргініну та глутамінової кислоти*; A1, A2, A3 – випробовувані розчини (три години на пластинці); B1, B2, B3 – випробовувані розчини (10 хв на пластинці)

Згідно з даними рис. 3.42 між хроматографічними зонами не спостерігалось різниці за значеннями R_f та інтенсивністю забарвлення, що свідчить про стабільність випробовуваних розчинів витягу квасолі звичайної стулок плодів на пластинці протягом 3 год.

Вивчали вплив тривалості нагрівання на виявлення *ФСЗ ДФУ аргініну та глутамінової кислоти* і випробовуваних розчинів після обприскування пластинки розчином *нінгідрину P1*. Висушували пластинки при температурі 100-105 °C та оцінювали результат хроматографування через 1 хв, 3 хв, 5 хв і 10 хв (рис. 3.43).

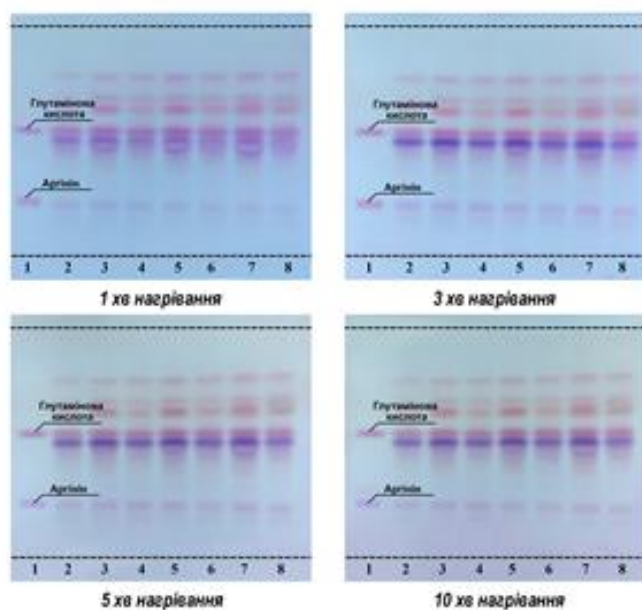


Рис. 3.43 Вплив тривалості нагрівання на виявлення випробовуваних розчинів

Відповідно до хроматограм, наведених на рис. 3.45, хроматографічні зони, відповідні розчину *ФСЗ ДФУ аргініну* та *глутамінової кислоти* починають проявлятися через 1 хв але доцільно оцінювати результати хроматографування протягом 5 хв оскільки інтенсивність забарвлення та чіткість виявлення хроматографічних зон є максимальною.

Вплив насиченості камери. Проводили оцінювання результатів хроматографування ТШХ-пластинок в камерах із насиченням рухомою фазою протягом 1 години (рис. 3.44 а) та без насичення (рис. 3.44 в).

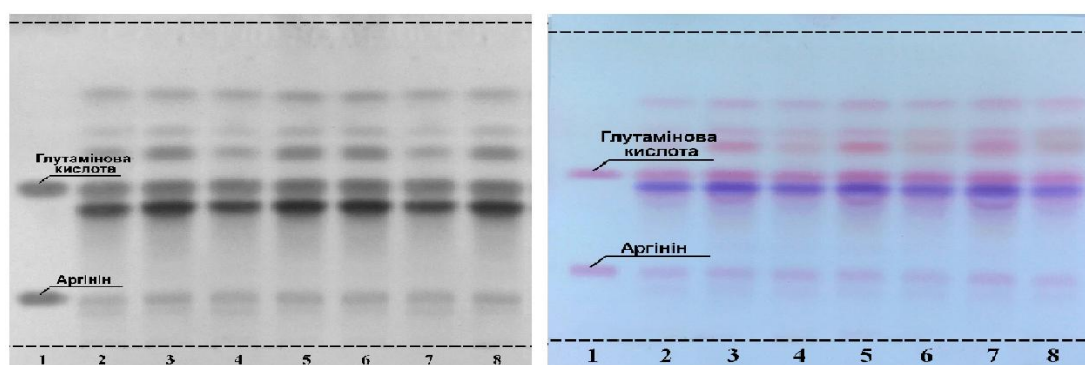


Рис. 3.44 Вплив насиченості камери на результати хроматографування:

а - хроматографування у насиченій камері протягом 1 год

в - хроматографування у ненасиченій камері

Як видно із наведених даних (рис. 3.46а, 3.46в). хроматографічні профілі випробовуваних розчинів, одержані при хроматографуванні в різних умовах близькі за значеннями R_f . Згідно з отриманими даними можна зробити висновок, що насичення хроматографічної камери не впливає на інтенсивність забарвлення та значення R_f .

Вплив стаціонарної фази. Під час роботи використовували ТШХ-пластинки різного виробництва, що містять в якості сорбенту силікагель («Supelco» Silica gel on TLC AL foils, Sigma-Aldrich; TLC Silica gel 60 F254 / Glass plates, Merck), силікагель G («Alugram» Sil G /UV254, Macherey-Nagel; «Polygram» Sil G, Macherey-Nagel) та целюлозу («TLC Cellulose»,Merck). Порівнювали вплив типу стаціонарної фази на результат хроматографування та відтворюваність значень R_f хроматографічних зон (рис 3.45).

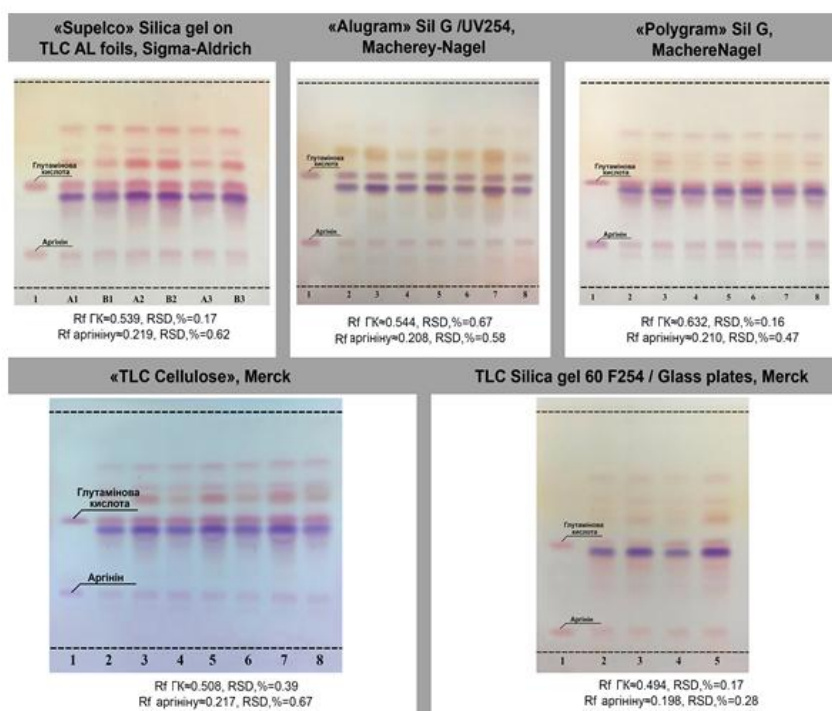


Рис. 3.45 Вплив типу нерухомої фази на результат хроматографування та відтворюваність значень R_f хроматографічних зон

Відповідно до даних, які представлені на рис. 3.47, на різних ТШХ-пластинах не спостерігалися значні коливання значень R_f хроматографічних зон *ФСЗ ДФУ* аргініну та *глутамінової кислоти* та випробовуваних розчинів. Отже, отримані результати мають достатню збіжність і можуть бути використані при стандартизації квасолі звичайної стулок плодів.

Результати дослідження квасолі звичайної стулок плодів на відповідність проекту монографії

ДФУ «Квасолі звичайної стулок плодів^N»

Показник	Розробка монографії	Зразки квасолі звичайної стулки плодів						
		1	2	3	4	5	6	7
Ідентифікація А	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+	+	+
Ідентифікація В	Наявність діагностичних елементів	+	+	+	+	+	+	+
Ідентифікація С	Послідовність зон аргініну та ГК	+	+	+	+	+	+	+
Сторонні домішки	Почорнілі з обох сторін стулки плодів не більше 8,0 %	3,75± 0,49	2,41± 0,52	3,64± 0,51	2,87± 0,44	2,55± 0,51	3,05± 0,42	4,57± 0,56
	Інші частини рослини не більше 3,0 %	1,09± 0,42	1,24± 0,54	1,31± 0,53	1,28± 0,42	1,14± 0,56	1,09± 0,61	1,63± 0,49
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 15,0 %	11,30 ±0,32	10,69 ±0,44	11,54 ±0,38	10,79 ±0,41	8,49± 0,49	10,09 ±0,27	11,41 ±0,36
Загальна зола	Не більше 10,0 %	7,67± 0,47	8,54± 0,53	8,17± 0,42	7,78± 0,49	9,62± 0,51	7,87± 0,47	8,09± 0,37
Кількісний вміст	Не менше 0,3 % амінокислот у перерахунку на аргінін	0,36± 0,03	0,48± 0,02	0,39± 0,01	0,47± 0,02	0,41± 0,03	0,41± 0,03	0,41± 0,03
Екстрактивні речовини	Не менш 15,0 %	17,37 ±0,42	19,87 ±0,38	26,17 ±0,32	25,87 ±0,46	22,18 ±0,41	20,68 ±0,28	19,73 ±0,52

Примітка. «+» – відповідає вимогам проекту монографії ДФУ «Квасолі звичайної стулок плодів^N»

3.4.3 Визначення показників якості квасолі звичайної стулки плодів та їх нормування

У народній та офіційній медицині квасолі звичайної стулки плодів використовуються для приготування настоїв, чаїв та настоек. Згідно з порядком розробки монографій на ЛРС, у сировині, яка є матеріалом для отримання препаратів, із сухим залишком доцільно визначати вміст екстрактивних речовин [10, 30, 101]. Результати визначення екстрактивних речовин, які вилучаються водою у досліджуваних серіях наведені у таблиці 3.24.

При проведенні досліджень за показниками якості: «Сторонні домішки», «Втрати в масі при висушуванні», «Загальна зола» були використані загальноприйняті вимоги ДФУ [24]. Встановлені нормування щодо показників якості, виходячи із результатів, одержаних на 7 різних зразків прийнятної якості (табл. 3.24).

3.4.4 Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук квасолі звичайної стулки плодів

3.4.4.1 Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти є найбільш поширеними поліфенольними сполуками вищих рослин, які проявляють в експериментах антиоксидантну, імуностимулюючу та протизапальну активність [154]. Випробовування проводили у відповідності до вимог ДФУ (2.2.25) за методикою наведеною у розділі 2. п. 2.3.1 методика 11. Типові спектри розчину порівняння та випробовуваного розчину представлені на рис. 3.46.

У табл. 3.25 наведені результати визначення вмісту суми похідних гідроксикоричної кислоти у досліджуваних серіях квасолі звичайної стулок плодів.

Згідно з даними, наведеними у табл. 3.25, у всіх досліджуваних зразках міститься не менше 0,04 % похідних гідроксикоричних кислот у перерахунку на кофейну кислоту, максимальний вміст яких визначений у 4 серії сировини ($0,06 \pm 0,02$).

**Результати кількісного визначення похідних гідроксикоричних кислот
у сировині квасолі звичайної стулок плодів**

№	Постачальник сировини	Маса наважки си- ровини, г	Втрата в масі при висушуванні, %	Середнє значення оптичної густини	Вміст гідрокси- коричних кислот, у перерахунку на кофейну кислоту, %
1	Фітомаркет «Світ трав», 2015	5,0171	11,30	0,1290	0,05±0,02
2	ТОВ Аптека «Лікарські рослини», 2015	5,0158	10,69	0,1007	0,04±0,01
3	ТОВ Аптека «Лікарські рослини», 2016	5,0143	11,54	0,0996	0,04±0,03
4	Зібрані на території Харківської обл., 2015	5,1732	10,79	0,1620	0,06±0,02
5	Зібрані на території Харківської обл., 2016	5,0075	8,49	0,0939	0,04±0,02
6	Зібрані на території Харківської обл., 2016	5,0054	10,09	0,1366	0,06±0,03
7	Зібрані на території Харківської обл., 2017	5,0247	11,41	0,1305	0,05±0,01

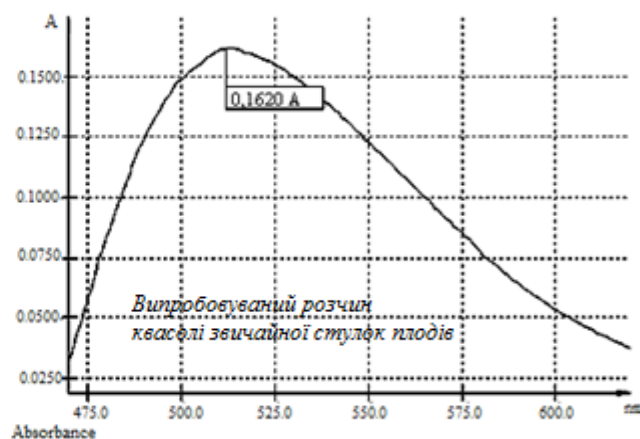
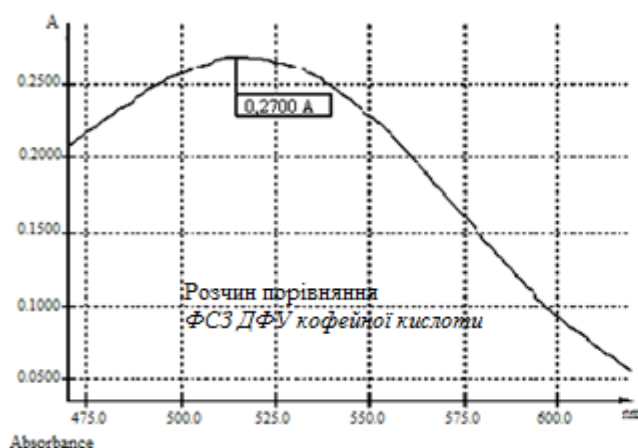


Рис. 3.46 УФ-спектри розчину порівняння та випробовуваного розчину

3.4.4.2 Визначення вмісту амінокислот методом ВЕРХ

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту амінокислот проведено методом ВЕРХ з мас-спектрометричним детектуванням (розділ 2. п. 2.3.1 методика 7) [79]. Дослідження проводили на серіях сировини квасолі звичайної (№№ 1-5). Ідентифікацію кожної окремої речовини проводили по мас-спектрам, які наведені на хроматограмах (рис. 3.47). На ВЕРХ-хроматограмах випробувананих розчинів водних витягів квасолі звичайної стулок плодів ідентифіковано наявність 16 амінокислот, кількісний вміст яких наведений у таблиці 3.26.

Таблиця 3.26

Вміст амінокислот у водних витягах квасолі стулок плодів (мкг/100 мг)

№	Назва амінокислоти	Зразок сировини №					
		1	2	3	4	5	$\sum (n=5)$
1	L-аланін	1,57	2,23	2,05	2,11	1,41	1,87±0,07
2	D-серин	0,12	0,13	0,04	0,13	0,06	0,09±0,01
3	Валін*	0,34	1,24	1,00	1,91	1,57	1,01±0,01
4	Гліцин	-	-	-	-	-	-
5	L-аргінін	2,12	2,09	-	0,65	1,28	1,53±0,01
6	DL-метіонін*	0,02	0,11	-	0,05	0,43	0,15±0,05
7	L-пролін	0,33	1,22	1,46	1,46	0,32	0,95±0,04
8	L-лізин*	0,54	0,42	0,19	0,60	0,74	0,49±0,06
9	L-треонін	-	-	-	-	-	-
10	DL- фенілаланін *	0,14	0,57	0,42	0,92	0,94	0,59±0,02
11	DL-аспарагінова кислота	1,63	2,08	0,96	1,79	2,79	1,85±0,01
12	DL-лейцин*	0,28	0,77	0,55	1,04	1,24	0,77±0,01
13	L-цистеин	0,06	0,01	0,00	0,00	0,00	0,03±0,03
14	L-тирозин	0,14	0,23	0,27	0,38	0,60	0,32±0,09
15	Ізолейцин *	0,21	0,76	0,32	1,10	1,22	0,70±0,01
16	Глутамінова кислота	3,04	5,56	2,76	4,22	1,60	3,43±0,02
Сума незамінних амінокислот		1,53	3,88	2,48	5,63	6,16	3,93±0,01
Сума замінних амінокислот		9,01	13,57	7,54	10,75	8,07	9,80±0,05
Загальна сума амінокислот		10,54	17,45	10,02	16,38	14,23	13,72±0,0

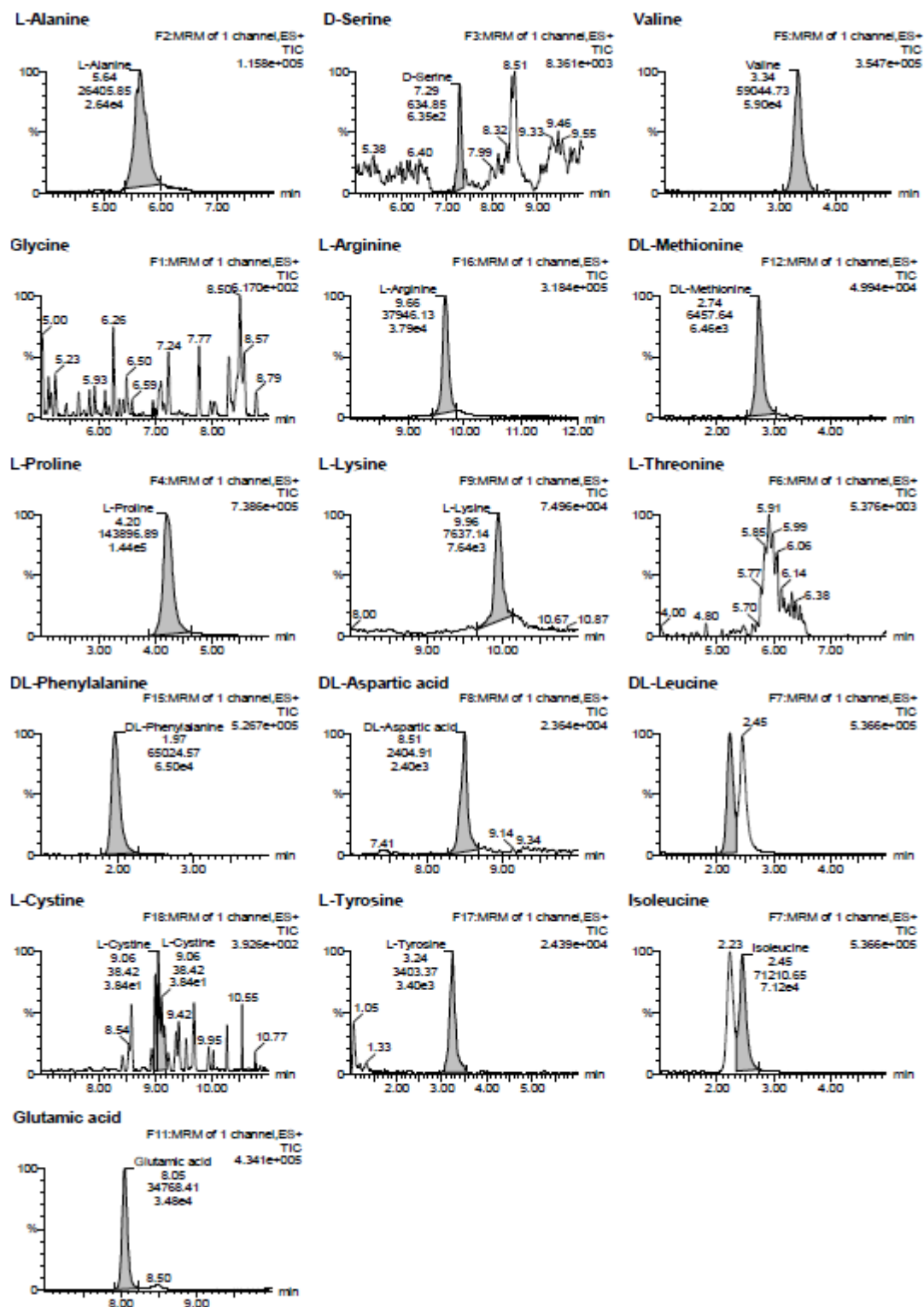


Рис. 3.47 Приклад хроматограм амінокислотного складу у квасолі звичайної стулок плодів методом хромато-мас-спектрометрії

В результаті проведених досліджень ідентифіковано наявність 14 амінокислот, з них 6 незамінних: валін (від 0,34 до 1,91 мкг/100 мг), DL-метіонін (від 0,02 до 0,43 мкг/100 мг), L-лізін (від 0,19 до 0,74 мкг/100 мг), DL-фенілаланін (від 0,14 до 0,94 мкг/100 мг), DL-лейцин (від 0,28 до 1,24 мкг/100 мг), ізолейцин (від 0,21 до 1,22 мкг/100 мг). Домінуючою незамінною амінокислотою є валін, зміст якої варіює від 0,34 до 1,91 мкг/100мг. Серед замінних амінокислот за кількісним вмістом у всіх зразках сировини переважають глютамінова кислота (від 1,60 до 5,56 мкг/100 мг), L-аланін (від 1,41 до 2,23 мкг/100 мг), L-аргінін (від 0,65 до 2,12 мкг/100 мг). Мінорними амінокислотами є D-серин (від 0,04 до 0,13 мкг/100 мг), DL-метеонін (від 0,02 до 0,43 мкг/100 мг). Згідно з даними наукової літератури L-аланін - амінокислота, яка бере участь в енергетичному обміні, стимулює імунітет, регулює рівень цукру в крові. Аргінін бере участь в регуляції синтезу і секреції гормонів: інсуліну, пролактину, тиреоїдного гормону, паратиреоїдного гормону, гормонів надниркових залоз, гормонів репродуктивного циклу.

Досить високий вміст даних амінокислот дає можливість розглядати їх як потенційні речовини-маркери при розробці методики кількісного визначення для стандартизації сировини.

3.4.4.3 Розробка методики кількісного вмісту суми амінокислот квасолі звичайної стулки плодів методом спектрофотометрії

Існуючі методи аналізу амінокислот, незважаючи на високу точність визначення, мають значні недоліки: тривалість приготування робочих розчинів, їх токсичність (потенціометричні титрування в неводному середовищі), використання дорогого обладнання (ГХ-МС, ВЕРХ) [2].

Найбільш цінною в лікуванні цукрового діабету є амінокислота аргінін - речовина, що сприяє зниженню рівня глюкози в крові [122]. Тому актуальним є розробка простого та в той же час специфічного методу [64]. З огляду на це, нами була розроблена методика визначення суми амінокислот у перерахунку на аргінін, яка представлена у інформаційному листу «Кількісне визначення сумми амінокислот у сиро-

вині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії» за № 222018 від 25.10.2017 [67].

Згідно з даними наукової літератури, продукти реакції амінокислот з нінгідрином мають невисоку стабільність. Тому необхідним є додавання відновлюючих речовин. Невеликі кількості олова хлориду, титану хлориду, гідразину сульфату, аскорбінової кислоти підвищують чутливість реакції амінів з нінгідрином [37, 149]. При розробці методики визначення амінокислот у сировині квасолі звичайної як відновник обрали аскорбінову кислоту, яка є найбільш доступним і нетоксичним реагентом. Результати досліджень показали, що введення в реакційну суміш аскорбінової кислоти не впливає на положення максимумів поглинання, однак інтенсивність поглинання збільшується (табл. 3.27).

Таблиця 3.27

**Залежність оптичної густини розчинів *аргініну Р* від додавання
0,05 % водного розчину *аскорбінової кислоти Р***

Буферний розчин	Без додаванням аскорбінової кислоти	З додаванням аскорбінової кислоти
6,0 Р	0,2398	0,3589
6,4 Р	0,2609	0,3716
6,8 Р	0,2002	0,3838
6,8 РІ	0,2175	0,4399
7,0 Р	0,1829	0,3328
7,4 Р	0,1523	0,2597

Таблиця 3.28

Вплив величини рН реакційного середовища на оптичну густину випробовуваних розчинів квасолі звичайної стулок плодів

Буферний розчин	Оптична густина розчину порівняння та випробовуваних розчинів серії №							
	<i>Аргінін Р</i>	1	2	3	4	5	6	7
1	2	3	4	5	6	7	8	9
6,0 Р	0,2338	0,2131	0,2563	0,2765	0,3597	0,4163	0,3674	0,3254
6,4 Р	0,3349	0,2386	0,2847	0,2931	0,3811	0,4296	0,3781	0,3287

1	2	3	4	5	6	7	8	9
6,8 P	0,2851	0,3025	0,3016	0,2886	0,3864	0,4124	0,3704	0,354
6,8 P1	0,3383	0,3169	0,3107	0,3054	0,4001	0,4445	0,3798	0,3457
7,0 P	0,2762	0,2547	0,2784	0,2653	0,3498	0,3876	0,3632	0,3401
7,4 P	0,2178	0,1952	0,2169	0,2129	0,2634	0,3532	0,3474	0,3345

Вивчення впливу величини рН реакційного середовища на інтенсивність поглинання продуктів реакції, отриманих в інтервалі рН від 6,0 до 7,4, показало, що максимальна оптична густина досягається при рН 6,8 P1 (табл. 3.28). УФ-спектри характеризуються чітко вираженим максимумом при довжині хвилі 568 ± 5 нм, положення яких не залежить від рН буферного розчину і концентрації аргініну.

Методика кількісного визначення суми амінокислот у перерахунку на аргінін у сировині квасолі звичайної стулок плодів:

Вихідний розчин 1: 2,000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 40 мл етанолу (20%, об/об) P, витримують на ультразвуковій бані при температурі 45°C протягом 10 хвилин, доводять об'єм розчину етанолом (20%, об/об) P до позначки та фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка».

Випробовуваний розчин: 2,0 мл вихідного розчину 1 поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 4 мл фосфатного буферного розчину рН 6,8 P1, 2 мл 1% розчину нінгідрину P в спирті і 2 мл 0,05% водного розчину аскорбінової кислоти P.

Компенсаційний розчин 1: 2.0 мл вихідного розчину 1 поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 4 мл фосфатного буферного розчину рН 6,8 P1, 2 мл 0,05 % водного розчину аскорбінової кислоти P.

Вихідний розчин 2: 0,0200 г аргініну P (Sigma-Aldrich, кат. № 11009) поміщають в мірну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл води P, ретельно струшують та доводять об'єм розчину водою P до позначки.

Стандартний розчин: 2.0 мл вихідного розчину 2 поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 4 мл фосфатного буферного розчину рН 6,8 P1, 2 мл 1% розчину нінгідрину P в спирті і 2 мл 0,05 % водного розчину аскорбінової кислоти P.

Компенсаційний розчин 2: 2,0 мл *вихідного розчину 2* поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 4 мл *буферного розчину рН 6,8 Р1*, 2 мл 0,05 % *водного розчину аскорбінової кислоти Р*.

Колби з вмістом нагрівають на киплячій водяній бані не менш 30 хв, поміщаючи їх в середину бані, потім охолоджують в кристалізаторі з холодною водою. Після охолодження вміст колб кількісно переносять у відповідну мірну колбу місткістю 100 мл та доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки.

Відразу вимірюють оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину відносно компенсаційного розчину 1, стандартного розчину відносно компенсаційного розчину 2 в максимумі за довжини хвилі 568 нм.

Вміст суми амінокислот (X), у перерахунку на аргінін і суху речовину, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X, \% = \frac{A \cdot m_0 \cdot 2 \cdot 50 \cdot 100 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot m \cdot 2 \cdot 100 \cdot (100 - w)} = \frac{A \cdot m_0 \cdot P \cdot 50}{A_0 \cdot m \cdot (100 - w)}, \quad (3.2)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння;

m_0 – маса наважки *аргініну Р*, г;

m – маса наважки сировини квасолі звичайної стулок плодів, г;

P – вміст основної речовини у *аргініну Р*, у відсотках;

w – втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

Примітки:

1. *Приготування водного розчину аскорбінової кислоти Р 0,05 %*.

0,05 г (точна наважка) *аскорбінової кислоти Р* поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 80 мл *води Р*, ретельно струшують та доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки.

2. *Приготування розчину нінгідрину Р 1%*.

1,00 г (точна наважка) *нінгідрину Р* поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 80 мл *етанолу 96% Р*, ретельно струшують та доводять об'єм розчину *етанолом 96% Р* до позначки.

Вміст суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів у перерахунку на аргінін і на суху сировину має бути не менше 0,3%. Типові спектри випробовуваних розчинів квасолі звичайної стулок плодів представлені на рис 3.48.

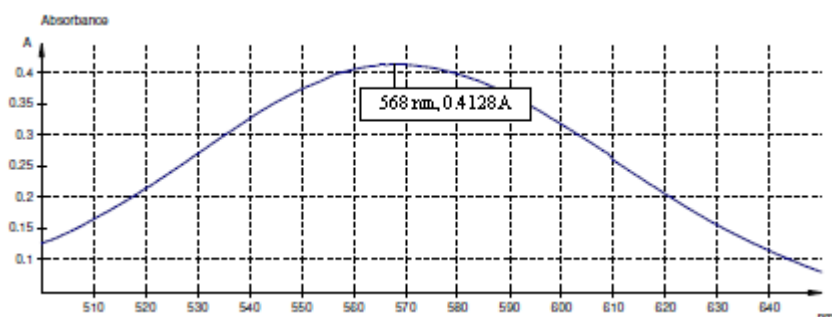


Рис. 3.48 Типовий спектр аргініну Р

Для розробленої методики були дослідженні валідаційні характеристики, такі як: лінійність, діапазон застосування та робасність.

Вимоги до невизначеності методики. У разі аналізу лікарської рослинної сировини, повну невизначеність методики регламентують тільки по нижньому допуску вмісту. Для квасолі звичайної стулок плодів нами запропоновано межу вмісту - не менше 0,3 %. Відповідно до вимог ДФУ 2.0.5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань» для кількісного визначення (однобічне нормування «не більше») максимально допустима повна невизначеність методики аналізу складає: $\max \Delta_{AS}, \% \leq 0,32 \cdot 20\% = 6,4\%$ [136].

Критерій незначущості порівняно з максимально допустимою невизначеністю результатів аналізу ($\Delta_{AS, insig}$): $\Delta_{AS, insig}, \% \leq \max \Delta_{AS}, \% \cdot 0,32 = 6,4\% \cdot 0,32 = 2,048\%$.

Розрахунок невизначеності пробопідготовки (Δ_{sp}), невизначеності кінцевої аналітичної операції (Δ_{FAO}) і повної невизначеності методики аналізу ($\Delta_{AS}\%$) наведено у табл. 3.29.

Таблиця 3.29

Розрахунок невизначеності Δ_{sp} , Δ_{FAO} і $\Delta_{AS}\%$

Операція пробопідготовки	Значення	Невизначеність (Δ), %
1	2	3
<i>Випробовуваний розчин</i>		
Наважка сировини	2 000 мг	0,01
Невизначеність зважування	0,2 мг	
Доведення до об'єму	50 мл	0,17

1	2	3
Аліквота	2 мл	0,57
Доведення до об'єму	100 мл	0,12
<i>Розчин порівняння</i>		
Наважка (мг)	20 мг	1,0
Невизначеність зважування	0,2 мг	
Доведення до об'єму	100 мл	0,12
Аліквота	2 мл	0,57
Доведення до об'єму	100 мл	0,12
Повна невизначеність пробопідготовки $\Delta_{sp}\%$		1,31
Невизначеність кінцевої аналітичної операції Δ_{FAO} (спектрофотометрія)		0,7
Повна невизначеність методики аналізу $\Delta_{AS}\% = \sqrt{(\Delta_{sp}\%)^2 + (\Delta_{FAO}\%)^2}$		1,49

Таким чином, розрахована повна невизначеність методики аналізу $\Delta_{AS}\%$ менше Δ_{AS} , що відповідає вимогам до цього параметру. Отже, невизначеність пробопідготовки і аналізу в цілому мають забезпечити достатню точність вимірювань.

Перевірку лінійності проводили на 5 модельних розчинах квасолі звичайної плодів в межах концентрації від 50 % до 250 % (рис. 3.49, табл. 3.30) [51].

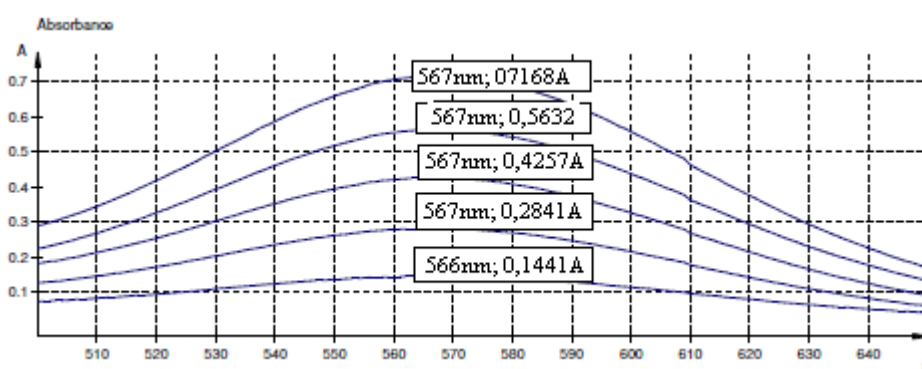


Рис. 3.49 Спектри поглинання випробовуваних розчинів квасолі звичайної плодів за наведеною методикою

Таблиця 3.30

Розрахунок параметрів лінійності методики

Показник	Модельні розчину <i>аргініну Р</i>					Розчин порівняння
	1	2	3	4	5	
Концентрація модельного розчину, мкг/мл (розрах.)	0,5242	1,0460	1,5843	2,1045	2,6135	
Відношення до стандартного розчину, % $X_i = C_i / C_{st} \cdot 100$	50,0	100,0	150,0	200,0	250,0	100
Середнє значення оптичної густини у максимумі	0,2068	0,4127	0,6252	0,8304	1,0313	0,4136
Відношення до стандартного розчину, % $Y_i = S_i / S_{st} \cdot 100$	50,0	99,8	151,2	200,8	249,4	100

На рис. 3.50 представлений графік залежності оптичної густини від концентрації розчину, який виражається рівнянням $Y_i = b \cdot X_i + a$

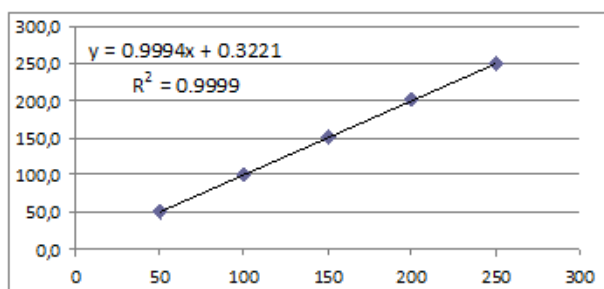


Рис. 3.50 Графік залежності оптичної густини розчинів аргініну від концентрації розчинів

Дані перевірки лінійності методики кількісного визначення аргініну наведені у таблиці 3.31.

Таблиця 3.31

Дані перевірки лінійності методики кількісного визначення

п/п	Параметр	Вимоги	Отримане значення	Виконання критерію
1	$ a $	$\leq 10,2$	0,3221	Виконується
2	S_0	$\leq 0,84$	0,8508	Виконується
3	r	$> 0,9694$	0,9999	Виконується

Також було проведено перевірку лінійності методики на 5 модельних розчинах витягу квасолі звичайної стулок плодів в межах від 50% до 250% від номінального вмісту амінокислот в перерахунку на аргінін. Розрахунки та критерії наведені у табл. 3.32.

Таблиця 3.32

Розрахунок параметрів лінійності методики

Показник	Модельні розчину квасолі стулок					Розчин порівняння
	1	2	3	4	5	
Концентрація модельного розчину, мкг/мл (розрах.)	0,5123	1,0104	1,5146	2,0014	2,5487	
Відношення до стандартного розчину, % $X_i = C_i / C_{st} \cdot 100$	50,0	100,0	150,0	200,0	250,0	100
Середнє значення оптичної густини у максимумі	0,1441	0,2841	0,4260	0,5629	0,7168	0,2811
Відношення до стандартного розчину, % $Y_i = S_i / S_{st} \cdot 100$	50,9	101,1	151,5	200,2	255,0	100

На рис. 3.51 представлений графік залежності оптичної густини від концентрації розчину, який виражається рівнянням $Y_i = b \cdot X_i + a$.

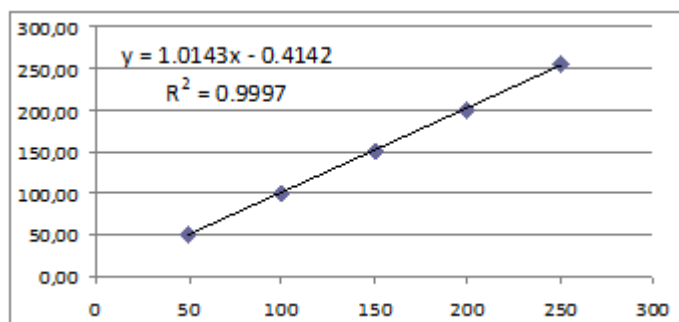


Рис. 3.51 Графік залежності оптичної густини випробовуваних розчинів квасолі звичайної від концентрації розчинів

За результатами отриманих даних встановлено, що в межах вимірюваних концентрацій залежність оптичної щільності від концентрації носить лінійний характер, тобто данна методика лінійна в діапазоні від 50 % до 250 % від номінального вмісту амінокислот.

Для модельних розчинів методом найменших квадратів розраховані параметри лінійної залежності: вільний член a , залишкове стандартне відхилення, коефіцієнт кореляції. Критерії прийнятності наведені в табл. 3.42.

Таблиця 3.42

Дані перевірки лінійності методики кількісного визначення

п/п	Параметр	Вимоги	Отримане значення	Виконання критерію
1	$ a $	$\leq 10,2$	0,4142	Виконується
2	S_0	$\leq 0,84$	1,6995	Виконується
3	r	$> 0,9694$	0,9997	Виконується

Для вивчення стабільності у часі випробовуваних розчинів квасолі звичайної стулок плодів і розчинів аргініну були виміряні оптичні густини відразу після приготування та через 15; 30; 60 хв. Значення оптичної густини є середнім значенням трьох вимірювань розчину. Отримані результати представлені у таблиці 3.43.

Критерії прийнятності: відмінності між отриманими значеннями вмісту амінокислот у перерахунку на аргінін не повинні перевищувати критерій незначущості порівняно з максимально допустимою невизначеністю результатів аналізу ($\Delta_{AS, insig}$), тобто 2,048%. Виходячи з наведених у таблиці даних (табл. 3.43) оптична густина випробовуваних розчинів відповідає встановленим критеріям протягом 60 хв.

Визначення стабільності аналітичних розчинів у часі

Показник	0 хв	15 хв	30 хв	60 хв	C _{r,t}	RSD _t , %	Δt, %	0,32 × maxΔ _{As} ,%
Стандартний розчин <i>аргініну Р</i>								
A _{ср}	0,4008	0,4071	0,4062	0,4051	101,00	0,70	1,48	2,048
Y _i =100×A _{ср} /A _{ном} , %	100	101,57	101,3	101,1				
Випробовуваний розчин квасолі звичайної стулок плодів								
A _{ср}	0,2841	0,2823	0,2822	0,2804	99,35	0,53	1,13	2,048
Y _i =100×A _{ср} /A _{ном} , %	100,00	99,37	99,33	98,70				

Представлена методика може бути використана для кількісного визначення суми амінокислоту перерахунку на аргінін у квасолі звичайної плодах.

3.4.4.4 Визначення елементного складу квасолі звичайної стулок плодів

Безумовна цінність макро- та мікроелементів рослин полягає в тому, що вони містяться в рослинній сировині у природних збалансованих комплексах і є спорідненими для організму людини. Мікроелементи входять до складу вітамінів, а також гормонів і тим самим здійснюють регуляторну функцію і підтримують гомеостатичну рівновагу в організмі.

Дослідження вмісту макро- і мікроелементів проводили методом атомно-емісійної спектрографії (розділ 2 п. 2.3.1 методика 1). Отримані результати дослідження мінерального складу квасолі звичайної стулок плодів наведені у табл. 3.44.

Таблиця 3.44

Результати аналізу елементного складу квасолі звичайної (мг/100г)

№	Елемент	Вміст	№	Елемент	Вміст	№	Елемент	Вміст
1	Калій	2520,00	5	Ферум	2,50	9	Натрій	85,00
2	Кальцій	670,00	6	Фосфор	8,40	10	Цинк	0,40
3	Сіліцій	335,00	7	Манган	2,10	11	Нікель	<0,03
4	Магній	335,00	8	Купрум	0,60	12	Молібден	<0,03

Примітка. Pb<0,03; Co<0,03; Cd<0,01; As<0,01; Hg<0,01; Sr<0,01.

Таким чином, в результаті проведеного вивчення мінерального складу квасолі звичайної стулок плодів встановлено наявність 12 макро- і мікроелементів. Вміст важких металів в досліджуваному зразку знаходиться в межах вимог гранично допустимих концентрацій для сировини і харчових продуктів.

Результати свідчать, що серед макроелементів переважають калій (2520,00 мг/100 г), кальцій (670,00 мг/100 г) і магній (335,00 мг/100 г). З мікроелементів слід зазначити високий вміст кремнію (335,00 мг/100 г), який у вигляді кремнезему представлений практично у всіх рослинах, фосфору (8,40 мг/100 г) і алюмінію (6,70 мг/100 г), які необхідні для фізіологічно нормального функціонування організму. Так, дефіцит калію проявляється уповільненням зростання організму і порушенням статевих функцій, м'язовими судомами, порушеннями роботи серцевого м'яза. Кальцій бере участь у всіх життєво важливих процесах організму. Нормальна згортання крові, відбувається тільки в присутності солей кальцію. Кальцій відіграє важливу роль в нервово-м'язовій збудливості тканин. Фосфор в складі фосфорної кислоти бере участь в побудові численних ферментів (фосфатаз) – каталізаторів хімічних реакцій клітин. При нестачі кремнію в організмі можуть спостерігатися: слабка діяльність лейкоцитів при інфекційному процесі, погане загоєння ран, зниження апетиту, свербіж шкіри, зниження еластичності тканин, зниження тургору шкіри, підвищення проникності судин і як наслідок - геморагічні прояви [55, 117].

Висновки до розділу 3

1. Проведено дослідження сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності з вимогами монографій ЄФ «Sophora Flower-buds», «Sophora Flower», «Devil's claw Root». Визначено якість сировини за такими показниками як ідентифікація; кількісне визначення; сторонні домішки; втрата в масі при висушуванні; загальна зола. Результати досліджень були прийняті до уваги при розробці монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки», ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені», які представлені без введення додаткових національних частин.

2. Розроблено проект національної монографії ДФУ «Софори плоди^N» за такими показниками: макроскопія, мікроскопія, ідентифікація методом ТШХ (рутин, гіперозид), сторонні домішки, втрата в масі при висушуванні (не більше 12,0 %), загальна зола (не більше 10,0 %), кількісне визначення (вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин не менше 5,00 %).
3. Розроблені методика ідентифікації методом ТШХ амінокислот квасолі звичайної стулок плодів, як речовини маркери обрані аргінін та глютамінова кислота та спектрофотометрична методика кількісного вмісту суми амінокислот у перерахунку на аргінін.
4. Розроблено проект національної монографії ДФУ «Квасолі звичайної стулки плодів^N» за такими показниками: макроскопія, мікроскопія, ідентифікація методом ТШХ (аргінін, глютамінова кислота), сторонні домішки, втрата в масі при висушуванні (не більше 15,0%), загальна зола (не більше 10,0%), вміст екстрактивних речовин (не менш 15,0%), кількісне визначення (вміст суми амінокислот у перерахунку на аргінін не менше 0,3%).
5. Методом атомно-емісійної спектрографії був визначений вміст 12 макро- та мікроелементів у софорі бутонів, софорі квітках, софори плодах, гарпагофітуму лежачого коренів та квасолі звичайної плодів. Вміст макро- і мікроелементів у софори квітках переважав їх вміст у софори бутонів. Найменший кількісний вміст елементів встановлено у софори японської плодах. Софора характеризувалась високим вмістом кровотворних мікроелементів: феруму – 23,00 мг/100 г у квітках; 7,40 мг/100 г у бутонів; 5,90 мг/100 г у плодах та купруму – 0,65 мг/100 г у квітках; 1,55 мг/100 г у бутонів; 1,00 мг/100г у плодах. У гарпагофітуму лежачого коренів серед макроелементів переважали калій (800 мг/100 г), серед мікроелементів – ферум (24,00 мг/100 г). У квасолі звичайної стулок плодів серед макроелементів переважали калій (2520,00 мг/100 г), серед мікроелементів – кремній 335,00 мг/100 г.
6. Методом ВЕРХ у гарпагофітуму лежачому коренів визначений вміст амінокислот. Встановлений переважний вміст загальних амінокислот (14,43 мкг/мг) у порівнянні з вмістом вільних амінокислот (2,21 мкг/мг). Найбільша частка від суми зв'язаних амінокислот припадала на глютамінову

кислоту, аспарагінову кислоту та пролін та складала – 2,76 мкг/мг, 1,26 мкг/мг та 1,03 мкг/мг відповідно. Кількісний вміст амінокислот після повного гідролізу зростав в 6,5 рази, що свідчило, що амінокислоти знаходяться у сировині переважно у зв'язаному стані.

7. Методом ГХ-МС у гарпагофітуму лежачому коренях було виявлено 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів. Домінантними є пропіонова, стеаринова та пальмітинова кислоти (2,08 мг/г, 1,17 мг/г та 0,89 мг/г відповідно). Серед незамінних кислот найважливішою є лінолева, яка входить до складу клітинних мембран, бере участь в обміні речовин.
8. Методом ГХ-МС у гарпагофітуму лежачому коренях встановлена наявність та визначено кількісний вміст 18 вільних та зв'язаних моносахаридів. Основними з яких є: глюкоза – 64,12 мг/кг, галактоза – 77,98 мг/кг, рамноза – 4,38 мг/кг, арабіноза – 3,80 мг/кг. Після гідролізу значно збільшився вміст галактози и глюкози, що свідчить про те, що вона знаходиться переважно у зв'язаному вигляді.
9. Методом ВЕРХ з мас-спектрометричним детектуванням у квасолі звичайної стулках плодів ідентифіковано наявність 14 амінокислот, з них 6 незамінних. Серед замінних амінокислот за кількісним вмістом у всіх зразках сировини переважали глютамінова кислота (від 1,60 до 5,56 мкг/100 мг), L-аланін (від 1,41 до 2,23 мкг/100 мг), L-аргінін (від 0,65 до 2,12 мкг/100 мг).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Визначення діагностичних морфолого-анатомічних ознак плодів софори японської та їх стандартизація. *Фітотерапія. Часопис*. 2015. № 3. С. 48–51 (особистий внесок - підготовка лікарської сировини до аналізу, обробка отриманих експериментальних даних, участь у написанні статті).
2. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація квіток софори японської за макроскопічними та мікроскопічними ознаками. *Фітотерапія*.

- Часопис. 2016. № 1. С. 42–45 (особистий внесок – підготовка лікарської сировини до аналізу, участь у проведенні експериментальних досліджень, участь у написанні статті).*
3. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація стулок квасолі звичайної за макро– та мікроскопічними ознаками. *ScienceRise. 2016. № 2/4 (19). С. 32–37(особистий внесок – підготовка лікарської сировини до аналізу, участь у проведенні експериментальних досліджень, участь у написанні статті).*
 4. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Софори квітки», «Софори бутони». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. 2017. № 4 (52). С. 12–19 (особистий внесок - проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, підготовка статті до друку).*
 5. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Гарпагофітуму лежачого корені». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. 2018. № 1 (53). С. 6–13 (особистий внесок - проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці результатів, підготовка статті до друку).*
 6. Крюкова А. І., Губарь С. М., Владимірова І. М. Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії : інформ. лист № 222018 / Український центр наукової медичної інформації та патентноліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. Вип. 4. 4 с. (Рішення ПК «Фармація» Протокол № 103 від 25.10.2017 р.).
 7. Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Мартиния душистая перспективное растение для создания лекарственных средств. *Наука в современном мире : I Междунар. науч. практ. конф. для студентов, аспирантов и молодых ученых, 19 сент. 2015 г. К., 2015. С. 65–66.*

8. Крюкова А. И, Владимирова И. Н. Анализ лекарственных средств, содержащих гарпагофитум. *Vestnik*. 2015. Т. IV, № 4 (73) : Перспективы развития биологии, медицины и фармации : III междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, 9–10 дек. 2015 г. С. 115–117.
9. Kriukova A., Vladimirova I. The application by thinlayer chromatography for the standardization of Sophora Flower. *Ceska a slovenska farmacie*. 44-th Conference drug synthesis and analysis, Brno, 2th to 4th September 2015. Part 3. 2016. С. 34–35.
10. Крюкова А. И., Владимирова И. Н. Макроскопический анализ бутонов софоры японской. *Университетская наука: взгляд в будущее* : материалы междунар. науч.–практ. конф., посвящ. 81–летию Курского гос. мед. ун–та и 50–летию фармац. ф–та, г. Курск, 4–5 февр. 2016 г. Курск : ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, 2016. Т. III. С. 56–59.
11. Крюкова А. И., Владимирова И. Н. Изучение минерального состава створок фасоли обыкновенной. *IV International scientific conference of young researchers*. Baku, Azerbaijan, 29–30 April, 2016. Baku, 2016. С. 261–262.
12. Крюкова А. И., Владимирова И. М. Вивчення мінерального складу коренів гарпагофітуму лежачого (*Harpagophytum procumbens* DS.). *Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації* : Всеукр. наук.–практ. конф., м. Вінниця, 16 берез. 2016 р. Вінниця, 2016. С. 72–74.
13. Kriukova A., Vladymyrova I. The definition of numeric indicators for the root of *Harpagophytum procumbens*. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of xxiii international scientific and practical conference of young scientists and student, Kharkiv, April 21, 2016. Kharkiv, 2016. Vol. 1. P. 188.
14. Крюкова А. И., Серая Л. М., Владимирова И. М. Изучение макроскопических признаков корня *Harpagophytum procumbens* DC. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : II Міжнарод. наук.–практ. internet–конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. Х., 2016. С. 144–145.
15. Крюкова А. И., Владимирова И. М. Ідентифікація флавоноїдів пуп'янок софори японської. *Інновації в медицині* : 85–а наук.–практ. конф. студентів та молодих

- вчених із міжнар. участю, м. Івано–Франківськ, 24–25 берез. 2016 р. Івано–Франківськ, 2016. С. 236–337.
16. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Ідентифікація біологічно активних речовин коренів гарпагофітуму лежачого. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24-25 берез. 2016 р. Х., 2016. С 158–159.
 17. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Питання стандартизації стулок квасолі звичайної за вмістом амінокислот. *Хімія природних сполук* : матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 21-22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 121–122.
 18. Kriukova A., Vladymyrova I. The macroscopic study of Sophora Japonica flowers. *Be in progress 2* : International Conference of Pharmacy Students, Lublin, April 21–25 2016. Lublin, 2016. P. 6.
 19. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М. Розробка методики ідентифікації амінокислот стулок квасолі звичайної. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 56.
 20. Kriukova A., Vladimirova I. Quantitative determination of carbohydrates in radix harpagophytum procombens. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student, April 20, 2017. – Kh. : Publishing Office NUPh, 2017. – Vol. 1. – P.87.
 21. Kriukova A., Vladymyrova I. GCMS determination of chemical constituents of Radix Harpagophytum procumbens DS. *Technology transfer: innovative solutions in medicine* : proceedings of the 1–st Annual Conference, Tallinn, Estonia, 26 October 2017. Tallinn, 2017. P. 52–54.
 22. Kriukova A., Vladymyrova I. The element composition study of Sophora Japonica. *Topical problems of modern science* : II International Scientific and Practical Conference, Warsaw, Poland, 18 November, 2017. Warsaw, 2017. Vol. 5. P. 53–54.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ДОБАВКИ ДІЄТИЧНОЇ «ОСТЕОВЕРТ»

Результати проведеного аналізу фармацевтичного ринку України рослинних ЛЗ для застосування при патологіях опорно-рухової системи (розділ 2 п. 2.1) свідчать, що в аналізованому сегменті ринку представлені гомеопатичні препарати імпортного виробництва, в той час, як вітчизняні мають досить незначну частку ринку (близько 10 %). Досліджувана група препаратів представлена такими лікарськими формами, як таблетки, розчини для ін'єкцій та краплі для перорального застосування.

Тому, з метою розширення асортименту рослинних засобів для профілактики та лікування у складі комплексної терапії ревматичних захворювань нами проведені дослідження з розробки та стандартизації ДД «Остеоверт», що містить гарпагофітуму лежачого коренів екстракт [20, 192].

4.1 Обґрунтування складу добавки дієтичної «Остеоверт»

Лікування ревматичних захворювань проводиться з урахуванням тяжкості та поширеності суглобного ураження, загального статусу хворого і наявності супутніх захворювань. Лікування має бути комплексним і спрямоване на зменшення болю, корекцію функціональних порушень суглобів, уповільнення прогресування захворювання і, як наслідок, поліпшення якості життя пацієнтів [155].

Одним з основних напрямків терапії даних захворювань є застосування НПЗП. Складність фармакотерапії захворювань даної групи полягає у високій частоті розвитку побічних явищ на фоні їх прийому. З боку серцево-судинної системи можливий розвиток артеріальної гіпертензії, атеросклеротичного ураження судин, метаболічного синдрому, серцевої недостатності; ендокринної системи – гіперглікемія; шлунково-кишкового тракту – розвиток виразкової хвороби, шлунково-кишкових кровотеч, гепатитів, також можливе порушення нервово-психічного та імунного статусу пацієнта, розвиток остеопорозу тощо [182, 189].

Для зниження дозування НПЗП та зменшення ризику виникнення побічних явищ доцільно розглядати комбіновану фармакотерапію із застосуванням рослинних засобів. ЛРС протягом багатьох століть використовується в народній медицині, протизапальні та аналгетичні властивості виявляють: гарпагофітум лежачий (*Harpagophytum procombens*), верба біла (*Salix alba*), кропива дводомна (*Urtica dioica*), авокадо (*Persea americana*), босвелія пильчата (*Boswellia serrata*) та імбир лікарський (*Zingiber officinale*) [217].

Гарпагофітум лежачий— це традиційна африканська рослина, що застосовується у народній медицині, при різних захворюваннях, насамперед при подагрі та ревматизмі. Як ЛРС використовують корені, які виявляють протизапальну, противоревматичну, знеболюючу, седативну та діуретичну дію. Основними групами БАР є ірідоїдні глікозиди (гарпагозид, гарпагід і прокумбід), цукри, тритерпеноїди, фітостерини та ароматичні кислоти. Автори оглядів наукових досліджень відзначають більш сприятливий профіль безпеки у терапії екстрактом гарпагофітуму лежачого в порівнянні з НПЗП [191].

Поряд з протизапальними ЛЗ, які чинять симптоматичну дію, необхідним є включення в схему терапії ЛЗ, що попереджають структурне руйнування хряща, структурно-модифікуючих препаратів уповільненої дії – хондропротекторів. До даної групи відносять препарати глюкозаміну сульфату, хондроїтину сульфату, гіалуронової кислоти, діацереїна, БАР авокадо та сої [21].

З симптомомодифікуючих ЛЗ уповільненої дії першочергове значення мають глюкозаміну сульфат та хондроїтину сульфат, які впливають на основні клінічні прояви захворювань суглобів (мають знеболювальну дію і нормалізують функцію уражених суглобів), а також нормалізують та стабілізують структурну деструкцію у гіалуроновому хрящі, попереджають зміни у неушкодженному суглобі. Поєднання обох активних речовин у складі комбінованого засобу дозволяє отримати синергічний ефект [34].

Спираючись на результати проведеного огляду літератури та власні експериментальні дослідження зі стандартизації гарпагофітуму лежачого коренів (розділ 3 п. 3.3), одержання та стандартизації гарпагофітуму лежачого екстракту сухого (розділ 4 п. 4.2.1 та п. 4.2.2), результатів фармакологічних досліджень (розділ 4 п. 4.2.3) був

запропонований склад лікарської форми у вигляді м'яких желатинових капсул – ДД «Остеоверт».

На етапі розробки м'яких желатинових капсул було обрано та функціонально обґрунтовано застосування допоміжних речовин, що мають певні технологічні функції при виготовленні ДД «Остеоверт». Були отримані та досліджені серії капс з використанням кукурудзяної та соєвої олії, однак серії з кукурудзяним маслом не відповідали технологічним параметрам капсул, у зв'язку з чим в подальших дослідень для отримання суспезії використовували соєву олію. Для однорідності кольору використовували природний компонент віск бджоліний. Серед допоміжних речовин, що збільшують в'язкість маси для інкапсулювання було обрано лецитин.

Склад добавки дієтичної «Остеоверт» (вміст 1 капсули; маса 1500 мг):

Активні компоненти

глюкозаміну сульфат	300,0 мг
хондроїтину сульфат	250,0 мг
гарпагофітуму лежачого екстракт сухий	200,0 мг

Допоміжні компоненти: олія соєва, віск бджолиний (E901), лецитин (E322)

Оболонка капсули: желатин (E441), гліцерин (E422), вода очищена, оксид заліза

4.2 Одержання та стандартизація гарпагофітуму лежачого коренів екстракту – рослинного компоненту добавки дієтичної

4.2.1 Визначення оптимальних умов екстрагування гарпагофітуму лежачого коренів

Розробка технології виготовлення рослинних засобів вимагає індивідуального підходу до вивчення технологічних властивостей ЛРС, що використовується при їх виробництві [80, 142]. Процес екстрагування ЛРС залежить від багатьох чинників, найважливішими з яких є гідродинамічні умови, поверхня розділення фаз, різниця концентрацій, метод екстрагування, в'язкість екстрагенту, температура. Крім того, ефективність екстракції залежить від технологічних властивостей сировини, зокрема

вологості, насипної густини до та після усадки, насипного об'єму до та після усадки, коефіцієнту набухання та поглинання, подрібненості сировини тощо [7, 23, 142].

Нами визначені технологічні параметри гарпагофітуму лежачого коренів, що були використані в подальшому при розробці технології одержання сухого екстракту. Визначення проводили за загальновідомими методиками [13]. Отримані результати наведені у табл. 4.1 [74].

Таблиця 4.1

Результати визначення технологічних параметри гарпагофітуму коренів

№	Показник	Результати	№	Показник	Результати
1	Подрібненість, мм	3-5±0,03	6	Нарізність сировини, г/см ³	0,40±0,02
2	Об'ємна маса, г/см ³	0,83±0,03	7	Вільний об'єм шару, г/см ³	2,01±0,04
3	Насипна маса, г/см ³	0,50±0,02	8	Коефіцієнт поглинання води, мл/г	1,02±0,04
4	Питома маса, г/см ³	1,40±0,02	9	Коефіцієнт поглинання етанолу 20%, мл/г	1,09±0,04
5	Пористість сировини, г/см ³	1,69±0,03	10	Коефіцієнт поглинання етанолу 80%, мл/г	0,69±0,02

Одним із показників якості рослинного екстракту та раціонально підбраного екстрагенту є вміст екстрактивних речовин [187]. Процес вилучення екстрактивних речовин залежить від ряду факторів, таких як розмір сировини, тривалість екстракції та температури. Найпоширенішими екстрагентами у виробництві рослинних лікарських засобів є вода очищена та етанол у різних концентраціях. В експерименті були використані вода та етанол концентрацій 20%; 40%; 60%. Витяжки отримували з використанням лопатевої мішалки, тривалість екстракції становила 1 год, 2 год і 3 год, метод дробової мацерації в три ступені, часовий проміжок настоювання склав добу, 2 доби і 3 доби. Витяжки отримували у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10, ступінь подрібненості сировини складала 3-5 мм. Результати визначення вмісту екстрактивних речовин у сировині в залежності від використаного екстрагента та метода екстракції представлено у табл. 4.2 [204].

**Результати з визначення вмісту екстрактивних речовин у витяжках
гарпагофітума коренях (n=3)**

Екстрагент	Вміст екстрактивних речовин					
	Лопатева мішалка			Метод мацерації		
	1 год	2 год	3 годи	1 доба	2 доби	3 доби
Вода	6,76±0,24	7,50±0,39	7,42±0,41	6,56±0,27	6,98±0,35	6,50±0,28
Етанол, 20 %	6,44±0,31	7,36±0,43	7,31±0,38	6,41±0,36	6,76±0,43	6,78±0,34
Етанол, 40 %	5,36±0,19	5,89±0,26	5,82±0,37	6,04±0,32	6,34±0,29	6,07±0,45
Етанол, 60 %	5,06±0,23	5,48±0,27	5,40±0,28	5,02±0,24	5,61±0,27	5,68±0,37
Етанол, 80 %	4,72±0,32	5,12±0,36	5,19±0,43	3,02±0,22	3,55±0,33	3,14±0,29

Отримані дані свідчать, що найбільший вихід екстрактивних речовин спостерігався під час екстрагування протягом 2 год з використанням лопатевої мішалки. Зі збільшенням концентрації етанолу вміст екстрактивних речовин в досліджуваних екстрактах зменшувався: вода>20 % етанол>40 % етанол>60 % етанол>80 % етанол і складав 7,50±0,39, 7,36±0,43, 5,89±0,26, 5,48±0,27 та 5,12±0,36 відповідно.

Для подальшого виявлення оптимального екстрагенту в одержаних екстрактах проводили визначення кількісного вмісту основної БАР – іридоїдів, а саме гарпагозиду. Кількісне визначення гарпагозиду проводили методом ВЕРХ (розділ 2. п. 2.3.1 методика 4). Отримані результати кількісного визначення наведені у табл. 4.3.

Таблиця 4.3

**Результати кількісного вмісту гарпагозиду в отриманих витяжках
гарпагофітуму лежачого коренів (n=3)**

Екстрагент	Кількісний вміст гарпагозиду, %					
	Лопатева мішалка			Метод мацерації		
	1 год	2 год	3 год	1 доба	2 доби	3 доби
1	2	3	4	5	6	7
Вода	1,94±0,03	2,61±0,01	2,54±0,02	1,69±0,03	2,14±0,04	2,12±0,0
Етанол, 20 %	1,82±0,02	2,54±0,02	2,48±0,03	1,62±0,02	2,08±0,02	2,01±0,02

1	2	3	4	5	6	7
Етанол, 40 %	1,63±0,04	2,38±0,03	2,31±0,03	1,48±0,04	1,87±0,03	1,66±0,03
Етанол, 60 %	1,54±0,01	2,24±0,02	2,19±0,04	1,18±0,03	1,79±0,02	1,75±0,03
Етанол, 80 %	1,42±0,03	2,01±0,02	1,99±0,02	0,97±0,03	1,62±0,04	1,58±0,02

Наведені у табл. 4.1 дані свідчать, що повнота вилучення іридоїдних глікозидів, а саме гарпагозиду, у досліджуваній сировині досягається у разі екстракції протягом 2 год з використанням лопатевої мішалки при екстрагуванні водою та спиртом етаноловим 20%. Однак, з урахуванням незначної відмінності у вмісті екстрактивних речовин та кількості вмісті гарпагозиду, спирт етиловий 20% можна запропонувати як екстрагент для одержання гарпагофітуму екстракту, оскільки спирт етиловий може виступати як консервант, що сприятиме збереженню властивостей та терміну зберігання отриманого екстракту.

4.2.2 Одержання гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого та визначення параметрів стандартизації

Спираючись на результати отриманих експериментальних даних, які представлені у попередньому п. 4.2.1, нами був одержаний гарпагофітуму лежачого екстракт сухий, який увійшов до складу добавки дієтичної «Остеоверт».

Сухий екстракт отримували за загальною схемою (рис. 4.1). Повітряно-суху сировину, подрібнену до розміру часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 3-5 мм, вміщували в екстрактор. Екстракцію проводили етанолом 20 % у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 з урахуванням коефіцієнту поглинання екстрагенту до повного вилучення БАР з сировини. Екстрагували при кімнатній температурі протягом 2 год. Отриманий витяг фільтрували і концентрували у вакуум-випарному апараті при температурі 50-60 °C і тиску 80-87 кПа до густої консистенції (вологість не перевищувала 25 %). Одержані густі екстракти висушували до сухих у вакуумній сушильній шафі при температурі 70-75°C і тиску 80-87 кПа. Вихід кінцевого продукту становив 9,6 % у перерахунку на абсолютно суху сировину. Технологічна схема виробництва сухого екстракту гарпагофітуму лежачого приведена на рис 4.1.

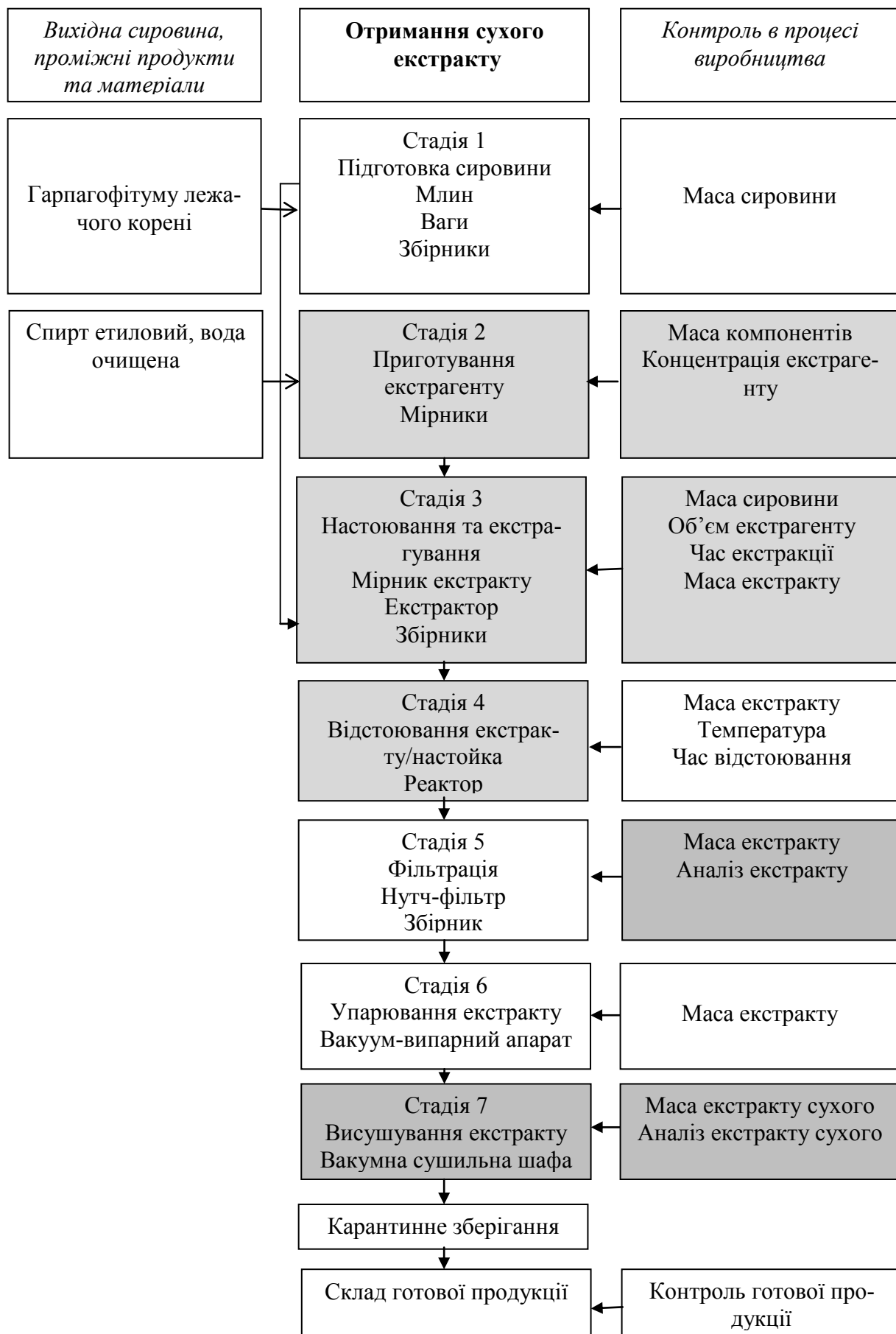


Рис. 4.1 Схема технологічного процесу отримання гарпагофітуму коренів екстракту сухого

Відповідно до вимог ЄФ 9.5 [175] та ДФУ 2.2 [28], запропоновано проводити стандартизацію одержаного сухого екстракту за такими показниками: «Опис», «Ідентифікація», «Кількісне визначення», «Втрата в масі при висушуванні», «Важкі метали», «Мікробіологічна чистота». Досліджували якість п'яти серій гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого.

Гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий – це порошок світло-коричневого кольору, сипучий, негігроскопічний, притаманний сировині гарпагофітуму лежачого. Визначена втрата в масі при висушуванні не більше 5 %, вміст важких металів складав не більше 0,01 % (100 ppm). Отримані значення відповідали вимогам ДФУ. Ідентифікація БАР гарпагофітуму екстракту проводилась за методикою ТШХ (розділ 2. п. 2.3.1 методика 2). Отримана хроматограма представлена на рис. 4.2.

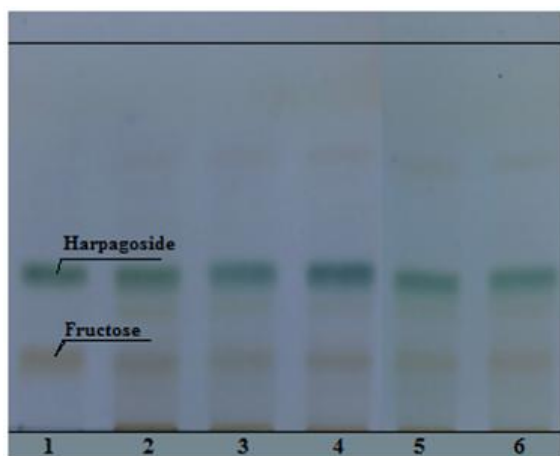


Рис. 4.2 Хроматограма при денному світлі, отримана в умовах методики ЄФ 9.5 «Гарпагофітуму екстракт сухий»: 1 – розчин порівняння, 2-6 – випробовувані розчини

Відповідно до хроматограми, наведеної на рис. 4.2, хроматографічні зони розчину порівняння *гарпагозид Р* і *фруктози Р* та випробовуваних розчинів співпадали за інтенсивністю забарвлення, повнотою розділення та чіткістю виявлення.

Визначення кількісного вмісту діючої речовини гарпагозид у досліджуваному сухому екстракті проводили методом ВЕРХ (розділ 2. п. 2.3.1 методика 4). Виконання вимог придатності хроматографічної системи наведені у табл. 4.4.

В умовах даної методики час утримування основного піку гарпагозиду становив близько 9 хв. На рис. 4.3 і рис. 4.4 наведені хроматограми випробовуваного розчину та розчину порівняння гарпагофітуму.

Результати проведення тесту «Придатність хроматографічної системи»

Критерій	Вимоги	Результати
Ефективність хроматографічної колонки	>2000	2500
Коефіцієнт симетрії	$\geq 0,8 \leq 1,5$	0,89
Відносне стандартне відхилення, %	$<2,0\%$	0,87%

Згідно з представленими даними (табл. 4.4), адаптована методика витримує вимоги щодо придатності хроматографічної системи.

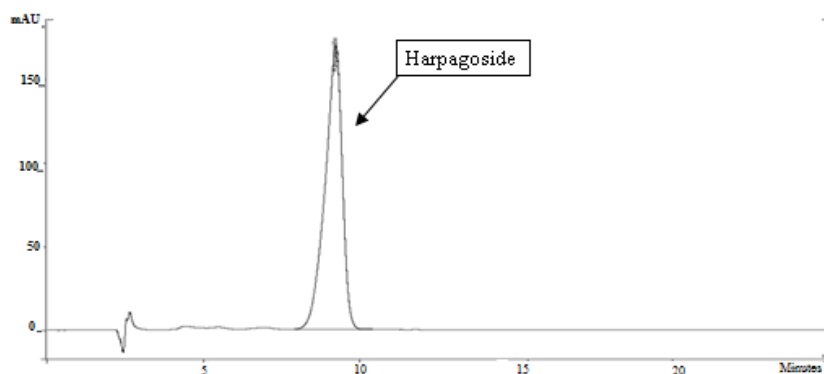


Рис. 4.3 ВЕРХ- хроматограма розчину стандартного розчину гарпагозиду

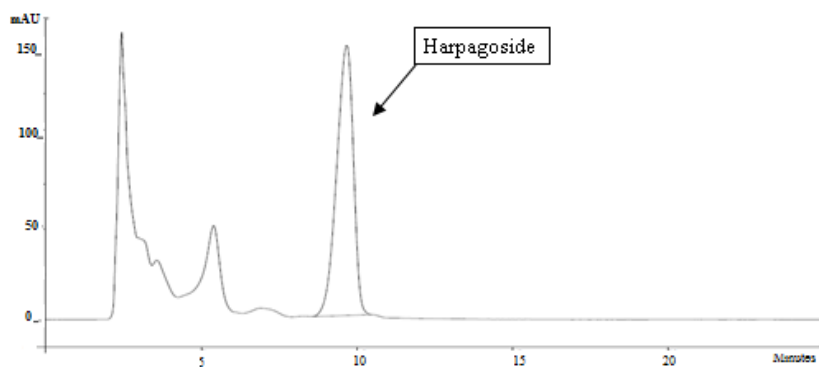


Рис. 4.4 ВЕРХ- хроматограма випробовуваного розчину гарпагофілежачого туму екстракту сухого

Показники мікробіологічної чистоти для субстанцій, що використовуються при виробництві дієтичних добавок, регламентуються вимогами ГН 4.4.8.073-2001 «Тимчасові гігієнічні нормативи вмісту контамінантів хімічної та біологічної природи у біологічно активних добавках» [125]. При до слідженні мікробіологічних показників був використаний метод висівання на чашки Петрі. Результати дослідження п'ятох серій отриманого екстракту за встановленими параметрами представлені у табл. 4.5.

Результати визначення параметрів стандартизації гарпагофітуму лежачого екстракту сухого

Найменування показника	№ серії				
	250118	150218	060318	290318	090418
<i>Опис</i> світло-коричневого кольору, однорідного складу	Відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
<i>Ідентифікація методом ТІІХ</i> Іридоїди рухома фаза вода Р:метанол Р: етилацетат Р (8:15:77). На хроматографі повинні виявлятися хроматографічні зони відповідні гарпагозиду Р та фруктози Р	Відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
<i>Кількісне визначення методом ВЕРХ</i> Кількісний вміст гарпагозиду не менш 1,2 %	2,46±0,02	2,50±0,02	2,47±0,02	2,51±0,02	2,53±0,02
<i>Втрата в масі при висушуванні</i> Не більше 5,0 %	3,10±0,22	3,25±0,18	3,01±0,27	3,15±0,21	3,62±0,24
<i>Важкі метали</i> Не більше 0,001 %	Відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
<i>Мікробіологічна чистота</i> Загальна кількість життєздатних бактерій не більше 10 ⁴ КОЕ г/мл Загальна кількість життєздатних грибів не більше 10 ² КОЕ г/мл Наявність бактерій родини Enterobacteriaceae відсутність	300 < 10 Немає	310 < 10 Немає	290 < 10 немає	280 < 10 немає	320 < 10 немає

4.2.3 Вивчення анальгетичної та протизапальної активності гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого (обговорення результатів фармакологічних досліджень)

Вивчення проводили на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів. Формаліновий тест представляє високу прогностичну цінність при оцінці анальгетичних властивостей з можливістю оцінити вплив препаратів на первинні аференти больового сигналу та на больовий синдром, викликаний саме запальним процесом [111].

Препаратом порівняння був обраний зареєстрований на території України препарат «Фонг Те Тхап» (виробник «ЛТД «ФІТО ФАРМА Ко.», В'єтнам) у вигляді рідкого екстракту для внутрішнього застосування, який за АТС-класифікацією належить до засобів, що застосовуються при патології ОРА (M09AX10) й позиціонується як рослинний препарат з протизапальними й анальгетичними властивостями для ревматичних артралгій, артрозо-артритів різної етіології та остеохондрозу [44].

Методика експерименту наведена у розділі 2. п. 2.3.5 методика 1.

Анальгетичну активність стандартизованого гарпагофітума лежачого коренів екстракту досліджували впродовж I-ої фази больової реакції, викликаній субплантарним введенням 2 % розчину формаліну, що продовжувалося 10 хв після ін'єкції, у всіх досліджуваних засобів не було помічено практично ніякої активності, що свідчило про відсутність впливу на центральні механізми передачі болю.

Наприкінці I-ої фази наступив латентний період, що продовжувався в середньому 20 хв. Після чого наступила II-а фаза больової реакції, обумовлена альгогенами запального процесу. Ознаки больової чутливості щурів реєстрували впродовж 20 хв (з 30 по 50 хв після ін'єкції).

Введення тваринам експериментального гарпагофітуму екстракту сухого вірогідно впливало на зниження тривалості больової реакції під час II-ої фази, що у порівнянні з контролем зменшувалась в 1,54 рази, а у порівнянні референс-препаратом – в 1,15 рази (табл. 4.6).

Показники анальгетичної активності гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого у формаліновому тесті ($\bar{X} \pm S_x$)

Експериментальна група (n=10)	Загальний час больової реакції I-ої фази, хв	Загальний час больової реакції II-ої фази, хв
Контрольна патологія	7,42±0,61	14,18±1,07
Екстракт сухий	7,35±0,41	9,21±0,84 ^{*/**}
Референтний засіб	7,06±0,52	12,38±1,24

Примітки:

1. * – відмінності вірогідні відносно тварин групи контрольної патології ($p \leq 0,05$);

2. ** – відмінності вірогідні відносно тварин групи препарату порівняння референтного засобу ($p \leq 0,05$).

Таким чином, досліджуваний сухий екстракт у дозі 1500 мг/кг (що відповідає не менше ніж 37,0 мг/кг гарпагозиду) мав більш виражені анальгетичні властивості у порівнянні з референтним засобом.

Дослідження протизапальної активності проводили відповідно до розділу 2. п. 2.3.5 методика 2. Оцінку проводили через 3 год після введення флогогенів в період простагландинової фази запального процесу. Гарпагофітуму коренів екстракт сухий показав значущу ефективність у порівнянні з референтним засобом. Досліджуваний екстракт сприяв зменшення формалінового набряку в середньому на 17,8 %, а карагенінового – на 25,1 % (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

**Показники антиексудативної активності
гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого ($\bar{X} \pm S_x$), %**

Експериментальна група (n=10)	Формаліновий набряк	Карагеніновий набряк
Екстракт сухий	17,8 %	25,1 %
Референтний засіб	12,6 %	19,3 %

За результатами визначення антиексудативної активності встановлено, що гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий у дозі 1500 мг/кг (що відповідає не менше, ніж 37,0 мг/кг гарпагозиду) виявляв більш виражену антиексудативну властивість у порівнянні з референтним засобом.

4.3 Одержання та стандартизація добавки дієтичної «Остеоверт»

На підставі отриманих експериментальних даних розроблено промислову технологію одержання добавки дієтичної та впроваджено її у виробництво ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС». Розроблена схема технологічного процесу виробництва капсул «Остеоверт» у промислових умовах наведена на рис 4.5 [110, 124,].

Стадія 1. Підготовка сировини. Відважують інгредієнти для серії в тарованих маркірованих збірниках на вагах. Просіюють інгредієнти на ручному ситі в таровані збірники.

Контролюють однорідності просіювання – відсутність видимих механічних включень в просіяній сировині.

Стадія 2. Приготування маси для інкапсулювання. У реактор завантажують відважену кількість глюкозаміну сульфату, хондроїтину сульфату, гарпагофітуму коренів екстракту сухого та частину соєвої олії. Перемішують вміст реактора протягом 15 ± 1 хв. В реактор з глюкозаміну сульфатом, хондроїтину сульфатом, гарпагофітуму коренів екстрактом сухим та частиною соєвої олії додають масу, яка містить соєву олію, лецитин і бджолиний віск. Перемішують вміст реактора при температурі $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 15 ± 5 хв.

Контролюють час змішування, повноту розчинення компонентів та масу отриманого наповнювача.

Стадія 3. Приготування желатинової маси. До реактору завантажують відважену кількість гліцерину та води очищеної. Перемішуючи вміст реактора, нагрівають його до температури $60 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ та продовжують перемішувати ще протягом 30 ± 1 хв.

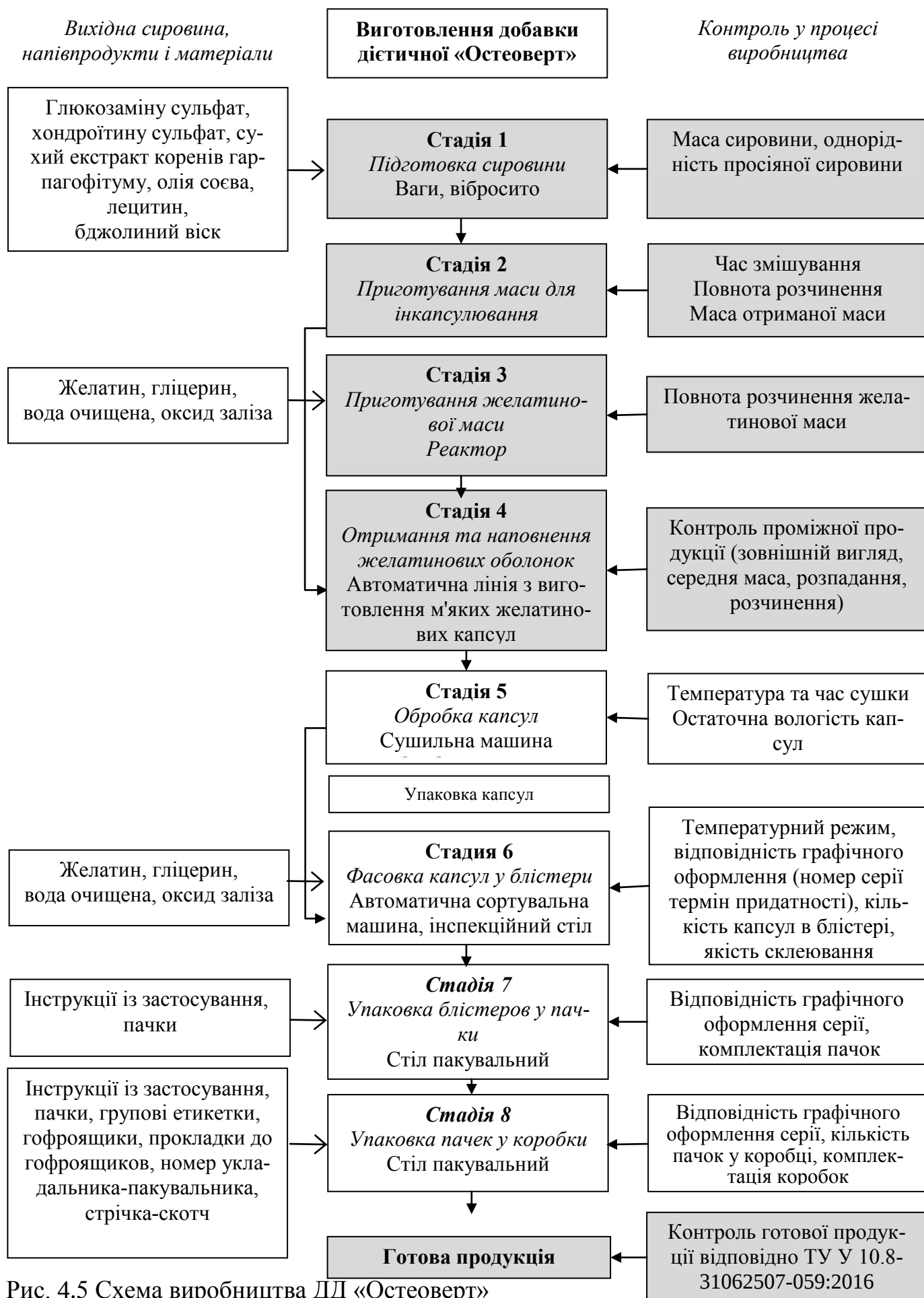


Рис. 4.5 Схема виробництва ДД «Остеоверт»

У градуйовану склянку, місткістю 1000 мл завантажують відважену кількість води очищеної та оксиду заліза для приготування розчину барвника. Отриманий розчин перемішують протягом 15 ± 1 хв.

До реактору з гліцерином і водою очищеною завантажують розчин барвника та перемішують протягом 10 ± 1 хв. Потім завантажують желатин, нагрітий до температури 60 ± 2 °C. Отриману масу вакуумують для видалення бульбашок повітря при рівні вакууму $0,7 \pm 0,1$ кгс/см², нагрівають до температури 75 ± 2 °C та продовжують перемішувати 90 ± 20 хв при вакуумуванні.

Отриману масу фільтрують крізь капроновий фільтр у термостатовану ємність для желатинової маси. Контролюють повноту розчинення желатинової маси.

Стадія 4. Отримання та наповнення желатинових оболонок. Желатинову масу та наповнювач з термостатованих ємностей подають на автоматичну лінію з виготовлення м'яких желатинових капсул і проводять інкапсулювання. Контролюють якість капсул за такими показниками, як: зовнішній вид, середня маса, розчинення, розпадання.

Стадія 5. Обробка капсул. Сушать вологі капсули на дрібних лотках для сушки капсул, які встановлюються на тачках для лотків. Після висушування, контролюють якість сухих капсул на відсутність механічних пошкоджень і наявність різного виду деформацій. Контролюють температуру, час сушки та остаточну вологу капсул.

Стадія 6. Фасовка капсул у блістери. Кондиційні капсули фасують на блистерній машині в блістери з плівки полівінілхлоридної (ПВХ) та фольги алюмінієвої, по 8 капсул у блістери з плівки ПВХ та фольги алюмінієвої. Контролюють температурний режим, відповідність графічного оформлення (номер серії, термін придатності), кількість капсул в блістері, якість склеювання.

Стадія 7. Упаковка блістерів у пачки. По 3 блістери разом з інструкцією та номером укладальника-пакувальника вміщують у картонну пачку. Контролюють відповідність графічного оформлення серії, комплектацію пачок.

Стадія 8. Упаковка пачок у коробки. По 40 пачок вміщують в гофроящик, на який наклеюють групову етикетку з номером укладальника-пакувальника. Контролюють відповідність графічного оформлення серії, кількість пачок у коробці, комплектацію коробок.

З метою обґрунтування правильності вибору та організації технологічного процесу і розроблення регламенту виробництва був розрахований матеріальний баланс виробництва ДД «Остеоверт» (Додаток А, табл. А3).

На основі отриманих даних матеріального балансу було розроблено регламент виробництва і оцінено рівень організації технологічного процесу як достатньо ефективний. За результатами матеріальному балансу були розраховані основні технічні та економічні показники виробництва, такі, як регламентовані норми витрат сировини, матеріалів, напівпродуктів та енергоресурсів на одиницю готового продукту.

Стандартизацію отриманої ДД «Остеоверт» проводили за органолептичними, фізико-хімічними, мікробіологічними показниками. Також було досліджено вміст токсичних елементів, пестицидів та радіонуклідів. Отримані експериментальні дані використані при розробці технічних умов України на дану продукцію ТУ У 10.8-31062507-059:2016 «Добавки дієтичні на основі олій та жирів тваринних» [129].

За органолептичними показниками м'які капсули повинні відповідати встановленим критеріям, які наведені у табл. 4.9.

Таблиця 4.8

Результати визначення органолептичних показників ДД «Остеоверт»

Показ- ника	Характеристика ДД «Остеоверт»	Метод контролю	Результати контролю
Опис	М'які желатинові капсули з маслянистою суспензією, допускається розшаровування вмісту капсули	ГОСТ 24027.0; п. 7.2	Відповідає
Колір	Колір вмісту та м'якої желатинової капсули – темно-коричневий		Відповідає
Запах	Специфічний смак, обумовлений наявністю гарпагофітуму лежачого		Відповідає
Смак	Специфічний смак, обумовлений наявністю сировини гарпагофітуму лежачого		Відповідає

Критеріями, за якими визначають псування рослинних олій є пероксидне окиснення жирів та гідроліз ефірних жирних кислот до вільних жирних кислот. Вміст м'яких капсул «Остеоверт» представляє собою маслянисту суспензію, тому необхідним є контроль за такими показниками як «Кислотне число» та «Перекисне число», результати наведені в табл. 4.10.

Небезпечність ДД рослинного походження пов'язана з їх можливою контамінацією патогенними мікроорганізмами, підвищеним вмістом радіонуклідів, пестицидів та токсичних елементів тощо. Тому необхідним є контроль відповідно до нормативної документації чинної на території України.

Таблиця 4.9

Результати визначення фізико-хімічних показників ДД «Остеоверт»

Найменування показника	Норма	Методи контролювання	Результати контролю
Масова частка вологи та летких речовин, %	Не більше 0,2	ДСТУ 4603, ДСТУ ISO 662	0,11±0,06
Кислотне число під час випуску з підприємства, мг КОН/г	Не більше 2,5	ДСТУ 4350	0,20±0,16
Кислотне число наприкінці терміну зберігання, мг КОН/г	Не більше 4,0	ДСТУ 4350	0,60±0,21
Перекисне число під час випуску з підприємства, ½ О ммоль/кг	Не більше 6,0	ДСТУ 4570, ДСТУ ISO 3960	2,90±0,18
Перекисне число наприкінці терміну, ½ О ммоль/кг	Не більше 10,0	ДСТУ 4570, ДСТУ ISO 3960	4,50±0,22

За вмістом токсичних елементів, пестицидів і радіонуклідів ДД повинні відповідати вимогам ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001 «Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоймищ, ґрунті» [32], ГН 4.4.8.073–2001 «Тимчасові гігієнічні нормативи вмісту контамінантів хімічної і біо-

логічної природи в біологічно активних добавках» [125], ГН 6.6.1.1-130 «Допустимі рівні вмісту радіонуклідів 137 цезію та 90 стронцію в продуктах харчування і харчовій воді» [104, 105]. Нормування та результати контролю приведені в табл. 4.11 [61]. За мікробіологічними показниками ДД повинні відповідати вимогам [31], наведеним у табл. 4.12.

Таблиця 4.10

Результати з визначення допустимих рівнів токсикологічних елементів, пестицидів та радіонуклідів для ДД «Остеоверт»

Найменування показників	Допустимі рівні не більше мг/кг	Методи контролювання	Результати контролю
Токсикологічні елементи			
Ртуть	0,3	МВ 5178, ДЕСТ 30178	<0,1
Миш як	1,0	ДЕСТ 26930, ДЕСТ 30178	0,11
Свинець	1,0	ДЕСТ 26932, ДЕСТ 30178	1,87
Кадмій	0,2	ДЕСТ 26933, ДЕСТ 30178	0,16
Пестициди			
Гексахлорцикло-гексан (гама-ізомер)	0,1	ДСанПін 8.8.1.2.3.4-000-2001; МВ №1792; МВ №2142	<0,1
ДДТ та його метаболіти	0,2		<0,1
Гептахлор	Не дозволяєть-		Відсутні
Алдрин	Не дозволяється		Відсутні
Дільдрин	Не дозволяється		Відсутні
Радіонуклеїди, БК/кг			
¹³⁷ Cs	200	МВ 6.6.1-10.10.1.7.158	15,0
⁹⁰ Sr	50		5,0

Таблиця 4.11

Результати визначення мікробіологічних показників ДД «Остеоверт»

Найменування показників	Допустимі рівні	Методи контролювання	Результати контролю
1	2	3	4
Кількість мезофільних аеро		СанПін	

1	2	3	4
бних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів, КУО/г	Не більше $1,0 \cdot 10^5$	42-123-4940	102
БГКП (коліформи) в 1,0 г	Не допускається	СанПіН 42-123-4940; ДЕСТ 10444.15	Відсутні
<i>S. aureus</i> , в 1,0 г	Не допускається	СанПіН 42-123-4940; ДЕСТ 10444.15	Відсутні
Патогенні мікроорганізми в т.ч. бактерії р. <i>Salmonella</i> , у 10 г	Не допускається	СанПіН 42-123-4940; ДЕСТ 10444.15	Відсутні
Плісняві гриби, КУО/г	Не більше 50	СанПіН 42-123-4940; ДЕСТ 10444.12	26
Дріжджі, КУО/г	Не більше 10	СанПіН 42-123-4940; ДЕСТ 10444.12	5

Оскільки капсули «Остеоверт» є ДД до раціону харчування, яка може бути рекомендована як додаткове джерело глюкозаміну та хондроїтину, нами було розраховано енергетичну та харчову цінності ДД (табл. 4.13.)

Таблиця 4.12

**Енергетична (калорійність) та харчова (поживна) цінність
на 100 г ДД «Остеоверт»**

Найменування показників	Характеристика
Енергетична цінність	
Енергетична (калорійність) цінність, ккал/кДЖ	1655 кДЖ (395,2 ккал)
Харчова цінність	
Білки, г	22,1
Вуглеводи, г	0,0
Жири, г	25,0

У відповідності до вимог ДФУ, були проведені фармако-технологічні випробування отриманих м'яких капсул за такими показниками якості: «Розпадання таб-

леток і капсул» (2.9.1), «Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу» (2.9.5) [24, 196].

Однорідність маси визначали для 20 капсул «Остеоверт», що відбирали за статистично обґрунтованою схемою. Нерозпаковану капсулу зважували, потім розпаковували капсулу, промивали оболонку ефіром та зважували оболонку. За різницею зважувань розраховують масу вмісту. Згідно статті ДФУ «Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу» для капсул з середньою масою більше 300 мг припустиме відхилення складає 7,5 % [24].

При проведенні випробувань на розпадання як рідке середовище використовували воду. Прилад вмикали на 30 хв при температурі 37 ± 2 °C та проводили дослідження стану капсул. Критерії прийнятності та результати наведені в табл. 4.14.

Таблиця 4.13

Результати визначення фармако-технологічних показників ДД «Остеоверт»

№	Показник	Критерії прийнятності	Результати
1	Середня маса вмісту капсули	Від 1387,5 до 1612,5 мг	1500,6 мг
2	Однорідність маси	ЛЗ витримує випробування, якщо не більше двох індивідуальних мас відхиляються від середньої маси на величину, яка не перевищує $\pm 7,5$ %.	+0,57 -0,49
3	Розпадання	Не більше 30 хвилин (з дисками)	12-14 хв

Отримані дані (табл. 4.14) свідчать про відповідність капсул критеріям прийнятності, згідно з вимогами ДФУ.

Визначення діючих речовин ДД «Остеоверт»

Ідентифікацію глюкозаміну сульфату та хондроїтину сульфату проводили методом ВЕРХ (розділ 2. п. 2.5.1. методика 12). На хроматограмі випробовуваного розчину капсул «Остеоверт» час утримування основних піків хондроїтину та глюкозаміну мав співпадати з часом утримування основних піків хондроїтину та глюкозаміну на хроматограмі розчину порівняння (ФСЗ ДФУ хондроїтину сульфату та глю-

козаміну сульфату натрію хлорид *P* «Bioberica») з точністю ± 2 %. Отримані хроматограми представлені на рис. 4.5.

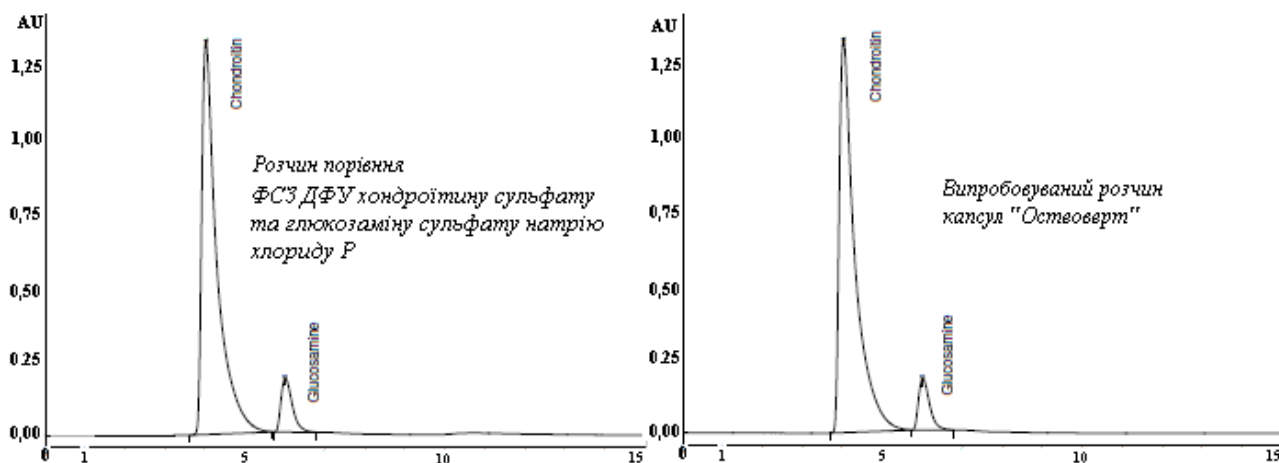


Рис. 4.5 ВЕРХ-хроматограми в умовах наведеної методики

Ідентифікацію гарпагофітуму лежачого екстракту сухого проводили ТШХ-методом (розділ 2. п. 2.5.1 методика 2). Отримана хроматограма наведена на рис. 4.6.

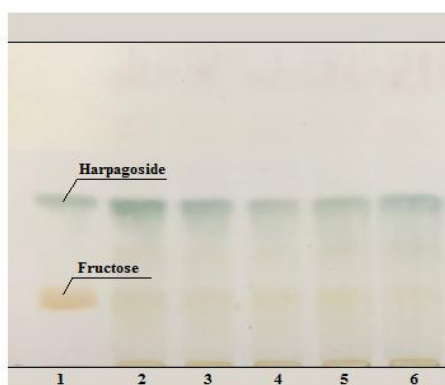


Рис. 4.6 Хроматограма при денному світлі, отримана в умовах методики ЄФ 9.5 «Гарпагофітуму екстракт сухий»: 1 – розчин порівняння, 2-6 – випробовувані розчини

Отримана хроматограма відповідає вимогам монографії ЄФ 9.5 «Гарпагофітуму екстракт сухий», хроматографічні зони гарпагозиду та фруктози на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваних розчинів співпадали за інтенсивністю забарвлення, повнотою розділення та чіткістю виявлення.

Кількісний вміст хонроїтину сульфату визначали фотометричним титруванням з використанням титранту *цетилпіридинію хлориду моногідрату Р* та застосуванням спеціалізованого електрода для фотометричного титрування. Дослідження проводили за методикою, що наведена у монографії ДФУ «Хондроїтину натрії сульфат» (розділ 2. п. 2.3.1. методика 13).

Таблиця 4.14

Результати визначення параметрів стандартизації ДД «Остеоверт»

Найменування показника	№ серії				
	120518	170518	210618	290618	310618
<i>Опис</i> М'які желатинові капсули з маслянистою суспензією, допускається розшаровування вмісту капсули	+	+	+	+	+
<i>Ідентифікація методом ВЕРХ</i>					
<i>Глюкозаміну сульфата</i>	+	+	+	+	+
<i>Хондроїтину сульфату</i>	+	+	+	+	+
На хроматограмі випробовуваного розчину час утримування основних піків хондроїтину та глюкозаміну співпадає з часом утримування основних піків ФСЗ ДФУ глюкозаміну сульфату та хондроїтину сульфату натрію хлорид Р з точністю $\pm 2\%$.					
<i>Ідентифікація методом ТШХ Гарпагофітуму лежачого коренів</i> На хроматограмі повинні виявлятися хроматографічні зони відповідні гарпагозиду Р та ФСЗ ДФУфруктози	+	+	+	+	+
Кількісне визначення					
Кількісний вміст глюкозаміну сульфату, визначений методом фотометричного титрування (300 мг $\pm$ 5,0%)	301,02 $\pm 0,02$	303,46 $\pm 0,03$	298,64 $\pm 0,02$	304,51 $\pm 0,01$	303,87 $\pm 0,03$
Кількісний вміст хондроїтину сульфата, визначений методом фотометричного титрування (250 мг $\pm$ 5,0%)	249,56 $\pm 0,02$	253,16 $\pm 0,02$	251,51 $\pm 0,01$	252,87 $\pm 0,02$	253,79 $\pm 0,03$
Кількісний вміст гарпагозиду, визначений методом ВЕРХ (200 мг $\pm$ 5,0%)	202,43 $\pm 0,03$	201,98 $\pm 0,02$	202,91 $\pm 0,01$	203,66 $\pm 0,01$	199,03 $\pm 0,02$
<i>Мікробіологічна чистота</i>					
Загальна кількість життєздатних бактерій – не більше 10^4 КУО г/мл	320	320	300	310	300
Загальна кількість життєздатних грибів – не більше 10^2 КУО г/мл	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
Наявність бактерій родини Enterobacteriaceae – відсутність	немає	немає	немає	немає	немає

Примітка. «+» – відповідає

Титруванням з потенціометричним встановленням точки еквівалентності визначали вміст глюкозаміну сульфату відповідно за методикою наведеною у розділі 2. п. 2.3.1. методика 14.

Методом ВЕРХ визначено кількісний вміст гарпагозиду у сировині гарпагофітуму екстракту сухого, дослідження проводили відповідно до вимог монографії ДФУ 2.2 «Гарапофітуму лежачого екстракт сухий» [28].

Розрахунки проводили у перерахунку на середню масу капсул, результати досліджень наведені у табл. 4.15.

Висновки до розділу 4

1. Досліджені технологічні параметри гарпагофітуму лежачого коренів з метою визначення та підвищення ефективності процесу екстрагування і визначення витратних норм сировини та екстрагента для: подрібненість ($3-5 \pm 0,03$ мм), об'ємна маса ($0,83 \pm 0,03$ г/см³), насипна маса ($0,50 \pm 0,02$ г/см³), питома маса ($1,40 \pm 0,02$ г/см³), пористість сировини ($1,69 \pm 0,03$ г/см), нарізність сировини ($0,40 \pm 0,02$ г/см³), вільний об'єм шару ($2,01 \pm 0,04$ г/см³), коефіцієнт поглинання води ($1,02 \pm 0,04$ мл/г), коефіцієнт поглинання спирту етилового 20%; 80% – $1,09 \pm 0,04$ мл/г та $0,69 \pm 0,02$ мл/г відповідно.
2. Проведені дослідження з обґрунтування вибору оптимального екстрагенту та способу одержання гарпагофітуму коренів екстракту сухого та встановлено, що найбільший вихід екстрактивних речовин відбувається під час екстрагування протягом 2 год з використанням лопатевої мішалки при використанні в якості екстрагента спирту етилового 20 %.
3. Одержано гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий та визначені параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ: опис, ідентифікація гарпагозиду та фруктози, втрата в масі при висушуванні, вміст важких металів, мікробіологічна чистота, кількісне визначення гарпагозиду (не менше 1,2 %). Для отриманого сухого екстракту визначені фармако-технологічні показники.

4. Для гарпагофітуму коренів екстракту сухого досліджена анальгетична та протизапальна дії на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів. Препаратом порівняння був обраний зареєстрований в Україні препарат «Фонг Те Тхап». Встановлено, що гарпагофітуму коренів екстракт сухий у дозі 1500 мг/кг –мав більш виражені аналгетичні та протизапальні властивості у порівнянні з референтним засобом.
5. Обґрунтовано склад та розроблено промислову технологію одержання м'яких капсул «Остеоверт», для яких визначені показники якості у відповідності до вимог ДФУ: середня маса капсул - 1500,6 мг; час розпадання капсул – від 12 до 14 хв; кількісний вміст діючих речовин: глюкозаміну сульфату (301,02 мг±0,02), хондроїтину сульфат (249,56 мг±0,02), гарпагофітуму лежачого сухий екстракт (202,43 мг±0,01). Розрахований матеріальний баланс серії капсул «Остеоверт» підтвердив правильність обраного технологічного процесу. Технологія виробництва капсул «Остеоверт» впроваджена в умовах ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Kriukova A. I., Vladymyrova I. M. The study of the technological and microbiological parameters of a dietary supplement «Osteovert». *Visnik Farmacii*. 2018. № 2 (94). Р. 41–47 (*особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, участь у написанні статті*).
2. Крюкова А.І., Владимірова І. М. Визначення технологічних параметрів коренів гарпагофітуму лежачого (*Harporaphytum procombens* DC). *XXI міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України*. Тернопіль, 2017. С. 244.

3. Kriukova A., Vladymyrova I., Tishakova T. Rationale for choosing of extraction solvent for obtaining liquid extract from the roots of *Harpagophytum Procumbens* DC. *Innovations and prospects in pharmaceutical practice* : Fourth Pharmaceutical Business Forum and Scientific and Practical Conference, Varna, October 27–29, 2017. Varna, 2017. P. 37.
4. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Вивчення показників безпечності добавки дієтичної «Остеоверт». *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів та дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали I Міжнарод. наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 5 квіт. 2018 р. X., 2018. С. 71–72.

РОЗДІЛ 5

РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ РОСЛИННОГО ЗБОРУ «РЕВМАВЕРТ»

Одним з альтернативних напрямків терапії хронічних захворювань синтетичними ЛЗ є використання ефективних і безпечних рослинних ЛЗ, які можна застосовувати тривалий час при хронічному перебігу захворювання [97]. Нами було розроблено склад рослинного засобу «Ревмаверт»: гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*), софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*), квасолі звичайної стулки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), споришу звичайного трава (*Polygoni avicularis herba*) при наступному співвідношенні: (50:20:20:10), який захищено патентом України на корисну модель № 129448 «Рослинний збір з аналгетичною та протизапальною активністю» [69]. Представлений збір може бути застосований для профілактики та допоміжної терапії ряду станів в ревматології, наприклад, остеоартроз, ревматоїдний артрит, остеопороз, подагра, реактивні артрити в якості аналгетичного та протизапального засобу.

5.1 Обґрунтування компонентного складу рослинного збору «Ревмаверт»

Вибір складових компонентів збору обумовлений їх певною біологічною активністю, які комплексно надають запропонованому збору виражену протизапальну та аналгетичну властивості. Завдяки наявності БАР софори бутонів збір виявляє Р-вітамінну дію, споришу трави – сечогінну дію, квасолі звичайної стулки плодів регулюють обмінні процеси в організмі.

Гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*) мають протизапальну, знеболюючу та діуретичну дію завдяки наявності таких БАР, як іридоїдні глікозиди (переважно гарпагозид, гарпагід та прокумбід), цукри (тетрасахарид, стахіоза), три-терпеноїди (олеанолова, урсолова кислоти), фітостерини (β-ситостерол), ароматичні кислоти (кавова, корична, хлорогенова), флавоноїди (лютеолін, кемпферол) [225].

Софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*) містить еуфлавоноїди, ізофлавоноїди, гідроксикоричні кислоти, вільні та зв'язані цукри, пектинові

речовини, полісахариди, амінокислоти, β -ситостерин, умбеліферон, хлорофіли. Рутин, що міститься в софори бутонах має Р-вітамінну активність, знижує ламкість і проникність капілярів, спільно з аскорбіною кислотою бере участь в окислювально-відновних процесах, уповільнює дію гіалуронідази, має антиоксидантну дію [210, 216].

Квасолі звичайної стулки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*) містять амінокислоти (аргінін, лізин, триптофан, тирозин, лейцин, аспарагін), флавоноїди, геміцелюлозу (45-50 %), макро- та мікроелементи (кремній, мідь, кобальт, нікель). Сировина має сечогінну, гіпоглікемічну, судинорозширювальну дію, покращує обмін речовин в організмі [42].

Споришу звичайного трава (*Polygoni avicularis herba*) містить дубильні речовини, флавоноїди (авікулярин, ізорамнетин, кверцетин, кемпферол, кверцетин-3-арабінозид, лютеолін, мірицетин), кумарини (скополетин, умбеліферон), сапоніни, органічні кислоти, полісахаридний комплекс. Сировина запобігає утворенню і сприяє виведенню сечових конкрементів при нирковокам'яній хворобі, підвищує діурез, виводить з сечею надлишок іонів натрію і хлору, також знижує артеріальний тиск, посилює скорочення матки, проявляє протизапальну і антитоксичну дію [193].

За розробленим складом було отримано декілька серій збору, з різним відсотковим вмістом рослинних компонентів, з яких було обрано найбільш оптимальний за вмістом БАР та терапевтичною ефективністю. Основна фармакологічна дія збору «Ревмаверт» спрямована на виявлення протизапальної та анальгетичної активності, що пояснює переважну кількісну частку (50 %) гарпагофітуму лежачого коренів у розробленому складі збору. Рівними частинами в складі збору представлена сировина софори бутонів та квасолі звичайної стулки плодів по 20 %. Терапевтична дія софори буде сприяти нормалізації реологічних властивості крові та зміцненню судинної стінки, сировина квасолі звичайної – регуляції обміну уратів та виведення їх надлишку з організму. Також до складу збору входить сировина споришу звичайного (10 %), який має сечогінну, протизапальну і антитоксичну дію, зменшує проникність стінок кровоносних судин.

5.2 Визначення показників якості та технологічних параметрів збору

Доброякісність ЛРС залежить від відповідності її показників якості вимогам чинної нормативної документації [205, 214]. Тому, з метою встановлення доброякісності сировини, яка входить до складу збору було визначено показники якості відповідно до вимог ДФУ: «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола». Вміст екстрактивних речовин було визначено згідно з методикою монографії ДФУ 2.0 «Полин гіркий^N» [26]. Отримані результати представлені у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Результати визначення числових показників якості вихідної ЛРС (n =3)

ЛРС	Втрата в масі при висушуванні, %	Зола загальна, %	Вмісту екстрактивних речовин (екстрагент-вода)
Гарпагофітуму лежачого корені	8,69±0,21	4,25±0,28	38,80±0,31
Софори бутони	9,33±0,32	6,55±0,27	32,63±0,36
Квасолі звичайної стулки плодів	10,56±0,31	8,56±0,23	21,24±0,29
Споришу звичай-	8,02±0,25	6,28±0,41	19,59±0,23

Отримані значення (табл. 5.1) показників якості досліджуваної сировини відповідають вимогам відповідних монографій ДФУ на дані види ЛРС за показниками: «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола», «Екстрактивні речовини».

Ефективність екстракції, зокрема вихід БАР у процесі екстрагування рослинної сировини залежить від технологічних властивостей сировини та гідродинамічних умов процесу [9, 85]. З огляду на це, були проведені дослідження щодо встановлення технологічних параметрів збору, а також сировини, яка входить до його складу (табл. 5.2).

**Результати визначення технологічних параметрів
вихідної сировини та збору (n =3)**

Показник	Гарпагофі- туму лежа- чого корені	Софори бутони	Квасолі зви- чайної стул- ки плодів	Споришу звичайного трава	Збір
Питома маса, г/см ³	1,549 ± 0,02	1,380±0,02	1,417±0,03	1,432±0,04	1,387±0,03
Об'ємна маса, г/см ³	0,968 ± 0,04	0,627±0,03	0,549±0,02	0,581±0,02	0,653±0,03
Насипна маса, г/см ³	0,161 ± 0,03	0,118±0,02	0,182±0,01	0,126±0,01	0,171±0,01
Пористість	0,418	0,519	0,653	0,646	0,511
Порізність	0,825	0,758	0,667	0,716	0,738

Представлені у табл. 5.2 дані свідчать, що сировина, яка входить до складу збору, має різницю показників питомої маси для різних видів сировини (від 1,380±0,02 до 1,549±0,02), що обумовлює можливість розшарування вихідної сировини під час виготовлення збору. Отримані значення були враховані при розробці оптимальної технології одержання збору та вивченні оптимального режиму отримання витяжки зі збору.

5.3 Розробка технології одержання збору

Ступінь подрібнення рослинної сировини характеризується такими параметрами, як розмір часток сировини та площа екстракції, які впливають на повноту екстракції БАР та однорідність змішування. Якість одержаних водних витягів визначається вмістом діючих і екстрактивних речовин.

Представлений рослинний збір складається з сировини, яка має різну форму, величину, масу і питому щільність, це призводить до ускладнень щодо рівномірного змішування складових частин збору. З огляду на це, нами було проведено ряд експериментальних робіт зі встановлення оптимального ступеню подрібнення ЛРС, яка входить до складу збору, що дозволить одержати однорідну суміш і сприятиме максимальному виходу екстрактивних і діючих речовин [97, 110].

Для дослідження було використано два зразка збору з різним ступенем подрібненості сировини:

Розмір часток збору зразку № 1 становив 0,35-5,00 мм: трава – 0,35-1,5 мм, плоди – 0,35-3,5 мм, кореневища і корені – 0,35-5,0 мм.

Розмір часток збору зразку № 2 становив 0,35-2,0 мм: трава – 0,35-1,0 мм, плоди – 0,35-1,5 мм, кореневища і корені – 0,35-2,0 мм.

Вихідну сировину окремо здрібнювали, зважували та змішували відповідно до розробленого складу та екстрагували *водою очищеною Р*. Вміст екстрактивних речовин та флавоноїдів визначали за методиками, які наведені у розділі 2 п. 2.4.1. Результати наведені у табл. 5.3.

Таблиця 5.3

Вплив ступеня подрібнення сировини досліджуваних зразків збору на вихід екстрактивних речовин та флавоноїдів (екстрагент-вода)

Показник	Зразок № 1 (0,35-5,0 мм)	Зразок № 2 (0,35-2,0 мм)
Вміст екстрактивних речовин, %	44,80±0,23	58,41±0,21
Вміст суми флавоноїдів, %	0,42±0,04	0,51±0,02

Дані експериментальних досліджень (табл. 5.3) свідчать, що зразок № 2, ступень подрібнення сировини від 0,35 мм до 2,0 мм це однорідна суміш сировини, що мала значно більший відсотковий вихід екстрактивних речовин та кількісний вміст флавоноїдів у порівнянні зі зразком № 1, де ступінь подрібнення сировини становила від 0,35 мм до 5,0 мм.

На основі отриманих експериментальних даних було розроблено технологічну схему виробництва рослинного збору за представленим складом (рис. 5.1).

Стадія 1. Підготовка сировини. Кожен вид сировини, яка входить до складу збору, подрібнювали окремо за допомогою траворізки до розміру 2 мм, а потім відсіювали за допомогою сит лабораторних СЛМ-200 (розмір отворів 0,35 мм та 2,0мм). Ступінь подрібнення сировини забезпечує рівномірність змішування компо-

нентів розробленого збору та максимальний вихід діючих речовин у водну витяжку.

Контролюють розмір часток та однорідність просіву вихідної сировини.

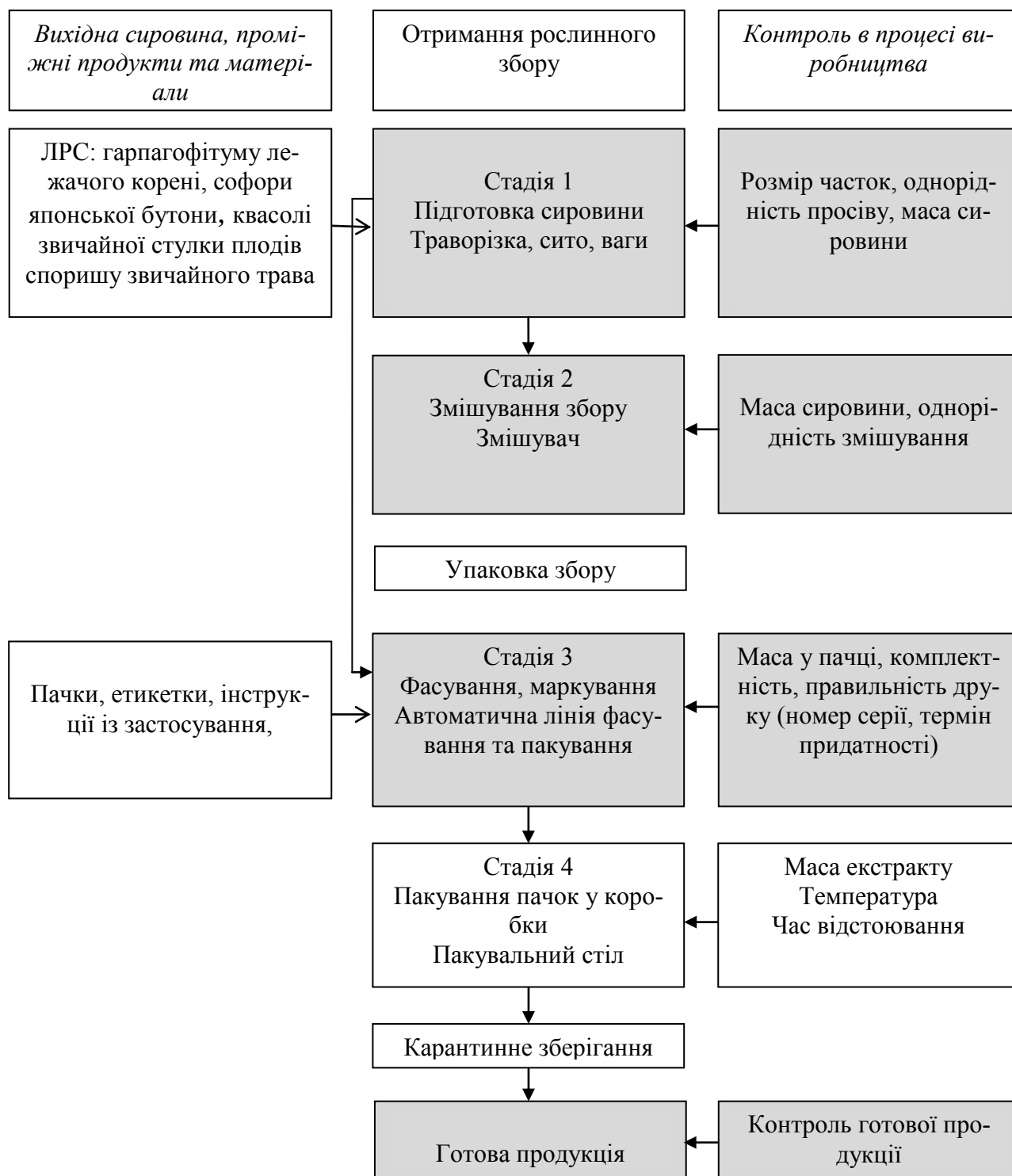


Рис. 5.1 Схема виробництва рослинного збору «Ревмаверт»

Стадія 2. Отримання збору. Проводили змішування подрібненої та просіяної сировини, починаючи з рослинних компонентів, які входять у меншій кількості, поступово додаючи сировину, яка прописана у більший кількості.

Контролюють масу сировини та однорідність змішування.

Стадія 3. Фасування та маркування. Отриманий збір фасували у поліетиленові пакети. Разом з інструкцією із застосування пакують у картонні пачки по 100 г.

Контролюють масу пачок, комплектність, правильність друку (номер серії, термін придатності)

Стадія 4. Пакування пачок у коробки. По 40 пачок вміщують в гофроящик, на який наклеюють групову етикетку з номером укладальника-пакувальника.

Контролюють відповідність графічного оформлення серії, кількість пачок у коробці, комплектацію коробок.

5.3.1 Дослідження з вибору оптимального режиму отримання витяжки зі збору

Враховуючи, що лікарські рослинні збори це напівфабрикати, кінцевим продуктом яких є водні витяжки, що готуються споживачами у домашніх умовах, подальші наші дослідження були спрямовані на вивчення впливу способу настоювання збору. З даною метою настої зі збору готували у наступних режимах: заливанням збору окропом та настоюванням протягом 15, 30, 45, 60 хв, а також до повного охолодження (90 хв) [97]. Результати проведених досліджень наведені в табл. 5.4.

Згідно з даними табл. 5.4, вміст екстрактивних речовин та флавоноїдів у водній витяжці поступово зростав з часом настоювання та досягав максимуму через 60 хв. Зважаючи на те, що через 90 хв кількісний вміст діючих речовин істотно не змінювався, а вміст екстрактивних речовин збільшувався, рекомендованим є настоювання збору протягом 60 хв.

Вплив режиму настоювання на якість водних витягів із збору (n= 3)

Режим настоювання	Органолептичні показники	Екстрактивні речовини, %	Вміст флавоноїдів, %
Протягом 15 хв	Прозорий із специфічним ароматним запахом, світло-коричневого кольору	40,15±0,39	0,46±0,02
Протягом 30 хв	Прозорий із специфічним ароматним запахом, світло-коричневого кольору	40,46±0,55	0,48±0,01
Протягом 45 хв	Прозорий із специфічним ароматним запахом, світло-коричневого кольору	47,76±0,41	0,50±0,01
Протягом 60 хв	Прозорий із специфічним ароматним запахом, коричневого кольору	49,57±0,52	0,52±0,03
Протягом 90 хв (до охолодження)	Прозорий із специфічним ароматним запахом, коричневого кольору	50,09±0,39	0,52±0,02

5.4 Розробка параметрів стандартизації рослинного збору

Проведення стандартизації ЛРС та вдосконалення методів контролю якості готового рослинного засобу є гарантією їх якості та забезпечення ефективності та безпечності їх застосування [89, 90, 91, 96]. Згідно зі статтею ДФУ «Лікарські збори», збори повинні контролюватися за макро- та мікроскопічними ознаками; показниками якості (вміст екстрактивних речовин, втрата в масі при висушуванні, вміст загальної золи, вміст органічних та мінеральних домішок і ступінь подрібнення), мікробіологічною чистотою, а також за якісним складом та кількісним вмістом БАР [24, 203].

5.4.1 Ідентифікація збору за макро- та мікроскопічними ознаками

Одним із етапів стандартизації рослинних ЛЗ, зокрема зборів, є проведення ідентифікації за макро- та мікроскопічними ознаками. Проведення макроскопічного ана-

лізу дозволяє встановити зовнішні діагностичні ознаки подрібненої сировини, за допомогою мікроскопічного аналізу визначаються анатомічні діагностичні ознаки компонентів збору, методика наведена у розділі 2 п. 2.5.3. методика 1.

За зовнішнім виглядом збір має відповідати наступним вимогам: рівномірною суміш шматочків розміром 0,35-2,0 мм різної форми, сірувато-зеленого кольору з включеннями жовтого кольору різних відтінків, із специфічним ароматним запахом. При перегляді збору під лупою виявляються наступні складові компоненти:

1) шматочки товстих, віялоподібних або округлих шматочків, на поверхні яких наявні жовті або коричнювато-червоні гранули (гарпагафітуму корені);

2) шматочки чашечки темно-зеленого або коричневого кольору, частки квітковіжок, шматочки блідо-жовтого або коричнювато-жовтого віночка, фрагменти тичинок і маточки (софори бутони);

3) шматочки оплодня, в яких зовнішня поверхня гладка, має матовий світло-жовтий або жовтий колір, а внутрішня поверхня блискуча, біла або жовтувато-біла. Інколи наявні фрагменти плодоніжки (квасолі звичайної стулки плодів).

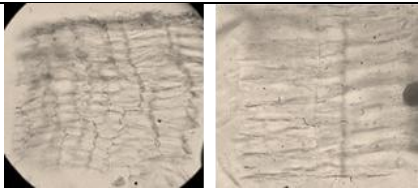
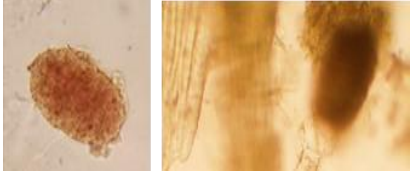
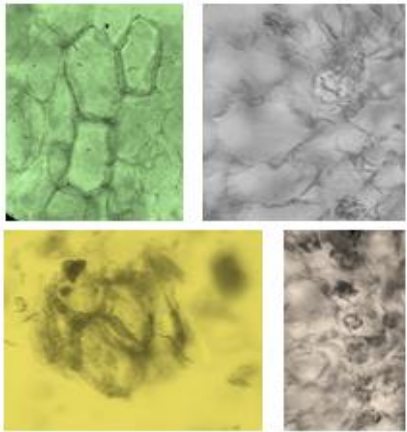
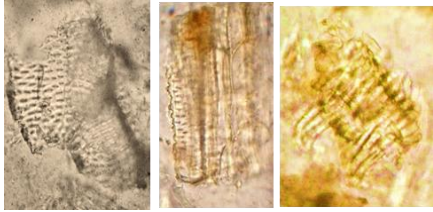
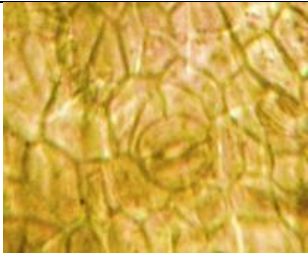
4) шматочки циліндричних вузлуватих світло-зелених стебел; частинки листків зеленого кольору і прозорих розтрубів; шматочки зеленувато-білих і білувато-рожевих квіток, тригранні коричневі або чорні матові горішки (трава споришу).

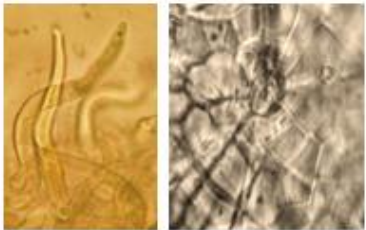
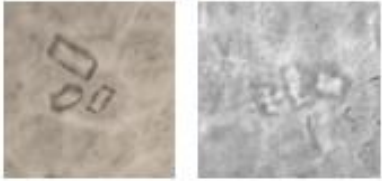
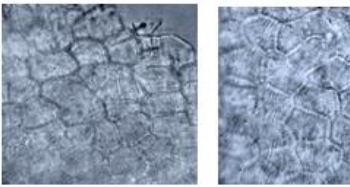
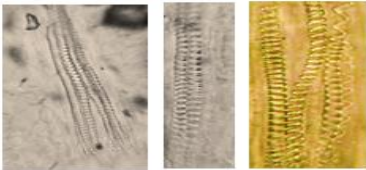
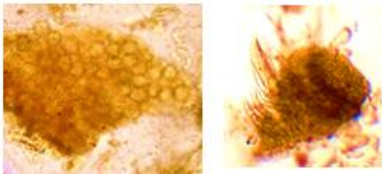
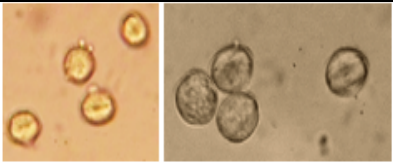
Для мікроскопічного аналізу використовували збір, світло-жовто-зеленуватого кольору, який подрібнений на порошок (355) (2.9.12) за методикою у розділі 2 п. 2.3.3.

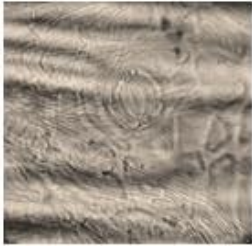
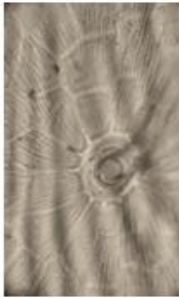
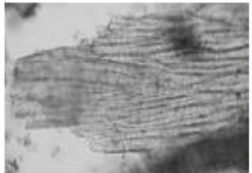
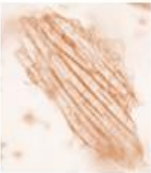
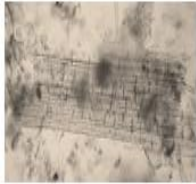
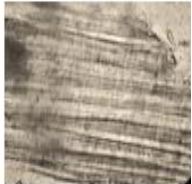
В полі зору мікроскопа спостерігали фрагменти всіх його складових: гарпагафітуму лежачого корені, софори японської бутони, квасолі звичайної стулки плодів, споришу звичайного трави. Мікроскопічна картина збору характеризувалася наявністю всіх анатомо-діагностичних ознак окремих його компонентів. Діагностичні ознаки наведені у табл. 5.6.

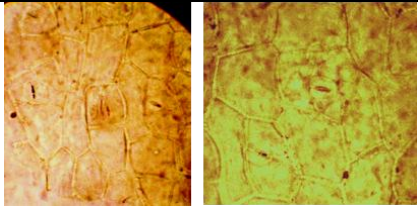
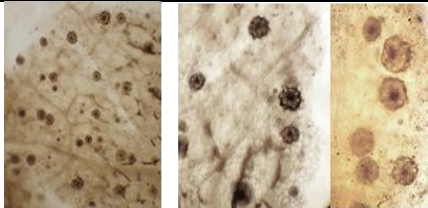
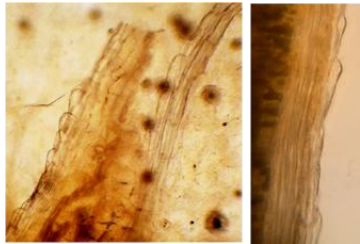
Встановлені діагностичні морфолого-анатомічні ознаки досліджуваного збору лікарських рослин, які дадуть можливість ідентифікувати наявність кожного компонента збору та підтвердити його тотожність.

Мікроскопічні ознаки ЛРС, що входить до складу рослинного збору

№	Мікроскопічні ознаки	Ілюстрація
Фрагменти гарпагофітуму лежачого коренів		
1	Фрагменти пробки із тонкостінних клітин, що набувають червоного забарвлення під впливом <i>молочної кислоти реактиву Р</i>	
2	Склереїди з пористими оболонками	
3	Цілісні і порушені клітини з червонувато-коричневим вмістом	
4	Фрагменти клітин паренхіми з більш чи менш потовщеними, прямими або звивистими стінками, інколи з дрібними призматичними кристалами кальцій оксалату та друзами. Під дією розчину <i>флороглюцину Р</i> у кислоті <i>хлористоводневій Р</i> паренхіма набуває зеленого забарвлення.	
5	Фрагменти сітчастих, пористих та драбинчастих судин і трахеїдів.	
Фрагменти софори японської квіток		
1	Фрагменти чашечки з прямокутними клітинами епідерми, вкритими штрихуватою кутикулою, про- дихами аномоцитного типу.	

1	2	3
2	Фрагменти тканин з коричнево-жовтими масивами кристалізованого рутину.	
3	Фрагменти епідерми чашечки і квітконіжки з покривними волосками, які складаються з 1-2 коротких базальних клітин, довгої загостреної, зігнутої, товстостінної дистальної клітини, розетки і валика, що залишаються після обламування волоска.	
4	Часто зустрічаються відокремлені покривні волоски або їх частки.	
5	Фрагменти паренхіми чашолистків з дрібними призматичними кристалами кальцій оксалату або їх скупченням.	
6	Фрагменти пелюсток з гладкою або сосочкуватою епідермою, вкритою дрібноскладчастою кутикулою.	
7	Спіральні та кільчасті судини жилок.	
8	Фрагменти пиляків і волосистої маточки.	
9	Пилкові зерна з трьома проростковими порами та гладенькою екзиною.	
Фрагменти квасолі звичайної стулок плодів		

1	2	3
1	Фрагменти стулок, зовнішня епідерма яких складається з 5-6-кутних прямокутних клітин, вкритих складчастою кутикулою, та з продихів, оточеними 3-4 вузькими клітинами і другим додатковим колом із 5-6 клітин.	 
2	Прості одноклітинні волоски із багатоклітинною розеткою, загостреною прямою або гачкуватою верхівкою та потовщеним валиком при основі; фрагменти епідерми з розеткою і валиком, що залишається після обламування клітин волоска.	 
3	Тяжі веретеноподібних клітин гіподерми із значно потовщеними, шаруватими целюлозними оболонками.	 
4	Фрагменти внутрішньої поверхні стулок, вкритої епідермою без продихів і трихом, з тонко- і прямокутними базисними клітинами.	
5	Фрагменти провідних пучків із судинами, трахеїдами і членистими молочниками з темним вмістом.	
6	Склеренхімні волокна пергаментного шару.	 
7	Дрібні кристали кальцій оксалату призматичної та паличкоподібної форми.	

1	2	3
Фрагменти споришу звичайного трави		
1	Епідерма листків з базальними клітинами, що мають прямими або трохи звивисті оболонки і складчасту кутикула, та продихи анізочитного типу.	
2	Фрагменти листків і стебел з численними друзами великих і середніх розмірів. Фрагменти листка стають майже чорними під впливом розчину 0.1 г/л заліза (III) хлориду Р.	
3	Групи волокон стебла з товстими здерев'янілими оболонками (стають коричнево-жовтими під впливом молочної кислоти реактиву Р).	
4	Клітини паренхіми з флавоноїдами, які набувають червоно-фіолетового забарвлення під дією розчину 675 г/л калію гідроксиду Р при обережному нагріванні.	
5	Край листової пластинки з сосочкоподібними, закругленими виростами, вкритими товстою кутикулою і спрямованими до верхівки пластинки.	

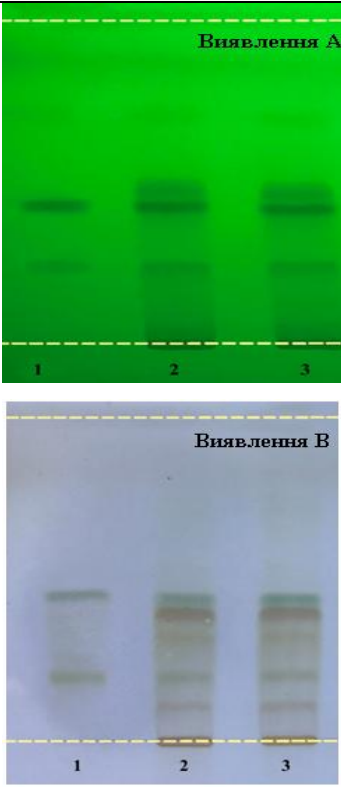
5.4.2 Ідентифікація речовин-маркерів збору

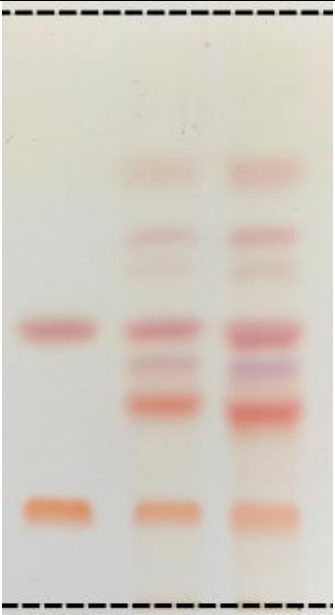
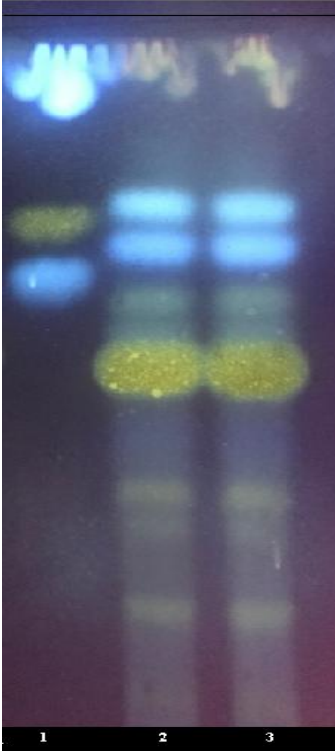
Встановлення справжності рослинного компонента у рослинних засобах залежить від наявності їх БАР у досліджуваних зразках. Ідентифікацію БАР кожного з рослинних компонентів збору проводили методом ТШХ (2.2.27). Для досліджень використовували методики ідентифікації, які наведені у відповідних монографіях

ДФУ [26, 27, 132]. Умови проведення та результати досліджень представлені у табл. 5.7.

Таблиця 5.7

Ідентифікація основних БАР рослинного збору

№	Методика монографії ДФУ	Умови методики	Вид отриманої хроматограми
1	2	3	4
1	ДФУ 2.0. «Гарпагофіту- му лежачого корені»	1 - Розчин порівняння: 1 мг <i>гарпагозиду Р</i> і 2.5 мг <i>фруктози Р</i> розчиняють у 1 мл <i>метанолу Р</i>. 2, 3 - Випробовуваний розчин: 1 г збору у 10 мл <i>метанолу Р</i>. Рухома фаза: <i>вода Р - метанол Р - етилацетат Р</i> (8:15:77). Виявлення А: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. Виявлення В: обприскують розчином 10 г/л <i>флороглюцину Р в етанолі (96%) Р</i>, а потім <i>хлористоводневою кислотою Р</i> нагрівають при температурі 80 °С, переглядають при денному світлі.	
	ДФУ 2.1. «Софори бутони»	1 - Розчин порівняння: 10 мг <i>рутину Р</i> і 10 мг <i>гіперозиду Р</i> розчиняють у 10 мл <i>метанолу Р</i>. 2, 3 - Випробовуваний розчин: 1 г збору у 10 мл <i>метанолу Р</i>. Рухома фаза: <i>мурашина кислота безводна Р - вода Р - етилацетат Р</i> (10:10:80) Виявлення: хроматограму висушували на повітрі, після чого пластинки обприскували розчином, що містить 10 г/л <i>дифенілборної кислоти аміноетилового</i>	

1	2	3	4
		<i>ефіру Р і 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р; висушували у потоці теплого повітря. Через 30 хв переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.</i>	
	Проект монографії ДФУ «Квасолі звичайної стулки плодів»	1 - Розчин порівняння. 1 мг <i>аргініну Р</i> та 1 мг <i>глутамінової кислоти Р</i> розчиняють у 10 мл <i>метанолу Р</i>. 2, 3 - Випробовуваний розчин: 1 г збору у 10 мл <i>метанолу Р</i>. Рухома фаза: <i>бутанол Р – кислота оцтова льодяна Р – вода Р</i> (40:10:10) Виявлення: обприскують розчином <i>нінгідрину Р1</i> та переглядають при денному світлі при нагріванні при температурі (100-105)°С протягом 5 хв.	 1 2 3
	ДФУ 2.0. «Спориш»	1 - Розчин порівняння: 1 мг <i>кофейної кислоти Р</i>, 2.5 мг <i>гіперозиду</i> і 1 мг <i>хлорогенової кислоти Р</i> розчиняють у 10 мл <i>метанолу Р</i>. 2, 3 - Випробовуваний розчин: 1 г збору у 10 мл <i>метанолу Р</i>. Рухома фаза: <i>мурашина кислота безводна Р - оцтова кислота льодяна Р - вода Р - етилацетат Р</i> (7:7:14:72). Виявлення: обробляють розчином 10 г/л <i>дифеніл-борної кислоти аміноетилового ефіру Р</i> у <i>метанолі Р</i>, потім розчином 50 г/л <i>макроголу 400 Р</i> у <i>метанолі Р</i>, висушують на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.	 1 2 3

Представлені у табл. 5.6 хроматограми випробовуваних розчинів досліджуваного збору відповідали вимогам відповідних монографій на ЛРС, яка входить до складу збору. Отже, отримані дані дають змогу підтвердити наявність у зборі такої сировини, як гарпагофітуму лежачого корені, софори японської бутони, квасолі звичайної стулки плодів, споришу звичайного трава, якість якої відповідає фармакопейним вимогам.

5.4.3 Визначення показників якості та кількісного вмісту біологічно активних речовин збору

Згідно з вимогами ДФУ, у зборі були визначені показники: вміст екстрактивних речовин (екстрагент-вода), втрата в масі при висушуванні, вміст загальної золи, вміст мінеральних домішок і ступінь подрібнення) [24, 95].

Результати досліджень за числовими показниками наведені у табл. 5.8.

Таблиця 5.8

Результати визначення числових показників якості збору (n =3)

Втрата в масі при висушуванні, %	Зола загальна, %	Вміст екстрактивних речовин, %	Вміст мінеральних домішок, %	Ступінь подрібнення, мм
9,46±0,29	4,53±0,32	55,24±0,02	0,2±0,32	0,35-2,0

Кількісний вміст БАР у зборі визначали за методиками монографій ДФУ «Гарпагофітуму лежачого корені», «Спориш» та проекту монографії ДФУ «Квасолі звичайної стулки плодів^N». Нами було проаналізовано ряд зразків збору та встановлено вміст гарпагозиду методом ВЕРХ, методом спектрофотометрії визначено вміст суми амінокислот у перерахунку на аргінін та вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин. Результати визначення вмісту БАР у зборі та статистичної обробки проведених дослідів представлені у табл. 5.9.

Згідно з представленими даними у табл. 5.9 у досліджуваному зборі встановлено вміст (%) амінокислот (0,36±0,01), флавоноїдів (4,93±0,01) та гарпагозиду (0,41±0,01).

Таблиця 5.9

**Метрологічні характеристики методик визначення БАР
у досліджуваному зборі**

M	N	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	$\Delta X, \%$	$\varepsilon, \%$
Вміст гарпагозиду								
5	4	0,412	0,000001	0,000374	0,95	2,78	0,41±0,00	0,25
Вміст амінокислот у перерахунку на аргінін								
5	4	0,362	0,000000	0,000058	0,95	2,78	0,36±0,00	0,45
Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин								
5	4	4,934	0,000074	0,003855	0,95	2,78	4,93±0,01	0,06

5.4.4 Вивчення мікробіологічних показників збору

Визначення мікробіологічних показників збору проводили відповідно до вимог статті ДФУ «Загальні тексти з мікробіології», які встановлені для водних ЛЗ для орального застосування [24]. Результати представлені у табл. 5.10.

Таблиця 5.10

Результати контролю мікробіологічної чистоти збору

Показник	Вимоги ДФУ	Результати контролю
Загальна кількість аеробних мікроорганізмів ТАМС (КУО г/мл)	10^4	290
Загальна кількість дріжджових та плісневих грибів ТУМ С (КУО г/мл)	10^2	< 10
<i>Escherichia coli</i> , в 1г/1мл	відсутність	відсутні

Результати мікробіологічних досліджень рослинного збору, які представлені у табл. 5.10 відповідали вимогам ДФУ.

Результати визначення параметрів стандартизації серій рослинного збору «Ревмаверт» наведені у табл. 5.11.

Таблиця 5.11

Результати визначення параметрів стандартизації збору «Ревмаверт»

Найменування показника	№ серії				
	230318	250318	120418	160518	210518
<i>Опис</i> Рівномірна суміш шматочків розміром 0,35-2,0 мм різної форми, сірувато-зеленого кольору з включеннями жовтого кольору різних відтінків, із специфічним ароматним запахом	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
<i>Ідентифікація методом ТШХ</i> <i>Іридоїди</i> На хроматограмі повинні виявлятися хроматографічні зони відповідні гарпагозиду Р та фруктози Р <i>Флавоноїди</i> На хроматограмі повинна виявлятися хроматогра-фічна зона відповідна рутину Р	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
<i>Втрата в масі при висушуванні</i> Не більше 10,0 %	9,46±0,29	8,97±0,31	9,04±0,18	8,32±0,24	8,74±0,32
<i>Загальна зола</i> – не більше 6,0 %	4,53±0,32	5,03±0,41	5,19±0,26	4,89±0,39	4,67±0,33
<i>Важкі метали</i> – не більше 0,001 %	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
<i>Мікробіологічна чистота</i> Загальна кількість життєздатних бактерій $\leq 10^4$ КОЕ г/мл Загальна кількість життєздатних грибів $\leq 10^2$ КОЕ г/мл Enterobacteriaceae – відсутність	310 < 10 немає	320 < 10 немає	280 < 10 немає	300 < 10 немає	320 < 10 немає
<i>Кількісне визначення методом ВЕРХ</i> Кількісний вміст гарпагозиду не менше 0,4 % <i>Кількісне визначення спектрофотометричним методом</i> Кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин не менше 4,5 %	0,41±0,01 4,93±0,01	0,42±0,02 5,01±0,03	0,41±0,02 4,89±0,03	0,41±0,01 5,03±0,02	0,43±0,01 4,96±0,02

5.5 Вивчення анальгетичної та протизапальної активності збору (обговорення результатів фармакологічних досліджень)

Вивчення анальгетичної активності заявленого рослинного збору проводили на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів відповідно до розділу 2. п. 2.3.5 методика 1.

Препаратом порівняння було обрано зареєстрований на території України лікарський засіб для внутрішнього застосування «Фонг Те Тхап» (ЛТД «ФІТО ФАРМА Ко.», В'єтнам) [44]. Експериментальні дози заявленого рослинного збору та для референтного засобу «Фонг Те Тхап» розраховували із використанням дози еквівалентних для тварин (AED) із урахуванням середньо терапевтичних добових доз препаратів для людини й міжвидової різниці маси та площі поверхні тіла [158]. Згідно з цим, експериментальна доза готового, настояного та профільтрованого збору для тварин склала – 11,3 мл/кг в об'ємному вираженні. Доза препарату порівняння препарату «Фонг Те Тхап» склала – 4 мл/кг в об'ємному вираженні, що в перерахуванні на гомаломени кореневище (один з основних компонентів препарату) дорівнювало 340 мг/кг.

Анальгетичну активність оцінювали за сумарним часом епізодів больових реакцій першої (1-10 хв) та другої фази (30-50 хв), що виражалися в підбиранні, облизуванні, погризуванні або струшуванні лапи щурів.

Отримання щурами відвару зі збору приводило до вірогідного зменшення загального часу больових відчуттів у порівнянні з даними групи контрольної патології в 1,36 разів, але статистично значущих відмінностей від аналогічного показника в групі референтного засобу не було, хоча й мала тенденція до зменшення больового часу (табл. 5.11).

За даними табл. 5.12 досліджуваний рослинний збір за вираженістю анальгетичної активності перевищував препарат порівняння «Фонг Те Тхап». Ефективна доза заявленого рослинного збору становила 11,3 мл/кг.

Таблиця 5.11

**Показники анальгетичної активності заявленого рослинного збору
у формаліновому тесті ($X \pm S_x$)**

Експериментальна група (n=10)	Загальний час больової реакції I-ої фази, хв.	Загальний час больової реакції II-ої фази, хв.
Контрольна патологія	7,42±0,61	14,18±1,07
Відвар зі збору	6,97±0,62	10,45±0,76*
Референтний засіб	7,06±0,52	12,38±1,24

Примітки. * – відмінності вірогідні відносно тварин групи контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Вивчення протизапальної активності досліджуваного збору проводили на моделі формалінового та карагенінового набряків нижньої кінцівки у щурів відповідно до розділу 2. п. 2.3.5 методики 2.

Протизапальну активність на моделі формалінового тесту визначали через 3 год після введення флогогену за допомогою механічного онкометра. Антиексудативні властивості оцінювали на моделі карагенінового набряку у щурів в динаміці. Розмір набряку вимірювали через 3 год після введення карагеніну за допомогою механічного онкометра [111, 112]. Показники антиексудативної активності наведені у табл. 5.12.

Таблиця 5.12

**Показники антиексудативної активності заявленого рослинного збору у
формаліновому тесті ($X \pm S_x$), %**

Експериментальна група (n=10)	Формаліновий набряк	Карагеніновий набряк
Відвар зі збору	16,4%	23,8%
Референтний препарат	12,6%	19,3%

За даними табл. 5.12, досліджуваний рослинний збір за вираженістю антиексудативної активності перевищував препарат порівняння «Фонг Те Тхап». Ефектив-

на доза заявленого рослинного збору становила 11,3 мл/кг. Отже, результати проведених фармакологічних досліджень підтвердили анальгетичну та протизапальну активність досліджуваного збору.

Висновки до розділу 5

1. Розроблено склад та технологічну схему виробництва рослинного збору «Ревмаверт»: гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*), софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*), квасолі звичайної стулки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), споришу звичайного трава (*Polygoni avicularis herba*) при наступному співвідношенні компонентів: (50:20:20:10), для якого, у відповідності з вимогами ДФУ, та встановлені показники якості збору: макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки, втрата в масі при висушуванні ($9,46 \pm 0,29$ %), зола загальна ($4,53 \pm 0,32$ %), вміст екстрактивних речовин, що екстрагуються водою ($55,24 \pm 0,02$ %).
2. Проведено ідентифікацію БАР кожного з рослинних компонентів збору з визначенням речовин-маркерів методом ТШХ: гарпагофітуму лежачого корені (гарпагозид), софори японської бутони (рутин та гіперозид), квасолі звичайної стулки плодів (аргінін та глютамінова кислота), споришу звичайного трава (кофейна кислота, гіперозид, хлорогенова кислота) та встановлена відповідність вимогам відповідних монографій на ЛРС, яка входить до складу збору. Досліджено кількісний вміст БАР у зборі: вміст суми амінокислот у перерахунку на аргінін становив $0,36\% \pm 0,01$, вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин - $4,93\% \pm 0,01$, вміст гарпагозиду - $0,41\% \pm 0,01$.
3. Визначені технологічні параметри вихідної сировини: питома, об'ємна та насипна маса, пористість, порізність сировини та встановлений оптимальний ступень подрібнення сировини у зборі, що становив від 0,35 мм до 2,00 мм. Встановлено, що рекомендованим способом настоювання збору для пацієнтів є 60 хв, оскільки вміст екстрактивних речовин та флавоноїдів в отриманому водному витязі був найбільшим і складав $49,57 \pm 0,52$ % та $0,52 \pm 0,03$ % відповідно.

4. Для розробленого рослинного збору «Ревмаверт» вивчені анальгетична та протизапальна дії на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів та встановлено, що рослинний збір у дозі 11,3 мл/кг (що відповідає не менше ніж 37,0 мг/кг гарпагозиду) мав виражені анальгетичні та протизапальні властивості.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Kriukova A., Vladymyrova I. Determination of technological parameters and indicators of the quality of new herbal collection. *EUREKA: Health Sciences*. 2018. № 6. P. 61-68 (*особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, участь у написанні статті*).
2. Крюкова А. І., Литкін Д. В., Загайко А. Л., Владимірова І. М. Рослинний збір з анальгетичною та протизапальною активністю : пат. 129448 України № u201805966 ; заявл. 29.05.18 ; опубл. 25.10.18. Бюл. № 20. (*особистий внесок – участь у патентному пошуку, плануванні та проведенні експериментальних досліджень та оформленні матеріалів*).
3. Kriukova A., Vladymyrova I., Gubar S. Development of standardization parameters of herbal species. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student*, Kharkiv, April 18–20, 2018. Kharkiv : NUPh, 2018. P. 22.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено вирішення наукової проблеми, що полягає у розробці та стандартизації комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів, фітохімічному вивченні та стандартизації вихідної лікарської рослинної сировини і напівпродуктів та дослідженні їх протизапальних і анальгетичних властивостей.

1. У результаті проведеного аналізу даних наукової літератури встановлено актуальність розробки комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів, проаналізовано сучасний стан та поширеність даних захворювань, напрямки їх фармакотерапії та фітотерапії.

2. Проаналізовано номенклатуру сучасних лікарських засобів, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату та встановлено наявність 18 торгових найменувань у різних лікарських формах. Серед яких найбільшу частку займають таблетки (42,4 %), розчини для ін'єкцій та краплі для перорального застосування займають 24,2 % та 9,1 % відповідно, м'які лікарські форми представлені мазями та гелями (по 6,1 %), інші лікарські форми (капсули, гранули) представлені незначною часткою. У даній групі ЛЗ переважаючу частку займають гомеопатичні препарати (34,6 %) та хондропротектори (26,9 %). Досліджено асортимент добавок дієтичних, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату, який, в основному, представлений засобами імпортного виробництва.

3. Обґрунтовано вибір об'єктів дослідження в залежності від стратегії лікування ревматичних захворювань та розроблено алгоритм вибору лікарських рослин при ревматичних захворюваннях з урахуванням етіопатогенетичних чинників та нозологічних форм захворювань.

4. Проведено дослідження сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності з вимогами монографії ЄФ «Sophora Flower-buds», «Sophora Flower», «Devil's claw Root» із апробації методик контролю якості монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки» та ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» відповідно. Визначено якість сировини за такими показниками як ідентифікація, що включає зовнішні та мікроскопічні ознаки, тонкошаро-

ву хроматографію; кількісне визначення; сторонні домішки; втрата в масі при висушуванні; загальна зола.

5. Розроблено спосіб ідентифікації та кількісного визначення аргініну та глютамінової кислоти у квасолі звичайної стулках плодів та визначено її валідаційні характеристики. Розроблено проекти національних монографії ДФУ «Квасолі звичайної стулки плодів^N» та «Софори плоди^N».

6. Методом атомно-емісійної спектрографії визначений вміст 12 макро- та мікроелементів у софорі бутонх, софорі квітках, гарпагофітуму лежачого коренях та квасолі звичайної плодах. Софора характеризувалась високим вміст кровотворних мікроелементів: феруму – 23,00 мг/100 г у квітках та 7,40 мг/100 г у бутонх і купруму – 0,65 мг/100 г у квітках і 1,55 мг/100 г у бутонх. У гарпагофітуму лежачого коренях та квасолі звичайної стулках плодів переважали калій (800 мг/100 г, 2520,00 мг/100 г відповідно) та кальцій (450 мг/100 г, 650,00 мг/100 г відповідно). Методом ВЕРХ у гарпагофітуму лежачому коренях та квасолі звичайної стулках плодів визначений вміст амінокислот та встановлений переважний вміст загальних амінокислот. Методом ГХ-МС у гарпагофітуму лежачому коренях було виявлено 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів; встановлений вміст 18 вільних та зв'язаних моносахаридів.

7. Встановлено, що оптимальним екстрагентом для одержання гарпагофітуму коренів екстракту сухого є етиловий спирт 20 %. Для одержаного гарпагофітуму екстракту визначені параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ, визначені фармако-технологічні показники, досліджені протизапальні та анальгетичні властивості.

8. Обґрунтовано склад та розроблено промислову технологію одержання м'яких капсул «Остеоверт» та збору рослинного «Ревмаверт», для яких визначені показники якості у відповідності до вимог ДФУ. Технологія виробництва введена в умовх ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС», досліджені протизапальні та анальгетичні властивості збору.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алексеева Л. И. Медикаментозное лечение остеоартроза. *Русский медицинский журнал*. 2012. № 19 (22). С. 996–1002.
2. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств : в 3-х т. на русском языке / под ред. чл.-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. К. : НТМТ, 2011. Т. 2. 474 с.
3. Арзамасцев А. П. Стандартные образцы для фармакопейного анализа. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2010. № 5. С. 6–10.
4. Атлас з анатомії рослин (рослинна клітина, тканини, органи): навч. посіб. для студентів вищ. навч. закладів / А. Г. Сербін та ін. Х. : Колорит, 2006. 86 с.
5. Балабанова Р. М. Применение диацереина для лечения остеоартроза крупных суставов (обзор литературы). *Современная ревматология*. 2015. Т. 9, № 3. С. 30–32.
6. Балабанова Р. М. Терапия боли при ревматических заболеваниях. *Сімейна медицина*. 2015. № 3. С. 211–214.
7. Бондаренко А. С., Дем'яненко Д.В., Гладух Є.В. Дослідження технологічних параметрів лікарської рослинної сировини при створенні сиропу для лікування застудних захворювань. *Вісник фармації*. 2011. № 3. С. 17–19.
8. Борткевич О. П. Эффективность препарата Пискледин 300 у лікуванні пацієнтів з остеоартрозом: доведено в дослідженнях, підтверджено європейською практикою. *Клінічні дослідження*. 2015. № 1 (59). С. 61–65.
9. Вишневська Л. І. Технологічні дослідження лікарської рослинної сировини та їх композицій у створенні нових препаратів. *Вісник фармації*. 2008. № 4 (56). С. 33–38.
10. Вронська Л. В. Обґрунтування вибору екстрагента біологічно активних речовин стулок квасолі звичайної. *ScienceRise*. 2015. Т. 12, № 4 (17). С. 47–53.
11. Галкін О.Ю., Котов А.Г. Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів у плодах софори японської (*Sophora japonica* L.). *Аналіз лікарських препаратів*. 2007. № 4. С. 77–81.

- 12.Галушко Е. А. Медико–социальная значимость ревматических заболеваний : дис. канд. мед. наук. М., 2011. 204 с.
- 13.Гарна С. В., Ветров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної науки та практики*. 2012. № 1 (8). С. 54–57.
- 14.Головач И. Ю., Авраменко О. Н., Куринная Л. И. Оценка качества жизни, тревожности и депрессии у пациентов с ревматоидным артритом. *Український ревматологічний журн*. 2014. № 55 (1). С. 3–7.
- 15.Государственная фармакопея Республики Беларусь. (ГФ. РБ II): Разработана на основе Европейской фармакопеи. В 2 т. Т. 2. Общие и частные фармакопейные статьи / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. — Молодечно: Тип. «Победа», 2007. — 471 с.
- 16.Гризодуб А. И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. *Аналитическое обеспечение создания, стандартизации и контроля качества лекарственных средств*. Харьков : НТМТ, 2011. Т. 3. С. 934–1063.
- 17.Гризодуб А. И., Евтифеева О. А., Проскурина К. И. Особенности фармакопейного подхода к количественному определению фитохимических препаратов. *Фармаком*. 2012. № 3. С. 7–30.
- 18.Гризодуб А. И., Евтифеева О. А., Проскурина К. И. Стандартизованная процедура валидации спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в варианте метода показателя поглощения. *Фармаком*. 2014. № 1. С. 29–39.
- 19.Гризодуб А. И., Левашова О. Л. Борщевский Г. И. Стандартизованная процедура валидации методик атомно–абсорбционного количественного определения лекарственных средств в варианте калибровочного графика. *Фармаком*. 2011. № 4. С. 5–26.
- 20.Гриненко А. Преимущества капсул из растительного сырья. *Новости GMP*. 2017. № 1 (12). С. 190–192.

21. Давішня Н. В., Зупанець І. А., Шебеко С. К. Рациональна терапія остеоартрозу: перспективи застосування комбінованих хондропротекторів у топічних лікарських формах. *Клінічна фармація*. 2015. Т. 19, № 3. С. 17–21.
22. Демографія і стан здоров'я населення України: аналітично – статистичний посібник / Т.С. Маноненко, І.Л.Ревенко// - Київ – 2012 р. – 211 с.
23. Дем'яненко Д. В., Бреусова С. В., Дем'яненко В. Г. Вивчення технологічних властивостей судців липи серцелистої. *Вісник фармації*. 2009. № 3. С. 41–45.
24. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
25. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.
26. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
27. Державна Фармакопея України. Доповнення 1 / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
28. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. — 336 с.
29. Державний реєстр лікарських засобів України 2018 рік. URL: <http://www.drlz.kiev.ua/> (дата звернення: 20.11.2018).

- 30.Дроговоз С.М., М.В. Зупанец. Изучение антиартритной активности производных солей глюкозамина и N-фенилантраниловых кислот / С.М. Дроговоз, М.В. Зупанец. *Врач-аспирант*. 2014. №4(65). С. 31–35.
- 31.ДСанПіН 4.2-180-2012 Медичні вимоги до якості та безпечності харчових продуктів та продовольчої сировини Наказ Міністерства охорони здоров'я України 29.12.2012 № 1140. URL: http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=51228 (дата звернення: 20.11.2018)
- 32.ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001 Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоймищ, ґрунті : Постанова Головного державного санітарного лікаря України 20.09.2001 № 137 (<http://www.milkiland.nl/upload/pdf/laws/ua/8.8.1.2.3.4-000-2001.pdf>) (дата звернення: 20.11.2018)
- 33.Железинская Н. В. Современное состояние и нерешенные вопросы диагностики и прогнозирования течения наиболее распространенных заболеваний суставов (обзор литературы) Ч. 2. *Медицинский вестник*. 2010. Т. 44 (2). С. 64–69.
- 34.Зупанец И. А., Бездетко Н. В., Усенко В. А. Фармацевтическая опека: Симптоматическое лечение суставной и мышечной боли. *Провизор*. 2002. № 12. С. 18–22.
- 35.Зупанец К. О., Отрішко І. А. Вплив композиції на основі аміноцукрів–похідних глюкозаміну та флавоноїду кверцетину на альтернативне і проліферативне запалення. *Вісник фармації*. 2010. № 1 (61). С. 69–71.
- 36.Изменение подходов к нормированию содержания тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах (обзор) / Н. Е. Кузьмина и др. *Хим.–фармац. журн*. 2015. Т. 49, № 7. С. 52–56.
- 37.Использование реакции с нингидрином в количественном определении алифатических аминов / О. Н. Кляшева и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 3. С. 321–325.
- 38.Коваленко В. М., Корнацький В. М. Демографія і стан здоров'я народу України (аналітично–статистичний посібник). Київ, 2010. 143 с.

- 39.Коваленко В. Н., Борткевич О. П., Бойчук Н. С. Применение препаратов гиалуроновой кислоты для лечения при ревматичних захворюваннях. *Укр. ревматол. журн.* 2015. № 1 (59). С. 12–17.
- 40.Ковалев С. В., Куцанян А.С., Дмитриевский Д.И., Сытник А.Г., Бородин Н.В., Ковалев Н.В. К стандартизації субстанции и лекарственной формы глифазинов. *Журнал орг. та фарм. хімії.* 2008. № 2 (22). С. 80-82.
- 41.Ковальов С. В., Ковальов В. М., Безугла О. М. Амінокислотний та мінеральний склад деяких видів в Phaseolus L. *Вісник фармації.* 2011. № 2 (66). С. 41–44.
- 42.Ковальов С. В., Ковальов В. М., Безугла О. М. Дослідження хімічного складу рослин роду Fabaceae –Phaseolus L. *Вісник фармації.* 2010. № 4 (64). С. 46–49.
- 43.Коломийцева М. А. Макро– и микроэлементы в организме человека: функции, дефицит/профицит. *Справочник специалиста.* 2008. № 20. С. 26–28.
- 44.Компендіум on line. URL: <http://compendium.com.ua> (дата звернення: 20.11.2018)
- 45.Кортиков В. Н., Кортиков А. В. Полная энциклопедия лекарственных растений. Ростов н/Д. : Изд-во «Эврика», 2009. С. 230–231.
- 46.Котов А. Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослину сировину до Державної Фармакопеї України. *Фармаком.* 2009. № 1. С. 5–19.
- 47.Котов А. Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослину сировину. Ч. 1. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації.* 2011. № 6 (20). С. 16–21.
- 48.Котов А. Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослину сировину. Ч. 2. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації.* 2012. № 1 (21). С. 4–9.
- 49.Котов А. Г., Котова Э. Э. Результаты введения монографий на лекарственное растительное сырье и препараты на его основе в Государственную Фармакопею Украины. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2014. № 6. С. 46–49.

- 50.Котова Е. Е., Котов А. Г. Систематизація фармакопейних вимог до методів контролю якості лікарської рослинної сировини. Уніфіковані спектрофотометричні методики. *Фармаком.* 2014. № 4. С. 22–34.
- 51.Котова Э. Э., Тихоненко Н. И., Котов А. Г. Стандартизация травы души–цы по количественному содержанию флавоноидов. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2011. Вип. XXIV, № 3. С. 38–42.
- 52.Красько М. П., Кремзер О. О., Красько В. В. Клінічна фармакологія та фармакотерапія в ревматології : посіб. для лікарів. Запоріжжя, 2016. С. 318.
- 53.Крылов А. А. Руководство по фитотерапии / А. А. Крылов, В. А. Марченко. СПб. : Питер, 2000. 416 с.
- 54.Крюкова А. И, Владимирова И. Н. Анализ лекарственных средств, содержащих гарпагофитум. *Vestnik.* 2015. Т. IV, № 4 (73) : Перспективы развития биологии, медицины и фармации : III междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, 9–10 дек. 2015 г. С. 115–117.
- 55.Крюкова А. И., Владимирова И. Н. Изучение минерального состава створок фасоли обыкновенной. *IV International scientific conference of young researchers.* Baku, Azerbaijan, 29–30 April, 2016. Baku, 2016. С. 261–262.
- 56.Крюкова А. И., Владимирова И. Н. Макроскопический анализ бутонов софоры японской. *Университетская наука: взгляд в будущее* : материалы междунар. науч.–практ. конф., посвящ. 81–летию Курского гос. мед. ун–та и 50–летию фармац. ф–та, г. Курск, 4–5 февр. 2016 г. Курск : ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, 2016. Т. III. С. 56–59.
- 57.Крюкова А. И., Владимирова И. Н. Мартиния душистая перспективное растение для создания лекарственных средств. *Наука в современном мире* : I Междунар. науч. практ. конф. для студентов, аспирантов и молодых ученых, 19 сент. 2015 г. К., 2015. С. 65–66.
- 58.Крюкова А. І., Владимирова І. М, Губарь С. М. Розробка методики ідентифікація амінокислот стулок квасолі звичайної. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріа-

- ли VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 56.
- 59.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату. *ScienceRise*. 2015. № 10/4 (15). С. 24–31.
 - 60.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Вивчення мінерального складу коренів гарпагофітуму лежачого (*Harpagophytum procumbens* DS.). *Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації* : Всеукр. наук.–практ. конф., м. Вінниця, 16 берез. 2016 р. Вінниця, 2016. С. 72–74.
 - 61.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Вивчення показників безпечності добавки дієтичної «Остеоверт». *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів та дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали I Міжнарод. наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 5 квіт. 2018 р. Х., 2018. С. 71–72.
 - 62.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Ідентифікація біологічно активних речовин коренів гарпагофітуму лежачого. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24-25 берез. 2016 р. Х., 2016. С 158–159.
 - 63.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Ідентифікація флавоноїдів пуп'янок софори японської. *Інновації в медицині* : 85–а наук.–практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, м. Івано–Франківськ, 24–25 берез. 2016 р. Івано–Франківськ, 2016. С. 236–337.
 - 64.Крюкова А. І., Владимірова І. М. Питання стандартизації стулок квасолі звичайної за вмістом амінокислот. *Хімія природних сполук* : матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 21-22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 121–122.
 - 65.Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Гарпагофітуму лежачого корені». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2018. № 1 (53). С. 6–13.

- 66.Крюкова А. І., Владимірова І. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Софори квітки», «Софори бутони». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2017. № 4 (52). С. 12–19.
- 67.Крюкова А. І., Губарь С. М., Владимірова І. М. Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії : інформ. лист № 222018 / Український центр наукової медичної інформації та патентноліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. Вип. 4. 4 с. (Рішення ПК «Фармація» Протокол № 103 від 25.10.2017 р.).
- 68.Крюкова А. І., Губарь С. М., Владимірова І. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Спосіб хроматографічного визначення аргініну та глютамінової кислоти квасолі звичайної стулок плодів : пат. 130641 України № u2018 01136 ; заявл. 06.02.18. Бюл.№24.
- 69.Крюкова А. І., Литкін Д. В., Загайко А. Л., Владимірова І. М. Рослинний збір з аналгетичною та протизапальною активністю : пат. 129448 України № u201805966 ; заявл. 29.05.18 ; опубл. 25.10.18. Бюл.№20.
- 70.Крюкова А. І., Серая Л. М., Владимірова І. М. Изучение макроскопических признаков корня *Harpagophytum procumbens* DC. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : II Міжнарод. наук.–практ. internet–конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. X., 2016. С. 144–145.
- 71.Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Визначення діагностичних морфолого-анатомічних ознак плодів софори японської та їх стандартизація. *Фітотерапія. Часопис*. 2015. № 3. С. 48–51.
- 72.Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація квіток софори японської за макроскопічними та мікроскопічними ознаками. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 1. С. 42–45.
- 73.Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація стулок квасолі звичайної за макро– та мікроскопічними ознаками. *ScienceRise*. 2016. № 2/4 (19). С. 32–37.

- 74.Крюкова А.І., Владимірова І. М. Визначення технологічних параметрів коренів гарпагофітуму лежачого (*Harpagophytum procombens* DC). *XXI міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України*. Тернопіль, 2017. С. 244.
- 75.Куркин В. А. Фармакогнозия : учеб. для студентов фармацевтических вузов (факультетов). 3-е изд., перераб. и доп. Самара : ООО «Офорт», ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России», 2016. 1279 с.
- 76.Курята О. В., Сіренко О. Ю., Лисунець Т. К. Біль у суглобах у хворих ревматологічного профілю: роль контролю тривожно депресивних розладів. *Український ревматологічний журн.* 2017. № 2 (68). С. 52–57.
- 77.Лекарственные средства и БАД, содержащие иву: тенденции и перспективы / Е. Г. Санникова и др. *Фармация*. 2015. № 5. С. 51-53.
- 78.Лесиовская Е. Е., Пастушенков Л. В. Фармакотерапия с основами фитотерапии : учеб. пособие. 2-е изд. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2003. С. 465-466.
- 79.Лисенко О. М., Набиванець Б. Й. Вступ до хроматографічного аналізу : навч. посіб. К. : Корвін-прес, 2005. 187с.
- 80.Лікарське рослинництво : навч. посіб. / М. І. Бахмат, О. В. Кващук, В. Я. Хоміна, В. М. Комарніцький. Кам'янець–Подільський : ПП «Медобори–2006», 2016. С. 131–132.
- 81.Ловягин А. Н. Современный фармакологический справочник : 2000. Сведения о наиболее эффективных лекарственных препаратах / А. Н. Ловягин. Донецк : ООО ПКФ «БАО», 2009. 1088 с.
- 82.Мазнев Н. И. Энциклопедия лекарственных растений. 3-е изд., испр. и доп. М. : Мартин.2004.– 496с.
- 83.Мазнев Н. Очищение крови. Профилактика и лечение растениями. М. : ООО «АСС Центр», 2005. 160 с.
- 84.Майко О. Ю., Багирова Г. Г. Влияние курсового лечения с применением хондропротекторов и НПВП на качество жизни больных остеоартрозом. *Клин. медицина*. 2009. № 4. С.47–48.

- 85.Машталер В. В., Гонтова Т. М., Хворост О. П. Дослідження основних параметрів трави бораго лікарського. *Фармацевтичний часопис*. 2009. № 4. С. 27–30.
- 86.Миназова Г. И. Тонкослойная хроматография в анализе природного сырья. *Бакирский химический журн.* 2010. № 5. С. 105–107.
- 87.Монографии ВОЗ о лекарственных растениях, широко используемых в Новых независимых государствах (ННГ). 2010. 453 с. URL : <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s17534ru/s17534ru.pdf> (дата звернення: 20.11.2018)
- 88.Насонова В. А., Насонов Е. Л. Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний : рук. для практикующих врачей. М. : Литтерра, 2013. С. 143.
- 89.Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.0:2016 Лікарські засоби. Належна виробнича практика. К. : МОЗ України, 2016. 335 с.
- 90.Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.5:2012. Лікарські засоби. Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження. К. : МОЗ України, 2012. 33 с.
- 91.Настанова СТ–Н МОЗУ 42–5.1:2011 Лікарські засоби. Належна практика зберігання. К. : МОЗ України. 2011. 19 с.
- 92.Одинак М. М., Живолупов С. А., Самарцев И. Н. Болевые синдромы в неврологической практике. *Журн. неврологии и психиатрии*. 2009. № 9 (109). С. 80–89.
- 93.Патогенетическое воздействие глюкозамина на воспалительно–дистрофические процессы в соединительной ткани / Ю. А. Черепинская и др. *Медицина сьогодні і завтра*. 2014. № 1. С. 48–51.
- 94.Пивень Е. П., Дихтярев С. И., Тихомирова Е. В. Анализ структуры украинского рынка препаратов по лекарственным формам и перспективы расширения их использования при формировании отечественного ассортимента лекарственных средств. *Фармаком*. 2008. № 1. С. 94–101.
- 95.Пиминов А. Ф., Безценная Т. С., Шульга Л. И. Изучение влияния фармацевтических факторов на получение водного извлечения из лекарственного растительного сбора. *Вестник фармации*. 2014. № 1 (63). С. 27–32.

96. Підходи до атестації рослинних екстрактів у якості ФСЗ ДФУ для ідентифікації методом ТШХ / А. Г. Котов та ін. *Фармаком*. 2014. № 3. С. 5–14.
97. Пісковацький Ю. Г., Вишневська Л. І., Георгіянц В. А. Розробка технології лікарського збору «Бронхофіт». *Медична хімія*. 2008. Т. 10, № 1. С. 63–66.
98. Побічні ефекти терапії ревматоїдного артриту: погляд на проблему / Р. І. Яцишин та ін. *Український терапевтичний журн*. 2010. № 3. с. 90–99.
99. Поворознюк В. В., Орлик Т. В., Литвин В. О. Використання нестероїдних протизапальних засобів для локальної терапії при захворюваннях кістково-м'язової системи. *Здоров'я України*. 2004. № 2. С. 34.
100. Попова Н. В., Діхтярьов С. І., Маслова Н. Ф. Хондропротекторні препарати і біологічно активні добавки рослинного походження. перспективи створення лікарських засобів. *Фітотерапія. Часопис*. 2011. № 3. С. 56–60.
101. Порядок розробки та викладання монографій на лікарську рослинну сировину для введення до Державної Фармакопеї України : метод. рек. / А. Г. Котов та ін. Харків, 2016. 20 с.
102. Приходько В. Ю. Остеоартроз и проблема хронической боли в терапевтической практике. *Український медичний часопис*. 2012. № 2. С. 64–71.
103. Про безпечність та якість харчових продуктів : Закон України. *Відомості Верховної Ради*. 2005. № 50. С. 22–24.
104. Про затвердження Державних гігієнічних нормативів "Допустимі рівні вмісту радіонуклідів ^{137}Cs та ^{90}Sr у продуктах харчування та питній воді". URL: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0845-06>(дата звернення: 20.11.2018).
105. Про затвердження Методичних рекомендацій "Періодичність контролю продовольчої сировини та харчових продуктів за показниками безпеки". URL: <http://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0329282-04>(дата звернення: 20.11.2018).
106. Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при ревматоїдному артриті: Наказ МОЗ України від 11.04.2014 № 263. URL: <http://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0263282-14/sp:max100> (дата звернення: 20.11.2018).

107. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. М. : МедиаСфера, 2006. 312 с.
108. Ревматология: практические рекомендации / под ред. Е. Л. Насонова. М. : ГЕОТАР–Медиа, 2011. С. 75–81.
109. Реуцкий И. А., Маринин В. Ф., Глотов А. В. Диагностика ревматических заболеваний : рук. для врачей. М. : Медицинское инф. агенство, 2011. 440 с.
110. Рубан О. А. Практикум з промислової технології лікарських засобів для студентів спеціальності «Фармація». Х. : НФаУ, 2010. 227 с.
111. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. / под ред. А.Н. Миронова. М. : Гриф и К, 2012. 944 с.
112. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р. У. Хабриева. М. : Медицина, 2005. С. 695-709.
113. Савустьяненко А. В. Эффективность экстракта мартинии душистой (Сустамар) при остеоартритах, поясничной боли и фибромиалгии: обзор исследований. *Біль. Суглоби. Хребет*. 2014. № 1 (13). С. 30–38.
114. Саркисов Д. С., Перова Ю. Л. Микроскопическая техника. М. : Медицина, 1996. 542 с.
115. Свінціцький А. С. Механізми терапевтичної ефективності та побічної дії нестероїдних протизапальних препаратів. *Практикуючий лікар*. 2012. № 4. С. 5–10.
116. Синяченко О. В. Диагностика и лечение болезней суставов. СПб. : ЭЛ-БИ-СПб ; Донецк : Изд. Заславский А. Ю., 2012. 559 с.
117. Скальный А. В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение) : практ. рук. для врачей и студентов медицинских вузов. М. : Изд-во КМК, 2001. 96 с.
118. Соколов С. Я. Фитотерапия и фитофармакология : рук. для врачей. М. : Медицинское информационное агентство, 2000. 926 с.

119. Суглобовий синдром в загальнолікарській практиці. Актуальні проблеми сучасної медицини / В. М. Ждан та ін. *Вісн. укр. мед. стомат. акад.* 2013. Т. 13, № 2 (42). С. 102–103.
120. Сучасна терапія невідкладних станів при ревматичних хворобах / В. І. Денисюк та ін. *Боль. Суставы. Позвоночник.* 2013. № 1. С. 71–77.
121. Сучасна фітотерапія : навч. посіб. / С. В. Гарна та ін. Харків : «Друкарня Мадрид», 2016. 580 с.
122. Сырoвая А. О., Шаповал Л. Г., Макаров В. А. Аминокислоты глазами химиков, фармацевтов, биологов : в 2-х т. Т. 1. К. : Щедра садиба плюс, 2014. 228с.
123. Тараховский Ю. С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино : Synchrobook, 2013. 310 с.
124. Технологія ліків промислового виробництва / В. І. Чуєшов та ін. ; за ред. В. І. Чуєшова. Х. : Вид-во НФаУ : Золоті сторінки, 2003. 720 с.
125. Тимчасові гігієнічні нормативи ГН 4.4.8.073–2001. Затверджено Постановою Головного державного санітарного лікаря України від 20.04.2001 р. № 131. К., 2001. 21 с.
126. Ткаченко М. В. Патогенетичні механізми розвитку деформівного остеоартрозу у поєднанні з метаболічним синдромом. *Укр. ревмат. журн.* 2009. № 4. С. 86–88.
127. Товстуха Є. С. Золоті рецепти української народної медицини. К. : К М Publishing, 2010. С. 168.
128. Толочко К. В. Аналіз вітчизняного ринку лікарських препаратів на рослинній основі. *Вісник фармації.* 2015. № 3 (83). С. 63–66.
129. ТУ У 10.8-31062507-059:2016 «Добавки дієтичні на основі олій та жирів тваринних»
130. Устінов О. В. Алгоритм дії лікаря при наданні медичної допомоги хворим на ревматоїдний артрит. *Український медичний часопис.* 2014. № 4 (102). С. 22–23.

131. Фармацевтична композиція з протизапальною, анальгетичною та хондропротекторною дією : пат. 56750 України. № u 200215105 заявл. 30.08.02 ; опубл. 15.02.05 ; Бюл. № 2.
132. Федорченко С. В., Курта С. А. Хроматографічні методи аналізу : навч. посіб. Івано–Франківськ : Прикарп. нац. ун–т ім. В. Стефаника, 2012. 146 с.
133. Хавезов И., Цалев Д. Атомно–абсорбционный анализ. Л. : Химия, 1983. 144с.
134. Хіміон Л. В., Ященко О. Б., Данилюк С. В. Лікування остеоартрозу: нові можливості комплексної терапії. *Ліки України*. 2015. № 1 (186). С. 49–52.
135. Хохлова К.О., Вишневська Л.І., Гарна С.В., Котов А.Г. Розробка та валідація методики ідентифікації ізофлавоноїдів і тритерпенових сапонінів у настійці «Атерофіт-норма» методом тонкошарової хроматографії. *Фармаком*. 2013. № 1. С. 38-50.
136. Хроматографические методы в аналитическом обеспечении создания и контроля качества лекарственных средств в Украине / под ред. чл.–кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. Харьков : НТМТ, 2016. 288 с.
137. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія. К. : Вид–во А.С.К., 2003. 552 с.
138. Чепелевська Л.А. Аналіз демографічної ситуації в Україні / Л.А. Чепелевська, О.П. Рудницький // Щорічна доповідь про стан здоров'я населення, санітарно-епідеміологічну ситуацію та результати діяльності системи охорони здоров'я України. 2015 рік ; за ред. В.В. Шафранського ; МОЗ України, ДУ «УІСД МОЗ України». – Київ, 2016. – 452 с.
139. Чепелевська Л.А. медико-демографічні проблеми в Україні та шляхи їх подолання / Л.А. Чепелевська, О.П. Рудницький // Україна. Здоров'я нації. 2015. № 3(35). С. 39–43
140. Чичасова Н. В., Иголкина Е. В., Фоломеева Ю. Применение трамадола гидрохлорида (Трамала) в ревматологической практике. *Клин. фармакол. Терапия*. 2009. № 8 (1). С. 69–72
141. Чолак І.С. Фармакогностичне дослідження пуп'янок софори японської (*Sophora japonica* L.): дис. канд. фарм. наук. М., 2015. 204 с.

142. Шалата В. Я., Сур С. В. Вивчення технологічних властивостей багатокomпонентної лікарської рослинної сировини. *Запорожский мед. журн.* 2012. № 2 (71). С. 111-115.
143. Шаповалова Е. Н., Пирогов А. В. Хроматографические методы анализа : метод. пособие для спец. курса. М. : Изд-во Моск. гос. ун-та, 2007. 109 с.
144. Шпичак О. С., Тихонов А. И. Маркетинговые исследования фармацевтического рынка препаратов, используемых местно при заболеваниях опорно-двигательного аппарата. *Вісник фармації.* 2014. № 1. С. 63–68.
145. Шуба Н. М., Крилова А. С. Ефективність структурномодифікувальних препаратів у пацієнтів з остеоартрозом і гіперурикемією. *Ортопедия, травматология и протезирование.* 2015. № 4. С. 69–73.
146. Щорічна доповідь про стан здоров'я населення, санітарно-епідемічну ситуацію та результати діяльності системи охорони здоров'я України. 2015 рік / за ред. В. В. Шафранського. К. : ДУ «УІСД МОЗ України», 2016. 452 с.
147. Якименко О. О., Закатова Л. В., Антіпова Н. М. Динаміка структури ревматичних захворювань за 30 років (1983–2013) у Одесі. *Укр. ревматол. журн.* 2014. № 57 (3). С. 23–45.
148. Яременко О. Б., Федьков Д. Л. Раціональний підхід у виборі нестероїдних протизапальних препаратів для лікування хворих на остеоартроз. *Академия – дистанционное обучение on-line.* 2014. № 6 (104). С. 15–21.
149. Ярыгина Т. И. Разработка унифицированной методики количественного определения суммы свободных аминокислот в лекарственном растительном сырье и экстракционных препаратах. *Фармация.* 2011. Т. 60. № 3. С. 14–17.
150. A systematic literature review of drug therapies for the treatment of psoriatic arthritis: current evidence and meta-analysis informing the EULAR recommendations for the management of psoriatic arthritis / Z. Ash et al. *Ann. Rheum. Dis.* 2012. Vol. 71, № 3. P. 319–326.
151. Abdelouahab N., Heard C. Effect of the major glycosides of *Harpagophytum procumbens* (Devil's Claw) on epidermal cyclooxygenase-2 (COX-2) in vitro. *J Nat Prod.* 2008. Vol. 71, № 5. P. 746–749.

152. Adalimumab: long-term safety in 23 458 patients from global clinical trials in rheumatoid arthritis, juvenile idiopathic arthritis, ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, psoriasis and Crohn's disease / G. R. Burmester et al. *Ann. Rheum. Dis.* 2013. Vol. 72, № 4. P. 517–524.
153. Alam M., Khan H., Samiullah L., Siddique K. M. A Review on Phytochemical and Pharmacological Studies of Kundur (*Boswellia Serrata* Roxb Ex Colebr.) – A Unani Drug. *J Appl Pharm Sci.* 2012. Vol. 2 (3). P. 148–156.
154. Altemimi A. W., Watson D. G., Kinsel M., Lightfoot D. A. Simultaneous extraction, optimization, and analysis of flavonoids and polyphenols from peach and pumpkin extracts using a tlc–densitometric method. *Chem. Cent. J.* 2015. Vol. 9. P. 1–15.
155. American College of Rheumatology Recommendations for the Use of Nonpharmacologic and Pharmacologic Therapies in Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee / M. Hochberg et al. *Arthritis Care & Research.* 2012. Vol. 64, № 4. P. 465–474.
156. American College of Rheumatology Sub, committee on Osteoarthritis Guidelines. Recommendation for the management of osteoarthritis of the hip and knee 2010 up. *Arthritis Rheum.* 2010. Vol. 43. P. 1905–1915.
157. An algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis in Europe and internationally: A report from a task force of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) / O. Bruyère et al. *Elsevier.* 2014. Vol. 44, № 3. P. 253–263.
158. Anroop B. N. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J. Shery J Basic Clin Pharm.* 2016. Vol. 7 (2). P. 27–31.
159. Aquino R. Plant metabolites. New compounds of antiinflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products.* 1991. Vol. 54. P. 453–459.
160. Avwioro O. G., Onwuka S. K., Moody J. O. Curcuma longa extract as a histological dye for collagen fibres and red blood cells. *J Anat.* 2007. Vol. 210. P. 600–603.
161. Bahchevanska S., Mihaylova D. Investigation of possibility for stabilization of different natural lipids and oils through the addition of plant extract from *Sophora*

- japonica. *Journal of International Scientific Publications*. 2010. Vol. 4 (1). P. 128-135.
162. Bauer R. Quality criteria and standardization of phytopharmaceuticals: Can acceptable drug standards be achieved. *Drug Inform. J.* 1998. Vol. 32. P. 101–110.
 163. Black C., Clar C., Henderson R. The clinical effectiveness of glucosamine and chondroitin supplements in slowing or arresting progression of osteoarthritis of the knee: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol. Assess.* 2009. Vol. 13. P. 1–148.
 164. Boeckler G. A., Gershenzon J., Unsicker S. B. Phenolic glycosides of the Salicaceae and their role as anti-herbivore defenses. *Phytochemistry*. 2011. Vol. 72. P. 1497–1509.
 165. Braun M., Hulejová H., Gatterová J. Pentosidine, an advanced glycation end-product, may reflect clinical and morphological features of hand osteoarthritis. *Open Rheumatol. J.* 2012. Vol. 6. P. 64–69.
 166. Bruyere O., Cooper C., Pelletier J. P. An algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis in Europe and internationally: a report from a task force of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Semin. Arthritis Rheum.* 2014. Vol. 44. P. 253–263.
 167. Cameron M., Chrubasik S. Oral herbal therapies for treating osteoarthritis. *Cochrane Database Syst. Rev.*; 5: CD002947. doi:10.1002/14651858.CD002947.pub2. (data of access: 20.11.2018)
 168. Chiusaroli R., Piepoli T., Zanelli T. Experimental pharmacology of glucosamine sulfate. *Int. J. Rheumatol.* 2011. Vol. 939. P. 265.
 169. Dai Z., Wu Z., Jia S. Analysis of amino acid composition in proteins of animal tissues and foods as precolumn o-phthaldialdehyde derivatives by HPLC with fluorescence detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014. Vol 1. P. 116–127.
 170. Dreifuss A. A. Uncaria tomentosa exerts extensive antineoplastic effects against the Walker–256 tumour by modulating oxidative stress and not by alkaloid activity. *Plos one*. 2013. Vol. 8, № 2. P. 1–14.

171. EULAR recommendations for the non-pharmacological core management of hip and knee osteoarthritis / L. Fernandes et al. *Ann. Rheum. Dis.* doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202745
172. European Pharmacopoeia. 8.0th ed. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2014. P. 1126–1227.
173. European Pharmacopoeia. 8.3th ed. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2015. P. 4254–4256.
174. European Pharmacopoeia. 9.5th ed. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2018. P. 5681–5683.
175. European Pharmacopoeia. 9.5th ed. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2018. P. 1334.
176. Fidelix T. S., Macedo C. R., Maxwell L. J. Diacerein for osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Feb10;2:CD005117. doi:0.1002/14651858.CD005117.pub3. (data of access: 20.11.2018).
177. Fiebich B. L., Muñoz E., Rose T. Molecular targets of the antiinflammatory *Harpagophytum procumbens* (devil's claw): inhibition of TNF α and COX-2 gene expression by preventing activation of AP-1. *Phytother Res.* 2012. Jun. 26 (6). P. 806–811.
178. Gevrenova R., Kitanov G., Ilieva D. Ontogenetic and Seasonal Variation in the Flavonoid Composition of *Sophora japonica*. Cultivated in Bulgaria. *Pharmaceutical Biology.* 2007. Vol. 45. P.149–155.
179. Goh E. L., Chidambaram S., Ma D. Complex regional pain syndrome: a recent update. *Burns & Trauma.* 2017. Vol. 5. P. 2.
180. Grant L., McBean D., Fyfe L. A review of the biological and potential therapeutic actions of *Harpagophytum procumbens*. *Phytother. Res.* 2007. Vol. 21. P. 199–209.
181. Guide for the elaboration of monographs on herbal drugs and herbal drug preparations / European Directorate for the Quality of Medicines. Strasbourg, 2007. 22 p.
182. Haviv B., Bronak S., Thein R. The complexity of pain around the knee in patients with osteoarthritis. *Isr. Med. Assoc. J.* 2013. Vol. 15 (4). P. 178–181.

183. Heinrich M. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy. Oxford : Elsevier Health Sciences, 2012. P. 336.
184. Hekim Baloglu, Ayhan Askin. Determination of the factors that affect healthrelated quality of life in patients with rheumatoid arthritis. *Acta Medica Mediterranea*. 2015. Vol. 31. P. 687–695.
185. Hellmut Y., Werner F., Walter F. Thin–Layer Chromatography. Re–agents and detection methods. *Physical and chemical detection methods: fundamentals*. 1990. Vol. 1. 496 p.
186. Herbal Almanac / ed. Ackman Jennifer. Woodbury : Llewellyn Publications, 2015. 312 p.
187. Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations. British Pharmacopoeia. London, 2009. Vol. 4. P. 6706–7530.
188. High–performance thin–layer chromatography of herbal drugs and herbal drug preparations European Pharmacopoeia 9.0. Strasbourg: EDQM, 2017. P. 295–297.
189. Hunter L. J., Wood D. M., Dargan P. I. The patterns of toxicity and management of acute nonsteroidal anti–inflammatory drug (NSAID). *Emergency Medicine*. 2011. Vol. 3. P. 39–48.
190. Improvements in patient–reported outcomes, symptoms of depression and anxiety, and their association with clinical remission among patients with moderate–tosevere active early rheumatoid arthritis / J. Kekow et al. *Rheumatology*. 2011. № 50. P. 401–409.
191. J. Vlachojannis B. D., Roufogalis S. Systematic review on the safety of Harpagophytum preparations for osteoarthritic and Low back pai. *Phytotherapy research*. 2008. Vol. 22 (2). P. 149–152.
192. Jackson E. A. Tin Kanmaz. An Overview of Information Resources for Herbal Medicinals and Dietary Supplements. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*. 2001. Vol. 1, № 1. P. 55–59.
193. Jiao L., Yan C., Zhang K. Comprehensive determination of nine polyphenols in Polygoni Avicularis Herba with a new HPLC–DAD method and their correlation

- with the antioxidant activities. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2018. Vol. 12, № 3. P. 1593–1600.
194. Kaushik D. Current issues in Authentication and Quality control of Natural Products. *Sharma Res. Plant. Biol.* 2014. Vol. 4, № 5. P. 57–64.
 195. Kimmatkar N., Thawani V., Hingorani L. Efficacy and tolerability of *Boswellia serrata* extract in treatment of osteoarthritis of knee – a randomized double blind, placebo controlled trial. *Phytomedicine*. 2003. Vol. 10. P. 3–7.
 196. Kriukova A. I., Vladymyrova I. M. The study of the technological and microbiological parameters of a dietary supplement «Osteovert». *Vìsnyk Farmacii*. 2018. № 2 (94). P. 41–47.
 197. Kriukova A., Vladimirova I. Quantitative determination of carbohydrates in *radix harpagophytum procumbens*. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 20, 2017. – Kh. : Publishing Office NUPh, 2017. – Vol. 1. – P.87.
 198. Kriukova A., Vladimirova I. The application by thinlayer chromatography for the standardization of *Sophora Flower*. *Ceska a slovenska farmacie*. 44-th Conference drug synthesis and analysis, Brno, 2th to 4th September 2015. Part 3. 2016. C. 34–35.
 199. Kriukova A., Vladymyrova I. GCMS determination of chemical constituents of *Radix Harpagophytum procumbens* DS. *Technology transfer: innovative solutions in medicine : proceedings of the 1–st Annual Conference*, Tallinn, Estonia, 26 October 2017. Tallinn, 2017. P. 52–54.
 200. Kriukova A., Vladymyrova I. The definition of numeric indicators for the root of *Harpagophytum procumbens*. *Topical issues of new drugs development : abstracts of xxiii international scientific and practical conference of young scientists and student*, Kharkiv, April 21, 2016. Kharkiv, 2016. Vol. 1. P. 188.
 201. Kriukova A., Vladymyrova I. The element composition study of *Sophora Japonica*. *Topical problems of modern science : II International Scientific and Practi-*

- cal Conference, Warsaw, Poland, 18 November, 2017. Warsaw, 2017. Vol. 5. P. 53–54.
202. Kriukova A., Vladymyrova I. The macroscopic study of *Sophora Japonica* flowers. *Be in progress 2 : International Conference of Pharmacy Students*, Lublin, April 21–25 2016. Lublin, 2016. P. 6.
 203. Kriukova A., Vladymyrova I., Gubar S. Development of standardization parameters of herbal species. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student*, Kharkiv, April 18–20, 2018. Kharkiv : NUPh, 2018. P. 22.
 204. Kriukova A., Vladymyrova I., Tishakova T. Rationale for choosing of extraction solvent for obtaining liquid extract from the roots of *Harpagophytum Procumbens* DC. *Innovations and prospects in pharmaceutical practice : Fourth Pharmaceutical Business Forum and Scientific and Practical Conference*, Varna, October 27–29, 2017. Varna, 2017. P. 37.
 205. Kriukova A., Vladymyrova I. Determination of technological parameters and indicators of the quality of new herbal collection. *EUREKA: Health Sciences*. 2018. № 6. P. 61–68.
 206. Kunle O. F., Egharevba H. O., Ahmadu P. O. Standardization of herbal medicines – A review. *Int. J. Biodivers. Conserv.* 2012. Vol. 4, № 3. P. 101–112.
 207. L. leaves by HPLC, HPTLC, physico–chemical and histological parameters. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2011. Vol. 10. P. 525–535.
 208. Leflunomide in psoriatic arthritis: results from a large European prospective observational study / F. Behrens et al. *Arthritis Care Res.* 2013. Vol. 65, № 3. P. 464–470.
 209. Meta-analysis suggests that intensive non-biological combination therapy with step-down prednisolone (COBRA strategy) may also ‘disconnect’ disease activity and damage in rheumatoid arthritis / M. Boers et al. *Ann. Rheum. Dis.* 2013. Vol. 72, № 3. P. 406–409.

210. Mihaylova D., Schalow S. Antioxidant and stabilization activity of a quercetin-containing flavonoid extract obtained from Bulgarian *Sophora japonica* L. *Braz. arch. biol. technol.* 2013. Vol. 56, № 3. P. 431-438.
211. Mncwangi N., Chen W., Vermaak I. Devil's Claw – A review of the ethnobotany, phytochemistry and biological activity of *Harpagophytum procumbens*. *J Ethnopharmacol.* 2012. Vol. 143 (3). P. 755–771.
212. Monfort J., Pellietier J–P., Garcia–Giralt N. Biochemical basis of the effect of chondroitin sulfate on osteoarthritis articular tissues. *Ann. Rheum. Dis.* 2008. Vol. 67. P. 735–740.
213. Naif O. Al–Harbi, Riyadh M. Al–Ashban, Arif H. Shah Toxicity studies on *Harpagophytum procumbens* (Devil's claw) capsules in mice. *Journal of Medicinal Plants Research.* 2013. Vol. 7 (42). P. 3089–3097.
214. Nasiruddin A. F., Akalanka D., Singh G. N. Analytical techniques in quality evaluation of herbal drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical research.* 2014. Vol. 4, № 3. P. 112–117.
215. Navarro–Hoyos M., Lebrón–Aguilar R., Quintanilla–López J. E. Proanthocyanidin Characterization and Bioactivity of Extracts from Different Parts of *Uncaria tomentosa* L. (Cat's Claw). *Antioxidants.* 2017. Vol. 6. P. 12.
216. Nguyen H. T., Islam M. Z., Obi T. Antagonistic Effects of *Ginkgo biloba* and *Sophora japonica* on Cerebral Vasoconstriction in Response to Histamine, 5–Hydroxytryptamine, U46619 and Bradykinin. *Am. J. Chin. Med.* 2016. Vol. 44 (8). P. 1607–1625.
217. Oral herbal therapies for treating osteoarthritis URL: https://www.cochrane.org/CD002947/MUSKEL_oral-herbal-therapies-treating-osteoarthritis (data of access: 20.11.2018).
218. Panova E., Jones G. Benefit–risk assessment of diacerein in the treatment of osteoarthritis. *Drug Saf.* 2015. Vol. 38 (3). P. 245–52.
219. Park H. Y., Kim S. H., Kim G. B. A new isoflavone glycoside from the stem bark of *Sophora japonica* – *Arch. Pharm. Res.* 2010. Vol. 33 (8). P. 1165–1168.
220. Park S. J., Shin E. H., Hahm T. S. Biological activities in the extract of flos *Sophora japonica* L. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2009. Vol. 38. P. 9–13.

221. Pavelka K., Bruyere O., Cooper C. Diacerein: Benefits, Risks and Place in the Management of Osteoarthritis. An Opinion-Based Report from the ESCEO. *Drugs Aging*. 2016. Vol. 33 (2). P. 75–85.
222. Permy M., Guede D., Lopez-Pena M. Effects of diacerein on cartilage and subchondral bone in early stages of osteoarthritis in a rabbit model. *BMC Vet Res*. 2015. Vol. 11. P. 143.
223. Prokopets V. V., Zdoryk O. A., Georgiyants V. A. Risk assessment of manufacturing and usage of test systems for quality control of compounded preparations. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*. 2016. Vol. 3, № 2. P. 12–19.
224. Puig-Junoy J. Socio-economic costs of osteoarthritis: a systematic review of cost-of-illness studies. *Arthritis Rheum*. 2015. Vol. 44 (5). P. 531–541.
225. Qi J. Iridoid glycosides from *Harpagophytum procumbens* D.C. (devil's claw). *Phytochemistry*. 2016. Vol. 67 (13). P. 372–377.
226. Reich E. High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants / E. Reich, A. Schibli. New-York : Thieme, 2007. 264 p.
227. Reich E. Validation of high-performance thin-layer chromatographic methods for the identification of botanicals in a GMP. *Journal of AOAC International*. 2008. Vol. 91, № 1. P. 13–20.
228. Renger B., Végh Z., Ferenczi-Fodor K. Validation of thin layer and high performance thin layer chromatographic methods. *J. Chromatogr. A*. 2011. Vol. 1218, № 19. P. 2712–2721.
229. Report 10 facts about healthy aging in Europe / Regional Office for Europe The World Health Organization. Geneva : World Health Organization, 2015. URL : <http://www.euro.who.int/ru/what-we-do/health-topics/Life-stages/healthy-ageing/data-and-statistics/10-facts-on-healthy-ageing-in-europe> (data of access: 20.11.2018).
230. Rovati L. C., Girolami F., D'Amato M. Effects of glucosamine sulfate on the use of rescue non-steroidal anti-inflammatory drugs in knee osteoarthritis: results from the Pharmaco-Epidemiology of GonArthroSis (PEGASus) study. *Semin Arthritis Rheum*. 29 Oct 2015; doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semarthrit.2015.10.009>. (data of access: 20.11.2018).

231. Ruan G.–H., Li G.–K. The study on the chromatographic fingerprint of *Fructus xanthii* by microwave assisted extraction coupled with GC–MS. *Journal of Chromatography B*. 2007. Vol. 850, № 1–2. P. 241–248.
232. Salicin, an extract from white willow bark, inhibits angiogenesis by blocking the ROS–ERK pathways / C.–S. Kong et al. *Phytother. Res.* 2014. Vol. 28. P. 1246–1251.
233. Scholtissen S., Bruyere O., Neuprez A. Glucosamine sulphate in the treatment of knee osteoarthritis: cost–effectiveness comparison with paracetamol. *Int. J. Clin. Pract.* 2010. Vol. 64. P. 756–762.
234. Selvamani P., Sen D. J., Gupta J. K. Pharmacognostical standardization of *Commiphora berryi* (Arn) Engl and phytochemical studies on its crude extracts. *African J Pharma Pharmacol.* 2009. Vol. 3. P. 37–46.
235. Sharma A., Rathod R., Baliga V. P. An open prospective study on postmarketing evaluation of the efficacy and tolerability of diacerein in osteoarthritis of the knee (DOK). *J Indian Med Assoc.* 2008. Vol. 106 (1). P. 54–56, 58
236. Shi W., Liu L., Li J. Bioactive flavonoids from *Flos Sophorae*. *J. Nat. Med.* 2017. Vol. 71 (3). P. 513–522.
237. Siddiqui M. Z. *Boswellia Serrata*, a Potential Antiinflammatory Agent: An Overview. *Indian J Pharm Sci.* 2011. Vol. 73 (3). P. 255–261.
238. Siju S., Dhanya K., Syamkumar S. Development, characterization and cross species amplification of polymorphic microsatellite markers from expressed sequence tags of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Mol. Biotechnol.* 2010. Vol. 44. P. 140–147.
239. Sostres C. Adverse effects of non–steroidal anti–inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Clin. Gastroenterol.* 2010. Vol. 24 (2). P. 121–132.
240. Spangenberg B. Quantitative ThinLayer Chromatography. A practical survey / B. Spangenberg, C. F. Poole, Ch. Weins. Heidelberg: Springer, 2011. 388 p.
241. Terao J. Dietary Flavonoids as Antioxidants. *Forum Nutr. Basel.* 2009. Vol. 61. P. 87–94.

242. The appropriate use of NSAIDs in rheumatic disease: opinions of a multi-disciplinary EU expert panel / G. Burmester et al. *Ann. Rheum. Dis.* 2011. Vol. 70 (5). P. 818–822.
243. The individual and socioeconomic impact of osteoarthritis / D. J. Hunter et al. *Callander Affiliations Contributions Corresponding author Nature Reviews Rheumatology*. 2014. Vol. 10. P. 437–441.
244. Validated high performance thin layer chromatography method for simultaneous determination of quercetin and gallic acid in *Leea indica* / Ankita A. Patel et al. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2017. Vol. 27, № 1. P. 50–53.
245. Wagner, H., Bladt S. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2–nd ed. Berlin : Springer–Verlag, 1996. 384 p.
246. Wang T., Miao M., Bai M. Effect of sophora japonica total flavonoids on pancreas, kidney tissue morphology of streptozotocin–induced diabetic mice model – Saudi. *J. Biol. Sci.* 2017. Vol. 24 (3). 741–747.
247. Wenham C. Y., Conaghan P. G. New horizons in osteoarthritis. *Age Ageing*. 2013. Vol. 42 (3). P. 272–278.
248. Wright K., Crowson C. S., Gabriel S. E. Cardiovascular Comorbidity in Rheumatic Diseases: A Focus on Heart Failure. *Heart Fail. Clin.* 2014. Vol. 10, № 2. P. 339–352.
249. Wu Y., Dobermann D., Beale M. H. Acutifoliside, a novel benzoic acid glucoside from *Salix acutifolia*. *Nat. Prod. Res.* 2015. Vol. 30. P. 1731–1739.
250. Xie S. Lam, Wu J. D., Yang X. Xu. Chemical fingerprint and simultaneous determination of flavonoids in *Flos Sophorae Immaturus* by HPLC–DAD and HPLC–DAD–ESI–MS/MS combined with chemometrics analysis. *Anal. Methods*. 2014. Vol. 6. P. 4328–4335.
251. Xia, Y.-G., Yang, B.-Y., Liang, J. Quantitative Analysis and Fingerprint Profiles for Quality Control of *Fructus Schisandrae* by Gas Chromatography: Mass Spectrometry. *The Scientific World Journal*. 2014. Vol. 4. P. 1–8. doi: 10.1155/2014/806759

252. Yong–Gang Xia, Bing–You Yang, Jun Liang. Quantitative Analysis and Fingerprint Profiles for Quality Control of Fructus Schisandrae by Gas Chromatography: Mass Spectrometry. *The Scientific World Journal*. 2014. Vol. 30. P. 8–14.
253. Zhang W., Nuki G., Moskowitz R. W. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis: part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthritis Cartilage*. Vol. 18. P. 476–499.
254. Zielińska D., Szawara–Nowak D., Zieliński H. Determination of the antioxidant activity of rutin and its contribution to the antioxidant capacity of diversified buckwheat origin material by updated analytical strategies. *Pol. J. Food Nutr. Sci*. 2010. Vol. 60. P. 315–321.

ДОДАТКИ

**Зареєстровані на території України рослинних ЛЗ,
що застосовуються при патологіях опорно-рухового апарату**

№	Назва	Виробник	Країна ви- робника	Лікарська форма
1	2	3	4	5
1	Алфлутоп	Biotehos SA	Румунія	розчин для ін'єкцій
2	Гіалган	«Про-фарма»	Україна	розчин для ін'єкцій
3	Дискус компози- тум	Biologische Heilmittel Heel GmbH	Німеччина	розчин для ін'єкцій
4	Інцена	Richard Bittner	Австрія	каплі для перораль- ного застосування
5	Мовіназа	Movi Health GmbH	Україна	таблетки
6	Серрата	Кусум Хелтхкер Pvt.	Індія	таблетки
7	Сингіал	Фармак	Україна	розчин для ін'єкцій
8	Сіль доктора шюс- слера №1 кальціум флуоратум	Deutsche Homoopathie- Union	Німеччина	таблетки
9	Сустамар	Esparma	Німеччина	капсули
10	Траумель С	Biologische Heilmittel Heel GmbH	Німеччина	таблетки; розчин для ін'єкцій; мазь туба; гель туба .
11	Цель Т	Biologische Heilmittel Heel GmbH	Німеччина	таблетки; розчин для ін'єкцій; мазь туба
12	Адант	Tripharma	Турція	розчин для ін'єкцій
13	Артифлекс	ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»	Україна	порошок для ораль- ного розчину
14	Артро-гран	ПрАТ «Національна	Україна	гранули у пеналі

1	2	3	4	5
		гомеопатична спілка»		
15	Артрон триактив форте	Takeda Pharmaceutical Company	Японія	таблетки
16	Артофон	Матеріа Медика - Україна	Україна	таблетки
17	Вобензим	Mucos Pharma	Німеччина	таблетки
18	Остеоартізі, N	N'Kapharma Pharmaceuticals Export Pty Ltd	Австралія	таблетки
19	Остеоартізі актив, N	N'Kapharma Pharmaceuticals Export Pty Ltd	Австралія	таблетки
20	Остеоартізі актив плюс, N	N'Kapharma Pharmaceuticals Export Pty Ltd	Австралія	таблетки
21	Остеоартізі макс, N	N'Kapharma Pharmaceuticals Export Pty Ltd	Австралія	таблетки
22	Румалон	ЗАТ «Бринцалов-А»	Російська Федерація	розчин для ін'єкцій
23	Серокс	Micro Labs	Індія	таблетки
24	Сольвенцій	ТОВ «Українська фармацевтична компанія»	Україна	розчин оральний
25	Флогензим	Mucos Pharma	Німеччина	таблетки
26	Фонг те тхап	Фіто Фарма Ко. Лтд.	В'єтнам	екстракт рідкий
27	Хомвіо-ревман	Homviora Arzneimittel	Німеччина	каплі для перорального застосування

Продовж. дод. А

Таблиця А2

**Характеристика зареєстрованих на території України рослинних ЛЗ,
що застосовуються при патологіях опорно-рухового апарату**

№	Назва	Діюча речовина	Властивості	Показання до застосування
1	2	3	4	5
1	Алфлутоп	Біоактивний концентрат дрібної морської риби з гермабеном, ефірна олія розмарину	Має виражену протизапальну, анальгезивну, регенеративну, хондропротекторну та знеболювальну дії	Дегенеративні ревматоїдні захворювання: кокс артроз, гонатроз, спондилоз (артроз хребта), інтерфаланговий артроз, ревматизм, посттравматичні больові запалення
2	Гіалган	Гіалуронової кислоти натрієва сіль	Має протизапальну дію на епітелій суглобу, стимулює природне утворення гіалуронової кислоти всередині суглоба.	Артрит колінних суглобів легкого та помірного ступеня тяжкості
3	Дискус композитум	Discus intervertebralis suis, Acidum ascorbinicum, Thiaminum hydrochloricum, Natrium riboflavinum phosphoricum, Pyridoxinum	Виявляє метаболічну, регенеруючу, знеболювальну, протизапальну, спазмолітичну та седативну дії; дія препарату базується на активації	Остеохондроз, захворювання зв'язкового апарату хребта, суглобів; неврологічні та ревматологічні захворювання

1	2	3	4	5
		hydrochloricum, Nicotinamidum, Funiculus umbilicalis suis, Cartilago suis, Medulla ossis suis, Embryo suis, Glandula suprarenalis suis, Pulsatilla pratensis, Mercurius precipitalis ruber, Sulfur, Cimicifuga racemosa, Ledum palustre, Gnaphalium polycephalum, Citrullus colocynthis, Secale cornutum, Argentum metallicum, Zincum metallicum, Cuprum aceticum, Aesculus hippocastanum, Medorphinum-Nosode, Ranunculus bulbosus, Ammonium chloratum, China, Kalium carbonicum, Sepia officinalis.	захисних сил організму і нормалізації порушених функцій за рахунок речовин рослинного, мінерального та тваринного походження	
4	Інцена	Capsicum, Belladonna, Pulsatilla, Apis, Lachesis	Чинить знеболювальну, протизапальну, репаративну, імуномодулюючу та десенсибілізуючу дії на організм	Комплексне лікуванні колагенозів (в т.ч. системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит), ревматизму.

1	2	3	4	5
5	Мовіназа	Серратіопептидаза	Серратіопептидаза виявляє фібринолітичну, протизапальну протинабрякову дію. Крім зменшення запального процесу, серратіопептидаза зменшує біль внаслідок блокування вивільнення больових амінів із запалених тканин.	Хірургічні захворювання: розтягнення та розриви зв'язок, переломи та вивихи, набряки, спричинені пластичною операцією. Захворювання органів дихання: зменшує в'язкість мокротиння та полегшує відходження його з дихальних шляхів. Захворювання ЛОР-органів: полегшує відходження секрету придаткових пазух. Захворювання шкіри: гострі запальні дерматози.

1	2	3	4	5
6	Серрата	Серратіопептидаза		Захворювання жіночих статевих органів та молочних залоз: гематоми, застій у молочних залозах
7	Сингіал	Натрію гіалуронат	Призначений для заміщення синовіальної рідини, що накопичується при дегенеративних запальних захворюваннях суглобів та для активації процесів оновлення тканин суглобових хрящів	Остеоартрит та періартрит плечового та колінного суглобів
8	Кальцій флуоратум сіль доктора шюсслера №1	Calcium fuoratum	Регулює функціональні здатності клітин організму, гармонізує баланс мінеральних солей. підвищує еластичність сполучних тканин, зв'язок та сухожиль, а також сприяє зміцненню кісток і зубів	Підтримуюче лікування при варикозному захворюванні вен, ударах та розтягненнях м'язів і зв'язок
9	Сустамар	Сухий екстракт коріння мартінії запашної (Harpagophytum procumbens)	Надає протизапальну, знеболювальну та хондропротекторну дію	Гострі і хронічні захворювання ОРА
10	Траумель С	Achillea millefolium, Aconitum	Протизапальна, аналгетична, про	Запальні процеси ОРА; тим

1	2	3	4	5
		napellus, Arnica montana, Atropa belladonna, Bellis perennis, Calendula officinalis, Echinacea, Echinacea purpurea, Hypericum perforatum, Matricaria recutita.	тиексудативна, імунокоригуюча, репаративна дії, які базуються на активації захисних сил організму та нормалізації порушених функцій	часове полегшення болю у суглобах, при симптомах, пов'язаних з травмами (спортивні травми, розтягнення зв'язок, синці)
11	Цель Т	Acidum silicicum, Acidum thioccticum, Arnica montana, Cartilago suis, Coenzym, Embryo totalis suis, Funiculus umbilicalis suis, Nadidum, Natrium diethyloxalaceticum, Placenta totalis suis, Rhus toxicodendron, Sanguinaria canadensis, Solanum dulcamara, Sulfur.	Протизапальна, аналгетична, хондропротекторна, регенеруюча дії, які базується на активації захисних сил організму і нормалізації порушених функцій	Артрози (гонартроз, поліартроз), плечолопатковий періартрит, тендопатії
12	Адант	Гіалуронової кислоти натрієва сіль	Протизапальна, знеболююча дії; впливає на обмінні процеси у хрящовій тканині; гальмує розвиток дегенеративних процесів у суглобах	Остеоартрит та/або його симптоми (біль та функціональні обмеження)
13	Артифлекс	Глюкозаміну сульфат натрію хлорид	Протизапальна, знеболююча дії;	Лікування симптомів остеоа

1	2	3	4	5
14			впливає на обмінні процеси у хрящовій тканині; гальмує розвиток дегенеративних процесів у суглобах	артриту, тобто болю і функціонального обмеження
15	Артро-гран	Rhus toxicodendron, Bryonia, Causticum, Ledum Rhododendron	Сприяє нормалізації мінерального обміну, покращує кровопостачання кісткової тканини, зв'язкового апарату суглобів, сприяє регенерації тканин при їх пошкодженні, зменшує запальні зміни в суглобах	Остеохондроз, артрит, поліартрит, артроз, операції на суглобах, травми суглобів
16	Артрон три-актив форте	Хондроїтину сульфат натрію, глюкозаміну гідрохлорид, метилсульфонілметан	Стимулює регенеративні процеси в хрящовій тканині, бере участь у біологічному синтезуванні сполучної тканини, перешкоджає руйнуванню хряща	Дегенеративно-дистрофічні та запальні захворювання опорно-рухового апарату
17	Артрофон	Антитіла до людського фактора некрозу пухлини альфа-афінноочищені: суміш гомеопатичних розведень	Виявляє протизапальну та анальгезуючу дії; інгібує продукування медіаторів запалення, покращує трофіку тканин; перешкоджає про	Гострі та хронічні, запальні та дегенеративні захворювання суглобів (остеоартроз, у т.ч. спондилоартроз; остео

1	2	3	4	5
			гресуванню запальних уражень тканин та органів-мішеней	хондроз; ревматоїдний артрит)
18	Вобензим	Панкреатин, папаїн, бромелаїн, триацилгліцеролліпаза, амілаза, трипсин, хімотрипсин, рутин	Ферменти для перорального застосування, такі як бромелаїн, трипсин, хімотрипсин, папаїн, панкреатин та рутин впливають на набряки запального та незапального походження (травматичні, спортивні). Дослідження на тваринах довели протизапальні властивості бромелаїну і комбінованих ферментних препаратів при пероральному застосуванні	Ревматичні захворювання: ревматоїдний артрит, несуглобовий ревматизм, остеоартроз, хвороба Бехтерева. Травматологія: травми (переломи, вивихи, контузії), запальні процеси м'яких тканин, хронічні посттравматичні процеси, травми у спортивній медицині. Хірургія: посттравматичні набряки, у тому числі післяопераційні, після пластичних і операцій.
19	Остеоартізі, 20 21 N	Глюкозаміну гідрохлорид, хондроїтину сульфат, селери запашної (Arium graveolens) плодів екстракт	Чинить анальгезуючу, протизапальну дію, уповільнює процес руйнування хряща, поліпшує рухомість	Остеоартроз; больовий синдром при остеоартриті, остеохондрозі, ревматизмі, фібро
20				
21				

1	2	3	4	5
22	Остеоартізі актив, N	сухий, верби білої (<i>Salix alba</i>) кори екстракт сухий, імбиру аптечного (<i>Zingiber officinale</i>) кореневищ екстракт сухий	суглобів, сприяє покращанню кровообігу	зиті, міозиті; больовий та набряковий синдроми при артриті та подагрі, період реконвалесценції після переломів кісток, травм, операцій на опорно-руховому апараті
23	Остеоартізі актив плюс, N			
24	Остеоартізі макс, N			
25	Румалон	Глікозаміногліканопептидний комплекс	Сповільнює прогресування остеоартрозу, нормалізує обмін речовин у гіаліновій тканині хрящів. Стимулює синтез глікозаміногліканів і колагену хрящової тканини, які сприяють руйнуванню суглобного хряща, посилює регенерацію хрящів суглобів, збільшує кількість синовіальної рідини, уповільнює розвиток остеоартрозу.	Дегенеративні захворювання суглобів: гонартрози, артрози міжпальцевих суглобів, коксартрози, спондильози, спондилоартрози, меніскопатія, хондромалія надколінника
26	Серокс	Серратіопептидаза	Серратіопептидаза виявляє фібринолітичну, протизапальну протинабрякову дію. Крім	Хірургічні захворювання: розтягнення зв'язок, переломи та вивихи, набряки

1	2	3	4	5
			зменшення запального процесу, серратіопептидаза зменшує біль внаслідок блокування вивільнення больових амінів із запалених тканин.	Захворювання органів дихання: зменшує в'язкість мокротиння та полегшує його відходження Захворювання ЛОРорганів: полегшує відходження секрету придаткових пазух.
28	Румалон	Глікозаміноглікано-пептидний комплекс	Стимулює синтез глікозаміногліканів і колагену хрящової тканини, покращує трофіку суглобних хрящів, посилює регенерацію та гіалінізацію хрящів суглобів	Дегенеративні захворювання суглобів: гонартрози, артрози міжпальцевих суглобів, коксартрози, спондиліози, менископатія
29	Сольвенцій	Спиртові гомеопатичні розведення кальцію фториду, сірки, плауна булавоподібного, туї західної	Впливає на обмін речовин, регулюючи та стимулюючи його; розчиняє відкладення солей	Остеохондроз, артрити, поліартрит обмінного походження
30	Флогензим	Бромелаїн, трипсин, рутин	Бромелаїн та трипсин пригнічували агрегацію тромбоцитів і зменшували їх готовність до агрегації, спричиненої АДФ. Протизапальні влас	Гострі запальні процеси і загострення хронічних запальних та дегенеративних захворювань: травми, після опера

1	2	3	4	5
			тивості описані також для рутину. Було підтверджено пригнічення ліпо- і циклооксигенази.	ційні стани, спортивні травми. Ревматологічні захворювання: ревматизм м'яких тканин, остеоартрози
31	Фонг те тхап	Омаломени кореневище (rhizomae Homalomenae); стефанії коріння (radix Stephaniae); дурнішнику плоди (fructus Xanthii); горцю багатоквіткового коріння (radix Polygoni multiflori); сегесбекії трава (herba Siegesbeckiae); мілаксу кореневище (rhizoma Smilacis)	Виявляє протизапальні, аналгетичні, загальнозміцнюючі властивості. Має м'яку сечогінну, Сприяє нормалізації обміну речовин, покращанню кровообігу в області локалізації патологічного процесу, відновлення рухомості суглобів покращує працездатність людини.	Симптоматичне лікування: артралгії при ревматизмі; артрозо-артритів різної етіології; остеохондрозу.
32	Хомвію-ревман	Colchicum (пізньоцвіт), Actaea (клопогон кистьоподібний), Spiraea ulmaria (спірея), Bryonia (переступень білий), Ruta (рута пахуча)	Виявляє протизапальну та знеболювальну дії; зменшує рівень сечової кислоти у крові; перешкоджає деструкції хрящової тканини уражених суглобів	Гострі хронічні артрити, поліартрити; ураження суглобів при ревматизмі, подагра, подагричні артрити; деформуючий остеоартроз; остеохондроз; травми ОРА; невралгії, міальгії, міозити, артралгії

Матеріальний баланс серії (1 тис. пачок) добавки дієтичної «Остеоверт»

Витрачено			Отримано		
Найменування сировини, напівпродуктів і матеріалів	Кількість		Найменування кінцевого продукту, втрат, відходів	Кількість	
	кг	т. шт.		кг	т. шт.
1	2	3	4	5	6
<i>Сировина:</i>			Добавка дієтична «Остеоверт», м'які желатинові капсули №32 по 40 пачок у груповій упаковці, в т.ч.:	71,674	1,000
Глюкозаміну сульфат	10,08		Плівка ПВХ + фольга алюмінієва	9,81	
Хондройтину сульфат	8,4		Листівка		1,000
Гарпагофітуму коренів екстракт сухий	6,72		Пачка		1,000
Соєва олія	21,168		Гофроящик		0,025
Лецитин	2,016		Прокладка к гофроящикам		0,050
Віск бджолиний	2,016		Стрічка клеюча (скотч)		0,00047
Желатин	11,070		Етикетки групові №40		0,025
Гліцерин	4,98		Номер укладальника-		1,025
			пакувальника		
Оксид заліза	0,110		<i>Втрати:</i>		
Вода очищена	9,987		Механічні безповоротні		
<i>Матеріали:</i>			<i>Відходи:</i>		
Плівка ПВХ (150x0,2)мм	8,288		Пленка ПВХ+фольга фольга алюмінієва		

Продовж. табл. А3

1	2	3	4	5	6
Фольга алюмінієва	1,932		Листівка	0,41	
(150x0,02)мм					
Листівка		1,005	Пачка		0,005
Пачка		1,005	Етикетки групові №40		0,005
Гофроящик		0,026	Гофроящик		0,004
Прокладка к гофроящикам		0,052	Прокладка к гофроящикам		0,001
Етикетки групові №40		0,029	Номер укладальника-пакувальника		0,002
Стрічка клеюча (скотч)		0,00047			
Номер укладальника-пакувальника		1,03			
<i>Всього:</i>	<i>86,767</i>	<i>3,14747</i>	<i>Всього:</i>	<i>86,767</i>	<i>3,14747</i>

Додаток Б

Список публікацій здобувача

1. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату. *ScienceRise*. 2015. № 10/4 (15). С. 24–31 (*особистий внесок – проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у написанні статті*).
2. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Визначення діагностичних морфолого-анатомічних ознак плодів софори японської та їх стандартизація. *Фітотерапія. Часопис*. 2015. № 3. С. 48–51 (*особистий внесок - підготовка лікарської сировини до аналізу, обробка отриманих експериментальних даних, участь у написанні статті*).
3. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація квіток софори японської за макроскопічними та мікроскопічними ознаками. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 1. С. 42–45 (*особистий внесок – підготовка лікарської сировини до аналізу, участь у проведенні експериментальних досліджень, участь у написанні статті*).
4. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація стулок квасолі звичайної за макро– та мікроскопічними ознаками. *ScienceRise*. 2016. № 2/4 (19). С. 32–37 (*особистий внесок – підготовка лікарської сировини до аналізу, участь у проведенні експериментальних досліджень, участь у написанні статті*).
5. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Софори квітки», «Софори бутони». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2017. № 4 (52). С. 12–19 (*особистий внесок - проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, підготовка статті до друку*).
6. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Гарпагофітуму

- лежачого корені». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2018. № 1 (53). С. 6–13 (особистий внесок - проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, підготовка статті до друку).
7. Kriukova A. I., Vladymyrova I. M. The study of the technological and microbiological parameters of a dietary supplement «Osteovert». *Visnik Farmacii*. 2018. № 2 (94). Р. 41–47 (особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, участь у написанні статті).
 8. Kriukova A., Vladymyrova I. Determination of technological parameters and indicators of the quality of new herbal collection. *EUREKA: Health Sciences*. 2018. № 6. Р. 61-68 (особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, участь у написанні статті).
 9. Крюкова А. І., Литкін Д. В., Загайко А. Л., Владимірова І. М. Рослинний збір з анальгетичною та протизапальною активністю : пат. 129448 України № u201805966 ; заявл. 29.05.18 ; опубл. 25.10.18. Бюл. №20. (особистий внесок – участь у патентному пошуку, плануванні та проведенні експериментальних досліджень та оформленні матеріалів).
 10. Крюкова А. І., Губарь С. М., Владимірова І. М. Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії : інформ. лист № 222018 / Український центр наукової медичної інформації та патентноліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. Вип. 4. 4 с. (Рішення ПК «Фармація» Протокол № 103 від 25.10.2017 р.).

Продовж. Додатку Б
Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. I Междунар. науч. практ. конф. для студентов, аспирантов и молодых ученых «Наука в современном мире» (Киев, 19 сентября 2018 г., форма участі – публікація тез);
2. III междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, 9–10 декабря 2015 г., форма участі – публікація тез);
3. 44-th Conference drug synthesis and analysis (Brno, 2-4 September 2015., форма участі – публікація тез);
4. Науч.–практ. конф., посвящ. 81–летию Курского гос. мед. ун–та и 50–летию фармац. ф–та (Курск, 4–5 февраля 2016 г., форма участі – публікація тез);
5. IV International scientific conference of young researchers (Azerbaijan, 29–30 April 2016, форма участі – публікація тез);
6. Всеукр. наук.–практ. конф. «Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації» (Вінниця, 16 березня 2016 р., форма участі – публікація тез);
7. XXXIII international scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 21 April, 2016, форма участі – публікація тез);
8. II Міжнародна науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 21- 23 березня 2016 р., форма участі – публікація тез);
9. 85-й Науково-практична конференція студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р., форма участі – публікація тез);

10. I Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (м. Харків, 24-25 березня 2016 р., форма участі – публікація тез);
11. Науково-практична конференція «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез);
12. International Conference of Pharmacy Students «Be in progress 2» (Lublin, 21–25 April, 2016., форма участі – постерна доповідь);
13. VI наук.-практ. конф. з міжнар. Учасстю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10–11 листопада 2016 р., форма участі – публікація тез);
14. XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 20, 2017, форма участі – усна доповідь);
15. Proceedings of the 1st Annual Conference (Ukrainian Section) «Technology transfer: innovative solutions in medicine» (Estonia, 26 October, 2017, форма участі – публікація тез);
16. II International Scientific and Practical Conference «Topical problems of modern science» (Warsaw, Poland, November 18, 2017, форма участі – публікація тез);
17. XXI міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60–річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (Тернопіль, 24–26 квітня 2017 р., форма участі – публікація тез);
18. Fourth Pharmaceutical Business Forum and Scientific and Practical Conference «Innovations and prospects in pharmaceutical practice» (Varna, October 27-29, 2017, форма участі – публікація тез);
19. XXV international scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 18–20 April, 2018, форма участі – усна доповідь);
20. I Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів та дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 5 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез).

Додаток В

Акти впровадження

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
ТА КОНТРОЛЮ ЗА НАРКОТИКАМИ

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВИЙ
ФАРМАКОПЕЙНИЙ ЦЕНТР
ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»



STATE ADMINISTRATION OF UKRAINE
ON MEDICINAL PRODUCTS
AND DRUG CONTROL
UKRAINIAN SCIENTIFIC
PHARMACOPOEIL CENTER
FOR QUALITY OF MEDICINES

61085, м. Харків - 85, вул. Астрономічна, 33. Тел. (+38 057) 719-06-03, 719-93-76, 719-06-06 лаб., 719-06-07 бух.,
Тел./факс: 719-93-83, 315-15-49 бух. <http://www.sphu.org/> E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua

Від 22.05.18 № 11/626-5
На _____ № _____

Акт про участь Крюкової А.І., Владимирової І.М. в розробці проекту монографії «Софори японської пуп'янки».

Крюкова А.І., Владимирова І.М. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., ст.н.с. Котова А.Г. та завідувача сектору «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» ст.н.с. Котової Е.Е., брали участь в експериментальній роботі по гармонізації національних вимог ДФУ з вимогами Європейської Фармакопеї 8.3 лікарської рослинної сировини софори японської пуп'янки.

В результаті роботи був розроблений проект монографії ДФУ «Софори японської пуп'янки».

Директор ДП «УНФЦКЛЗ»
д. х. н., професор



О.І. Гризодуб

Додаток Г

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
ТА КОНТРОЛЮ ЗА НАРКОТИКАМИ

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВИЙ
ФАРМАКОПЕЙНИЙ ЦЕНТР
ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»



STATE ADMINISTRATION OF UKRAINE
ON MEDICINAL PRODUCTS
AND DRUG CONTROL
UKRAINIAN SCIENTIFIC
PHARMACOPOEIL CENTER
FOR QUALITY OF MEDICINES

61085, м. Харків - 85, вул. Астрономічна, 33. Тел. (+38 057) 719-06-03, 719-93-76, 719-06-06 лаб., 719-06-07 бух.,
Тел./факс: 719-93-83, 315-15-49 бух. <http://www.sphu.org/> E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua

Від 22.05.18 № Н/625-5
На _____ № _____

Акт про участь Крюкової А.І., Владимирової І.М. в розробці монографії
«Софори японської квітки».

Крюкова А.І., Владимирово І.М. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., ст.н.с. Котова А.Г. та завідувача сектору «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» ст.н.с. Котової Е.Е., брали участь в експериментальній роботі по гармонізації національних вимог ДФУ з вимогами Європейської Фармакопеї 8.3. видання лікарської рослинної сировини квіток софори японської.

В результаті роботи був розроблений проект монографії «Софори японської квітки».

Директор ДП «УНФЦКЛЗ»
д. х. н., професор



О.І. Гризодуб

Додаток Д

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
ТА КОНТРОЛЮ ЗА НАРКОТИКАМИ

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВИЙ
ФАРМАКОПЕЙНИЙ ЦЕНТР
ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»



STATE ADMINISTRATION OF UKRAINE
ON MEDICINAL PRODUCTS
AND DRUG CONTROL
UKRAINIAN SCIENTIFIC
PHARMACOPOEIL CENTER
FOR QUALITY OF MADICINES

61085, м. Харків - 85, вул. Астрономічна, 33. Тел. (+38 057) 719-06-03, 719-93-76, 719-06-06 лаб., 719-06-07 бух.,
Тел./факс: 719-93-83, 315-15-49 бух. <http://www.sphu.org/> E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua

Від 22.05.18 № 11/628-5
На _____ № _____

Акт про участь Крюкової А.І., Губарь С.М., Владимирової І.М. у розробці монографії ДФУ 2.0 Т.3 «Гарпагофітуму лежачого корені».

Крюкова А.І., Губарь С.М., Владимирова І.М. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., ст.н.с. Котова А.Г. та завідувача сектору «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» ст.н.с. Котової Е.Е., брали участь у роботі з апробації методик контролю якості монографії «Гарпагофітуму лежачого корені», яка увійшла до Державної фармакопеї України 2.0.

Директор ДП «УНФЦКЛЗ»
д. х. н., професор



О.І. Гризодуб

Додаток Е

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
ТА КОНТРОЛЮ ЗА НАРКОТИКАМИ

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВИЙ
ФАРМАКОПЕЙНИЙ ЦЕНТР
ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»



STATE ADMINISTRATION OF UKRAINE
ON MEDICINAL PRODUCTS
AND DRUG CONTROL
UKRAINIAN SCIENTIFIC
PHARMACOPEIL CENTER
FOR QUALITY OF MEDICINES

61085, м. Харків - 85, вул. Астрономічна, 33. Тел. (+38 057) 719-06-03, 719-93-76, 719-06-06 лаб., 719-06-07 бух.,
Тел./факс: 719-93-83, 315-15-49 бух. <http://www.sphu.org/> E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua

Від 22.05.18 № 4/629-5
На _____ № _____

Акт про участь Крюкової А.І., Губарь С.М., Владимирової І.М. в
розробці проекту національної монографії «Квасолі звичайної стулки
плодів^N».

Крюкова А.І., Губарь С.М., Владимирово І.М. у складі групи «Лікарська
рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н.,
ст.н.с. Котова А.Г. та завідувача сектору «Експериментальна підтримка
розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» ст.н.с. Котової
Е.Е., брали участь в експериментальній роботі з розробки проекту
національної монографії ДФУ на лікарську рослинну сировину квасолі
звичайної стулки плодів.

В результаті роботи був розроблений проект монографії ДФУ «Квасолі
звичайної стулки плодів^N».

Директор ДП «УНФЦКЛЗ»
д. х. н., професор



О.І. Гризодуб

Додаток Ж

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
ТА КОНТРОЛЮ ЗА
НАРКОТИКАМИ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВИЙ
ФАРМАКОПЕЙНИЙ ЦЕНТР
ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»



STATE ADMINISTRATION OF
UKRAINE
ON MEDICINAL PRODUCTS
AND DRUG CONTROL
UKRAINIAN SCIENTIFIC
PHARMACOPEIL CENTER
FOR QUALITY OF MADICINES

61085, м. Харків - 85, вул. Астрономічна, 33. Тел. (+38 057) 719-06-03, 719-93-76, 719-06-06 лаб., 719-06-07 бух.,
Тел./факс: 719-93-83, 315-15-49 бух. <http://www.sphu.org/> E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua

Від 06.12.18 № Н/1370-5
На _____ № _____

Акт про участь Крюкової А.І., Владимирової І.М. в розробці проекту національної монографії «Софори японської плоди^Н».

Крюкова А.І., Владимирова І.М. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., ст.н.с. Котова А.Г. та завідувача сектору «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» ст.н.с. Котової Е.Е., брали участь в експериментальній роботі з розробки проекту національної монографії ДФУ на лікарську рослинну сировину софори японської плоди.

В результаті роботи був розроблений проект монографії ДФУ «Софори японської плоди^Н».

Директор ДП «УНФЦЯЛЗ»
д. х. н., професор



О.І. Гризодуб

Додаток К

ЗАТВЕРДЖЕНО
Наказ Міністерства охорони
здоров'я України
№ _____
Реєстраційне посвідчення
№ _____

Заявник, країна: ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС»,
Україна

Виробник, країна: ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС»,
Україна

ПРОЕКТ**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ****OSTEOVERTUM****ОСТЕОВЕРТ**

капсули по 1,5 г по 50 капсул
у банці полімерній, в упаковці

Відповідає ТУ У 15.8-31062507-059:2016 «Добавки дієтичні на основі
олій та жирів тваринних»

Директор ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС»



В. Б. Дем'янін

Додаток Л

ЗАТВЕРДЖЕНО
Наказ Міністерства охорони
здоров'я України
 № _____
Ресстраційне посвідчення
 № _____

Заявник, країна: ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС»,
 Україна

Виробник, країна: ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС»,
 Україна

ПРОЕКТ**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ****REVMAVERTUM****РЕВМАВЕРТ**

збір рослинний по 70,0 г у пачці

Директор ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС»



В. Б. Демьохін

Додаток М

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Директор ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС»

В.Б. Демьохін

«16» листопада 2018 р.


АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати кандидатської дисертаційної роботи аспіранта кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету Крюкової А.І. «Розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів» з розробки параметрів стандартизації стулок квасолі звичайної, плодів софори японської, коренів гарпагофітуму лежачого були використані при розробці технічних умов України ТУ У 15.8-31062507-022:2009 «Сировина рослинна, натуральна для виробництва добавок дієтичних».

Відповідальний за впровадження
 Начальник фітохімічного цеху



Н.І. Деркач

Додаток Н


«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Директор ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС» _____ В.Б. Дем'юхін
 «26» жовтня 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати кандидатської дисертаційної роботи аспіранта кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету Крюкової А.І. «Розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів» були використані при опрацюванні технології отримання добавки дієтичної «Остеоверт».

Запропонована технологія відтворюється у промислових умовах. Одержані капсули відповідають показникам якості, затвердженим у технічних умовах ТУ У 15.8-31062507-059:2016 «Добавки дієтичні на основі олій та жирів тваринних».

Відповідальний за впровадження
 Начальник цеху готових
 лікарських форм


 Н. В. Кулиш

Додаток П

ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика»
вул. Лермонтовська, 5, м. Житомир, 10014, Україна
Телефон: +38 0412 48-11-31

Vishpha[®]
pharm factory

ЗАТВЕРДЖЕНО

Генеральний директор

ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика»

Вишневецький І.А.

2018 р.



Акт впровадження

Проведено та впроваджено науково-дослідні роботи з розробки та валідації методик контролю якості для вхідного контролю лікарської рослинної сировини Квасолі звичайної стулки плодів. Розробниками від Національного фармацевтичного університету є аспірант Крюкова Анна Ігорівна, к.фарм.н. Губарь Світлана Миколаївна, д.фарм.н. Владимирова Інна Миколаївна.

Відповідальний
за впровадження

Додаток Р



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Запорізького державного медичного
університету

проф. Туманський В.О.

« 14 » листопада 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** дослідження зі стандартизації квіток софори японської за макроскопічними та мікроскопічними ознаками.
2. **Установа, автори:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Крюкова А.І., доц. Сіра Л.М., д.ф.н., доц. Владимірова І. М.
3. **Джерело інформації:** стаття «Стандартизація квіток софори японської за макроскопічними та мікроскопічними ознаками» / Фітотерапія. Часопис. – 2016. - № 1. – С. 42-45.
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії, фарм.хімії і технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** визначення мікроскопічних діагностичних ознак квіток софори японської.
6. **Термін впровадження:** IV квартал 2017 р. – I квартал 2018 р.
7. **Ефективність впровадження:** Результати наукових досліджень зі стандартизації квіток софори японської за макроскопічними та мікроскопічними ознаками використані при виконанні науково-дослідної роботи кафедри при аналізі рослинної сировини.
8. **Зауваження та пропозиції:** внести матеріали досліджень до проекту МКЯ.

Відповідальний за впровадження:Завідувач кафедрою фармакогнозії,
фармацевтичної хімії
та технології ліків ФПО
д.фарм.н., професор

О.В. Мазулін

Продовж. дод. Р

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Перший проректор
науково-педагогічної роботи
ІНМУ ім. Данила Галицького
член-кор. НАМН України
проф. Гжегоцький М. Р.
« 5 » « березня » 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати досліджень з розробки методик та критеріїв стандартизації коренів гарпагофітуму лежачого (*Harpagophytum procumbens* DC.).
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, Крюкова А.І., д.ф.н., доц. Владимірова І. М.
3. **Джерела інформації:**
 1. Крюкова А.І., Владимірова І.М., Губарь С.М., Котов А.Г., Котова Е.Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Гарпагофітуму лежачого корені» // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2018. – № 1. – С. 6-12.
 2. Крюкова А. І. Вивчення мінерального складу коренів гарпагофітуму лежачого (*Harpagophytum procumbens* DC.) / А. І. Крюкова, І. М. Владимірова // Всеукр. наук.-практ. конф. «Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації». – Вінниця, 2016. – С. 72-74.
 3. Крюкова А. И. Изучение макроскопических признаков корня *Harpagophytum procumbens* DC. / А. И. Крюкова, Л. М. Серая, И. Н. Владимірова // II Міжнарод. наук.-практ. internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (21-23 березня 2016 року, м. Харків, Україна). – Харків, 2016. – С. 144-145.
 4. Крюкова А. І. Ідентифікація біологічно активних речовин коренів гарпагофітуму лежачого / А. І. Крюкова, І. М. Владимірова // I Наук.-практ. интернет-конф. з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (24-25 березня 2016 року, м. Харків,
 5. Крюкова А.І. Визначення технологічних параметрів коренів гарпагофітуму лежачого (*Harpagophytum procumbens* DC.) / А. І. Крюкова, І. М. Владимірова // XXI міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України. – 2017. – С. 244.

Доповн. дод. Р

6. Kriukova A., Vladymyrova I., Tishakova T. Rationale for choosing of extraction solvent for obtaining liquid extract from the roots of Harpagophytum Procumbens DC / Fourth Pharmaceutical Business Forum and Scientific and Practical Conference «Innovations and prospects in pharmaceutical practice". – Varna, 2017. – P. 37.
7. Kriukova A., Vladymyrova I. GC-MS determination of chemical constituents of Radix Harpagophytum procumbens DS / Proceedings of the 1st Annual Conference «Technology transfer: innovative solutions in medicine» (Ukrainian Section) (26 October, Tallin, Estonia), 2017. – P. 52-54.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ імені Данила Галицького.

5. Форма впровадження: навчальний процес (лекційний курс) та наукові дослідження кафедри фармакогнозії і ботаніки.

6. Ефективність впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу, основних критеріїв та їх числових показників фармакопейних методів стандартизації коренів гарпагофітуму лежачого.

7. Термін впровадження: 2017-2018 навчальний рік.

Продовж. дод. Р

Затверджую
Перший проректор
НМАПО імені П.Л. Шупика
Л. кор. НАМН України
професор Ю.П. Вдовиченко
«30» Вовчак 2017 р.



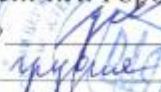
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України.
2. **Установа, автори:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Крюкова А.І., д.ф.н., доц. Владимирова І. М.
3. **Джерело інформації:** Стаття «Аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату» / Крюкова А.І., Владимирова І. М. // Science Rise. – 2015. - №10/4(15). – С. 24-31.
4. **Впроваджено:** у науковий та освітній процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів.
5. **Термін впровадження:** 2016-2017 р.
6. **Ефективність впровадження:** Результати наукових досліджень з аналітичного огляду сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України, використані при формуванні інформаційного забезпечення науково-освітнього процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри контролю якості і
стандартизації лікарських засобів
професор Ветютнева Н.О. Ветютнева

Продовж. дод. Р

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи ДВНЗ
«Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ
України» проф. Кліщ І.М.
« 22 »  2017 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** визначення діагностичних морфолого-анатомічних ознак плодів софори японської та їх стандартизація.
2. **Установа, автори:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Крюкова А.І., доц. Сіра Л. М., д.ф.н. доц. Владимирова І. М.
3. **Джерело інформації:** Визначення діагностичних морфолого-анатомічних ознак плодів софори японської та їх стандартизація / Крюкова А.І., Сіра Л. М., Владимирова І. М. // Фітотерапія. Часопис. – 2015. – № 2. – С. 48-51.
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота та навчальний процес.
6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з визначення діагностичних морфолого-анатомічних ознак плодів софори японської впроваджено у науково-дослідну роботу кафедри, а також у навчальний процес з метою поглиблення знань студентів з питань стандартизації нової лікарської рослинної сировини
7. **Термін впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.
8. **Пропозиції та зауваження:** немає

Завідувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»,
д.фарм.н., професор



С.М. Марчишин

Продовж. дод. Р

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Ректор ПВНЗ «Київський медичний
університет»
проф. Івнев Б.І.
_____ 2017 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** дослідження зі стандартизації стулок квасолі звичайної за макро- та мікроскопічними ознаками.
2. **Установа, автори:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Крюкова А.І., доц. Сіра Л. М., д. фарм. н., доц. Владимірова І. М.
3. **Джерело інформації:** Стаття «Стандартизація стулок квасолі звичайної за макро- та мікроскопічними ознаками» / Крюкова А.І., Сіра Л.М., Владимірова І.М. // ScienceRise. – 2016. - № 2/4(19). – С. 32-37.
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фітотерапії, гомеопатії та біоенергоінформаційної медицини.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Термін впровадження:** 2017-2018 р.
7. **Ефективність впровадження:**
8. **Результати наукових досліджень зі стандартизації стулок квасолі звичайної за макро- та мікроскопічними ознаками впроваджені у науково-дослідну роботу кафедри фітотерапії, гомеопатії та біоенергоінформаційної медицини.**

Відповідальний за впровадження:

доктор медичних наук, професор,
академік Академії наук вищої школи України.
Завідувач кафедри фітотерапії, гомеопатії та
біоенергоінформаційної медицини
ПВНЗ «Київський медичний університет»

_____ Т.П. Гарник

Відділ
Кадрів



_____ О.Берейшук

Продовж. дод. Р

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Ректор Івано-Франківського
національного медичного університету
проф. Рожко М.М.
« 14 » Квітня 20 18 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** дослідження з апробації (верифікації) методик показників якості квіток та бутонів софори японської згідно вимог відповідних монографій Європейської Фармакопеї 8.3 та Державної фармакопеї України 2.1.
2. **Установа, автори:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, асист. Крюкова А. І., д.ф.н., доц. Владимирова І. М., д.ф.н., ст.н.с. Котов А. Г., к.ф.н., ст.н.с. Котова Е. Е.
3. **Джерело інформації:** Стаття «Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Софори квітки», «Софори бутони»» / Крюкова А. І., Владимирова І. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. - № 4(52). - 2017. - С. 12-19.
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Термін впровадження:** 2018-2019 рр.
7. **Ефективність впровадження:**
Результати наукових досліджень з апробації (верифікації) методик показників якості квіток та бутонів софори японської згідно вимог відповідних монографій Європейської Фармакопеї 8.3 та Державної фармакопеї України 2.1 впроваджені у науково-дослідну роботу кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації
Івано-Франківського національного
медичного університету,
д.фарм.н., професор



А.Р. Грищик

Продовж. дод. Р

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Вищого
державного навчального закладу України
«Буковинський державний медичний
університет»

проф. Іващук О.І.

« 10 » _____ 2018 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** дослідження з верифікації методик ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин коренів гарпагофітуму лежачого, згідно з вимогами монографії Європейської Фармакопеї «Devil's claw Root».
2. **Установа, автори:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, асист. Крюкова А. І., д.ф.н., доц. Владимірова І. М., к.ф.н. Губарь С. М., д.ф.н., ст.н.с. Котов А. Г., к.ф.н., ст.н.с. Котова Е. Е.
3. **Джерело інформації:** Стаття «Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Гарпагофітуму лежачого корені»» / Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. - № 1(53). - 2018. - С. 6-13.

Де впроваджено: у науково-дослідну роботу кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет».

4. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.

5. **Термін впровадження:** 2018-2019 рр.

6. **Ефективність впровадження:**

Результати наукових досліджень із верифікації методик ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин коренів гарпагофітуму лежачого, згідно з вимогами монографії Європейської Фармакопеї «Devil's claw Root» впроваджені у науково-дослідну роботу кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет».

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармацевтичної ботаніки
та фармакогнозії
Вищого державного навчального закладу України
«Буковинський державний
медичний університет»,
д.мед.н., професор

О.І. Захарчук