

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Коноваленко Ілона Сергіївна

УДК: 615.32:615.451.1:615.014.2:618.173

ДИСЕРТАЦІЯ

**Розробка складу та технології фітопрепаратів для лікування клімактеричного
синдрому**

226 – Фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

_____ І. С. Коноваленко

Науковий керівник: Половко Наталя Петрівна

доктор фармацевтичних наук, професор

Харків – 2020

АНОТАЦІЯ

Коноваленко І. С. Розробка складу та технології фітопрепаратів для лікування клімактеричного синдрому. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена теоретичному та експериментальному обґрунтуванню складу, розробці технології та дослідженню фітозасобів у формі збору, сухого та рідкого екстрактів (крапель) на основі комплексу лікарської рослинної сировини для лікування клімактеричного синдрому.

Проаналізовано та узагальнено етіопатогенетичні аспекти гінекологічних розладів, які спричинені клімактеричним синдромом. Визначено, що клімактеричні розлади впливають на низку органів та систем (серцево–судинна система, центральна нервова система, опорно–руховий апарат, уrogenітальні та метаболічні порушення), що вказує на необхідність системного фармакотерапевтичного підходу. Фітотерапевтичні засоби, на відміну від препаратів гормонального походження, мають низьку спорідненість до естрогенових рецепторів завдяки чому фітоестрогени не впливають на ростові функції, та проявляють захисний ефект по відношенню до злоякісної та клітинної проліферації тканин ендометрію і молочних залоз. Важливою перевагою та перспективою застосування фітотерапевтичних засобів є вплив одразу на декілька ланок патологічного процесу.

За результатами аналізу асортименту лікарських препаратів для терапії клімактеричних розладів встановлено, що вітчизняний ринок представлений лише 7 засобами, які згідно класифікаційній системі АТС належать до групи N05C M – Снодійні та седативні препарати, це обумовлює необхідність розробки сучасних препаратів багатоспрямованої дії для лікування проявів клімактеричного синдрому.

На підставі аналізу джерел літератури та комп'ютерного прогнозування біологічної активності діючих речовин за програмою PASS для подальших досліджень зі створення фітопрепаратів для негормональної терапії клімактеричного синдрому у формі збору та сухого екстракту відібрано: квітки липи серцелистої, трава чебрецю повзучого, трава деревію звичайного, суцвіття конюшини лучної, а для рідкого спиртового екстракту (крапель) – шишки хмелю звичайного, листя кропиви дводомної, листя шавлії лікарської.

Обґрунтовано загальну концепцію досліджень. Відповідно до рекомендацій та вимог Державної Фармакопеї України до фітопрепаратів розроблено план досліджень із пошуку оптимального складу і технології збору, сухого екстракту (Флавоклім) та рідкого спиртового екстракту (крапель) (Флавоклім-плюс).

Наведено характеристику лікарської рослинної сировини, що входить до складу розробляємих фітопрепаратів, допоміжних речовин; проаналізовано вимоги до якості збору, сухого водного та рідкого спиртового екстракту (крапель).

Здійснено вибір методів дослідження для фармацевтичної розробки відповідно до вимог Державної Фармакопеї України.

Проведено та узагальнено результати експериментальних досліджень з визначення показників якості та основних технологічних параметрів лікарської рослинної сировини, що входить до складу лікарського збору, сухого та рідкого екстракту. Вивчено вплив параметрів екстрагування за умов отримання водних витягів з розробленого збору. Визначено, що максимальний вихід біологічно активних речовин при екстракції збору (зі ступенем подрібнення 1–3 мм) при отриманні настою відбувається при нагріванні на водяній бані (90 °C) впродовж 15 хв та настоюванні до охолодження – 30–45 хв. Розроблено технологію виготовлення збору в аптечних та промислових умовах. Отримано сухий водний екстракт з розробленого збору, який за хімічним складом відповідає вмісту настою з розробленого збору. Розроблено методику кількісного визначення флавоноїдів та поліфенольних сполук у зборі та сухому екстракті методом адсорбційної спектрофотометрії. Експериментально доведено стабільність сухого екстракту при зберіганні у повітронепроникному пакеті протягом одного року та збору у пакеті

поліетиленовому, вкладеному в пачки з картону протягом двох років при температурі, що не перевищує 25 °С. Мікробіологічними дослідженнями встановлено, що розроблений збір та сухий екстракт за показниками мікробіологічної чистоти відповідають вимогам Державної Фармакопеї України категорії А. Розроблено проекти технологічних інструкцій, технологічних регламентів та методів контролю якості на збір та сухий екстракт «Флавоклім», які апробовано в умовах низки виробничих аптек: аптека № 171 КП ММРЗО «Центральна міська аптека № 171», м. Мелітополь; аптека № 6 ТОВ «Леда», аптека № 195 КП ХОР «Фармація», м. Харків; ТОВ аптека «Центорія», м. Івано–Франківськ; Навчально–виробнича аптека № 1 Львівського національного медичного університету (ЛНМУ) ім. Данила Галицького, м. Львів (акти впровадження від 24.10.2019 р., 05.03.2020 р., 20.02.2020 р., 28.09.2020 р., 04.02.2020 р., відповідно).

Встановлено відповідність лікарської рослинної сировини, з якої отримували рідкий екстракт вимогам відповідних монографій Державної Фармакопеї України. Визначено її основні технологічні параметри. Встановлено, що оптимальним екстрагентом фітокомпозиції, створеної для отримання екстракту, є 70 %, етанол, який вилучає на 19,4 % більше флавоноїдних сполук у перерахунку на рутин ніж при екстрагуванні 40 % етанолом. Визначено ефективний метод екстрагування – перколяція з кратністю екстракції фітокомпозиції – 4. Розроблено технологію виготовлення екстракту в промислових умовах. Визначено показники якості екстракту згідно вимог Державної Фармакопеї України, розроблено та обгрунтовано методики ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів і поліфенольних сполук в екстракті методом спектрофотометрії. Встановлено вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин в 1 мл препарату не менше 15 мг, а вміст поліфенолів у перерахунку на галову кислоту не менше 7 мг. Розроблено специфікацію до проекту методу контролю якості на рідкий екстракт (краплі). Встановлено, що за показниками мікробіологічної чистоти рідкий екстракт відповідає вимогам Державної Фармакопеї України категорії В. За результатами вивчення стабільності екстракту в процесі зберігання запропоновано термін придатності 2 роки при температурі, що не перевищує 25 °С. Розроблено проекти технологічних регламентів та методів

контролю якості на екстракт «Флавоклім–плюс», які апробовано в умовах низки виробничих аптек: аптека № 6 ТОВ «Леда», аптека № 195 КП ХОР «Фармація», м. Харків (акти апробації технології від 05.03.2020 р., 20.02.2020 р., відповідно).

Узагальнено результати вивчення специфічної фармакологічної активності розроблених фітопрепаратів на моделі білатеральної оваріоектомії по Кіршенблату на самицях щурів. Визначення специфічної фармакологічної активності проведено за дослідженням психоемоційного порушення («піднесений хрестоподібний лабіринт», тест «поведінкового відчаю»), вивчення метаболічних (динаміки зміни маси тіла, визначення рівня глюкози та ліпідів) та гормональних порушень (визначення рівня естрадіолу та прогестерону).

Експериментально встановлено, що рідкий екстракт зменшував масу тіла тварин на 5,86 %; відновлював до нормальних значень показники латентного періоду входу в темний рукав та кількості переходів, збільшував час знаходження тварин в світлому рукаві лабіринту в 2 рази в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт»; зменшував сумарний час іммобілізації тварин в 1,5 рази в тесті «поведінкового відчаю»; відновлював рівень сироваткової глюкози натщесерце; відновлював рівень тригліцеридів та загального холестеролу в сироватці крові тварин до нормальних показників, зменшував вміст холестеролу ліпопротеїнів низької щільності на 23,2 %; не викликав гіперпродукції статевих гормонів у самиць щурів в умовах оваріоектомії.

Настій, виготовлений зі збору, відновлював до значень норми показник латентного періоду входу в темний рукав та збільшував час знаходження тварин в світлому рукаві лабіринту в 1,8 разів й кількість переходів між рукавами – в 2,9 разів в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт»; зменшував сумарний час іммобілізації тварин в 1,3 рази в тесті «поведінкового відчаю»; зменшував вміст загального холестеролу на 12,7 %; не викликав гіперпродукції статевих гормонів у самиць щурів в умовах оваріоектомії.

За результатами проведених досліджень з вивчення гострої токсичності розроблених лікарських засобів встановлено відсутність токсичної дії препаратів при парентеральному ($LD_{50} > 1000$ мг/кг) та ентеральному ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) шляхах введення. Настій, виготовлений з розробленого збору та екстракт відносяться до

IV класу токсичності.

Новизна дисертаційних досліджень захищена патентом України на корисну модель № 138102 «Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді що проявляє седативну, естрогенну, вегето–судинну дію та регулює ліпідний обмін».

Ключові слова: технологія екстракційних препаратів, збір, сухий екстракт, рідкий екстракт, клімактеричний синдром.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Статті у наукових фахових виданнях

1. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Наукове обґрунтування складу композиції лікарської рослинної сировини для лікування клімактеричного синдрому. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2018. № 29. С. 205–214. (*Особистий внесок: формування мети, узагальнення даних, підготовка публікації*).

2. Konovalenko I. S., Polovko N. P., Lytkin D. V., Zagayko A. L. Research of acute toxicity of medicinal drugs on the basis of plant raw material for non–hormonal therapy of climateric syndrome. *Clinical Pharmacy Journal*. 2018. Vol. 22, №3. P. 11–16. (*Особистий внесок: формування мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення даних, підготовка публікації*).

3. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection. *Annals of Mechnikov Institute*. 2019. № 3. P. 50–53. (*Особистий внесок: формування мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення даних, підготовка публікації*).

4. Коноваленко И. С., Половко Н. П., Бевз Н. Ю. Разработка методик контроля качества настоя из гинекологического лекарственного растительного сбора. *Norwegian Journal of development of the International Science: Pharmaceutics*. 2019. № 35, Том 2. – С. 43–48. (*Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного*

пошуку, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

5. Konovalenko I., Polovko N. The substantiation of the conditions for extracting the phytocomposition for nonhormonal therapy of menopause. *Danish Scientific Journal: Pharmaceutics*. 2020. № 39. Vol. 2. P. 63–68. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

Патенти

6. Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді що проявляє седативну, естрогенну, вегето–судинну дію та регулює ліпідний обмін : пат. 138102 України на корисну модель. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. власник НФаУ. № 201903243; заяв. 01.04.2019; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22. 4 с. (Особистий внесок: планування патентного пошуку, розробка складу та технології фармацевтичної композиції, підготовка формули та опису до патенту).

Інформаційні листи

7. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів: інформ. лист. № 382–2018. Київ, 2018. 4 с. (Особистий внесок: узагальнення даних та написання інформаційного листа).

Публікації в інших виданнях

8. Коноваленко І.С., Половко Н. П. Изучение технологических свойств сбора для лечения климактерического синдрома. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: збірник наукових праць*. 2016. С. 318–320. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

9. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Study of the technological properties of dry extract of *Salvia officinalis*. *Modern achievements of pharmaceutical technology and biotechnology: a collection of scientific papers*. 2017. Vol. 2. P. 15–17. (Особистий

внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

10. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Залежність ступеня вилучення екстрактивних речовин від дисперсності лікарського рослинного збору для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: збірник наукових праць*. 2017. Випуск 3. С. 157–159. *(Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

11. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Маркетингові дослідження ринку біологічно активних речовин, що застосовуються для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *International research and practice conference “Innovative technology in medicine experience of Poland and Ukraine*. 2017. С.149–154. *(Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

12. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Обоснование выбора лекарственного растительного сырья для негормональной терапии климактерического синдрома. *Инновации в медицине и фармации – 2017: материалы международной научно–практической конференции БГМУ, г. Минск, 10 октября 2017*. С. 832–839. *(Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

13. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Технологія виготовлення в умовах аптеки збору для лікування клімактеричного синдрому. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : збірник наукових праць*. 2018. Випуск 4. С. 115–117. *(Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

14. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. Динаміка зміни маси тіла у щурів при фармакологічному вивченні засобів на основі рослинної

сировини на моделі експериментальної оваріоектомії. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології*. 2018. Випуск 5. С. 180–183. (Особистий внесок: формулювання мети, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

15. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. Фармакологічне вивчення лікарського рослинного збору на моделі експериментальної оваріоектомії у щурів. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів*. 2019. Випуск 3. С.113–117. (Особистий внесок: формулювання мети, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

16. Konovalenko I., Polovko N. Marketing research of the pharmaceutical market of medicinal products for correction of menopause disorders. *The potential of modern science*. 2019. Vol. 3. P. 106–118. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

17. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. Фармакологічне вивчення лікарського рослинного збору на моделі експериментальної оваріоектомії у щурів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали III Міжнар. наук.–практ. конф., м. Харків, 14–15 березня 2019 року. Харків : НФаУ. 2019. Т. 1. С. 110–114. (Особистий внесок: формулювання мети, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

18. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Гудзь Н. І., Вечорек Пьотр П. Дослідження лікарської рослинної сировини, яка входить до складу гінекологічних крапель. *Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології*. 2019. С. 88–93. (Особистий внесок: формулювання мети, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

Тези доповідей

19. Konovalenko I. S., Evtushenko T. I., Polovko N. P. Development of the technological properties of motherwort dry extract for solid dosage form. *Topical issues of new drug development*. 2017. Vol. 1. P. 327.

20. Konovalenko I. S., Evtushenko T. I., Deryvedmid L.V. Dry extract of the oregano as perspective raw material for correction of climacteric syndrome. *Topical issues of new drug development*. 2017. Vol. 2. P. 73.

21. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research of technological properties of Salvia dry extract for solid dosage medicinal for development. *Actual problems of medicine and pharmacy 2017: collection of abstracts of the international conference*. 2017. С. 1515.

22. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Перспективи використання шалфея лікарського при негормональній терапії клімактерического синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*. 2017. С. 60.

23. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research of the pharmaceutical composition development for climacteric syndrome therapy. *Modern aspects of pharmacology, cosmetology and aromology*. 2017. P. 33–35.

24. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Вплив часу та температури на вихід екстрактивних речовин при екстракції збору для корекції клімактеричного синдрому. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матер. III Міжнар. науково–практ. інтернет–конф., м. Харків, 14–15 листопада 2017 р. Харків: НФаУ. 2017. С. 107–108.

25. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Лыткин Д. В., Загайко А. Л. Изучение острой токсичности спиртовых капель комбинированного состава на основе лекарственного растительного сырья для терапии климактерического синдрома. *Медицинская наука: новые возможности*: матер. XIII науч.–практ. конф. мол. уч. и студ. с межд. уч., г. Душамбе, 27 апреля 2018 г. Душамбе. 2018. С. 30.

26. Konovalenko I. S., Lytkin D. V., Polovko N. P. Development of composition, technology and study of acute toxicity of combined composition on the basis of plant raw material for treatment of climatic syndrome. *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. 2018. P. 170.

27. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Scientific substantiation of the composition of alcohol drops combined composition based on medical plant raw material for the treatment of climacteric syndrome. *Pharmaceutical science and practice: problems, achievements, prospects*. 2018. P. 39.

28. Коноваленко И. С., Половко Н. П. Патофизиология климактерического синдрома. *Механизмы развития патологических процессов и болезней и их фармакологическая коррекция*: тез. докл. I науч.–практ. инт.–конф. с межд. уч. г. Харьков, 18 октября 2018 г. Харьков. 2018. С.122–123.

29. Коноваленко И. С., Половко Н. П. Розробка методик стандартизації лікарського рослинного збору для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матер. III міжн. наук.–практ. int.–конф. м. Харків, 26–28 листопада 2018 р. м. Харків. 2018. С. 100–101.

30. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Quantitative determination of the amount of flavonoids in salvia officinalis for climacteric syndrome treatment. *Modern problems of pharmacology, cosmetology and aromatology*. 2018. P. 80–83.

31. Коноваленко И. С., Половко Н. П. Количественное определение флавоноидов в спиртовых каплях для лечения климактерического синдрома. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2019*: сб. тезисов докладов LXXIII Международной научно–практической конференции студентов и молодых ученых. Минск. 2019. С. 1532.

32. Konovalenko I., Polovko N. Research of extraction conditions of phytocomposition for non–hormonal treatment of menopause. *Book of Abstracts of the 4th International Scientific Conference Agrobiodiversity for Improve for the Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life*, P. 101.

ANNOTATION

Konovalenko I. Development of composition and technology of phytomedicines for the treatment of menopausal disorders. – Qualification work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 226 "Pharmacy". – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The dissertation is devoted to the theoretical and experimental substantiation of the composition, technology development and research of phytomedicines in the form of collection, dry and liquid extracts (drops) on the basis of a complex of medicinal plant raw materials for the treatment of menopausal syndrome.

The etiopathogenetic aspects of gynecological disorders caused by menopausal syndrome are analyzed and generalized. It was determined that menopausal disorders affect a number of organs and systems (cardiovascular system, central nervous system, musculoskeletal system, urogenital and metabolic disorders), which indicates the need for a systemic pharmacotherapeutic approach. Phytotherapeutic agents, in contrast to drugs of hormonal origin, have a low affinity for estrogen receptors, so phytoestrogens do not affect growth function, and have a protective effect against malignant and cell proliferation of endometrial tissues and mammary glands. An important advantage and prospect of using phytotherapeutic agents is the impact on several parts of the pathological process.

According to the analysis of the range of drugs for the treatment of menopausal disorders, it is shown that the Ukrainian pharmaceutical market of drugs for the treatment of menopausal syndrome is represented by 7 drugs belonging to group N05C M - Hypnotics and sedatives, according to the classification system of ATC, which necessitates the development of modern drugs with multidirectional action for the treatment of menopausal syndrome.

Based on the analysis of literature sources and computer prediction of biological activity of active substances under the PASS program for further research on the development of phytomedicines for non-hormonal therapy of menopausal syndrome selected: linden flowers, thyme grass, yarrow grass, clover inflorescences, which were used in the development of the medicinal plant collection and dry extract; cones of hops, nettle leaves, sage leaves - for liquid alcohol extract (drops).

The general concept of research is substantiated. In accordance with the recommendations and requirements of SPhU for phytomedicines, a research plan was

developed to find the optimal composition and technology of collection, dry aqueous extract and liquid alcohol extract (drops).

The characteristic of medicinal herbal materials, which is a part of the developed phytomedicines, auxiliary substances is given; requirements for the quality of medicinal plant collection, dry aqueous and liquid alcoholic extract (drops) were analyzed.

The choice of research methods that are necessary for quality assessment and pharmaceutical development in accordance with the requirements of the SPhU.

The results of experimental researches on definition of indicators of quality and the basic technological parameters of medicinal plant raw materials which are a part of a medicinal collection, dry and liquid extract are carried out and generalized. The influence of extraction parameters in obtaining aqueous extracts from the developed collection was studied. It was determined that the maximum yield of BAS during the extraction of the collection (with a degree of grinding of 1–3 mm) when obtaining the infusion occurs when heated in a water bath (90 °C) for 15 min and infused to cool - 30–45 min. The technology of making the collection in pharmacy and industrial conditions has been developed. A dry aqueous extract was obtained from the developed collection, which chemically corresponds to the infusion content of the developed collection. A method for quantitative determination of flavonoids and polyphenolic compounds in collection and extract by adsorption spectrophotometry has been developed. The stability of the dry extract during storage in an airtight bag for 1 year and collection in a plastic bag enclosed in cardboard packs for two years at a temperature not exceeding 25 °C has been experimentally proven. Microbiological studies have shown that the developed drugs in terms of microbiological purity meet the requirements of SPhU category A. Projects of technological instructions, TR and QCM for collection and dry extract "Flavoclim" were tested in a number of production pharmacies: pharmacy №171», Melitopol; pharmacy № 6 LLC "Leda", pharmacy № 195 KP CHO "Pharmacy", Kharkiv; LLC "Centoriya" pharmacy, Ivano-Frankivsk; Training and production pharmacy № 1 of Lviv National Medical University (LNMU) named after D. Halytsky, Lviv (acts of implementation dated 24.10.2019, 5.03.2020, 20.02.2020, 28.09.2020, 4.02.2020, respectively).

The conformity of medicinal plant raw materials, which is a part of phytocomposition,

to the requirements of the corresponding monographs of SPhUs for a specific type of MPM has been established. The main technological parameters of medicinal plant raw materials, which are a part of phytocomposition, are determined. It was found that the optimal extractant of the phytocomposition created to obtain the extract is 70 %, ethanol, which removes 19.4 % more flavonoid compounds in terms of rutin than when extracted with 40 % ethanol. The effective method of extraction - percolation with multiplicity of extraction of phytocomposition - 4 is defined. The technology of production of an extract in industrial conditions is developed. The quality indicators of the extract according to the requirements of SPhU are determined, the methods of identification and quantification of flavonoids and polyphenolic compounds in the extract by spectrophotometry are developed and substantiated. The content of the amount of flavonoids in terms of rutin in 1 ml of the drug is not less than 15 mg, and the content of polyphenols in terms of gallic acid is not less than 7 mg. A specification for the QCM project for liquid extract (drops) has been developed. It is established that the extract meets the requirements of SPhU category B in terms of microbiological purity. According to the results of studying the stability of the extract during storage, a shelf life of 2 years at a temperature not exceeding 25 °C is proposed. TR and QCM projects for Flavoclim-Plus extract have been developed, which have been tested in a number of production pharmacies: pharmacy № 6 Leda LLC, pharmacy № 195 KP KHOR "Pharmacy", Kharkiv (acts of technology testing from 5.03.2020 ., 20.02.2020, respectively).

The results of determining the specific pharmacological activity of the developed drugs on the model of bilateral ovariectomy according to Kirschenblat in female rats are generalized. Determination of specific pharmacological activity was performed on the study of psycho-emotional disorders ("elevated cruciform labyrinth", test of "behavioral despair"), the study of metabolic (dynamics of body weight, glucose and lipid levels) and hormonal disorders (estradiol and progesterone levels).

It was experimentally established that the extract reduced the body weight of animals by 5.86 %; restored to normal values the latency period of the entrance to the dark sleeve and the number of transitions, increased the residence time of animals in the light sleeve of the maze in 2 times in the test "elevated cruciform labyrinth"; reduced the total

immobilization time of animals by 1.5 times in the test of "behavioral despair"; restored serum glucose levels on an empty stomach; restored the level of triglycerides and total cholesterol in the serum of animals to normal values, reduced the content of low-density lipoprotein cholesterol by 23.2 %; did not cause hyper production of sex hormones in female rats under ovariectomy.

The infusion, made from the developed collection, restored to normal values the latency period of entry into the dark sleeve and increased the residence time of animals in the light sleeve of the maze by 1.8 times and the number of transitions between the sleeves - 2.9 times in the test "elevated cruciform labyrinth"; reduced the total time of immobilization of animals by 1.3 times in the test of "behavioral despair"; reduced total cholesterol by 12.7 %; did not cause hyperproduction of sex hormones in female rats under ovariectomy.

According to the results of studies on the acute toxicity of the developed drugs, the absence of toxic effects of drugs in parenteral ($LD_{50} > 1000$ mg / kg) and enteral ($LD_{50} > 5000$ mg / kg) routes of administration. Infusion made from the developed medical plant collection and extract belong to the IV class of toxicity.

The novelty of dissertation research is protected by the patent of Ukraine for a utility model № 138102 "Pharmaceutical composition for use in menopause that has a sedative, estrogenic, vegetative-vascular effect and regulates lipid metabolism".

Key words: technology of extractive drugs, medical plant collection, dry extract, liquid extract, menopausal syndrome.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ПРИ ЛІКУВАННІ КЛІМАКТЕРИЧНОГО СИНДРОМУ.....	30
1.1 Характеристика клімактеричного синдрому.....	31
1.1.1 Патолофізіологічні ланки клімактеричного синдрому.....	33
1.2 Фармакотерапія клімактеричного синдрому.....	39
1.3 Використання фітотерапевтичних засобів для негормональної терапії клімактеричного синдрому.....	40
1.4 Дослідження ринку лікарських засобів для лікування клімактеричного синдрому.....	43
1.5 Наукове обґрунтування складу композиції лікарської рослинної сировини для лікування клімактеричного синдрому	51
Висновки до розділу 1.....	57
РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ДОСЛІДЖЕНЬ. ОБ’ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	60
2.1 Обґрунтування загальної концепції досліджень.....	60
2.2 Об’єкти дослідження.....	62
2.2.1 Характеристика лікарської рослинної сировини.....	63
2.2.2 Характеристика допоміжних речовин.....	65
2.3 Методи дослідження.....	65
2.3.1 Фармакогностичні та фармакотехнологічні методи досліджень.....	66
2.3.2 Фізичні, фізико–хімічні методи досліджень рідких лікарських засобів.....	69
2.3.3 Методи ідентифікації біологічно активних речовин в лікарській рослинній сировині та витягах.....	74
2.3.4 Методи кількісного визначення біологічно активних речовин...	77

2.3.5 Статистична обробка результатів кількісного визначення флавоноїдів.....	81
2.3.6 Мікробіологічні дослідження.....	83
2.3.7 Фармакологічні дослідження	83
2.3.8 Статистичний аналіз результатів дослідження.....	87
2.3.9 Програма PASS аналізу	87
Висновки до розділу 2.....	88
РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ КЛІМАКТЕРИЧНОГО ЗБОРУ ТА СУХОГО ЕКСТРАКТУ «ФЛАВОКЛІМ»...	90
3.1 Контроль якості вхідної лікарської рослинної сировини	90
3.2 Вивчення технологічних властивостей лікарської рослинної сировини збору.....	91
3.3 Ідентифікації біологічно активних речовин збору за допомогою якісних реакцій та методу тонкошарової хроматографії	96
3.4 Обґрунтування умов екстрагування біологічно активних речовин збору.....	102
3.5 Розробка технологічного процесу виготовлення збору.....	110
3.5.1 Виготовлення збору в умовах аптек.....	110
3.5.2 Виготовлення збору в умовах промисловості.....	112
3.6 Визначення показників якості розробленого збору	114
3.7 Розробка методик кількісного визначення діючих речовин збору.....	117
3.8 Дослідження стабільності збору у процесі зберігання.....	123
3.9 Розробка та дослідження сухого екстракту зі збору.....	129
3.10 Вивчення впливу параметрів екстрагування для розробки сухого екстракту.....	130
3.11 Розробка технологічного процесу виготовлення сухого екстракту...	132
3.12 Визначення показників якості сухого екстракту «Флавоклім».....	134
3.13 Дослідження стабільності сухого екстракту «Флавоклім» у процесі зберігання.....	137

Висновки до розділу 3.....	140
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТУ «ФЛАВОКЛІМ–ПЛЮС»	143
4.1 Контроль якості вхідної лікарської рослинної сировини	143
4.2 Вивчення технологічних властивостей лікарської рослинної сировини, яка входить до складу фітокомпозиції.....	147
4.3 Вивчення впливу технологічних параметрів на процес екстрагування біологічно активних речовин із фітокомпозиції.....	152
4.4 Технологічний процес виготовлення екстракту.....	162
4.5 Визначення показників якості розробленого засобу.....	165
4.6 Вивчення стабільності розробленого екстракту «Флавоклім–плюс»....	171
Висновки до розділу 4.....	176
РОЗДІЛ 5 ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТА БЕЗПЕЧНОСТІ РОЗРОБЛЕНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ.....	180
5.1 Алгоритм проведення доклінічних досліджень.....	180
5.2 Вивчення динаміки зміни маси тіла.....	183
5.3 Вивчення психоемоційного порушення.....	184
5.3.1 Тест «піднесений хрестоподібний лабіринт»	185
5.3.2 Тест «поведінкового відчаю»	186
5.4 Вивчення метаболічний порушень.....	187
5.4.1 Визначення рівня глюкози.....	188
5.4.2 Визначення рівня ліпідів.....	189
5.5 Вивчення гормональних порушень.....	190
5.6 Вивчення гострої токсичності розроблених засобів.....	192
Висновки до розділу 5.....	197
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	201
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	205
ДОДАТКИ.....	235

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР	– біологічно активні речовини;
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я;
ГКК	– гідроксикоричні кислоти;
ДФУ	– Державна Фармакопея України;
ДФУ 1.0	– Державна фармакопея України, 1–е видання;
ДФУ 2.0	– Державна фармакопея України, 2–е видання у трьох томах;
ДФУ 2.1	– Державна фармакопея України, 2–е видання, Доповнення 1;
ЕСКС	– екстракт спиртовий комбінованого складу;
ЄС	– Європейський Союз;
ЗГТ	– замісна гормональна терапія;
ЗХ	– загальний холестерин;
КП	– контрольна патологія;
КС	– клімактеричний синдром;
ЛД ₅₀	летальна доза 50 %;
ЛГ	лютеїнізуючий гормон;
ЛЗ	– лікарські засоби;
ЛРС	– лікарська рослинна сировина;
ЛПВЩ–Х	– ліпопротеїни високої щільності;
ЛПНЩ–Х	– ліпопротеїни низької щільності;
МКЯ	– методики контролю якості;
МК	– масовий коефіцієнт;
НВФК	– науково–виробнича фармацевтична компанія;
НД	– нормативна документація;
НКС	– настій комбінованого складу;
НО	– несправжньооперовані тварини;

НФаУ	–	Національний фармацевтичний університет;
РТ	–	референтний–зразок;
РФЕ	–	рослинні фітоестрогени;
СЕ	–	сухий екстракт;
ТГ	–	тригліцериди;
ТІ	–	технологічна інструкція;
ТОВ	–	товариство з обмеженою відповідальністю;
ТР	–	технологічний регламент;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія;
УФ	–	ультрафіолет;
ФСЗДФУ	–	фармакопейний стандартний зразок Державної фармакопеї України;
ФСГ	–	фолікулостимулюючий гормон;
ЦНС	–	центрально–нервова система;
АЕД	–	еквівалентна доза для тварин;
DER (drug extract ratio)	–	співвідношення вихідного матеріалу до одержаного екстракту.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Клімактеричний синдром – складний симптомокомплекс, що розвивається у жінок на фоні згасання функції репродуктивної системи, загальної вікової інволюції організму [1]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, сьогодні 10 % усього населення земної кулі становлять жінки в клімактеричному періоді [2]. Незважаючи на той факт, що менопауза на фоні вікових змін є фізіологічним станом, а зміни в жіночому організмі виникають поступово, у жінок перебіг менопаузи супроводжується розвитком клімактеричного синдрому, який впливає на низку органів та систем (коливання маси тіла, вазомоторні та психоемоційні розлади, остеопороз, урогенітальні порушення (атрофія слизової оболонки піхви, зменшення секреторної активності вагінального епітелію, диспареунія тощо) [3].

Замісна гормональна терапія є ефективним методом корекції клімактеричного синдрому, лікарськими засобами, до складу яких входять гормони синтетичної природи. Однак використання замісної гормональної терапії протягом тривалого часу призводить до появи побічних ефектів, які не нівелюються фармакологічним ефектом (гепатопатія, збільшення маси тіла, гемостаз, крововиливи та ін.), що обмежує можливості замісної гормональної терапії при клімактеричному синдромі [4].

Застосування альтернативних засобів замісній гормональній терапії є актуальним аспектом профілактики і лікування клімактеричного синдрому. Можливість досягнення позитивного ефекту без ризику розвитку ускладнень привертає увагу до застосування рослинних фітоестрогенів. Для жінок, що вступили в період менопаузи, та які мають протипоказання до застосування замісної гормональної терапії, або вважають її по різних причинах неприйнятною, препарати на основі фітоестрогенів є оптимальним вибором фармакотерапії, який вирішує проблеми цього періоду життя без ризику ускладнень. Важливою перевагою та перспективою застосування фітотерапевтичних засобів є вплив одразу на декілька ланок патологічного процесу.

Створенню препаратів для негормональної терапії клімактеричних розладів присвячені роботи вітчизняних і іноземних вчених: Яковенко В. К., Кіреєв І. В., Татарчук Т. Ф., Гриценко О. В., Дністрянська А. П., Rosenberg J., Larsen S., Atalis S., Freedman R. Вивченню лікарських рослин, що застосовуються при негормональній терапії клімактеричних розладів, присвячені роботи вітчизняних і іноземних вчених. Так, проведені дослідження з визначення оптимального екстрагенту активних речовин шишок хмелю звичайного (Бавикіна М. Л., 2015 р.), з кількісного визначення гідроксикоричних кислот у траві кропиви дводомної (Федоровська М. І, 2016), визначення кратності екстракції складних екстрактів за допомогою фракційного аналізу DER 1:1 (Кухтенко О. С., 2017), вивчення естрогенрегулюючої активності шишок хмелю (Сініцина О. С., 2015), з кількісного визначення флавоноїдів у перерахунку на рутин у шавлії лікарській (Гудзь Н. І., 2016).

На українському фармацевтичному ринку практично відсутні препарати вітчизняного виробництва зазначеної дії, а більша частина асортименту це препарати іноземного виробництва та дієтичні добавки. Все це актуалізує науковий пошук і розробку ефективних і безпечних лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини, дія яких спрямована на попередження або лікування наслідків клімактеричного синдрому у жінок.

Тому актуальним і доцільним є проведення комплексних досліджень щодо розробки вітчизняних комбінованих рослинних засобів для застосування при негормональній терапії клімактеричних розладів.

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

Дисертаційна робота виконана у відповідності із планом науково–дослідних робіт Національного фармацевтичного університету («Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини; «Розробка і удосконалення складу та технології екстемпоральних лікарських засобів», номер державної реєстрації 0114U000945, 0114U000947 відповідно та проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України, тема дисертаційної роботи затверджена на засіданні вченої ради НФаУ (протокол № 5

від 27.01.2017 р.), корегування теми затверджено на засіданні вченої ради НФаУ (протокол № 9 від 30.10. 2019 р.).

Мета і завдання дослідження

Мета роботи – розробка науково обґрунтованого складу, технології та методик контролю якості збору, сухого водного екстракту та рідкого спиртового екстракту (крапель) для терапії клінічних проявів клімактеричного синдрому.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані літератури з питань етіопатогенезу, клінічних проявів, сучасних методів лікування клімактеричного синдрому;
- провести аналіз асортименту лікарських засобів на вітчизняному фармацевтичному ринку для терапії клімактеричного синдрому;
- обрати лікарську рослинну сировину, препарати на основі якої відповідають медико–біологічним вимогам терапії клімактеричного синдрому;
- теоретично та експериментально обґрунтувати склад суміші лікарської рослинної сировини і технологію комплексного сухого екстракту, а саме конюшини лучної суцвіть, деревію звичайного трави, чебрецю повзучого трави, липи серцелистої квіток;
- теоретично та експериментально обґрунтувати технологію комплексного рідкого спиртового екстракту із суміші лікарської рослинної сировини , а саме шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя;
- здійснити апробацію опрацьованої технології розроблених фітозасобів в умовах аптек та промислового виробництва на підставі розроблених нормативних документів: інформаційного листа, технологічних інструкцій та проєктів технологічних регламентів;
- провести фізико–хімічні, фармакотехнологічні, мікробіологічні аналізи розроблених лікарських засобів під умовною назвою «Флавоклім» та «Флавоклім–плюс», розробити проєкти методик контролю якості та встановити умови зберігання та терміни їх придатності;

- вивчити специфічну фармакологічну активність та нешкідливість розроблених лікарських засобів.

Об'єкти дослідження: лікарська рослинна сировина (конюшини лучної суцвіття, деревію звичайного трава, чебрецю повзучого трава, липи серцелистої квітки, шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя), збір, сухий водний екстракт, рідкий спиртовий екстракт (краплі), допоміжні речовини.

Предмет дослідження – наукові (методологічні) підходи до фармацевтичної розробки лікарських засобів для внутрішнього застосування з рослинної сировини для терапії клімактеричного синдрому.

Методи дослідження

Для вирішення поставлених у роботі завдань були використані такі методи досліджень:

- загальнонаукові (аналіз та узагальнення даних наукової літератури);
- оцінка фізичних і фармакотехнологічних властивостей лікарської рослинної сировини, яка входила до складу збору, сухого водного екстракту та рідкого спиртового екстракту (крапель);
- фізико–хімічні методи ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних речовин (групові кольорові реакції на групи сполук, тонкошарова хроматографія, абсорбційна спектрофотометрія);
- мікробіологічні (мікробіологічна чистота експериментальних зразків);
- біологічні (специфічна фармакологічна дія і токсикологічні показники безпеки фармацевтичних розробок);
- математико–статистичні методи планування експерименту й обробки результатів дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше, використовуючи фармакотерапевтичний та фітохімічний дизайн компонентів, було обрано якісне та кількісне співвідношення лікарської рослинної сировини для розробки складів лікарських засобів для терапії клімактеричного синдрому. Досліджено та обґрунтовано методологічні підходи до умов одержання

збору та сухого водного екстракту (конюшини лучної суцвіття, деревію звичайного трава, чебрецю повзучого трава, липи серцелистої квітки) та рідкого спиртового екстракту з суміші лікарської рослинної сировини: шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя. Вивчено ступінь вилучення основних біологічно активних речовин залежно від умов екстрагування. Розроблено технологію одержання збору, сухого водного екстракту та рідкого спиртового екстракту (крапель) із вищенаведеної лікарської рослинної сировини в умовах аптек та промислового виробництва.

Досліджено показники якості лікарських засобів, розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин. На основі досліджень стабільності встановлено умови зберігання і терміни придатності запропонованих лікарських засобів. Вивчено біологічну дію розроблених лікарських засобів та доведено їх безпечність та виражену терапевтичну активність на рівні референс-препаратів.

Наукова новизна підтверджено патентом України на корисну модель № 138102 від 25.11.2019 р. «Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді, що проявляє седативну, естрогенну, вегето–судинну дію та регулює ліпідний обмін», за результатами проведених досліджень подано заявку на отримання патенту на винахід № а 201903220 від 01.04.2019 р. «Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді, що проявляє седативну, естрогенну, вегето–судинну дію та регулює ліпідний обмін».

Практичне значення отриманих результатів

На підставі проведених досліджень створено та запропоновано для практичної гінекології нові вітчизняні лікарських засобів у формі збору, сухого водного екстракту та рідкого спиртового екстракту для негормональної терапії клімактеричних розладів.

Розроблено проєкти методик контролю якості та технологічного регламенту на виробництво рідкого спиртового екстракту (крапель), які апробовано в умовах виробництва НВФК «Ейм» (акт апробації від 6.07.2020 р.), розроблено технологічні інструкції по виготовленню в умовах аптек збору та сухого екстракту у виробничих

аптеках: аптека № 6 ТОВ «Леда», аптека № 195 КП ХОР «Фармація», м. Харків (від 5.03.2020 р., 20.02.2020 р. відповідно).

Розроблено, затверджено ПК «Фармація» (протокол №104 від 24.10.2018 р.) та видано МОЗ України інформаційний лист, який запроваджено в практику виробничих аптек, а саме:

– інформаційний лист № 382–2018 «Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів»: аптека № 171 КП ММРЗО «Центральна міська аптека №171», м. Мелітополь; аптека № 6 ТОВ «Леда», аптека № 195 КП ХОР «Фармація», ТОВ аптека «Центорія», м. Івано–Франківськ; Навчально–виробнича аптека № 1 Львівського національного медичного університету (ЛНМУ) ім. Данила Галицького, м. Львів (акти впровадження від 24.10.2019 р, 5.03.2020 р., 20.02.2020 р., 28.09.2020 р., 4.02.2020 р., відповідно);

Фрагменти наукових досліджень упроваджено в освітній процес кафедр закладів вищої освіти, а саме: технології ліків і біофармації та фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (акти впровадження від 11.11.2019 р та від 12.11.2019 р. відповідно); організації та економіки фармації і технології ліків Івано–Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 11.11.2019 р.); технології ліків та інженерних дисциплін Казахського Національного медичного університету імені С. Д. Асфендіярова (акт впровадження від 28.05.2018 р.); технології ліків та заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 16.09.2020 р. та 15.09.2020 р відповідно)

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Безпосередньо дисертантом здійснено інформаційний пошук, проаналізовано та узагальнено дані літератури за визначеним напрямком. Теоретично та експериментально обґрунтовано склад та технологію лікарських засобів у формі збору, сухого водного екстракту та рідкого спиртового екстракту (крапель) для негормональної терапії клімактеричних розладів під умовною назвою «Флавоклім» та «Флавоклім–плюс». Проведено експериментальні дослідження з вивчення фізико–

хімічних, фармакотехнологічних, мікробіологічних та фармакологічних властивостей розроблених лікарських засобів. Узагальнено результати експериментальних досліджень з вивчення специфічної активності й нешкідливості розробленого збору, сухого водного екстракту та рідкого спиртового екстракту (крапель). Відпрацьовані методики якісного та кількісного аналізу біологічно активних речовин, які були взяті за основу при розробці проєкту методик контролю якості. Розроблено проєкт технологічного регламенту на виробництво рідкого спиртового екстракту. Результати проведених досліджень статистично оброблені, систематизовані та опрацьовані.

Співавторами наукових праць дисертанта захищені такі дисертації: Половко Н. П. «Наукове та експериментальне обґрунтування складу і технології безводних гелів протигрибкової дії з похідними імідазолу», Харків, 2011; Загайко А. Л. «Порушення обміну ліпідів та прооксидантно-антиоксидантного стану за експериментального метаболічного синдрому», Київ, 2009; Бевз Н. Ю. «4-карбоксіфеніламіди маленової кислоти і їх біологічна активність», Харків, 1993; Кухтенко О. С. «Методологічні, технологічні, біофармацевтичні аспекти розробки складних екстрактів та лікарських засобів на їх основі», Запоріжжя, 2019; Литкін Д. В. «Вплив модуляторів активності ароматази жирової тканини на перебіг експериментального метаболічного синдрому», Тернопіль, 2019.

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: V, VI і VII Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (м. Харків 2016, 2017, 2018); дистанційної науково-практичної конференції молодих учених і студентів «Інновації в медицині та фармації-2017» (Мінськ, БГМУ, 2017); XXIV Міжнародній науково-практичній конференції

молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (м. Харків, 2017); Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): науково–практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 100–річчю з дня народження І. Г. Герцена (м. Одеса, 2017); I, II і III Міжнародні науково–практичній конференції «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (м. Харків 2017, 2018, 2019); Internaitional research and practice conference “Innovative technology in medicine:experience of Poland and Ukraine” : Conference Proceedings (Lublin, 2017); III Міжнародній науково–практичній Інтернет — конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (м. Харків, 2017); Сучасні проблеми фармакології, косметології та аромології: науково–практичній конференції, присвяченій 160–річчю з дня народження видатного українського патолога, ендокринолога, імунолога, мікробіолога професора Володимира Валеріановича Підвисоцького та Дню Фармацевта (м. Одеса, 2017); XXV Міжнародній науково–практичній конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (м. Харків, 2018); II Науково–практичній інтернет–конференції з міжнародною участю ”Pharmaceutical science and practise : problems, achievements, prospects” (м. Харків, 2018); XIII Научно–практическая конференция молодых учёных и студентов с международным участием, посвящённая «Году развития туризма и народных ремесел» (г. Душамбе, 2018); Науково–практичній конференція «Сучасні проблеми фармакології, косметології та аромології», присвяченій 150–річчю з дня народження видатного гістолога та ембріолога, завідувача кафедр Новоросійського і Софійського університетів, професора Олександра Федоровича Маньківського та Дню Фармацевта, (м. Одеса, 2018); I Науково–практичній інтернет–конференції з міжнародної участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 2018); III Міжнародній науково–практичній internet–конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (м. Харків, 2018); Agrobiodiversity for improve the nutrition, health and quality of human and bees life (Nitra, 2019); LXXIII

Международной научно–практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2019» (г. Минск, БГМУ, 2019); III Міжнародній науково–практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2019); Науково–практичній конференції «Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології», яка присвячена 100 річчю з дня народження видатного українського фармаколога, професора Ярослава Борисовича Максимовича, 10 річчю з дня заснування Одеського медичного інституту МГУ та Дню Фармацевта (м. Одеса, 2019), міжнародній науково–практичній конференції «Пріоритетні напрямки вирішення актуальних проблем медицини» (м. Дніпро, 2020).

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 278 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 25 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 162 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 45 таблицями, 28 рисунками. Список використаних джерел містить 318 найменування, з них 115 кирилицею та 203 латиницею.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ПРИ ЛІКУВАННІ КЛІМАКТЕРИЧНОГО СИНДРОМУ

У зв'язку зі збільшенням тривалості життя жінок відзначається підвищення інтересу до проблем пери- і постменопаузального періоду. Півстоліття тому в індустріальних країнах середня тривалість життя жінок становила не більше 50–60 років. На даний час середня тривалість життя жінок в розвинених країнах перевищила 75 років [5]. Зі збільшенням тривалості життя особливе медико–соціальне значення набувають аспекти, що визначають якість життя жінок цього віку. Менопаузальний вік, як правило, є віком найбільшої соціальної активності жінки, що накопичила певний життєвий досвід, який вона з користю може віддавати суспільству. Але саме в цьому віковому періоді в жіночому організмі відбуваються зміни, які вкрай негативно впливають на якість життя. Клімакс є одночасно і нормою і хворобою: нормою тому, що клімакс в жіночому організмі явище закономірне, а хворобою тому, що це стійке порушення регуляції, що приводить в кінцевому підсумку до зниження життєздатності організму [6]. У зв'язку з тим, що тепер пенсійний вік у жінок в Україні настає у 60 років, питання профілактики та лікування менопаузальних розладів набувають особливої медико–соціальної важливості не тільки для старшої вікової групи, але й для більш молодих працездатних жінок [7–9].

Клімактеричний період – віковий перехідний етап життя жінки між репродуктивним періодом і стійким припиненням гормональної функції яєчників. У більшості жінок клімактеричний період спостерігається у віці 45–50 років та є фізіологічним процесом вікової інволюції організму і протікає без будь–яких патологічних проявів. Однак у 60–80 % жінок може з'явитися ряд симптомів, що обтяжують природний плин клімаксу [10, 11].

Цей патологічний симптомокомплекс носить назву клімактеричного синдрому (КС) і проявляється різними розладами функціонування органів і систем. Багато з порушень функціонування органів в значній мірі пояснюються зменшенням впливу гормонів на естрогенові рецептори, які локалізовані в органах–мішенях. Естрогенові

рецептори локалізовані як в органах, що мають відношення до репродуктивної функції такі, як ендометрій, яєчники, молочні залози, гіпофіз, гіпоталамус, так і в багатьох інших – центральна і периферична нервові системи, серцево–судинна система, уретра і сечовий міхур, печінка, кістково–м'язова система, шкіра [12]. Наявність безлічі органів–мішеней для естрогенів і обумовлює різні порушення, що виникають при гіпоестрогеновому стані.

Зниження рівню естрогенів у жіночому організмі відбуваються не тільки з вікових причин; дефіцит цих гормонів може виникати під час медикаментозної менопаузи, після хірургічних операцій з видалення або лікування статевих органів або медикаментозного радіаційного випромінювання [13, 14]. Інтерес до лікування різноманітних ускладнень клімактеричного синдрому не втрачає своєї актуальності не тільки у зв'язку з поліпшенням якості життя жінок, які страждають від даної патології. Крім цього, слід враховувати, що психоемоційний статус жінок часто знаходиться у прямій залежності від їх зовнішнього вигляду – стан шкіри, волос, нігтів та маси тіла, яке, в свою чергу, залежить від рівню секреції гормонів яєчниками [15, 16]. Ці фактори визначають важливість наукових досліджень з пошуку та створення ефективних лікувальних засобів на основі рослинних сполук, фармакологічний ефект яких буде спрямований на терапію клімактеричних розладів, обумовлених гіпоестрогеновим станом.

1.1 Характеристика клімактеричного синдрому

Клімактеричний синдром – це сукупність симптомів, які ускладнюють фізіологічний перебіг клімактеричного періоду. Існує умовна періодизація клімактеричного синдрому: прийнято поділяти на періменопаузу, менопаузу та постменопаузу. Періменопауза – період від початку зниження функції яєчників до менопаузи (період від виникнення перших клімактеричних симптомів – зміни менструального циклу, симптоми естроген–дефіцитного стану), до двох років після останньої самостійної менструації; менопауза (вік останньої менструації) та постменопауза, яка починається з менопаузи та закінчується в 65–69 років (до

повного зникнення функції яєчників) [17]. Саме в цей період спостерігаються найбільш виражені прояви клімактеричного синдрому [18].

За характером змін гормонального стану організму жінки виділяють чотири фази клімактерію:

I фаза – гіполютеїнова – овуляція ще зберігається, але вже виникає недостатня функція жовтого тіла;

II фаза – гіперфолікулярна – ановуляторні менструальні цикли з підвищеною продукцією естрогенів;

III фаза – гіпергонадотропна – знижується кількість і чутливість естрогенчутливих рецепторів, фолікули втрачають здатність дозрівати і рано атрофуються; зменшується синтез естрогенів, посилюється вироблення гонадотропних гормонів;

IV фаза – афолікулярна – повністю припиняється функція яєчників, до мінімуму знижується рівень естрогенів і гонадотропінів [19].

Естрадіол, як основний та активний жіночий статевий гормон, відіграє найголовнішу роль у регулюванні фізіологічних процесів організму та переходу у клімактеричний період жінки [20, 21]. Естрогени починають синтезуватись у пубертатному періоді у внутрішній оболонці клітин фолікул, жовтому тілі, плаценті, корі надниркових залоз, жировій тканині, гіпофізі та у тканинах м'язів та кісток, а також можуть утворюватися з естрогену за участю 2,2-дигідроергокальциферолу (вітаміну D) [22–24].

Рецептори естрогенів поділяються на дві основні групи – альфа (ER_{α}) та бета (ER_{β}) [25, 26], які впливають, в свою чергу, на органи–мішені (урогенітальні органи: матка, молочні залози, сечовий міхур, тканини піхви та тазового дна; серцево–судинної системи: серце, артерії, ендотелій; опорно–руховий апарат, шкіра, слизові оболонки ротової порожнини та очей [27, 28]. Естрогени взаємодіють з такими факторами росту, як інсуліноподібний фактор росту–1 (ІПФР–1) і трансформувальними факторами росту (ТФР) α і β та беруть участь у процесах захисту від апоптозу та посилюють утворення колагену [29, 30]. Така значна роль естрогенів у регуляції фізіологічних функцій організму пояснює величезні зміни,

що відбуваються з жінкою під час згасання репродуктивної функції та впродовж подальшого життя [31, 32]. Через порушення ланки синтезу естрогенів та зменшення їх кількості в органах–мішенях збільшується продукування в надниркових залозах андростендіону і тестостерону, що веде, в свою чергу, до таких порушень, як гірсутизм (оволосіння по чоловічому типу), андрогенна алопеція, збільшення виділення себуму (підшкірного сала) шкірою обличчя та акне [33, 34].

1.1.1 Патофізіологічні ланки клімактеричного синдрому

Клінічна картина клімактеричного синдрому вкрай різноманітна. Це свідчить про залучення в патологічний процес великої кількості різних структур гіпоталамо–гіпофізарної області, лімбіко–ретикулярного комплексу і є результатом неадекватної адаптації старіючого жіночого організму до вікового зниження функції яєчників [35–39].

Згідно до класифікації патофізіологічних проявів [40] клімактеричні розлади проявляються у чотирьох основних системах органів у жіночому організмі:

- центральній нервовій системи (ЦНС);
- серцево–судинній системі (ССС);
- сечостатевої системі;
- опорно–руховому апараті.

По періоду виникнення розладів поділяють на:

- ранні (припливи жару, озноб, підвищена пітливість, головні болі, гіпотонія або гіпертензія, тахікардія, дратівливість, сонливість, слабкість, неуважність, зниження лібідо);
- середні (свербіж і печіння, які провокують сухість у піхві, диспареунія, цисалгії, нетримання сечі, зміни шкіри і придатків – сухість, ламкість нігтів, поява зморшок, сухість і випадання волосся);
- пізні (метаболічні розлади, які приводять до захворювань серцево–судинної системи, постменопаузального остеопорозу, цукрового діабету, хвороби Альцгеймера).

Центральна нервова система. Психоемоційні розлади при клімактеричному синдромі зазвичай з'являються перед менопаузою або протягом 6–12 місяців після неї. Типовими змінами настрою в цей період є дратівливість, підвищена тривожність, плаксивість, швидка стомлюваність, порушення сну [41–44]. Основою психоемоційних порушень при клімактеричному синдромі є різке зниження продукції естрогенів з одночасним підвищенням секреції лютеїнізуючого (ЛГ) і фолікулостимулюючого гормонів (ФСГ), що призводить до порушення синтезу нейромедіаторів і дезорганізації функціонування лімбако–ретикулярного комплексу. При цьому спостерігається погіршення роботи дофамінергічної та серотонінергічної системи і активація адренергічного комплексу [45–47].

У патогенезі вегетосудинних порушень істотну роль відіграють зміни функціонального стану гіпоталамічних структур і вегетативної рівноваги, причиною яких є порушення синтезу нейромедіаторів норадреналіну і дофаміну, які беруть участь у процесі терморегуляції [48]. Підвищення тону норадренергічних і зниження дофамінергічних структур ЦНС зумовлюють пароксизмальне розширення судин і появу феномена «припливи жару» [49, 50]. Розташований в гіпоталамусі центр регулювання температури [51] позбавляється звичної стимуляції жіночими статевими гормонами. В результаті дестабілізується функціонування терморегуляторного центру і, як наслідок, надмірної активації тепловіддачі за рахунок потовиділення. Гіпоталамус – вершина фундаментальної гормональної осі (гіпоталамус – гіпофіз – яєчники), забезпечує функціонування між нервовою та ендокринною системами. Ця область мозку реагує на нейрональні сигнали від інших систем організму (тривалість світлового дня, нюхові рецептори, стрес, температура), а також на численні гормональні та інші стимули, що переносяться з кров'ю (стероїдні гормони, кортикостероїди, ангіотензин, інсулін) [52]. У жінок з припливами може мати місце звуження кордонів терморегуляторної зони в порівнянні зі здоровими жінками [53]. Звуження терморегуляторної зони може бути обумовлено надлишком змісту норадреналіну і зменшенням рівня серотоніну. Норадреналін вважається основним нейротрансмітером, відповідальним за звуження терморегуляторної зони гіпоталамуса [54]. Припливи жару супроводжуються підвищенням рівня

лютеїнізуючого і тиреотропного гормону при відсутності зміни у рівні фолікулостимулюючого гормону, пролактину і тиреоїдних гормонів в плазмі периферичної крові [55]. У жінок в цей період збережені добові ритми секреції ТТГ зі значним підвищенням його рівня в нічний час, що сприяє частішими проявами припливів жару в цей час доби [56]. Підтримка постійно високого рівня тиреоїдних гормонів сприяє підвищенню чутливості периферичних тканин до катехоламінів, що і викликає характерні вазомоторні реакції [57, 58].

При легкій формі клімактеричного синдрому число припливів доходить до 10 разів на добу при непорушеному загальному стані і працездатності, при клімактеричному синдромі середньої тяжкості – до 10–20 разів на добу і, як правило, супроводжуються головним болем, запамороченням, болем в області серця, погіршенням загального стану і зниженням працездатності. Важка форма характеризується дуже частими припливами (більше 20 на добу) і іншими симптомами, що приводять до значної або майже повної втрати працездатності [59, 60].

Зміни медіаторного обміну в центральній нервовій системі при гіпоестрогенемії викликає ряд симптомів, пов'язаних не тільки з порушенням функцій гіпоталамуса (припливи, гіпергідроз, прискорене серцебиття, ожиріння, артеріальна гіпертензія), але і лімбічної системи (емоційна лабільність, тривожність, депресія, безсоння, головний біль, зниження когнітивних функцій) [61]. При дефіциті естрогенів знижується рівень 3-ендорфінів в головному мозку, яке призводить до можливої атрофії та загибелі холінергічних нервів [62]. Всі ці зміни медіаторного обміну в ЦНС сприяють розвитку тривожно-депресивних, іпохондричних станів та зниження когнітивних функцій [63].

Серцево-судинна система. Естрогени, що володіють антиоксидантними, ендотелійпротекторними та іншими властивостями, до настання менопаузи являються захисним фактором щодо серцево-судинних захворювань (ССЗ) [64–66]. Зменшення синтезу естрогенів при старінні у жінок супроводжується цілою низкою порушень обміну речовин. У підшлунковій залозі розвивається порушення толерантності до глюкози, що призводить до інсулінорезистентності (ІР) [67–69]. Це

призводить до виникнення наступних ССЗ у жінок: дисліпідемія, цукровий діабет, абдомінальне ожиріння, ішемічна хвороба серця (ІХС), атеросклероз, артеріальна гіпертензія (АГ), інфаркт міокарда [70].

Джерелом для біосинтезу статевих гормонів є загальний холестерин (ЗХ), при гіпоестрогенії поступово розвивається його надлишок як гормонального субстрату і значне підвищення концентрації в сироватці крові, що сприяє виникненню дисліпідемії, пошкодження судинного ендотелію і розвитку ІХС [71, 72]. Дефіцит естрогенів та профіцит загального холестерину веде до підвищення наступних атерогенних фракцій ліпідів: ліпопротеїни низької щільності та ліпопротеїни дуже низької щільності, тригліцеридів, ліпопротеїну (а) [73, 74]. У жінок більш важливим фактором ризику є зниження синтезу ліпопротеїни високої щільності при високому рівні тригліцеридів [75]. Ці метаболічні розлади призводять до порушення засвоєння енергії, обміну лептину, послабленню процесів окиснення у жировій тканині.

Через зсув рівноваги секреції статевих гормонів може відзначатися певна перевага андрогенів, які утворюються клітинами стромы яєчників під впливом гонадотропінів, що також сприяє підвищенню ваги тіла і формування вісцерального ожиріння [76]. Вісцеральне ожиріння є дуже небезпечним фактором, оскільки це пов'язано з безліччю несприятливих метаболічних змін, таких як дисліпідемія, ІР, АГ і служить потужним передвісником підвищення частоти ССЗ і смертності у жінок [77, 78]. Це пояснюється здатністю адипоцитів вісцерального жиру синтезувати ряд гормонів і біологічно активних речовин (лептин, вільні жирні кислоти, ангіотензин та ін.) [79].

Естрогени інгібують експресію рецепторів від ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) до ангіотензину II типу 1 (АТ II) і збільшують біодоступність оксиду азоту (NO), що утворюється в ендотелії, тому з настанням менопаузи розвивається дисбаланс між оксидом азоту та ангіотензином II [80–82]. Ангіотензин II через АТ II рецептори може безпосередньо викликати звуження ниркових судин і стимулювати реабсорбцію натрію в проксимальних відділах ниркових каналців і / або стимулювати під впливом альдостерону його всмоктування в їх дистальних відділах,

що призводить до затримки рідини в організмі і підвищення рівня артеріального тиску. [83, 84].

Сечостатева система. Естрогени відіграють важливу роль у функціонуванні шкіри та її придатків. Естрадіол посилює проліферацію [85, 86], пригнічує апоптоз [87] кератиноцитів в епідермісі, що має відношення до збереження вологи у шкірі, підтримує вміст колагену [88]. При поступовому зменшенні синтезу жіночих статевих гормонів пригнічується синтез колагену, що призводить до слабкості тургору шкіри, зокрема вагінальних стінок. Це призводить до урологічних наслідків, таких як часті сечовипускання, нетримання сечі та пролапс тазових органів [89].

Крім того, естрогени здатні регулювати транспорт водню між НАДФ⁺Н та НАД, що приводить до збільшення вмісту НАДФ–акцептора водню в органах генітального тракту, що теж регулює рН, зокрема й у піхві [90]. При пригніченні синтезу естрогенів відбувається збільшення рН (від кислого до лужного середовища), та зменшення утворення лактобактерій, які захищають від інфікування, атрофії слизових оболонок, сухості та подразнення піхви [91].

Усі ці фактори провокують урологічні захворювання, розлади у мікробіомі піхви, неприємні відчуття під час статевого акту (диспареунія), вагінози та злоякісні новоутворення [92].

Опорно–руховий апарат. Дефіцит естрогенів впливає на кальцієвий метаболізм в остеокластах губчастих кісток, що призводить до втрати кісткової маси та їх ламкості [93, 94]. Апоптоз остеокластів призводить до зменшення синтезу остеопротегерину (ОСГ) [95], що, в свою чергу, активує рецептори білку RANK (receptor activator of nuclear factor). Дисбаланс синтезу кісткових клітин (остеокластів та остеобластів) призводить до зміни рельєфу кісток та руйнування кісткової тканини, що призводить до остеопорозу [96–98].

У схемі (рис. 1.1) представлені патофізіологічні процеси, які відбуваються у жіночому організмі у період менопаузи внаслідок зменшення синтезу естрогенів. Зменшення продукування статевих гормонів впливає на низку органів та систем. Спостерігається поступове згасання продукування не тільки гормонів, а й ферментів,

амінокислот, інгібіторів АПФ, які впливають на метаболізм усього організму та призводять до поступового згасання багатьох функцій організму та систем, що знижує захисні властивості організму та призводить до виникнення патологічних розладів та загостренню хронічних захворювань.

Виходячи з вищенаведеної інформації про комплекс патологічних порушень з боку систем органів жіночого організму у період клімактеричного синдрому можна підбирати методи фармакотерапії для зменшення симптоматики клімактеричних розладів.

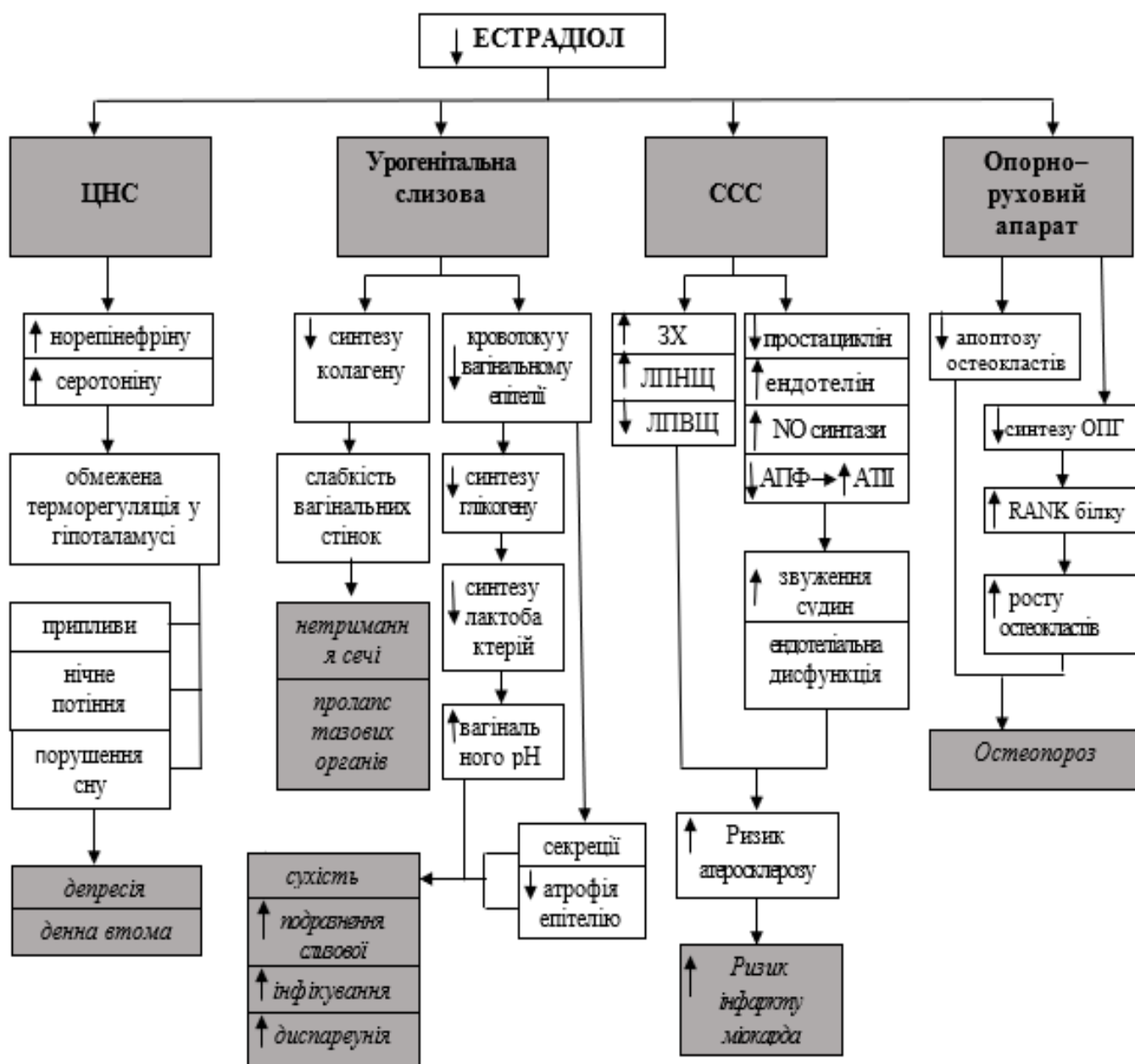


Рис. 1.1 Патолофізіологічні зміни організму при менопаузі

1.2 Фармакотерапія клімактеричного синдрому

Одним з ефективних методів корекції клімактеричних синдрому є замісна гормональна терапія (ЗГТ) [99]. Метою даної терапії є зменшення дефіциту статевих гормонів за допомогою фармакологічних препаратів, що містять гормони синтетичної природи. Застосування ЗГТ для профілактики атеросклерозу, остеопорозу та інших ускладнень клімактеричного синдрому для досягнення позитивного ефекту здійснюється протягом тривалого часу [100]. Однак тривале використання ЗГТ призводить до появи серйозних побічних ефектів, таких як: порушення функції печінки, гемостазу, циклічні крововиливи, які змушують до скасування прийому ЗГТ. Крім того, існує ризик розвитку естроген–пухлинного процесу [101, 102], що обмежує можливості застосування ЗГТ при клімактеричному синдромі.

Одним із серйозних побічних ефектів застосування ЗГТ також є підвищений ризик до тромбоутворення і тромбоемболічних ускладнень. Було доведено, що при використанні ЗГТ ризик венозних тромбозів збільшується в 2–4 рази [103]. Безсумнівним фактором ризику розвитку артеріальних і венозних тромбозів при застосуванні ЗГТ є ожиріння. Жирова тканина є джерелом цитокінів, тканинного фактора, інгібітора активатора плазміногену і безпосередньо бере участь в активації запалення і коагуляції. При запаленні підвищується рівень С–реактивного білка, що пояснюється активацією системної гострофазової відповіді під дією протизапальних цитокінів. Отже, при наявності певного фону, що веде до розвитку ендотеліальної дисфункції, системної запальної відповіді і підвищеної готовності до згортання крові, прийом гормональних препаратів може виявитися тригерним фактором для розвитку тромболітичних ускладнень [104].

Незважаючи на довгу історію розробки гормональних засобів для лікування симптомів клімактеричного синдрому, не можна сказати, що створені безпечні та ефективні препарати, які поліпшують якість життя жінок у цей період і користь від їх застосування переважає ризик появи небажаних ускладнень, таких, як ІХС, інсульт, тромбоемболія, рак. Після різкого припинення терапії або завершення курсу ЗГТ

багато переваг зникає, зокрема для стану ССС, ЦНС; збільшується ризик переломів, залишається підвищений ризик діагностики пухлин у жінок, відбувається стрімке збільшення маси тіла [105]. Важливою умовою до ЗГТ у жінок віком до 60 років застосування протягом короткого терміну [106, 107].

1.3 Використання фітотерапевтичних засобів для негормональної терапії клімактеричного синдрому

Застосування засобів, альтернативних ЗГТ, є актуальним аспектом профілактики і лікування клімактеричного синдрому. Можливість досягнення позитивного ефекту без ризику розвитку ускладнень привертає увагу до застосування рослинних фітоестрогенів (ФЕ) [108]. Біологічна активність лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини відома давно [109, 110]. Деякі з них проявляють гормоноподібні, зокрема естрогенні, властивості [111]. Фітоестрогени містяться у складі деяких рослин у чистому вигляді (сої [112], червоній конюшині [114–117], цимицифузі, капусті, хмелі та ін.) або в якості попередників сполук з естрогенною активністю (насінні льону, часнику, кропиві, петрушці та ін), які змінюються в організмі під впливом біохімічних перетворень і проявляють естрогеноподібний ефект [118, 119].

За джерелом походження і механізмом дії фітоестрогени класифікуються на групи сполук: ізофлавоноли, флавоноли, флавоноли, куместани, лігнани, стильбени [120] та мають одну характерну особливість – дифенольне кільце, що робить їх схожими на просторову структуру 17β -естрадіолу [121–123]. Завдяки такій хімічній структурі ФЕ можуть зв'язуватися з естрогеновими рецепторами у органах-мішенях та проявляти гормоноподібну дію [124]. Фітоестрогени здатні викликати проестрогенну відповідь або антиестрогенний ефект, залежно від рецепторної характеристики тканини і рівня насиченості організму ендogenous естрогенами [125]. На відміну від естрогену, ФЕ не здатні перетворюватися в естрадіол або $16\text{-}\alpha$ -гідроксіестрон, тому їх низький проліферативний потенціал добре передбачуваний. Виходячи з цього стає зрозумілим, чому фітоестрогени безпечні з точки зору

гіперплазії гормонозалежних тканин і не потребують прогестагенного прикриття: низьку спорідненість до естрогенових рецепторів типу альфа (α) не дозволяє фітоестрогенам здійснити ростові функції, що вказує на захисний ефект ФЕ по відношенню до злоякісної та клітинної проліферації тканин ендометрію і молочних залоз. ФЕ інгібують фермент ароматазу, що конвертує андростендіон в естрон і тестостерон в естрадіол в жирових тканинах, таким чином знижуючи ризик розвитку злоякісних пухлин, особливо при ожирінні [126, 127].

Зв'язуючись з естрогеновими рецепторами типу бета (β), які представлені у лімбіко–ретикулярному комплексі і гіпоталамусі, фітоестрогени нормалізують синтез і обмін катехоламінів мозку (серотонін, дофамін, норадреналін), підвищують рівень β -ендорфіну, нейротензину, нормалізують активність центру терморегуляції і тону вегетативної нервової системи. Одночасно досягається незначна гіпотензивна дія, відбувається стабілізація серцевого ритму, що викликає помірний седативний ефект і поліпшення якості сну (раннє засинання, зменшення частоти нічних пробуджень, збільшення тривалості активної фази сну) [128–130].

Всі фітоестрогени – антиоксиданти, які мають здатність нейтралізувати вільні радикали, що є важливим аспектом зменшення впливу окислювального стресу, який є однією з причин старіння організму [131]. Знижуючи рівень ЗХ і глюкози в крові, стінки кровоносних судин очищуються від атеросклеротичних нашарувань, відбувається судинорозширювальна, антитромботична, протизапальна та антисклеротична дія, яка спричинена активацією синтезу оксиду азоту (NO) [132].

Найбільша кількість естрогенових рецепторів має шкіра обличчя, тазу і грудей, тому помітні зміни цих областей в менопаузі найбільш виражені [133]. Фітоестрогени володіють антиандрогенною дією, блокуючи фермент 5α -редуктазу. Вплив ФЕ на шкіру в період менопаузи призводить до підвищення вмісту колагену та еластину в клітинах епідерми, сприяє зволоженню шкіри та стимулюванню мітотичної активності клітин базального шару [134, 135]. На даній схемі (рис. 1.2) представлено анкету–опитувальник для жінок, які мають вагання щодо оптимального вибору фармакотерапії ускладнень, викликаних клімактеричним синдромом.

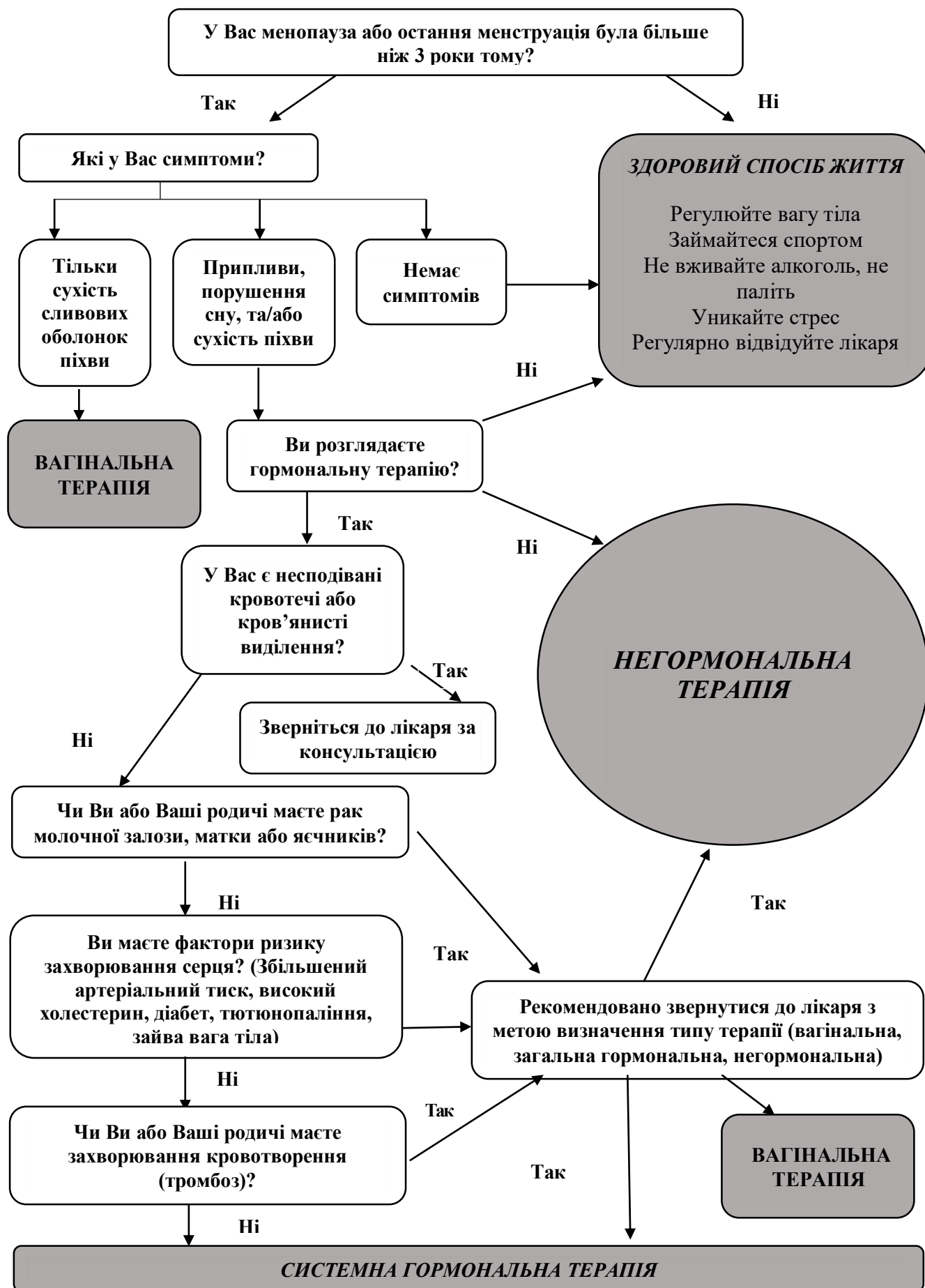


Рис. 1.2 Анкета-опитувальник для вибору методу лікування КС

Для жінок, що вступили в період менопаузи, та які мають протипоказання до застосування ЗГТ, або вважають її по різних причинах неприйнятною, препарати на основі фітоестрогенів є оптимальним вибором фармакотерапії, який вирішує проблеми цього періоду життя без ризику ускладнень.

1.4 Дослідження ринку лікарських засобів для лікування клімактеричного синдрому

Серед великого арсеналу існуючих лікарських засобів (ЛЗ) рік від року дедалі більшої популярності набувають препарати природного, зокрема, рослинного походження [136]. Нині у розвинених країнах світу ЛЗ рослинного походження займають суттєву частину загального фармацевтичного ринку. Зокрема частка фітопрепаратів у США становить близько 26 % внутрішнього ринку лікарських препаратів [137, 138]. У Німеччині частка препаратів рослинного походження становить близько 13 % від всіх зареєстрованих лікарських засобів [139]. Український фармацевтичний ринок також характеризується значним асортиментом рослинних лікарських препаратів [140, 141]. Зокрема, згідно з дослідженнями, серед зареєстрованих в Україні готових ЛЗ рослинні препарати займають близько 10 %, що можна порівняти з відповідною часткою в Німеччині [142–144].

Підвищення попиту споживачів на рослинні ЛЗ зумовлено низкою факторів, насамперед таких, як незначна кількість побічних ефектів, наявність ендогенних біологічно активних речовин (БАР), досить висока ефективність, успішний багатовіковий досвід використання багатьох з них у народній медицині тощо [145–150].

Суттєву частку фітопрепаратів становлять багатокomпонентні засоби, які з кожним роком здобувають все більшу популярність у всьому світі у зв'язку з широким спектром фармакологічної дії, низькою токсичністю та можливістю використання протягом тривалого часу [151–155].

На даний час фармацевтичний ринок переповнений різними препаратами, які можуть застосовуватися для полегшення стану при клімаксі. Багато з них дійсно

ефективні, проте підбирати їх потрібно ґрунтуючись на кваліфіковані лікарські консультації. Український фармацевтичний ринок препаратів, що застосовуються для лікування клімактеричного синдрому представлений декількома сегментами фармакологічної активності. Так, основними напрямками терапії клімактеричних розладів на даний час у медичних протоколах лікування є: замісна гормональна терапія, яка спрямована на оптимізацію рівня гормонів естрогену, прогестерону, тестостерону, таким чином полегшуючи розлади у сечостатевої системі, вазомоториці та нервовій системі; негормональна терапія – підтримуюча або навіть замісна терапія, коли ЗГТ протипоказана через велику кількість побічних ефектів [156].

Аналіз зареєстрованих в Україні лікарських препаратів, які застосовуються в терапії клімактеричних розладів проводився на основі даних Державного реєстру лікарських засобів України, розміщеного на ДП «Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України» станом на 1 вересня 2018 р. (Додаток А).

Якісний склад зареєстрованих ЛЗ для лікування клімактеричного синдрому аналізувався за уніфікованої анатомо–терапевтичної та хімічної класифікаційної системи АТС («Anatomical Therapeutic Chemical»). ВООЗ пропонує зазначену класифікаційну систему для проведення клініко–економічних та маркетингових досліджень, наприклад, аналізу споживання ЛЗ та прогнозуванню потреби ЛЗ для різних верств населення або клініко–статистичних груп хворих в амбулаторних та стаціонарних умовах. Аналіз зареєстрованих ЛЗ проводився за всіма рівнями класифікаційної системи АТС [157–159].

На рис. 1.3 наведено найбільший сегмент фармацевтичного ринку за класифікаційної системи АТС – G (Засоби, що впливають на сечостатеву систему та статеві гормони), який представлений більше, ніж на 62 % від загальному об'єму зареєстрованих препаратів для лікування клімактеричного синдрому.

Друге місце посідають засоби, що діють на нервову систему (N) (24 %), третє–засоби, що впливають на опорно–руховий апарат (M), їхня доля становить 11 % ринку препаратів, та останнє місце вітамінні препарати (A11A A03) – що застосовуються в терапії клімактеричних розладів (рис. 1.4).

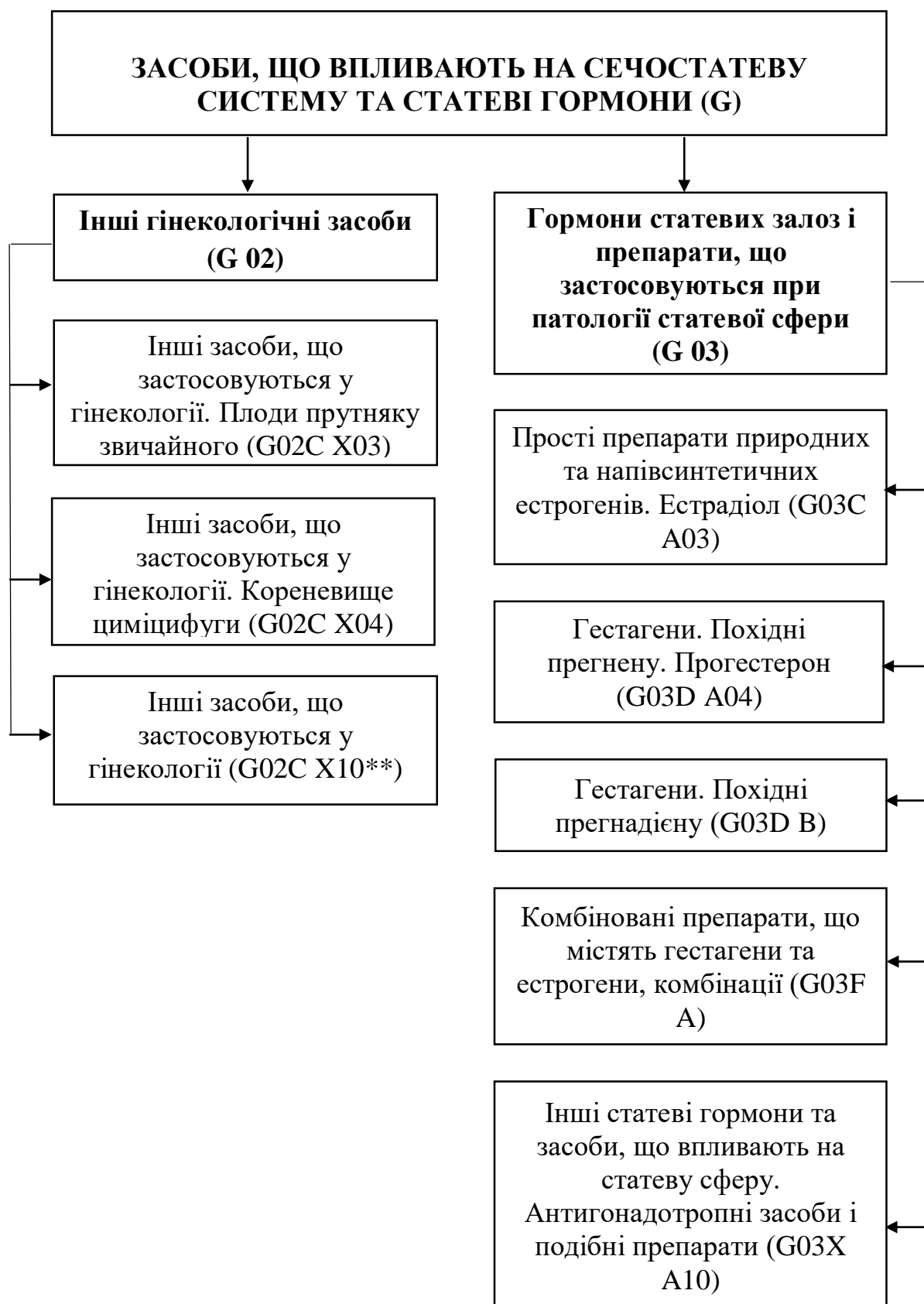


Рис. 1.3 Гормональні препарати для лікування клімактеричного синдрому

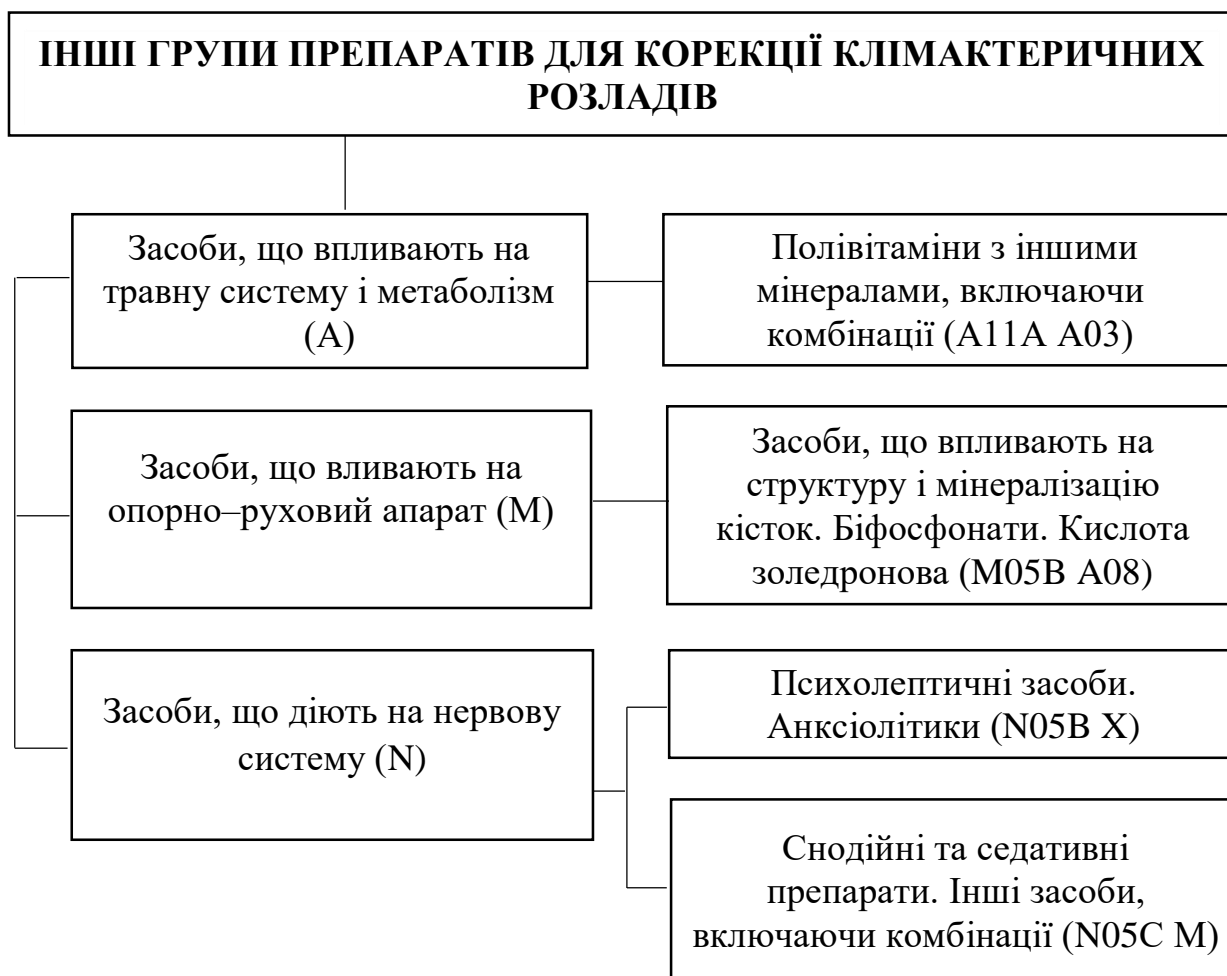


Рис. 1.4 Інші групи препаратів для лікування клімаксу

Лікарські засоби для корекції клімактеричних проявів зареєстровані в складі чотирьох груп АТС–класифікаційної системи (табл.1.1). Логічним є той факт, що великий відсоток асортименту представлений у групі G.

Таблиця 1.1

Аналітичний огляд асортименту препаратів для лікування клімактеричного синдрому за рівням класифікаційної системи АТС

Назва групи АТС–класифікаційної системи	Кількість торгових назв ЛЗ
1	2
A11A A03 –Полівітаміни з іншими мінералами, включаючи комбінації	1

Продовж. табл. 1.1

1	2
G02C X04 –Інші засоби, що застосовуються у гінекології. Кореневище циміцифуги	3
G02C X10** –Інші засоби, що застосовуються у гінекології	9
G03C A03 – Прості препарати природних та напівсинтетичних естрогенів. Естрадіол	4
G03D A04 – Гестагени. Похідні прегнену. Прогестерон	1
G03D B – Гестагени. Похідні прегнадієну	3
G03F A – Комбіновані препарати, що містять гестагени та естрогени, комбінації	4
G03X A10 – Інші статеві гормони та засоби, що впливають на статеву сферу. Антигонадотропні засоби і подібні препарати	3
M05B A08 – Засоби, що впливають на структуру і мінералізацію кісток. Біфосфонати. Кислота золедронова	5
N05B X – Психолептичні засоби. Анксіолітики	1
N05C M – Снодійні та седативні препарати. Інші засоби, включаючи комбінації	10

Ринок характеризується значною сегментацією за країнами фірм–виробників (рис. 1.5). Так, лише 15,5 % асортименту ЛЗ, що аналізуються, представлені вітчизняними виробниками. Слід відзначити, що серед імпорتنих ЛЗ лише на чотири країни (Німеччина, Швейцарія, Російська Федерація, Франція) припадало більш половини асортименту (40 % від імпорتنих ЛЗ або 8, 8, 4, 3, 3 зареєстрованих препаратів відповідно по країнах). Лише по одному найменуванню ЛЗ представляли фірми–виробники із дев'яти країн (Латвія, Хорватія, Чеська Республіка, Іспанія, Литовська Республіка, Канада, Польща, США та Бельгія). По дві торгові назви ЛЗ зареєстрували препаратів, які виготовляються виробниками також із п'яти країн, а саме із Туреччини, Індії, Нідерландів, Великобританії та Угорщини.

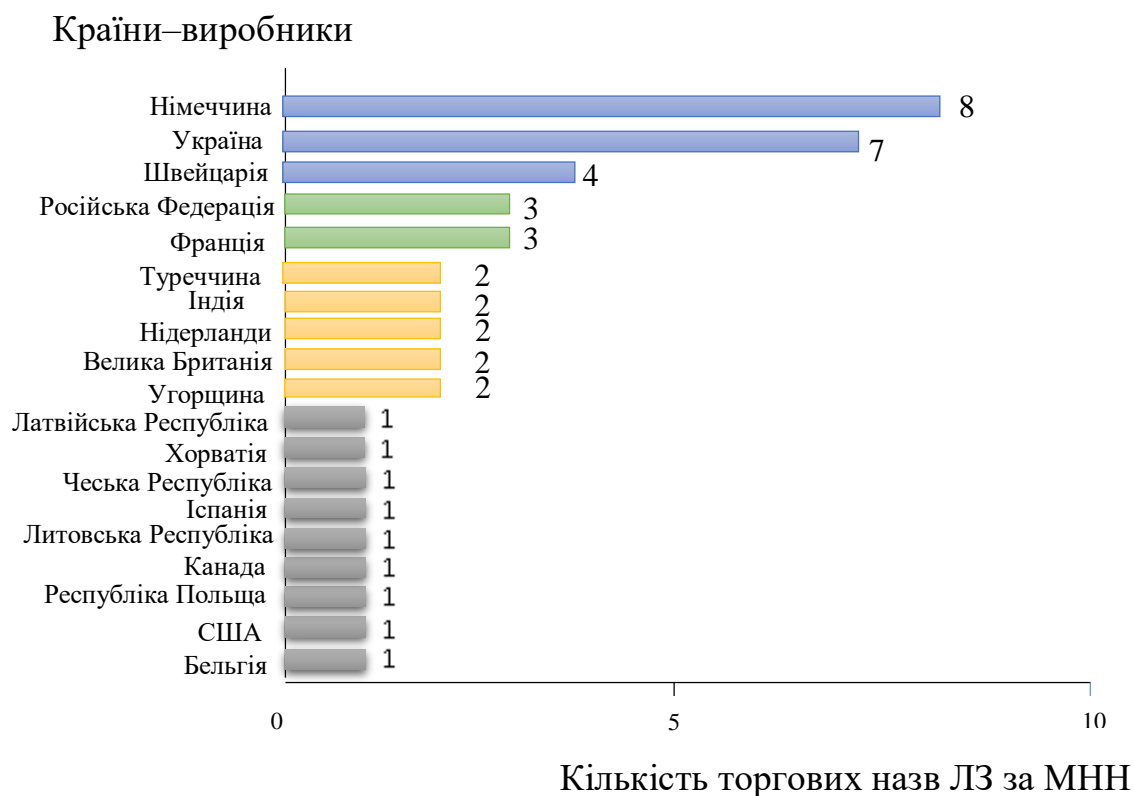


Рис. 1.5 Аналіз кількості зареєстрованих торгових назв ЛЗ для лікування клімактеричних розладів

На рис. 1.6 наведений асортимент лікарських препаратів, що зареєстровані на фармацевтичному ринку України, за різними ЛФ. Практично половину з лікарських форм (49 %) займають таблетки, друге місце – капсули (19 %), драже – 5 %, гелі – 2 %, рідкі ЛФ у вигляді настоек, крапель оральних, розчинів для ін'єкцій, еліксирів, сиропів – 25 %. Слід зазначити, що препарати синтетичного походження складають 55 %, а природного – 45 % фармацевтичного ринку.

Препарати вітчизняних фірм–виробників для лікування клімактеричного синдрому представлений 7 ЛЗ (табл. 1.2). ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика» та ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» представляють по два препарати, ХФЗ «Червона зірка», ПАТ «Фітофарм» та ТОВ «Фарма Старт» – по одному.

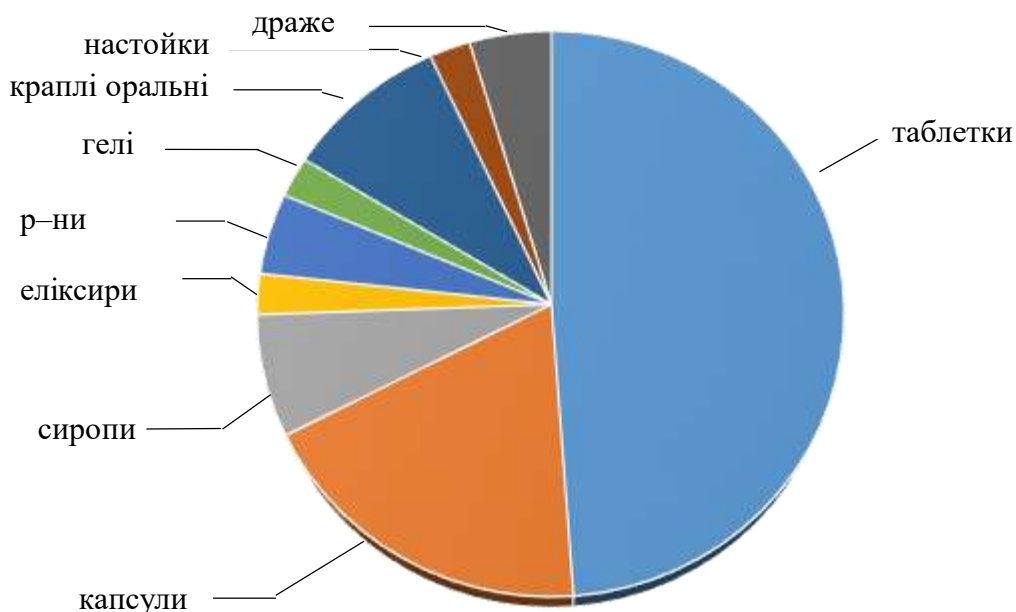


Рис. 1.6 Аналіз зареєстрованих препаратів за лікарськими формами

Усі препарати, виготовлені вітчизняними фірмами–виробниками, належать до групи N05C M – Снодійні та седативні препарати, згідно класифікаційній системі АТС. Вивчення асортименту лікарських препаратів для лікування клімактеричного синдрому в Україні показали імпортозалежність та доцільність розширення асортименту засобів на основі сировини природного походження, з комплексною естрогенною, вегето–судинною, седативною діями та регуляцією ліпідного обміну.

Таблиця 1.2

Лікарські препарати для лікування клімактеричного синдрому, що виготовляються в Україні

Назва / Код АТХ	Фірма	Форма випуску	Склад	Вартість, грн
1	2	3	4	5
Інволіум N05C M	ТОВ «Фармацевтична фабрика»	краплі оральні (по 25 (40) мл у флаконі)	1 мл препарату містить водно–спиртового екстракту (1:3) (екстрагент – етанол 40 %) із суміші: пасифлори трави 100 мг; липи квіток 100 мг; материнки трави 66,7 мг; шавлії листя 33,3 мг; меліси трави 33,3 мг;	127,55

1	2	3	4	5
Клімапін N05C M	ХФЗ Червона зірка,	настойка по 100 мл у фл.	100 мл препарату містять: глоду плоди – 3 г; хмелю шишки – 2 г; собачої кропиви трава – 1,5 г; кропиви листя – 1 г; шавлії листя – 1,5 г; материнки трава – 0,5 г; беладонни листя – 0,5 г. Допоміжні речовини: етанол 40 % (1:10)	51,15
Клімасед N05C M	ТОВ «Фармац евтична фабрика»	краплі оральні (по 25 (40) мл у флаконі)	Діючі речовини: 1 мл препарату містить екстракту рідкого (1:3) із суміші: пасифлори трави 0,1 г, липи квіток 0,1 г, материнки трави 0,0667 г, шавлії листя 0,0333 г, меліси трави 0,0333 г; Допоміжні речовини: етанол 40%.	55,25
Седафігон N05C M	ПАТ «Фітофа рм»	Таблетки № 24, 48, 96	Діючі речовини: 1 таблетка містить: валеріани кореневищ з коренями екстракту густого (1:2,5) (екстрагент – етанол 40 %) 0,05 г, пустирника трави екстракту густого (екстрагент – етанол 40 %) (1:3,0) 0,03 г, глоду плодів екстракту густого (екстрагент – етанол 70 %) (1:1,7) 0,03 г. Допоміжні речовини: магнію карбонат важкий, крохмаль картопляний, повідон, тальк, магнію стеарат	84,25
Седістрес N05C M	ТОВ «Фарма Старт»	таблетки №60	Діючі речовини: сухий екстракт пасифлори, етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти; 1 таблетка містить: сухого екстракту пасифлори (3–7/1), екстрагент – метанол 70 % – 300 мг, етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти 10,2 мг. Допоміжні речовини: олія м'ятна; β -циклодекстрин; гліцин; маніт; кросповідон; кислота лимонна, моногідрат; аспартам; кремнію діоксид колоїдний безводний; магнію стеарат.	192,12
Флора N05C M	ТОВ «Ф армацев тична ко мпанія «Здоров'я»	еліксир	Діючі речовини: 100 мл еліксиру: екстракту рідкого: буркуну трави 59,3 мг; солодки коренів 22,7 мг; нагідок квіток 11,9 мг; розторопші плямистої плодів 16,5 мг; коріандру плодів 59,6 мг. Допоміжні речовини: кислота лимонна, моногідрат; кислота аскорбінова; цукор–пісок; карамель сульфату аміаку (E 150d); барвник Жовтий захід FCF.	25,55

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4	5
Флорисед –Здоров'я N05C M	ТОВ «Ф армацев тична ко мпанія «Здоров'я»	капсули	Діючі речовини: 1 капсула містить екстракту сухого з трави кропиви собачої, шишок хмелю звичайного, листя м'яти перцевої, кореневища з коренями валеріани, корені і кореневища солодки (4:2:1,5:1,5:1) 311,5 мг. Допоміжні речовини: кальцію стеарат; лактоза, моногідрат; оболонка капсули містить титану діоксид (E 171), заліза оксид червоний (E 172), заліза оксид жовтий (E 172), желатин.	56,00

Отже, проведено маркетинговий аналіз лікарських засобів, зареєстрованих на території України. Встановлено, що найбільший сегмент фармацевтичного ринку лікарських засобів за класифікаційної системи АТС – засоби, що впливають на сечостатеву систему та статеві гормони (G), який представлений більше, ніж на 62 % від загальному об'єму зареєстрованих препаратів для лікування клімаксу. Друге місце посідають засоби, що діють на нервову систему (N) (24 %), третє – засоби, що впливають на опорно-руховий апарат (M), їхня доля становить 11 % ринку препаратів, та останнє місце вітамінні препарати (A11A A03) – що застосовуються в терапії клімактеричних розладів [160, 161].

1.5 Наукове обґрунтування складу композиції лікарської рослинної сировини для лікування клімактеричного синдрому

Багаторічне застосування лікарських засобів рослинного походження свідчить про їх ефективність при лікуванні багатьох, особливо гінекологічних захворювань, коли хворий потребує тривалого прийому лікарських препаратів [162–164].

Перевага широкого застосування препаратів з рослинної сировини базується на тотожності біохімічних структур лікарських рослин з тканинами організму людини, плавності наростання фармакологічного ефекту, відсутності або дуже рідкому прояві негативних побічних ефектів, алергічних реакцій, практичній відсутності лікарської

залежності, низькій токсичності [165, 166]. З цієї точки зору розробка лікарського препарату для лікування клімактеричного синдрому, який містить комплекс біологічно активних речовин рослинного походження, була обґрунтованою і актуальною.

Ефективність будь-якої фармакотерапії обумовлена її здатністю впливати на чинники, що викликають захворювання (етіотропна терапія), втручатись в окремі фази патологічного процесу (патогенетична терапія), усувати симптоми, якими супроводжується хвороба (симптоматична терапія). З огляду на це для розробки складу лікарського засобу нами були проаналізовані спільні чинники впливу, що лежать в основі обох патологій, на патогенетичні ланки розвитку захворювань [167, 168].

Етіотропна фітотерапія клімактеричного синдрому зазвичай спрямована на такі процеси:

- естрогенна дія (*шишки хмелю, насіння сої, корені солодки, суцвіття конюшини*) [113, 130, 132, 135];
- боротьба з інфекцією завдяки застосуванню лікарських рослин з антимікробною, протигрибковою активністю (*листя шавлії, трава деревію, трава чебрецю*) [136];
- зміцнення організму вітамінними препаратами: *квітки липи, плоди шипшини, листя кропиви, насіння сої* [120].

Для **патогенетичної фітотерапії** використовують:

- лікарські рослини з протизапальною активністю (*листя шавлії, трава деревію, шипшини, хмелю*) [60, 111];
- фітозасоби з кровоспинною дією (*плоди шипшини, трава деревію, листя кропиви, трава чебрецю, суцвіття конюшини*) [117, 132];
- препарати з спазмолітичною дією (*квітки липи, трава чебрецю, квітки нагідок, листя кропиви*) [129].

Симптоматична фітотерапія спрямована на:

- нормалізацію температури тіла (*квітки липи*) [128, 130];
- нормалізацію сну: фітозасоби з седативно-снотворною дією (*шишки хмелю,*

квітки липи) [122].

Виходячи з частоти згадувань у літературі лікарської рослинної сировини з актуальними видами дії для вищезазначених патологій нами для подальших досліджень та створення лікарського засобу були взяті: *корені солодки, квітки липи, нагідків, листя кропиви, шавлії, траву чебрецю повзучого, шишки хмелю, трава деревію, плоди шипшини, суцвіття конюшини, насіння сої* [124, 129, 130, 132, 136, 169, 170].

Для обґрунтування складу, крім логічного підходу та даних літератури, ми використали комп'ютерний прогноз фармакологічної активності хімічних речовин за програмою PASS (Prediction of Activity spectra of substances) [171], яка дозволяє оптимізувати цілеспрямований синтез речовин з певними видами фармакологічної активності. Програма заснована на передбаченні можливої фармакологічної активності з урахуванням фармакофорних фрагментів, що входять до складу молекули. Особливістю програми PASS є неможливість аналізувати вуглеводні сполуки, тому фармакологічна активність була розрахована тільки для агліконів. Комп'ютерному прогнозу активності були піддані БАР рослин, наведених у табл. 1.3.

Таблиця 1.3

Лікарська рослинна сировина, відібрана для формування складу фітозасобу для лікування клімактеричного синдрому

ЛРС	Біологічно активні речовини
1	2
<i>Flores Calendulae</i> – квітки нагідок	Тритерпеноїди (урсолова кислота), флавоноїди, каротиноїди, гідроксикоричні кислоти (п-кумарова, кавава, о-гідроксикорична)
<i>Radices Glycyrrhiza</i> – корені солодки	Тритерпенові глікозиди, флавоноїди, пектинові речовини, вуглеводи
<i>Folia Salviae</i> – листя шавлії	Ефірна олія (α -терпінен, 1,8-цінеол, α -пінен, борнеол, β -пінен, сабінен, камфора, ментон, α -туйен, лімонен, камфен, азарон), бензиловий спирт, тритерпеноїди (урсолова кислота), бензальдегід, флавоноїди
<i>Folia Urticae</i> – листя кропиви	Вітамін К, каротиноїди, хлорофіл, вітаміни групи В, С, флавоноїди (кверцетин, кемпферол), гідроксикоричні кислоти (п-кумарова, кавава, о-гідроксикорична)

Продовж. табл. 1.3

1	2
<i>Herba Serpylli</i> – трава чебрецю	Ефірна олія (α -пінен, β -пінен, борнеол, лімонен, ментон, азарон), тритерпеноїди (урсолова кислота), флавоноїди, дубильні та гіркі речовини
<i>Strobuli Lupuli</i> – шишки хмелю	Гіркі речовини (гумулон, лупулон), холін, аспарагін, органічні кислоти (валеріанова, ізовалеріанова, параамінобензойна), лейкоантоціанідини та естрогеннодіючі речовини (пренілнарінгенін)
<i>Herba Millefolii</i> – трава деревію	Проазулені (матрицин, матрикарин, азулен, 8-оцетооксиартабсин), ахіліцин, гумулен, сесквітерпенові лактони (ахілін, міллефін, балхінолід, ацетилбалхінолід), монотерпеноїди (α пінен, β пінен, борнеол, сабінен, камфора, туйон), флавоноїди(рутин, апігенін, лютеонін – 7 – глікозид), вітамін К
<i>Fructus Rosae</i> – плоди шипшини	Вітаміни – С, вітаміни групи В, Е, РР, К, пантотенова кислота, флавоноїди (кверцетин, кемферол та їх похідні – антоціани, катехіни), фенолокислоти, пектинові речовини, дубильні речовини, кародиноїди
<i>Flores Trifolii</i> – суцвіття конюшини	Ізофлавоноїди – формонетин і біоханін-А, куместани – фітоестроген куместрол
<i>Semina Sojae</i> – насіння сої	Білки, напіввисихаючі жирні олії, вітаміни А, D, Е, С, холін, біотин, фолацин, багатий вміст фосфатидів (лецитин, кефалін), ізофлавонової глікозиди
<i>Flores Tiliae</i> – квітки липи	Ефірна олія (сесквітерпеновий спирт – фарнезол), полісахариди (галактоза, глюкоза, рамноза, арабіноза, ксилоза, галактуронова кислота), тритерпенові сапоніни, флавоноїди (гесперидин, кверцетин, кемпферол), аскорбінова кислота і каротин

З даних прогнозу фармакологічної активності нами були відібрані ефекти, що тією чи іншою мірою стосуються етіотропної, патогенетичної та симптоматичної терапії клімактеричного синдрому та впливають на метаболічні (збільшення ваги тіла, зменшення гомеостазу), гормональні (зниження секреції статевих гормонів), вегето-судинні (припливи, збільшення потовиділення), серцево-судинні (збільшення у системному кровотоці загального холестерину, тригліцеридів та, як наслідок, ризик виникнення атеросклеротичних бляшок, що у подальшому призводять до атеросклерозу, інфаркту міокарда тощо), нервові порушення (дратівливість, депресія,

порунення сну, неврози), які виникають на фоні згасання синтезу статевих гормонів. При цьому ми звернули увагу тільки на ті БАР, індекс активності яких був вищим за 50 %. Результати аналізу наведено у табл. 1.4.

Таблиця 1.4

**Прогнозована фармакологічна активність досліджуваної
лікарської рослинної сировини за програмою PASS**

Активність	БАР	Індекс активності	ЛРС, до складу якої входить БАР
1	2	3	4
Естрогенна	8-пренілнарінгенін	+*	шишки хмелю звичайного
	біоханін-А	+*	суцвіття конюшини лучної
	куместрол	+*	
	формонonetin	+*	
Антибактеріальна , протигрибкова	камфора	+*	листя шавлії лікарської, трава деревію звичайного
	лімонен	0,550	листя шавлії лікарської, трава деревію звичайного
	євгенол	++	листя шавлії лікарської
	бензиловий спирт	+	квітки липи серцелистої, листя шавлії лікарської
	камфора	+	листя шавлії лікарської, трава деревію звичайного
	α-терпінен	0,525	листя шавлії лікарської, трава деревію звичайного
Протизапальна	1,8-цінеол (евкаліптол)	0,505	листя шавлії лікарської, шишки хмелю звичайного
	ментон	0,532	листя шавлії лікарської, трава чебрецю повзучого
	кверцетин	0,506	квітки липи серцелистої, листя кропиви дводомної
	p-кумарова кислота	0,509	квітки нагідок лікарських, листя кропиви дводомної
	кавова кислота	0,516	квітки нагідок лікарських, листя кропиви дводомної
	o-гідроксикорична кислота	0,559	квітки нагідок лікарських, листя кропиви дводомної
	камфора	0,612	листя шавлії лікарської
	α-пінен	0,646	квітки нагідок лікарських, листя кропиви дводомної
	α-терпінен	0,534	листя шавлії лікарської

Продовж. табл. 1.4

1	2	3	4
	бензиловий спирт	0,595	квітки липи серцелистої
	кемпферол	+*	трава деревію звичайного, плоди шипшини собачої
	вітамін К	0,539	листя кропиви дводомної, трава чебрецю повзучого
Кровоспинна	кемпферол	+*	квітки липи серцелистої
	гесперидін	+*	квітки липи серцелистої
	лупулін	+*	шишки хмелю звичайного
Спазмолітична	тіладін	+*	квітки липи серцелистої
Заспокійлива	аскорбінова кислота (вітамін С)	0,814	квітки липи серцелистої, плоди шипшини собачої, насіння сої культурної, листя кропиви дводомної
	ретинолу ацетат (вітамін А)	0,599	квітки липи серцелистої, плоди шипшини собачої, насіння сої культурної
Вітамінна	вітаміни групи В	++	листя кропиви дводомної, плоди шипшини собачої
	ряд похідних 2–метил–1,4–нафтохінону (вітамін К)	++	листя кропиви дводомної
	токоферолу ацетат (вітамін Е)	0,576	плоди шипшини собачої
	нікотинамід (вітамін РР)	0,676	листя кропиви дводомної
	холекальциферол (вітамін D)	0,337	плоди шипшини собачої

Примітка. +* – дія відома для даної речовини

Таким чином, за результатами комп'ютерного прогнозування біологічної активності діючих речовин комплексному препарату з відібраної рослинної сировини будуть притаманні естрогенна, антибактеріальна, протигрибкова, протизапальна, спазмолітична, кровоспинна, а також заспокійлива та вітамінна активність.

Згідно з PASS–аналізу та частоти згадування в літературних даних було обрано таку лікарську рослинну речовину для подальших досліджень негормональної терапії клімактеричного синдрому: квітки липи серцелистої, листя кропиви дводомної, листя

шавлії лікарської, трава чебрецю повзучого, трава деревію звичайного, суцвіття конюшини лучної, шишки хмелю звичайного.

Висновки до розділу 1

1. Показано, що клімактеричний синдром це складний симптомокомплекс, що розвивається у жінок на фоні згасання функції репродуктивної системи, загальної вікової інволюції організму.

2. Досліджено сучасні уявлення про особливості етіопатогенезу гінекологічних розладів, які спричинені клімактеричним синдромом, що вимагають специфічних комплексних методів профілактики та лікування. Визначено, що клімактеричні розлади впливають на низку органів та систем (серцево–судинна система, центральна нервова система, опорно–руховий апарат, уrogenітальні та метаболічні порушення), що вказує на системний фармакотерапевтичний підхід.

3. Встановлено, що фітотерапевтичні засоби, на відміно від препаратів гормонального походження, мають низьку спорідненість до естрогенових рецепторів завдяки чому фітоестрогени не впливають на здійснити ростові функції, та проявляють захисний ефект по відношенню до злоякісної та клітинної проліферації тканин ендометрію і молочних залоз. Важливою перевагою та перспективою застосування фітотерапевтичних засобів є вплив одразу на декілька ланок патологічного процесу. Визначено, що вітчизняний фармацевтичний ринок препаратів для лікування клімактеричного синдрому представлений 7 лікарськими засобами, усі препарати належать до групи N05C M – Снодійні та седативні препарати, згідно класифікаційній системі АТС. Препарати синтетичного походження складають 55 %, а природного – 45 % фармацевтичного ринку. Вивчення асортименту лікарських препаратів для лікування клімактеричного синдрому в Україні показали імпортозалежність та доцільність розширення асортименту засобів на основі сировини природного походження, з комплексною естрогенною, вегето–судинною, седативною діями та регуляцією ліпідного обміну.

4. За результатами комп'ютерного прогнозування біологічної активності діючих речовин обґрунтовано вибір лікарських рослин для подальших досліджень зі створення фітопрепаратів для негормональної терапії клімактеричного синдрому: квітки липи серцелистої, листя кропиви дводомної, листя шавлії лікарської, трава чебрецю повзучого, трава деревію звичайного, суцвіття конюшини лучної, шишки хмелю звичайного.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Наукове обґрунтування складу композиції лікарської рослинної сировини для лікування клімактеричного синдрому. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2018. № 29. С. 205–214.
2. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Маркетингові дослідження ринку біологічно активних речовин, що застосовуються для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *International research and practice conference "Innovative technology in medicine experience of Poland and Ukraine"*. 2017. С.149–154.
3. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Обоснование выбора лекарственного растительного сырья для негормональной терапии климактерического синдрома. *Инновации в медицине и фармации – 2017: материалы международной научно–практической конференции БГМУ, г. Минск, 10 октября 2017*. С. 832–839.
4. Konovalenko I., Polovko N. Marketing research of the pharmaceutical market of medicinal products for correction of menopause disorders. *The potential of modern science*. 2019. Vol. 3. P. 106–118.
5. Konovalenko I. S., Evtushenko T. I., Deryvedmid L.V. Dry extract of the oregano as perspective raw material for correction of climacteric syndrome. *Topical issues of new drug development*. 2017. Vol. 2. P. 73.
6. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Перспективи використання шалфея лікарського при негормональній терапії клімактеричного синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*. 2017. С. 60.

7. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Scientific substantiation of the composition of alcohol drops combined composition based on medical plant raw material for the treatment of climacteric syndrome. *Pharmaceutical science and practice: problems, achievements, prospects*. 2018. P. 39.
8. Коноваленко И. С., Половко Н. П. Патофизиология климактерического синдрома. *Механизмы развития патологических процессов и болезней и их фармакологическая коррекция*: тез. докл. I науч.–практ. инт.–конф. с межд. уч. г. Харьков, 18 октября 2018 г. Харьков. 2018. С.122–123.

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ДОСЛІДЖЕНЬ. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Обґрунтування загальної концепції досліджень

Вітчизняний фармацевтичний ринок має недостатній асортимент лікарських препаратів на основі фітокомпозицій для терапії гінекологічних ускладнень, що спричинені клімактеричним розладом у жінок. Особливості патофізіологічного механізму та симптоматичних проявів клімактеричного синдрому диктують необхідність пошуку нових фітозасобів з гормоноподібною (естрогеноподібною) дією на організм. Враховуючи те, що найважливішим чинником фармакотерапевтичної ефективності лікарських засобів є здатність біологічно активних речовин виявляти прогнозовану фармакологічну активність, а роль допоміжних речовин – сприяти її забезпеченню, експериментальні дослідження з метою виявлення нових джерел біологічно активних субстанцій для терапії ускладнень, викликаних клімактеричним синдромом починали з проведення патентного пошуку та вивчення літературних даних. При розробці фітокомпозицій для терапії вищезазначеного гінекологічного стану були використані лікарські рослини, які мають необхідну сировинну базу і відповідно широко доступні на території України і дозволені до медичного застосування МОЗ України.

Важливим етапом у розробці нових лікарських препаратів є вибір лікарської форми. Вона має бути зручною у використанні, забезпечувати точність дозування та бути економічно доступною, що є важливим для споживача, мати стабільність у процесі зберігання та бути зручною для фармацевтичного аналізу [172–175].

Важливим етапом створення фітопрепаратів є фармацевтична розробка, яка включає в себе низку факторів та чинників, контроль за якими забезпечує якість готової продукції [176–179].

У табл. 2.1 наведено основні нормативні документи, які регламентують фармацевтичну розробку лікарських засобів на основі рослинної сировини.

Таблиця 2.1

Документи, що регламентують фармацевтичну розробку фітопрепаратів

Нормативний документ	Вимоги
Настанова СТ–Н МОЗУ 42–3.0:2011 «Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8)»	Організація та проведення досліджень з фармацевтичної розробки
Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.5:2012 «Лікарські засоби. Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження»	Організація культивування та збирання ЛРС
Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.0:2016 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика»	Виробництво лікарських засобів рослинного походження
«Guideline on Quality of Herbal Medicinal Products / Traditional Herbal Medicinal Products»	Систематизація термінології та використання специфічних керівництв при дослідженні рослинних препаратів
ВООЗ «Належна виробнича практика рослинних препаратів»	Виробництво стандартизованого ЛЗ з контролем якості на усіх етапах; застосування принципів доказової медицини для дослідження ефективності та безпеки ЛЗ

Застосування у процесі фармацевтичної розробки фітопрепаратів вищезазначених національних стандартів та документів ЄС і ВООЗ дає можливість забезпечити якість при виробництві рослинних лікарських засобів, починаючи з етапу культивування сировини і закінчуючи отриманням готового рослинного препарату. Ці стандарти регламентують усі ланки виробництва, що дає змогу контролювати якість фармацевтичної розробки на кожному етапі виробництва.

Для досягнення поставленої мети нами був розроблений план проведення досліджень, що складався з таких послідовних етапів:

- розробка науково обґрунтованого складу лікарського рослинного збору, сухого екстракту та фітокомпозиції для отримання спиртового екстракту;
- визначення технологічних параметрів лікарської рослинної сировини;
- дослідження фармакотехнологічних чинників, що впливають на процес екстракції: природи екстрагенту для вилучення біологічно активних речовин; методів та режимів екстракції, ступеня подрібнення;

- розробка технології лікарського рослинного збору, сухого водного екстракту та рідкого спиртового екстракту в аптечних та промислових умовах;
- вибір та обґрунтування критеріїв якості розроблених препаратів і їх стандартизація;
- обґрунтування термінів придатності препаратів;
- проведення доклінічних досліджень розроблених препаратів;
- проведення апробації технології розроблених препаратів у промислових та аптечних умовах.

При вивченні властивостей розроблених препаратів застосовані загальноприйняті методи органолептичних, фармакотехнологічних, фізичних, фізико-хімічних, фармакологічних і мікробіологічних досліджень, які дозволяють об'єктивно оцінювати їх якість на підставі одержаних статистично оброблених результатів.

Дотримання вищезазначеного плану дозволить отримати ефективні, безпечні та доступні лікарські препарати на основі оригінальних композицій лікарської рослинної сировини з комплексною дією, які були б перспективними на вітчизняному фармацевтичному ринку.

2.2 Об'єкти дослідження

У підрозділі наведено об'єкти досліджень, які в своїй сукупності у повній мірі відображають сутність та характер проведеної роботи.

Об'єктами дослідження були лікарська рослинна сировина, яку використовували для розробки збору та сухого водного екстракту під умовною назвою «Флавоклім» (конюшини лучної суцвіття, чебрецю повзучого трава, деревію звичайного трава, липи серцелистої квітки) та рідкого спиртового екстракту під умовною назвою «Флавоклім–плюс» (шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя), допоміжні речовини – вода очищена, спирт етиловий різної концентрації.

2.2.1 Характеристика лікарської рослинної сировини

Конюшини лучної суцвіття (*Trifolii pratense inflorescences*) (ДФУ 2.1, Т. 1, ст. 187–189) [180]. Сировина складається із різної форми шматочків пелюсток квіток конюшини лучної. Сировина опушена. Суцвіття складається з багатьох сидячих квіток метеликового типу, які щільно розташованих на вкороченій осі. Колір рожево-пурпуровий. Запах сильний, квітковий.

Хімічний склад. Сировина конюшини містить флавоноли (апигенін, апигенін-7-глюкозид, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид, кверцетин, кемпферол), ізофлавоноїди (біоханін, формонетин), фенольні кислоти.

Суцвіття конюшини мають естрогенну, відхаркувальну, сечогінну, антисептичну, протизапальну дію [195].

Чебрецю повзучого трава (*Herba Serpylli*) (ДФУ 2.0, Т. 3, ст. 485–490) [181]. Суміш цілих або частково подрібнених тонких гілочок, листків, шматочків стебел товщиною до 0,5 см і квіток. Листки короткочерешкові, ланцетні, еліптичні або продовгуваті-еліптичні, цільнокраї, довжиною до 15 мм, голі або слабо опушені з різко опуклими жилками на нижньому боці листка. Колір листків зелений або сірувато-зелений, чашечки — бурувато-червоний, віночка — синювато-фіолетовий. Запах ароматний. Смак гіркувато-пряний, злегка пекучий.

Хімічний склад. Сировина чебрецю містить ефірну олію (0,1–1 %), фенольні сполуки (тимол, карвакрол), флавоноїди (апигенін, лютеолін, скутелярин), дубильні речовини.

Трава чебрецю має відхаркувальну, антисептичну, протизапальну та ранозугоювальну дію [195].

Деревію звичайного трава (*Millefolii herba*) (ДФУ 2.0, Т. 3, ст. 296–298) [181]. Цільні або частково подрібнені квітконосні пагони сірувато-зеленого кольору з жовтуватими квітками. Листки зеленого кольору, слабо опушені на верхній поверхні та сильно опушені на нижній поверхні. Запах слабкий, ароматний. Смак приємний, гіркуватий.

Хімічний склад. Сировина деревію містить ефірну олію (0,3 %), флавонолі глікозиди (апигенін, лютеолін), дубильні речовини.

Трава деревію має жовчогінну, потогінну, в'язучу, сечогіну та протимікробну дію [195].

Липи серцелистої квітки (*Tiliae flos*) (ДФУ 2.0, Т. 3, ст. 377–378) [181]. Цілі, висушені суцвіття. Сировина має слабкий ароматний запах, солодка та слизувата на смак. Суміш квіток, квітконіжок і шматочків приквітників різноманітної форми розміром від 0,5 до 20 мм. Квітки пелюстків білувато-жовті, чашолистиків – зеленувато- або жовтувато-сірі, приквітних листків – світло-жовті або зеленувато-жовті. Запах слабкий, ароматний. Смак солодкуватий, злегка терпкий, з відчуттям слизу.

Хімічний склад. Сировина липи містить ефірну олію (1–2,8 %) – борнеол, камфора, 1,8–цинеол, каріофілен, флавоноїди (гесперидин, кверцитин, кемпферол), дубильні речовини.

Квітки липи мають заспокійливу, сечогінну, антисептичну, протигрибкову та спазмолітичну дію [195].

Шавлії лікарської листя (*Folia Salviae*) (ДФУ 2.0, Т. 3, ст. 494–495) [181]. Шматочки листків різної форми зеленого, сірувато-зеленого чи сріблясто-білого кольору. Поверхня рівномірно-зморшкувата з густою мережею жилок, дуже втиснутих зверху і опуклих знизу; покрита довгими волосками, особливо з нижньої сторони. Запах ароматний. Смак гіркувато-пряний, злегка терпкий.

Хімічний склад. Сировина шавлії містить полісахариди (7–10 %), фенольні сполуки (хлорогенова, галова, ферулова, кофейна і розмаринова кислоти), флавоноїди, таніни.

Листя шавлії мають антисептичну, в'язучу, заспокійливу, протигрибкову та спазмолітичну дію [195].

Хмелю звичайного шишки (*Humulus lupulus*) (ДФУ 2.0, Т. 3, ст. 478–479) [181]. Шишки хмелю переважно поодинокі, від 2 до 5 см завдовжки, черешкові, яйцеподібні; складаються із чисельних овальних, зеленувато-жовтих, сидячих, плівчастих, розташованих черепитчасто покривних листочків, що сплюснені та симетричні. Запах характерний, ароматний.

Хімічний склад. Сировина хмелю містить ефірну олію (1–3 %), фенольні

сполуки (гумулон, лупулон), флавоноїди, естрогенні гормони (пренілнарінгенін, лютеолін), таніни.

Шишки хмелю мають естрогенну, седативну, антисептичну та спазмолітичну дію [195].

Кропиви собачої листя (*Herba Leonuri*) (ДФУ 2.0, Том 3, ст. 358–360) [181]. Цілі або різані, висушені, зібрані під час цвітіння надземні частини. Поверхня листка шорстковолосиста, жилкування сітчасте, жилки помітно виступають на нижній поверхні листка. Листки темно-зелені, черешки – зелені. Колір сірувато-зелений. Запах слабкий. Смак гіркуватий.

Хімічний склад. Сировина кропиви містить вітамін К, флавоноїди (кверцетин, кемпферол), гідроксикоричні кислоти (кофейна, ферулова), дубильні речовини.

Листя кропиви має естрогенну, жовчогінну, тонізуючу, кровоспинну, антисептичну та спазмолітичну дію [195].

2.2.2 Характеристика допоміжних речовин

При розробці нових лікарських препаратів використовували дозволені до медичного застосування допоміжні речовини:

— **вода очищена** (ДФУ 2.0, Т. 2, ст.129–131) [182] – безбарвна прозора рідина, без запаху та смаку. рН від 5,0 до 7,0. Воду очищену одержують з питної води методом дистиляції, за допомогою іонообмінників, зворотного осмосу або іншим методом;

— **етанол 96 %** (ДФУ 2.0, Т. 2, ст. 233–237) [182] – безбарвна прозора, летка рідина з характерним спиртовим запахом та пекучим смаком. Змішується у різних співвідношеннях з водою, ефіром, хлороформом, ацетоном та гліцерином. Густина 0,812–0,808, що відповідає вмісту спирту етилового 95–96 % (об'ємних).

2.3 Методи дослідження

При виконанні роботи були використані сучасні фармакотехнологічні, фізико-хімічні та біологічні методи досліджень, які дозволяють оцінювати використані

зразки вихідних речовин і готових лікарських форм. Для проведення контролю якості зразків розроблених лікарських препаратів дотримувалися рекомендацій і методик для рослинного збору, наведених у ДФУ, 2–е вид., доп. 2, ст. 131–135 [183] та екстрактів, наведених у ДФУ, 2–е вид., доп. 1, ст. 113–115 [180].

2.3.1 Фармакогностичні та фармакотехнологічні методи досліджень

Ситовий аналіз ЛРС здійснювали за методикою, наведеною у ДФУ 2.0, (п. 2.9.12, ст. 422–423) [186, 188]. Пробу сировини (100,0 г) розділяли на фракції та просіювали крізь набір сит. Визначали вміст кожної фракції у відсотках і середній діаметр кожної фракції. Фракційний склад ЛРС встановлювали за розмірами сит. Середньозважений розмір часток визначали за формулою Козені (2.1):

$$\frac{100}{d_{\text{сер}}} = \sum \frac{\Delta g_i}{d_i}, \quad (2.1)$$

де: Δg_i – кількість шматочків матеріалу діаметром d_i , %.

Визначення втрати в масі при висушуванні проводили за методикою ДФУ 2.0 (п. 2.2.32, ст. 96) [186, 189]. По 3,0 г (з точністю до 0,01 г) ЛРС поміщали у висушені і зважені разом із кришкою бюкси. Висушування проводили у сушильній шафі при температурі від 100 до 105 °С. Перше зважування робили через 2 год. Висушування здійснювали до постійної маси, яка вважалась досягнутою, якщо різниця між двома послідовними зважуваннями після 30 хв висушування і 30 хв охолодження в ексікаторі не перевищувала 0,01 г. Вологість ЛРС (X), у відсотках, обчислювали за формулою (2.2):

$$X = \frac{(m - m_1) \times 100}{m_1}, \quad (2.2)$$

де: m – маса наважки сировини до висушування, г;

m_1 – маса наважки сировини після висушування, г.

За остаточний результат визначення брали середнє арифметичне двох паралельних визначень. Розбіжність, що допускається між результатами двох паралельних визначень, не має перевищувати 0,5 %.

Визначення питомої маси ($d_{\text{п}}$) [186, 190]. 5,0 г (точна наважка) подрібненої ЛРС завантажували у пікнометр об'ємом 100 мл, заливали водою очищеною на 2/3 об'єму і витримували на киплячій водяній бані протягом (1,5 – 2) год, періодично перемішуючи для видалення повітря із ЛРС. Через 2 год пікнометр охолоджували до температури 20 °С і доводили об'єм до мітки водою очищеною. Визначали масу пікнометра з сировиною і водою очищеною. Розрахунок питомої маси проводили за формулою (2.3):

$$d_{\text{п}} = \frac{P \times d_{\text{р}}}{P + G - F}, \quad (2.3)$$

де: P – маса абсолютно сухої подрібненої сировини, г;

G – маса пікнометра з водою, г;

F – маса пікнометра з водою та сировиною, г;

$d_{\text{р}}$ – питома маса води, г/см³ ($d_{\text{р}} = 0,9982$ г/см³).

Визначення насипної маси (d) [172]. У мірний циліндр об'ємом 100 мл завантажували подрібнену ЛРС, злегка струшували для вирівнювання, і визначали займаний сировиною повний об'єм, після чого сировину зважували. Розрахунок насипної маси проводили за формулою (2.4):

$$d = \frac{P_{\text{н}}}{V_{\text{н}}}, \quad (2.4)$$

де: $P_{\text{н}}$ – маса подрібненої сировини при заданій чи природній вологості, г;

$V_{\text{н}}$ – об'єм, який займає сировина, см³.

Визначення об'ємної маси ($d_{\text{о}}$) [188]. Біля 10,0 г (точна наважка) подрібненої сировини занурювали у мірний циліндр з водою очищеною об'ємом 100 мл. За різницею об'ємів у мірному циліндрі визначали об'єм, який займає ЛРС. Розрахунок об'ємної маси ($d_{\text{о}}$) сировини проводили за формулою (2.5):

$$d_{\text{о}} = \frac{P_{\text{о}}}{V_{\text{о}}}, \quad (2.5)$$

де: $P_{\text{о}}$ – маса подрібненої сировини при заданій або природній вологості, г;

$V_{\text{о}}$ – об'єм, який займає сировина, см³.

Пористість (Пс) [189] сировини вказує на величину внутрішнього вільного простору часток сировини і визначається як відношення різниці між питомою та

об'ємною масою до питомої маси. Чим вищій її показник, тим більше утворюється внутрішнього соку при набуханні сировини.

Пористість сировини розраховували за формулою (2.6):

$$\Pi_c = \frac{d_n - d_o}{d_n}, \quad (2.6)$$

де: d_n – питома маса сировини, г/см³;

d_o – об'ємна густина сировини, г/см³.

Порізність ($\Pi_{сл}$) [190] шару характеризує величину вільного простору між частинками рослинного матеріалу і визначається як відношення різниці між об'ємною та насипною густиною до об'ємної густини. Порізність ($\Pi_{сл}$) сировини розраховували за формулою (2.7):

$$\Pi_{сл} = \frac{d_o - d_n}{d_o}, \quad (2.7)$$

де: d_o – об'ємна густина сировини, г/см³;

d_n – насипна густина сировини, г/см³.

Вільний об'єм шару (V) [192] характеризує відносний об'єм вільного простору в одиниці сировинного матеріалу (внутрішній вільний простір часток та між частками) і визначається як відношення різниці між питомою масою і насипною густиною до питомої маси. Вільний об'єм шару (V) розраховували за формулою (2.8):

$$V = \frac{d_n - d_{п}}{d_n}, \quad (2.8)$$

де: d_n – питома маса сировини, г/см³;

$d_{п}$ – насипна густина сировини, г/см³.

Кут природного укосу найбільший кут, який може бути утворений укосом вільно насипаної рослинної сировини в стані рівноваги з горизонтальною площиною. Залежить від фракційного складу сировини, її вологості, густини і насипної маси матеріалу [191].

Коефіцієнт поглинання екстрагенту (K_n) [191] розраховували як відношення маси сировини після набухання і відтискання шроту до маси сировини, взятої на початку для визначення цього показника. Розрахунок проводили за формулою (2.9):

$$K_{\text{п}} = \frac{P_2}{P_1}, \quad (2.9)$$

де: P_1 – маса сировини до набухання, г;

P_2 – маса сировини після набухання, г.

Показник набухання розраховували за методикою ДФУ 2.0 (п. 2.8.4, с. 377) [185] представляє собою об'єм, у мілілітрах, що займає 1 г випробовуваного зразка після його набухання у водному середовищі протягом 4 год, з урахуванням клейкого слизу.

Текучість дозволяє визначити здатність матеріалів, що складаються із твердих частинок текти у вертикальному напрямку за заданих умов.

Згідно з методики ДФУ 2.0 (п. 2.9.16., с. 425) у суху лійку, у якої вихідний отвір закритий різними способами, поміщали без ущільнення наважку випробовуваного матеріалу, взяту з точністю 0.5 %. Кількість випробовуваного матеріалу залежить від його насипного об'єму і від використовуваного приладу. Відкривали вихідний отвір і визначали час, який необхідний для повного витoku зразка з лійки. Вимірювання проводять у трьох повторностях [186].

Мікроскопічне дослідження сировини для аналізу проводили згідно з методикою ДФУ 2.0 (п. 2.8.23, с.392) [186] «Мікроскопічне дослідження лікарської рослинної сировини». Морфологічні дослідження сировини проводили з використанням лупи та біноккулярного мікроскопа БМ–51–2. Вивчення анатомічної будови проводили із цільної (препарати з поверхні та поперечні зрізи), сировини, згідно з вимогами ДФУ.

Діагностичні ознаки встановлювали з використання мікроскопів МБР-1 та МБІ–6 ЛОМО за збільшень у 70, 100, 150, 280, 400, 600. Фіксували результати дослідження за допомогою фотокамери Canon IXUS 220 HS.

2.3.2 Фізичні, фізико-хімічні методи досліджень рідких лікарських засобів

Визначення відносної густини проводили пікнометрично за методикою ДФУ 2.0 (п. 2.2.5, ст. 54–55) [186]. Чистий сухий пікнометр зважували з точністю до 0,0002 г, заповнювали за допомогою сухої лійки водою очищеною вище позначки, закривали

корком і витримували протягом 20 хв у термостаті з постійною температурою води 20 °С з точністю до 0,1 °С. При цій температурі рівень води у пікнометрі доводили до позначки, відбираючи надлишок води за допомогою піпетки або згорнутої в трубку смужки фільтрувального паперу. Пікнометр знову закривали пробкою і витримували у термостаті 10 хв, перевіряючи положення меніска відносно позначки. Після цього пікнометр виймали з термостата, фільтрувальним папером витирали внутрішню поверхню шийки пікнометра, а також увесь пікнометр ззовні, залишали під склом аналітичних ваг протягом 10 хв і зважували з тією самою точністю. Пікнометр звільняли від води, висушували, споліскуючи послідовно спиртом (сушити пікнометр шляхом нагрівання не допускається), видаляючи залишки спирту продуванням повітря, заповнювали пікнометр випробовуваною рідиною і потім проводили ті самі операції, що й з очищеною водою.

Густина ρ_{20} (г/см³) обчислювали за формулою (2.10):

$$\rho_{20} \frac{(m_2 - m) \times 0.99703}{m_1 - m} + 0.0012, \quad (2.10)$$

де: m – маса порожнього пікнометра, г;

m_1 – маса пікнометра з дистильованою водою, г;

m_2 – маса пікнометра з випробовуваною рідиною, г;

0,99703 – значення густини води при 20 °С (з урахуванням густини повітря);

0,0012 – густина повітря при 20 °С і барометричному тиску 1011 гПа (760 мм рт. ст.).

Визначення сухого залишку. Сухий залишок визначали за методикою ДФУ 2.0 (п. 2.8.16, ст. 385) [186]. 2 мл досліджуваного зразка поміщали у плоскодонну фарфорову чашку об'ємом близько 50 мл і заввишки близько 30 мм. Випарювали насухо на водяній бані та сушили у сушильній шафі при температурі 100 – 105 °С протягом 3 год, охолоджували в ексікаторі над фосфору (V) оксидом і зважували. Результат відображали в масових відсотках або грамах на літр.

Визначення речовин, що екстрагуються

Витяг отримують за допомогою води, спирту етилового, спирто–водної суміші або органічного розчинника. Витяг містить комплекс органічних та неорганічних сполук.

Вміст екстрактивних речовин визначали згідно фармакопейних вимог наступним чином [186].

Аналітичну пробу препарату 100,0 г подрібнювали до розміру часток, що проходять крізь сито з отворами діаметром 1 мм.

Близько 1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали у колбу місткістю 250 мл, додавали 50 мл води очищеної або *етанолу Р*, колбу закривали пробкою, зважували і залишали на 1 год. З'єднували колбу з холодильником і нагрівали, підтримуючи слабе кипіння протягом 2 год.

Після охолодження колбу зважували і втрату в масі доводили розчинником. Вміст колби ретельно збовтували і фільтрували, 25 мл фільтрату переносили у висушену при температурі від 100 до 105 °С порцелянову чашку діаметром 7–9 см і випарювали на водяній бані насухо.

Чашку із залишком висушували при температурі від 100 до 105 °С до постійної маси, охолоджували протягом 30 хв в ексікаторі і зважували.

Вміст екстрактивних речовин (X), у відсотках, у перерахунку на суху сировину, обчислювали за формулою (2.11):

$$X = \frac{m \times 100 \times 200}{m_1 \times (100 - W)}, \quad (2.11)$$

де: m – маса сухого залишку, у грамах;

m_1 – маса наважки сировини, у грамах;

W – втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

Загальна зола визначається за методом ДФУ 2.0 (*п. 2.4.16., с. 190*) [186].
Випробовуваний розчин. Розчин, зазначений у монографії, поміщали у ділільну воронку та струшували двома порціями по 20 мл кожна розчину 5 г/л *гідроксихіноліну Р* в *хлороформі Р* та з 10 мл цього розчину. Хлороформні шари збирали та відділяли у мірну колбу об'ємом 50 мл. Доводили об'єм розчину *хлороформом Р* до позначки та перемішували.

Розчин порівняння. Готували таким же чином, що і випробовуваний розчин.

Холостий розчин. Готували таким же чином, що і випробовуваний розчин.

Вимірювали інтенсивність флуоресценсії (п. 2.2.21) випробовуваного розчину (I_1), еталона (I_2) і холостого розчину (I_3), використовуючи збуджуюче випромінювання за довжини хвилі 392 нм і вторинний фільтр із смугою пропускання (максимум поглинання 518 нм).

Флуоресценсія ($I_1 - I_3$) випробовуваного розчину не має перевищувати флуоресценсію еталона ($I_2 - I_3$).

Зола, нерозчинна у хлористоводневій кислоті визначається за методом ДФУ 2.0 (п. 2.8.1., с. 376) [186], являє собою залишок, який отримано в процесі обробки сульфатної або загальної золи хлористоводневою кислотою, у перерахунку на 100 г лікарського засобу. Для визначення загальної золи сировину спалювали та прожарювали до отримання залишку, що не згорає. Залишок, отриманий при обробці загальної золи 10 % розчином кислоти хлористоводневій, містить кремнезем або силікати. Завищений вміст золи, не розчинної в 10 % розчині кислоти хлористоводневій, вказує на завищений вміст мінеральних домішок в ЛРС.

Визначення важких металів проводили згідно вимог ДФУ 2 (п. 2.4.8, метод А, с. 184) [186].

До 1,00 г тонко здрібненого порошку сировини додавали 1 мл *кислоти сірчаної Р*, обережно спалювали і прожарювали. До одержаного залишку додавали при нагріванні 5 мл розчину 615 г/л *амонію ацетату Р*, фільтрували, промивали 5 мл *води Р* і доводили об'єм фільтрату *водою Р* до 100 мл. 12 мл розчину мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готували із використанням *еталонного розчину свинцю (1 ppm Pb) Р*.

Метод А

Випробовуваний розчин. 12 мл випробовуваного розчину.

Розчин порівняння. Змішували 10 мл *води Р* і 2 мл випробовуваного розчину.

Холостий розчин. Змішували 10 мл *води Р* і 2 мл випробовуваного розчину.

До кожного розчину додавали 2 мл *буферного розчину (рН 3,5) Р*. Перемішували і додавали 1,2 мл *тіоацетамідного реактиву Р*, негайно перемішували. Через 2 хв розчини тестували.

Придатність системи: розчин порівняння (еталон) повинен мати світло-коричневе забарвлення при порівнянні з холостим розчином.

Вміст етанолу досліджували за методикою ДФУ 2.0 (п. 2.9.10., с. 417) [186]. У круглодонну колбу об'ємом 200–250 мл відбирали точну кількість випробовуваного препарату – 25 мл та перед перегонкою доводили об'єм зразка водою *P* до 75 мл. Для рівномірного кипіння у колбу поміщали декілька капілярів, шматочки пемзи або прожареного фарфору. Переганяли в мірну колбу об'ємом 50 мл та збирали близько 48 мл відгону. Доводили об'єм розчину водою дистильованою *P* до 50.0 мл при температурі (20 ± 0.1) °С. Відгін був прозорим.

Густину відгону визначали пікнометром і за алкоголеметричними таблицями знаходили відповідний вміст етанолу у відсотках за об'ємом.

Вміст етанолу в препараті (*X*), у відсотках (об/об), обчислювали за формулою (2.12):

$$X = \frac{50 \times a}{b}, \quad (2.12)$$

де: 50 – об'єм відгону, мл;

a – вміст етанолу, у відсотках за об'ємом;

b – об'єм випробовуваного препарату, відібраний для відгону, мл.

Вміст метанолу і 2–пропанолу визначають методом парафазної газової хроматографії за методиками ДФУ 2.0 (п. 2.9.11., с. 421, п. 2.2.28., с. 84) [186].

Вміст метанолу, у відсотках (об/об), обчислювали за формулою (2.13):

$$\frac{A_1 \times I_2}{A_2 \times I_1 \times 40}, \quad (2.13)$$

де: A_1 – площа піка метанолу на хроматограмі випробовуваного розчину;

A_2 – площа піка метанолу на хроматограмі розчину порівняння (с);

I_1 – площа піка внутрішнього стандарту на хроматограмі випробовуваного розчину;

I_2 – площа піка внутрішнього стандарту на хроматограмі розчину порівняння (с).

Вміст 2–пропанолу, у відсотках (об/об), обчислювали за формулою (2.14):

$$\frac{A_3 \times I_2}{A_4 \times I_1 \times 40'} \quad (2.14)$$

де: A_3 – площа піка 2–пропанолу на хроматограмі випробовуваного розчину;
 A_4 – площа піка 2–пропанолу на хроматограмі розчину порівняння (с);
 I_1 – площа піка внутрішнього стандарту на хроматограмі випробовуваного розчину;
 I_2 – площа піка внутрішнього стандарту на хроматограмі розчину порівняння (с).

2.3.3 Методи ідентифікації біологічно активних речовин в лікарській рослинній сировині та витягах

Ідентифікацію флавоноїдів у водному витягу зі збору, сухого водного екстракту, отриманого зі збору та спиртовому з фітокомпозиції, з якої отримували екстракт здійснювали за допомогою кольорових реакцій [180, 194]. Готували настій зі збору, сухий водний екстракт зі збору та спиртовий екстракт за технологіями, наведеними у 3 та 4 розділі відповідно.

Ціанідінова реакція

До 1 мл витягу (настій зі збору або екстракт) додавали 2–3 краплі кислоти хлористоводневої концентрованої та декілька грамів металевого магнію. Спостерігали утворюване забарвлення.

Ціанідінова реакція по Бріанту

До забарвленого продукту ціанідінової реакції додавали 1/3 частини октанолу або бутанолу по об'єму, розбавляли водою до розділення шарів, струшували та помічали перехід пігментів у водну або органічну фази. Пігменти глікозидів залишаються у воді, а аглікони переходять до шару органічного розчинника.

Реакція з залізом (III) хлоридом

До 1 мл витягу (настій зі збору або екстракт) додавали 2–3 краплі 1 %-го спиртового розчину заліза хлориду. Утворюється темно-зелене або коричневе забарвлення в залежності від класу флавоноїдів.

Реакція з лугом

До 1 мл (настій зі збору або екстракт) витягу додавали 1–2 краплі 10 %-го спиртового розчину калію або натрію гідроксиду. Розчин жовтіє або підсилюється природне жовте забарвлення.

Реакція з концентрованою сірчаною кислотою (Сальковського)

При додаванні концентрованої сірчаної кислоти до витягу (настій зі збору або екстракт) з'являється забарвлення на границі розподілу фаз (у випадку холестерину – коричнево–червоне).

Ідентифікація БАР збору та сухого водного екстракту «Флавоклім» методом ТШХ

У відповідності до вимог ДФУ ідентифікацію біологічно активних речовин суцвіть конюшини лучної, трави чебрецю повзучого, трави деревію звичайного та квіток липи серцелистної та їх суміші проводили методом тошкошарової хроматографії за методикою ДФУ 2.1 за двома методиками та ідентифікували рутин та гіперозид (п.2.2.27., с. 187–188) [180].

Методика 1. Використовували ТШХ–пластинки з шаром *силікагелю Р* в системі розчинників *мурашина кислота безводна Р – оцтова кислота льодяна Р – вода Р – етилацетат Р* (11:11:27:100).

Випробувані розчини. Використовували метанольні екстракти сировини (екстракт суцвіть конюшини лучної, трави чебрецю повзучого, трави деревію звичайного та квіток липи серцелистної з 0,2 мл метанолу).

В якості маркерів використовували фармакопейного стандартного зразку Державної Фармакопеї України *рутину Р* і фармакопейного стандартного зразку Державної Фармакопеї України *гіперозиду Р* у 10 мл *метанолу Р*. Визначення характерних зон поглинання проводили після висушування хроматографічної пластинки при температурі від 100°C до 105 °C 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.

Методика 2. Використовували ТШХ–пластинки з шаром силікагелю *P* в системі розчинників *мурашина кислота безводна P — етилацетат P – толуол P* (1:30:70).

Випробувані розчини. Використовували метанольні екстракти сировини (екстракт суцвіть конюшини лучної, трави чебрецю повзучого, трави деревію звичайного та квіток липи серцелистної з 0,2 мл метанолу).

В якості маркерів використовували фармакопейного стандартного зразку Державної Фармакопеї України *рутину P* і фармакопейного стандартного зразку Державної Фармакопеї України *гіперозиду P* у 10 мл *метанолу P*. Визначення характерних зон поглинання проводили після висушування хроматографічної пластинки при кімнатній температурі на повітрі. Перегляд хроматограм здійснювали через 30 хв в УФ–світлі за довжиною хвилі 254 нм.

Ідентифікація БАР спиртового екстракту «Флавоклім-плюс»

У відповідності до вимог ДФУ ідентифікацію БАР шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя та їх суміші проводили методом ТШХ за методикою ДФУ 2.0 (п. 2.2.27, с. 495) [181].

Використовували ТШХ–пластинки з шаром *силікагелю P* в системі розчинників *етилацетат P – толуол P* (5:95). Як випробувані розчини використовували етанольні екстракти сировини (екстракт листя шавлії лікарської, шишки хмелю звичайного, листя кропиви дводомної та їх суміш) з 5 мл *етанолу (96 %) P*.

В якості маркерів використовували 25 мкл фармакопейного стандартного зразку Державної Фармакопеї України *цинеолу* і 20 мкл фармакопейного стандартного зразку Державної Фармакопеї України *туйону P* у 20 мл *етанолу (96 %) P*.

Визначення характерних зон поглинання проводили після висушування хроматографічної пластинки при кімнатній температурі на повітрі та обприскуванні розчином, що містить 200 г/л *фосфорно–молібденову кислоту P* в *етанолі (96 %) P*, нагрівають пластинку при температурі (100–105 °С) протягом 10 хв. Перегляд хроматограм здійснювали при денному світлі.

2.3.4 Методи кількісного визначення біологічно активних речовин

Оцінку кількісного вмісту біологічно активних речовин здійснювали спектрофотометричним методом (ДФУ 2.0, Том 1, п. 2.2.25) [184] на спектрофотометрі Evolution 60S Spectrophotometer (The Thermo Scientific™, США) на базі кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом доц. Бевз Н. Ю. та на спектрофотометрі Digitab U–2810 (Hitachi, Японія) на базі кафедри хімії Опольського Університету (Польща) під керівництвом доц. Гудзь Н. І. і проф. Вечорек П. П. Усі використовувані реактиви відповідали вимогам ДФУ 2.0 [186].

Кількісне визначення біологічно активних речовин лікарської рослинної сировини та фітокомпозиції, що входить до складу збору «Флавоклім», а також сухого водного екстракту

Методика визначення речовин поліфенольної будови

Випробовуваний розчин. 4,0 г суцвіття конюшини або по 2,0 г трави чебрецю, трави деревію і квіток липи, або 10,0 г збору вміщують в мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм водою очищеною, враховуючи коефіцієнт водопоглинання та перемішують. Настояють на водяній бані протягом 15 хв. з наступним охолодженням при кімнатній температурі – 30–45 хв..

0,5 мл отриманих розчинів доводять до 100,0 мл водою дистильованою *P*.

Розчин порівняння. 0,0501 г (точна наважка) СЗ галової кислоти розчиняють в 50 мл *води P* при нагріванні на водяній бані, охолоджують і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 100,0 мл. 1,0 мл отриманого розчину доводять до 50,0 мл водою дистильованою *P*.

Компенсаційний розчин. Вода дистильована *P*.

Оптичну густину отриманих випробовуваних розчинів і розчину стандартного зразка галової кислоти визначають на спектрофотометрі за довжини хвилі 261 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст речовин поліфенольної будови (x) у досліджуваній рослинній сировині і зборі, у відсотках, у перерахунку на галову кислоту і суху сировину, обчислюють за формулою (2.15):

$$x, \% = \frac{A \cdot m_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{н}} \cdot 100 \cdot 0,5 \cdot 50 \cdot (100 - \%_{\text{вол}})} = \frac{A \cdot m_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{н}} \cdot 0,5 \cdot 4 \cdot (100 - \%_{\text{вол}})}, \quad (2.15)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_{\text{ст}}$ – оптична густина розчину стандартного зразка галової кислоти;

$m_{\text{ст}}$ – маса наважки стандартного зразка галової кислоти, г;

$m_{\text{н}}$ – маса наважки рослинної сировини для визначення кількісного вмісту, г.

Методика визначення флавоноїдів

Випробовуваний розчин. 4,0 г суцвіття конюшини або по 2,0 г трави чебрецю, трави деревію і квітків липи, або 10,0 г збору вміщують в мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм водою очищеною, враховуючи коефіцієнт водопоглинання та перемішують. Настояють на водяній бані протягом 15 хв. з наступним охолодженням при кімнатній температурі – 30-45 хв.

До 5,0 мл отриманих розчинів додають 1 мл реактиву *алюмінію хлориду Р* і доводять об'єм розчину розчином 5 % *кислоти оцтової льодяної у етанолі Р* до 25,0 мл.

Розчин порівняння. 0,0501 г (точна наважка) СЗ рутину розчиняють в 50 мл 96 % спирту при нагріванні на водяній бані, охолоджують і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 100,0 мл. До 1,0 мл отриманого розчину додають 1 мл реактиву *алюмінію хлориду Р* і доводять об'єм розчину розчином 5 % *кислоти оцтової льодяної у етанолі Р* до 25,0 мл.

Компенсаційний розчин. 5,0 мл вихідних водних розчинів доводять розчином 5 % *кислоти оцтової льодяної у етанолі* до об'єму 25,0 мл.

Оптичну густина отриманих випробовуваних розчинів і розчину стандартного зразка рутину через 30 хвилин визначають на спектрофотометрі за довжини хвилі 407 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст флавоноїдів (x) у досліджуваній рослинній сировині і зборі, у відсотках, у перерахунку на рутин і суху сировину, обчислюють за формулою (2.16):

$$x, \% = \frac{A \cdot m_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{н}} \cdot 100 \cdot 5 \cdot 25 \cdot (100 - \%_{\text{вол}})} = \frac{A \cdot m_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{н}} \cdot 5 \cdot (100 - \%_{\text{вол}})}, \quad (2.16)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_{ст}$ – оптична густина розчину стандартного зразка рутину;

$m_{ст}$ – маса наважки стандартного зразка рутину, г;

$m_{н}$ – маса наважки рослинної сировини для визначення кількісного вмісту, г.

Кількісне визначення біологічно активних речовин лікарської рослинної сировини та фітокомпозиції, що входить до складу спиртового екстракту «Флавоклім-плюс»

Методика визначення речовин поліфенольної будови

Випробовуваний розчин. 1,3 г кропиви дводомної листя або по 4,3 г шавлії лікарської листя і хмелю звичайного шишок, або 10,0 г фітокомпозиції вміщують в мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм етанолом *P* (70 %) та перемішують.

0,5 мл отриманих розчинів доводять до 100,0 мл етанолом *P* (70 %).

Розчин порівняння. 0,0503 г (точна наважка) СЗ галової кислоти розчиняють в 50 мл етанолу *P* (70 %) при нагріванні на водяній бані, охолоджують і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 100,0 мл. 1,0 мл отриманого розчину доводять до 50,0 мл етанолом *P* (70 %).

Компенсаційний розчин. Етанол *P* (70 %).

Оптичну густина отриманих випробовуваних розчинів і розчину стандартного зразка галової кислоти визначають на спектрофотометрі за довжини хвилі 261 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст речовин поліфенольної будови (x) у досліджуваній рослинній сировині і екстракті у відсотках, у перерахунку на галову кислоту і суху сировину, обчислюють за формулою (2.17):

$$x, \% = \frac{A \cdot m_{ст} \cdot 100 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{A_{ст} \cdot m_{н} \cdot 100 \cdot 0,5 \cdot 50 \cdot (100 - \%_{\text{вол}})} = \frac{A \cdot m_{ст} \cdot 100 \cdot 100}{A_{ст} \cdot m_{н} \cdot 0,5 \cdot 4 \cdot (100 - \%_{\text{вол}})}, \quad (2.17)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_{ст}$ – оптична густина розчину стандартного зразка галової кислоти;

$m_{ст}$ – маса наважки стандартного зразка галової кислоти, г;

Методика визначення флавоноїдів

Випробовуваний розчин. 1,3 г кропиви дводомної листя або по 4,3 г шавлії

лікарської листя і хмелю звичайного шишок, або 10,0 г фітокомпозиції вміщують в мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм *етанолом Р* 70 % та перемішують.

До 5,0 мл отриманих розчинів додають 1 мл реактиву алюмінію хлориду *Р* і доводять об'єм розчину розчином 5 % *кислоти оцтової льодяної у етанолі Р* до 25,0 мл.

Розчин порівняння. 0,0501 г (точна наважка) СЗ рутину (ФСЗ ДФУ (кат. номер R0366) розчиняють в 50 мл 96 % спирту при нагріванні на водяній бані, охолоджують і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 100,0 мл. До 1,0 мл отриманого розчину додають 1 мл *реактиву алюмінію хлориду Р* і доводять об'єм розчину розчином 5 % *кислоти оцтової льодяної у етанолі Р* до 25,0 мл.

Компенсаційний розчин. 5,0 мл вихідних водних розчинів доводять розчином 5 % *кислоти оцтової льодяної у етанолі* до об'єму 25,0 мл.

Оптичну густину отриманих випробовуваних розчинів і розчину стандартного зразка рутину через 30 хв. визначають на спектрофотометрі за довжини хвилі 407 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст флавоноїдів (x) у досліджуваній рослинній сировині і екстракті, у відсотках, у перерахунку на рутин і суху сировину, обчислюють за формулою (2.18):

$$x, \% = \frac{A \cdot m_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{н}} \cdot 100 \cdot 5 \cdot 25 \cdot (100 - \%_{\text{вол}})} = \frac{A \cdot m_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{н}} \cdot 5 \cdot (100 - \%_{\text{вол}})}, \quad (2.18)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_{\text{ст}}$ – оптична густина розчину стандартного зразка рутину;

$m_{\text{ст}}$ – маса наважки стандартного зразка рутину, г;

$m_{\text{н}}$ – маса наважки рослинної сировини для визначення кількісного вмісту, г.

Методика визначення флавоноїдів з використанням модифікованого методу диференціальної спектрофотометрії [198, 199]

До 1,0 мл отриманих розчинів стандартних зразків речовин додавали 1,0 мл 2 % *гексагідрату алюмінію (III) хлориду* в 50 % розчині *етанолу Р*. У компенсаційному розчині об'єм 2 % *алюмінію (III) хлориду Р* заміняли такою ж кількістю 50 % *етанолу Р* для кожної концентрації рутину. Після інкубації при кімнатній температурі протягом певного часу (60 хв.) диференціальні спектри реакційних сумішей

вимірювали в діапазоні від 360 до 460 нм. Аналогічним чином, певний об'єм екстрактів розбавляли 50 % етанолом *P* до 1,0 мл і змішували з 1,0 мл 2 % розчину *алюмінію (III) хлориду P*. Суміш перемішували і інкубували протягом певного часу, аналогічного інкубації суміші активного маркера, при кімнатній температурі. У компенсаційному розчині кількість 2 % розчину *алюмінію (III) хлориду P* замінювали на таку ж кількість 50 % *етанолу P*. Вимірювання проводили для кожної витяжки і рутину в трьох повторностях.

Використання об'ємів витяжок в діапазоні 50–1000 мкл забезпечувало отримання оптичної щільності досліджуваних розчинів в діапазоні 0,1–1,0.

Вміст флавоноїдів (*x*) у досліджуваній рослинній сировині і екстракті, у відсотках, у перерахунку на рутин і суху сировину, обчислюють за формулою (2.19):

$$X_{\text{МГ/}\%} = \frac{A \cdot 100 \cdot 70 \cdot 0,0507 \cdot 1000 \cdot 1000}{A_{\text{СТ}} \cdot V_{\text{М.К.}} \cdot 50 \cdot 1000} * 0,919, \quad (2.19)$$

де: *A* – оптична густина випробовуваного розчину;

*A*_{СТ} – оптична густина розчину стандартного зразка рутину;

*V*_{М.К.} – об'єм мірної колби для розчинення рутину.

2.3.5 Статистична обробка результатів кількісного визначення флавоноїдів

Калібрувальна крива рутин тригідрату була побудована в діапазоні концентрацій від 20 до 100 мг / л. Всі вимірювання проводилися в трьох повторностях. Для розрахунків використовували середню оптичну густина для кожного розчину. На рис. 2.1 наведено графік лінійної залежності аналітичного сигналу від концентрації флавоноїдів.

Використання об'ємів витяжок в діапазоні 50–1000 мкл забезпечувало отримання оптичної щільності досліджуваних розчинів в діапазоні 0,1–1,0.

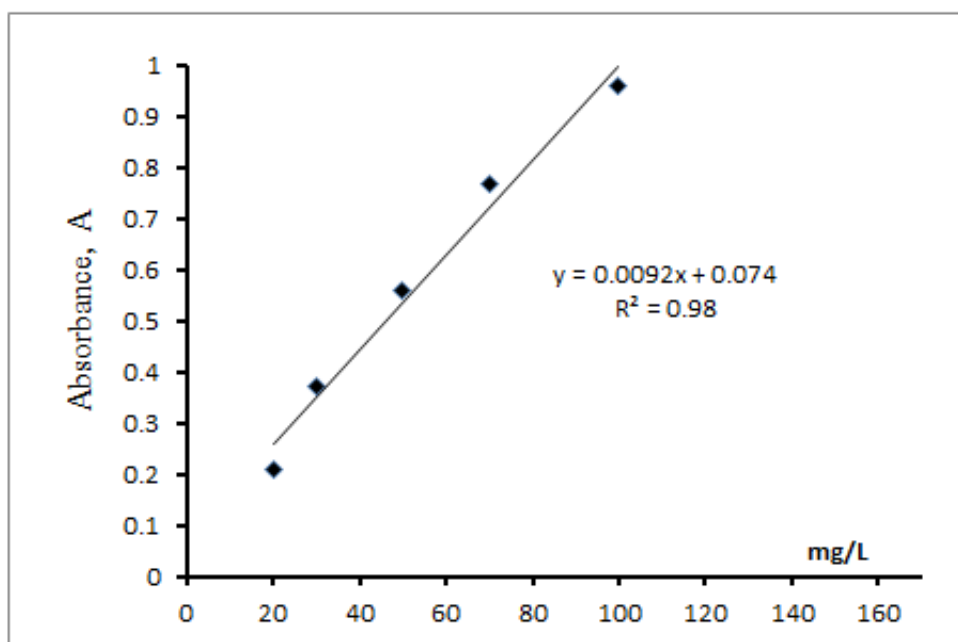


Рис. 2.1 Калібрувальна крива рутину тригідрату

Статистичний аналіз Уейна [200] був використаний для порівняння середніх значень загального вмісту флавоноїдів у досліджуваних зразках спиртових витяжок з сировини. Правило прийняття рішення у всіх випадках було розраховано, використовуючи наступні параметри: $\alpha = 0,025$, критичне значення t^* повинне знаходитися в діапазоні від $-2,78$ до $+2,78$. Значення H_0 буде відхилено, якщо $t^* < -2,78$ або $t^* > +2,78$.

Тестування гіпотези було використано для встановлення відмінностей між двома середніми значеннями загального вмісту флавоноїдів у витяжках з лікарської рослинної сировини і фітокомпозиції при екстрагуванні сировини етанолом у концентрації 40 % та 70 %. Всі аналізи для кожного зразка проводили в трьох повторностях і результати виражали у вигляді середнього значення \pm відносно стандартне відхилення (SD). У всіх випадках нульова гіпотеза (H_0) була перевірена, що різниця дорівнює нулю. Дані вибірки свідчать про те, що значення не є рівними, якщо ми можемо відкинути нульову гіпотезу або значення є рівними, якщо альтернативна гіпотеза була протилежною нульовій гіпотезі ($H_a: \mu_1 \neq \mu_2$). Для цього необхідно було об'єднати вибіркові відхилення за такою формулою (2.20):

$$s_p^2 = \frac{(n_1 - 1) \cdot SD_1^2 + (n_2 - 1) \cdot SD_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad (2.20)$$

Статистичний тест (t^*) проводили за такою формулою (2.21):

$$t^* = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2 - (\mu_1 - \mu_2)_0)}{\sqrt{s_p^2 \div n_1 + s_p^2 \div n_2}}, \quad (2.21)$$

З якого, коли H_0 було істинним, розподіляється як критерій Стьюдента (t) із $n_1 + n_2 - 2$ ($3 + 3 - 2 = 4$) ступенем свободи.

2.3.6 Мікробіологічні дослідження

Визначення мікробіологічної чистоти досліджуваних лікарських засобів проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: визначення числа мікроорганізмів» (*n. 2.6.12., с. 251*) та «Випробування мікробіологічної чистоти рослинних лікарських засобів для орального застосування та екстрактів, що використовують при їх виготовленні» (*n. 2.6.31., с. 310*) [201]. Дослідження проводили на базі Державна установа "Інститут мікробіології та імунології" ім. І. І. Мечникова НАН України " під керівництвом проф. Осолодченко Т. П.

2.3.7 Фармакологічні дослідження

Вивчення специфічної фармакологічної активності та гострої токсичності розроблених лікарських засобів проводили у Центральній науково–дослідній лабораторії НФаУ під керівництвом проф. Загайка А. Л.

Експеримент проводили на 60 білих аутбредних самицях щурів одного віку (приблизно 7 місяців) з масою тіла 205–235 г. Піддослідні тварини утримувались у віварії згідно зі стандартними санітарними нормами та рекомендованими умовами на необхідному харчовому раціоні. Усі дослідження проводились у відповідності з директивою Ради ЄС 86/609 ЄЕС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів,

постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [202].

1 група – несправжньооперовані тварини (ЛО);

2 група – тварини з модельною патологією, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію (КП);

3 група – тварини, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію та проводили лікування досліджуваним тест-зразком екстрактом спиртовим комбінованого складу (ЕСКС);

4 група – тварини, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію та проводили лікування досліджуваним тест-зразком настоєм комбінованого складу (НКС);

5 група – тварини, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію та проводили лікування референтним-зразком краплями Тазалок (РТ1).

6 група – тварини, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію та проводили лікування референтним-зразком настійкою Клімапін (РТ2).

В якості референтного засобу в експериментальному дослідженні використовували зареєстрований на ринку України препарат рослинного походження Тазалок (Німеччина). Краплі оральні Тазалок містять у своєму складі настійку суміші лікарської рослинної сировини (1:10): коренів лабазнику шестипелюсткового – 0,28 г, коренів петрушки кучерявої свіжих – 0,225 г, коренів селери свіжих – 0,17 г, трави підмареннику справжнього – 0,135 г, трави льонку звичайного – 0,11 г, квіток нагідок – 0,08 г на 10 мл препарату. Даний безрецептурний препарат під АТС-кодом G02C – «Інші засоби, що застосовуються в гінекології», показаний для застосування при порушеннях менструального циклу, передменструальному синдромі, альгодисменореї, дисменореї, фіброзно-кістозній мастопатії, ретенційній кісти яєчників. Також препарат показаний й у комплексній терапії при гіперплазії ендометрія, фіброміомі матки, ендометріозі, синдромі полікістозних яєчників та призначаються при клімактеричних розладах.

Другим референтним засобом в експериментальному дослідженні використовували зареєстрований на ринку України препарат рослинного походження

– настойку Клімапін (ХФЗ Червона зірка, Україна). Клімапін це складна настойка (1:10) з суміші лікарської рослинної сировини (1:10) : *Crataegi fructus* (глоду плоди) – 3 г; *Lupuli strobili* (хмелю шишки) – 2 г; *Leonuri cardiacaе herba* (собачої кропиви трава) – 1,5 г; *Urticae folia* (кропиви листя) – 1 г; *Salviae officinalis folium* (шавлії листя) – 1,5 г; *Origanі vulgaris herba* (материнки трава) – 0,5 г; *Belladonnae folia* (беладонни листя) – 0,5 г на 100 мл препарату.

Вивчення динаміки зміни маси тіла [203]

Останній контрольний замір маси у самиць щурів проводили на наступну добу після останнього введення препарату (на 57–у добу після відтворення експериментальної оваріоектомії). Вимірювання маси проводили натщесерце на електронних вагах (EJ–6100, AnD, Японія). Оцінювання результатів стосовно маси тіла тварин розглядали в абсолютних значеннях в грамах, оскільки перед початком експерименту тварини були одного віку й практично не відрізнялися по масі всередині та між групами.

Тест «піднесений хрестоподібний лабіринт» [204, 205]

Здатність препаратів впливати на прояв тривожності і дослідницьку активність у тварин в умовах гіпоестрогенемії оцінювали за допомогою тесту «піднесений хрестоподібний лабіринт».

Тести для оцінки впливу досліджуваних препаратів на психоемоційний і когнітивний статус самиць щурів проводили на 1–у й 2–у добу після останнього введення препаратів з інтервалом в 24 год., для зменшення впливу стресової компоненти на результати дослідження.

На першу добу проводили тест «піднесений хрестоподібний лабіринт», результати якого інтерпретують вплив засобів на дослідницьку діяльність і тривожність тварин. Тварину розташовували в центрі лабіринту й спостерігали за поведінкою протягом 300 сек. Експеримент проводили в темний час, що пов'язано з циркадними ритмами у щурів. Експериментально значущими показниками в даному тесті були: час знаходження в світлому рукаві лабіринту, час знаходження в темному рукаві лабіринту, кількість переходів між рукавами і латентний період входу в темний рукав.

Тест «поведінкового відчаю» [206]

На другу добу проводили поведінковий тест для оцінки антидепресивних властивостей препаратів в умовах нейрогенних розладів при експериментальній оваріоектомії. Для цього був обраний тест «поведінкового відчаю» (тест «примусового плавання за Порсолтом»), в ході якого реєстрували сумарний час нападів відчаю і число актів відчаю, про яких свідчила іммобільність тваринни.

Вивчення метаболічних порушень [207]

Глюкозу в сироватці крові щурів вимірювали глюкозооксидазним методом із використанням стандартного набору реактивів Глюкоза Ф НР009.05 (ТОВ НВП «Філісіт–Діагностика», Україна). Вміст ліпідів (тригліцериди, загальний холестерин, холестерин ліпопротеїдів низької щільності, холестерин ліпопротеїдів високої щільності) в сироватці крові вимірювали ферментативним методом за допомогою стандартних наборів реактивів Тригліцериди Ф НР022.02, Холестерин Ф НР026.02, Холестерин-HDL Ф НР026.04 й Холестерин-LDL Ф НР026.05 (ТОВ НВП «Філісіт–Діагностика», Україна) згідно відповідним інструкціям до застосування.

Визначення рівня глюкози [208–210]

Для оцінки впливу досліджуваних тест-зразків на показники вуглеводного обміну виміряли рівень глюкози в сироватці крові самиць щурів натщесерце.

Визначення рівня ліпідів [211]

Також в рамках дослідження впливу тест-зразків на корекцію метаболічних розладів вивчали ліпидограму сироватки крові у оваріоектомованих самиць щурів. В рамках цього етапу досліджування у тварин вимірювали рівень тригліцеридів (ТГ), загальний холестерол (ЗХ), холестерол ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ-Х), холестерол ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ-Х).

Вивчення гормональних порушень [212]

Аналіз вмісту статевих гормонів (естрадіол, прогестерон) в сироватці крові щурів проводили імуноферментним методом на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 303 plus (Awareness Technology, США) із застосуванням стандартних наборів реактивів «Естрадіол-ІФА» й «Прогестерон-ІФА» (ТОВ «ХЕМА», Україна).

Вивчення гострої токсичності [213–215]

Вивчення гострої токсичності крапель спиртових комбінованого складу (ЕСКС) та настою комбінованого складу (НКС) на основі рослинної сировини було проведено у відповідності до стандартних вимог на щурах обох статей при двох шляхах введення. Показники гострої токсичності досліджуваних тест-зразків вивчали при внутрішньошлунковому (ентеральний шлях), що передбачається для застосування у клінічній практиці, та внутрішньочеревинному (парентеральний шлях) введенні, вивчення якого є доцільним враховуючи можливість випадкових ситуацій, які спричиняють нещасні випадки, суїцидальні та кримінальні отруєння.

Дослідження було проведено на 60 білих аутбредних щурах самцях та самках з масою тіла 200–220 г. Перед дослідженням тварини були розподілені по групах по 6 тварин у кожній. За 24 години до введення препаратів тварин позбавляли їжі. Введення препаратів здійснювали вранці натще. Після перорального введення досліджуваних тест-зразків тварин утримували ще 4 години без їжі з вільним доступом до води.

Внутрішньошлунково тест-зразки вводили за допомогою спеціального ентерального зонду, а внутрішньочеревинне введення здійснювали із використанням одноразових трикомпонентних шприців (Гемопласт, Україна).

Термін спостереження за тваринами при вивченні гострої токсичності, згідно з методичними рекомендаціями склав 14 днів.

2.3.8 Статистичний аналіз результатів дослідження

Статистичний аналіз отриманих результатів фізико-хімічних, фармакотехнологічних, мікробіологічних і біологічних досліджень проводили відповідно до методик, наведених у ДФУ 2.0 (п. 5.3, ст. 840–854). з використанням програми Statistica 8.0 [216, 217].

2.3.9 Програма PASS аналізу

Програма PASS аналізу, прогнозує понад 1000 видів біологічної активності за структурною формулою хімічної речовини, включаючи основні і побічні фармакологічні ефекти, механізми дії, мутагенність, канцерогенність, тератогенність

і ембріотоксичність. Робота PASS заснована на аналізі залежностей «структура-активність» для речовин з навчальної вибірки, яка містить понад 45000 різноманітних біологічно активних речовин (субстанції відомих лікарських препаратів і фармакологічно активні сполуки). Хімічна структура представлена в PASS у вигляді оригінальних MNA дескрипторів (Multilevel Neighbourhoods of Atoms). MNA дескриптори мають універсальний характер і з точністю описують різноманітні залежності «структура-властивість». Використовуваний в PASS математичний алгоритм був відібраний шляхом цілеспрямованого аналізу і порівняння ефективності для вирішення подібних завдань великого числа різних методів. Показано, що даний алгоритм забезпечує отримання стійких в статистичному сенсі залежностей "структура-активність" і, відповідно, результатів прогнозу.

Результати прогнозу видаються користувачеві у вигляді списку назв можливих видів активності з попередніми оцінками ймовірностей наявності (P_a) і відсутності кожного виду активності (P_i), які мають значення від 0 до 1. Ці ймовірності розраховуються незалежно по підвибірках активних і неактивних сполук, і тому їх сума не дорівнює одиниці. P_a і P_i інтерпретуються як оцінки заходів приналежності речовини до класів активних і неактивних з'єднань відповідно, або як оцінки помилок першого і другого роду. Чим більше для конкретної активності величина P_a і чим менше величина P_i , тим більше шанс виявити дану активність в експерименті.

Висновки до розділу 2

1. Обґрунтовано методологію досліджень із розробки лікарського рослинного збору, рідкого та сухого екстрактів для негормональної терапії клімактеричних розладів у жінок.

2. Наведено короткий опис об'єктів досліджень: лікарської рослинної сировини (шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя, конюшини лучної суцвіття, чебрецю повзучого трава, деревію звичайного трава, липи серцелистої квітки); допоміжних речовин, що були використанні в розробці лікарських засобів.

3. Опрацьовано методики експериментальних досліджень, а саме фізичних і фізико–хімічних, фармакотехнологічних, мікробіологічних, фармакологічних і статистичних, які дозволили об'єктивно оцінити властивості ЛЗ для внутрішнього застосування при терапії клімактеричного синдрому під час розробки їх складу і технології.

РОЗДІЛ 3
РОЗРОБКА СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
КЛІМАКТЕРИЧНОГО ЗБОРУ ТА СУХОГО ЕКСТРАКТУ «ФЛАВОКЛІМ»

3.1 Контроль якості вхідної лікарської рослинної сировини

Дослідження показників якості вихідної сировини – важливий етап розробки ЛЗ, за результатами яких досліджуваний препарат може розроблятися, проходити процес ідентифікації та уніфікації. Саме тому необхідним етапом розробки та дослідження збору було ідентифікація та визначення показників якості компонентів, що входять до його складу. Результати випробувань ЛРС, які проведені згідно методик наведених у розділі 2, наведені в табл. 3.1 та 3.2 і свідчать про те, що сировина відповідає вимогам відповідних монографій ДФУ 2.0 [218–220].

Таблиця 3.1

**Випробування лікарської рослинної сировини, що входить до складу
розробляемого збору (n=5, P=95 %)**

Показник, розмірність	Лікарська рослинна сировина							
	Конюшини лучної суцвіття		Чебрецю повзучого трава		Деревію звичайного трава		Липи серцелистої квітки	
	Норма за ДФУ	Резуль тат дослідж ення	Норма за ДФУ	Резуль тат дослід ження	Норма за ДФУ	Резуль тат дослід ження	Норма за ДФУ	Резуль тат дослід ження
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Втрата в масі при висушуванні, %	не ≤ 12,0	9,2 ± 0,2	не ≤ 10,0	7,3 ± 0, 1	не ≤ 12,0	9,5 ± 0, 3	не ≤ 13,0	11,1 ± 0,1
Загальна зола, %	не ≤ 10,0	7,9 ± 0,1	не ≤ 10,0	8,8 ± 0, 1	не ≤ 10,0	7,1 ± 0, 2	не ≤ 8,0	6,4 ± 0, 2
Зола, не розчинна у хлористоводн евій кислоті, %	не ≤ 2,0	1,1 ± 0,1	не ≤ 3,0	2,3 ± 0, 2	не ≤ 2,5	1,8 ± 0, 1	–	1,3 ± 0, 1

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Екстрактивні речовини, % (екстрагент – вода очищена)	не \geq 15,0	17,5 \pm 0,2	не \geq 18,0	21,4 \pm 0,2	–	20,9 \pm 0,1	–	21,5 \pm 0,2
Ідентифікація за ДФУ	На хроматограмі випробуваного розчину виявляється зона формонетину у вигляді жовтаво-оранжевої флуоресцеючої плями	На хроматограмі випробуваного розчину виявляється коричнювато-рожева зона тимолу та блідо-фіолетова зона карвакролу	На хроматограмі випробуваного розчину виявляється фіолетова зона гвайазулену	На хроматограмі випробуваного розчину виявляється жовтаво-оранжева зона рутину та гіперозиду				
Випробовування	відповідає вимогам ДФУ	відповідає вимогам ДФУ	відповідає вимогам ДФУ	відповідає вимогам ДФУ				

Примітки: «–» – значень не наведено

3.2 Вивчення технологічних властивостей лікарської рослинної сировини збору

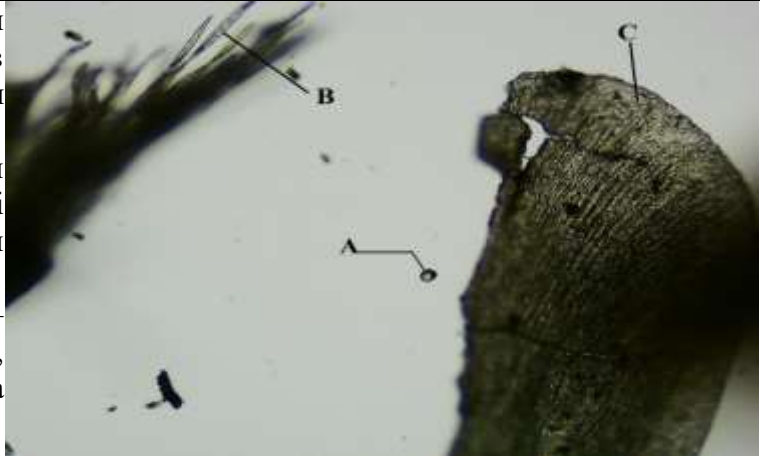

На повноту екстракції впливають такі технологічні характеристики лікарської рослинної сировини, як питома маса, насипна маса, об'ємна маса, пористість і порізність сировини, вільний об'єм шару, кут природного укусу, коефіцієнт водопоглинання [221, 222]. Подальші дослідження були направлені на визначення цих показників.


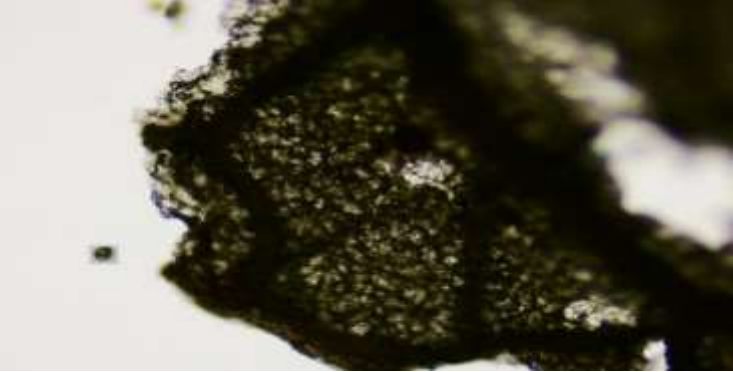
Наступним етапом досліджень було вивчення ступеню подрібнення лікарської рослинної сировини з метою визначення режимів технологічних процесів. Інтенсифікація процесу екстракції біологічно активних речовин напряму залежить від здрібненості ЛРС.

Важливим етапом розробки рослинного лікарського засобу є подрібнення сировини з пошкодженням структури та збільшенням площі поверхні для

Таблиця 3.2

Ідентифікація лікарської рослинної сировини, що входить до складу розробленого збору

Лікарська рослинна сировина	Опис	Ідентифікація	Діагностична характеристика, фото
1	2	3	4
Конюшини лучної суцвіття	Сировина складається із різної форми шматочків пелюсток квіток конюшини лучної. Сировина опушена. Колір рожево-пурпуровий. Запах сильний, квітковий.	<p>1. У порошку діагностовано фрагменти верхньої епідерми листочка із клітин із прямими або дещо звивистими антиканальними оболонками (С).</p> <p>2. Присутні однорядні покривні волоски із 2 дрібних товстостінних базальних клітин і тонкостінної звуженої клітини до 1 мм завдовжки (В).</p> <p>3. У порошку виявлені пилкові зерна 20–48 мкм у діаметрі, з гладенькою екзиною, трьома проростковими порами та трьома борозенками (А).</p>	
Чебрецю повзучого трава	Суміш цільних або частково подрібнених тонких віточок, листя, шматочків стебел та квіток. Шматочки віточок тонкі, 4-гранні, опушені, зеленувато-коричневого кольору, частково з фіолетовим забарвленням. Запах ароматний. Смак гіркувато-пряний, пекучий.	<p>1. Порошок зеленувато-коричневого кольору.</p> <p>2. У порошку виявляються такі діагностичні структури: фрагменти зовнішньої епідерми віночка із продиховими апаратами діацитного типу (А) та багатоклітинний покривний волос з однією спалою клітиною (В).</p> <p>3. Присутні однорядні волоски із (5–6) клітин і слабо складчастою кутикулою.</p>	

1	2	3	4
Деревію звичайного трава	Цільні або частково подрібнені квітконсні пагони сірувато-зеленого кольору з жовтуватими квітками. Запах слабкий, ароматний. Смак приємний, гіркуватий.	1. Порошок зеленого або сіруватого кольору. 2. У порошку діагностовано фрагменти верхньої паренхіми, секреторні ходи з жовтуватим вмістом, супроводжуючі жилки листа, прості однорядні покривні волоски	
Липи серцелистої квітки	Суцвіття жовто-зеленого кольору. Пелюстки мають тонке жилкування та вкриті волосками. Запах слабкий, своєрідний. Смак слабкогіркий, слизький.	1. Фрагмент епідермісу із клітин з звивистими стінками та поздовжньо-зморшкуватою кутикулою. 2. Пилкові овальні зерна розміром 30–40 мкм у діаметрі.	

інтенсифікації екстрагування [223, 224]. У результаті подрібнення сировини частини клітин відкриваються і при екстрагуванні вміст вимивається екстрагентом. За допомогою млину роторного ножового РМ–250 досягалася однорідність часток.

На основі літературних даних та використання комп'ютерного прогнозу фармакологічної активності хімічних речовин за програмою PASS до складу збору запропонована суміш ЛРС (конюшини лучної суцвіття, чебрецю повзучого трава, деревію звичайного трава, липи серцелистої квітки) у співвідношенні 4:2:2:2, яка повинна забезпечувати вегето–судинну, седативну та протизапальну дії.

Ситовий аналіз є кількісною характеристикою фракційного складу суміші подрібненої лікарської рослинної сировини.

Визначним параметром його є середньозважений розмір часток. Результати досліджень фракційного складу суміші подрібненої ЛРС та збору наведені у табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Фракційний аналіз лікарської рослинної сировини та збору (n=5, P=95 %)

Лікарська рослинна сировина	Діаметр сит, мм/ Кількість сировини, що пройшла крізь сито, %										
	10	7	5	4,5	3,25	2,0	1,4	1,0	0,7	0,5	Піддон (пил)
Трава деревію звичайного	0,4	4,4	7,76	6,6	21,5	17,9	16,3	9,88	8,1	3,7	3,46
Трава чебрецю повзучого	0,1	0,38	1,4	2,1	21,6	34,5	18,4	7,7	6,72	1,9	5,2
Суцвіття конюшини лучної	0,1	0,74	2,5	3,6	11,04	12,9	18,2	20,9	9,6	8,54	11,88
Квітки липи серцелистої	0,2	0,32	0,2	1,1	9,6	5,8	27,5	30,3 6	9,7	7,6	7,62
Збір	0,3	2,3	3,5	3,9	13,3	16,2	19,9	16,9	11,1	7,2	5,4

Фракційний аналіз показав, що близько 73 % фракції збору проходить через сита діаметром пор від 2,0 до 0,5 мм, що відповідає вимогам ДФУ. Дані ситового аналізу вказують на необхідність додаткового подрібнення та просіювання рослинних компонентів, які входять до складу розробленого збору.

Наступним етапом дослідження рослинної сировини було вивчення технологічних параметрів: питома маса , насипна маса, об'ємна маса, пористість,

порізність, вільний об'єм шару, плинність, кут природного укусу та коефіцієнт водопоглинання. Технологічні показники сировини проводили за методиками, наведеними у розділі 2.

Результати визначення технологічних параметрів розробленої фітокомпозиції, що містить конюшини лучної суцвіття, чебрецю повзучого трава, деревію звичайного трава, липи серцелистої квітки та її компонентів наведено у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Технологічні параметри розробленого збору та його компонентів (n=5, P=95 %)

Параметр, розмірність	Лікарська рослинна сировина			
	Конюшини лучної суцвіття	Чебрецю повзучого трава	Деревію звичайного трава	Липи серцелистої квітки
Питома маса (d_p), г/см ³	0,936 ± 0,125	0,641 ± 0,141	0,654 ± 0,155	0,958 ± 0,183
Об'ємна маса (d_o), г/см ³	0,195 ± 0,075	0,125 ± 0,055	0,126 ± 0,015	0,175 ± 0,085
Насипна маса (d_n), г/см ³	0,135 ± 0,042	0,115 ± 0,044	0,125 ± 0,011	0,195 ± 0,023
Вологість, %	9,2 ± 0,2	7,3 ± 0,1	9,5 ± 0,3	11,1 ± 0,1
Пористість сировини (Пс)	0,772 ± 0,121	0,821 ± 0,133	0,807 ± 0,141	0,817 ± 0,161
Порізність шару (Пш)	0,107 ± 0,055	0,08 ± 0,012	0,07 ± 0,02	0,114 ± 0,011
Вільний об'єм шару (V)	0,855 ± 0,113	0,821 ± 0,110	0,809 ± 0,109	0,796 ± 0,107
Плинність, сек/100,0 г	49,37 ± 3,15	51,75 ± 1,45	61,23 ± 3,45	63,41 ± 1,25
Кут природного укусу, град.	33,7 ± 0,35	36,7 ± 0,41	37,4 ± 0,15	38,1 ± 0,23
Коефіцієнт водопоглинання (Кв)	2,4 ± 0,11	2,0 ± 0,13	2,1 ± 0,10	3,4 ± 0,14

Проведені технологічні дослідження підтвердили, що обрана ЛРС і її суміш характеризується низьким значенням насипної маси (від 0,115 г/см³ у траві чебрецю до 0,195 г/см³ у квіток липи) і низькою порізністю (у межах 0,07 до 0,107). В аптечних та промислових умовах виробництва фітопрепаратів сировину з низькою насипною масою і низькою порізністю не потрібно утрамбовувати в екстрактор при завантаженні.

Усі досліджувані ЛРС та збір володіли високою пористістю (0,77 – 0,82). Цей показник свідчить про те, що при набуханні в процесі екстрагування утворюватиметься більше внутрішнього соку, що сприятиме кращому вилученню біологічно активних речовин.

Важливий параметр, який враховують для забезпечування рівномірного змішування складників сировини та попередження їх розшаровування є об'ємна маса. Цей показник у досліджуваних зразків лікарської рослинної сировини відрізнявся і мав значення в межах 0,125 – 0,195 г/см³. Це пов'язано з тим, що суцвіття конюшини лучної займають великий об'єм через свою структуру.

Вільний об'єм шару для кожної лікарської рослинної сировини та їх суміші мав високі значення (0,79– 0,85), що показує необхідність застосування більших об'ємів екстрагенту для змочування ЛРС й утримування її при завантаженні в екстракційний прилад.

Різниця між питомою та об'ємною масою показує, що сировина займає великий об'єм, внаслідок чого виникає необхідність врахування при розрахунках співвідношення ЛРС і готового продукту, виборі розміру екстрактора, особливостей завантаження сировини тощо.

Коефіцієнт водопоглинання мав значення в межах 2,0–3,4, а для збору він становив 2,35. Цей показник є важливою характеристикою при розрахунку кількості екстрагенту при подальшому виготовленні настою зі збору.

Визначені показники є якісними параметрами технології і дозволяють контролювати та оцінювати технологічні параметри приготування збору.

3.3 Ідентифікація біологічно активних речовин збору за допомогою якісних реакцій та методу тонкошарової хроматографії

За хімічним складом видів ЛРС розробленого збору можна визначити, що він містить такі групи БАР, як флавоноїди та гідроксикоричні кислоти, які певним чином відповідають за терапевтичну дію препарату. Тому саме для цих БАР нам необхідно було розробити методики їх якісного та кількісного аналізу.

Різноманітність хімічної структури обумовлена наявністю різних радикалів у ароматичній частині молекули, місцем приєднання вуглецевих залишків і їх природою, а також іншими факторами, які впливають як на вибір екстрагента при виділенні, так і на методи їх ідентифікації.

Групу речовин флавоноїдної будови ідентифікували за допомогою кольорових реакцій: з розчином заліза (III) хлориду (утворення темно-зеленого забарвлення), ціанідинова проба (спостерігалось рожеве забарвлення), зі спиртовим розчином калію гідроксиду (утворення жовто-оранжевого забарвлення) та реакцію Сальковського, в результаті якої виникає червоно-оранжеве забарвлення на межі двох шарів розчинників. До НД запропоновано ввести реакцію Сальковського.

Ідентифікацію також проводили методом тонкошарової хроматографії відповідно до вимог ДФУ 2.0, п. 2.2.27 [180]. Достовірні результати при проведенні хроматографічних досліджень можна отримати при використанні речовин-свідків, які вказують на наявність фізіологічно активних речовин.

Ідентифікація речовин флавоноїдної природи

Методика 1. Використовували ТШХ-пластинки з шаром силікагелю Р в системі розчинників мурашина кислота безводна Р – оцтова кислота льодяна Р – вода Р – етилацетат Р (11:11:27:100) (рис. 3.1).

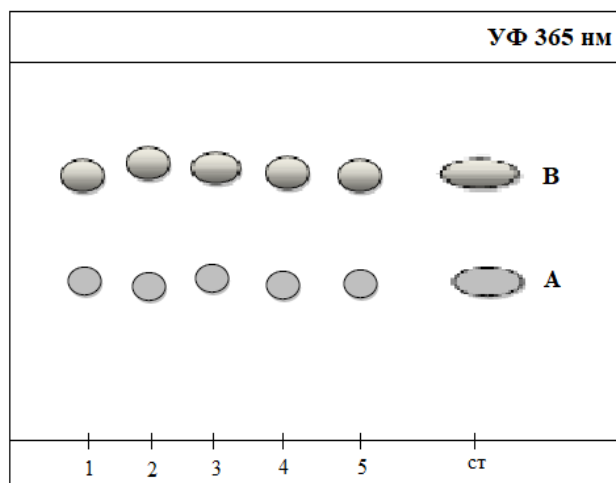


Рис. 3.1 Хроматограма, отримана у процесі ідентифікації ЛРС та суміші: 1–5 випробувані розчини зразків: 1– квітки липи серцелистної; 2– трава чебреця повзучого; 3– трава дерева звичайного; 4– суцвіття конюшини лучної; 5–збір; а – зона рутину; б – зона гіперозиду (n=5, P=95 %)

Як випробувані розчини використовували метанольні екстракти сировини (екстракт суцвіть конюшини лучної, трави чебрецю повзучого, трави деревію звичайного та квіток липи серцелистної з 0,2 мл метанолу). Перегляд хроматограм здійснювали через 30 хв в УФ–світлі за довжиною хвилі 365 нм.

При проведенні ідентифікації методом тонкошарової хроматографії зі стандартними зразками флавоноїдів було ідентифіковано рутин (Rf система I – 0,3855) та гіперозид (Rf система I – 0,6627).

Методика 2. Використовували ТШХ–пластинки з шаром силікагелю *P* в системі розчинників мурашина кислота безводна *P* — етилацетат *P* – толуол (1:30:70).

Як випробувані розчини використовували метанольні екстракти сировини (екстракт суцвіть конюшини лучної, трави чебрецю повзучого, трави деревію звичайного та квіток липи серцелистної з 0,2 мл метанолу). Перегляд хроматограм здійснювали через 30 хв в УФ–світлі за довжиною хвилі 254 нм (рис.3.2).

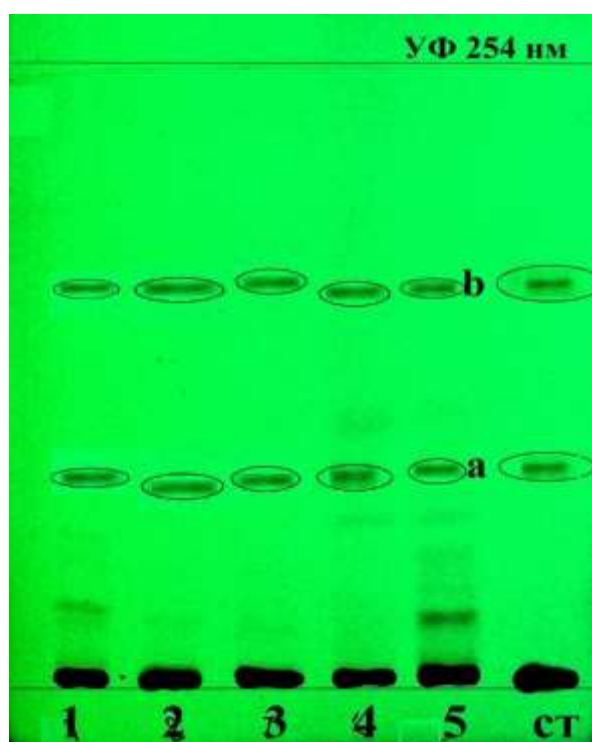


Рис. 3.2 Хроматограма, отримана у процесі ідентифікації ЛРС та суміші: 1–5 випробувані розчини зразків : 1– квітки липи серцелистної; 2– трава чебрецю повзучого; 3– трава деревію звичайного; 4– суцвіття конюшини лучної; 5–збір; а – зона рутину; b – зона гіперозиду (n=5, P=95 %)

При проведенні ідентифікації методом тонкошарової хроматографії зі стандартними зразками флавоноїдів було ідентифіковано рутин (Rf система II – 0,3938) та гіперозид (Rf система II – 0,6375).

Експериментальні дані (рис. 3.3) свідчать про наявність в УФ–спектрі у суцвіття конюшини максимуму поглинання за довжини хвилі 259 нм та плеча в ділянці 313–321 нм; квіток липи – двох максимумів при 267 нм і 324 нм, трави чебрецю – плеча в ділянці 268–275 нм і максимуму при 281 нм, трави деревію плеча при 270–270 нм та максимуму при 290 нм. Абсорбційний спектр поглинання водного вилучення зі збору характеризується наявністю двох максимумів поглинання при 257 нм і 322 нм. У той же час у 0,001 % водному розчині галоїї кислоти максимум УФ-спектру спостерігається за довжини хвилі 261 нм.

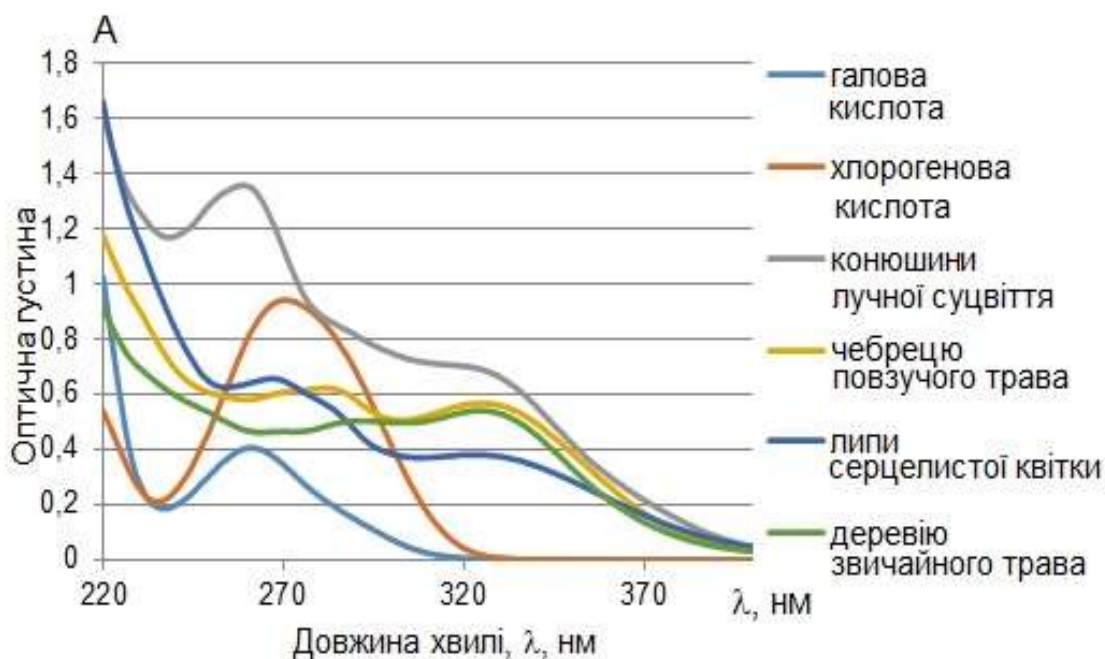


Рис. 3.3 УФ–спектр поглинання водних розчинів сировини (суцвіття конюшини, трави чебрецю, квіток липи, трави деревію) та 0,001 % розчину СФЗ галоїї кислоти та 0,001 % розчину СФЗ хлорогенової кислоти (n=5, P=95 %)

Результати кількісного визначення вмісту суми речовин поліфенольної будови у рослинній сировині та зборі, у перерахунку на галову кислоту наведені у табл. 3.5. та рис.3.4.

Таблиця 3.5

Результати кількісного визначення вмісту суми речовин поліфенольної будови у рослинній сировині, у перерахунку на галову кислоту (n=5, P=95 %)

ЛРС	Номер зразка	Кількість поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, %	Середнє значення, %
Конюшини лучної суцвіття	1	4,45	4,49 ± 0,01
	2	4,52	
	3	4,46	
	4	4,48	
	5	4,50	
Чебрецю повзучого трава	1	3,74	3,77 ± 0,02
	2	3,81	
	3	3,75	
	4	3,77	
	5	3,78	
Деревію звичайного трава	1	2,99	3,01 ± 0,01
	2	3,03	
	3	3,07	
	4	2,97	
	5	3,07	
Липи серцелистої квітки	1	4,18	4,21 ± 0,01
	2	4,26	
	3	4,24	
	4	4,17	
	5	4,20	

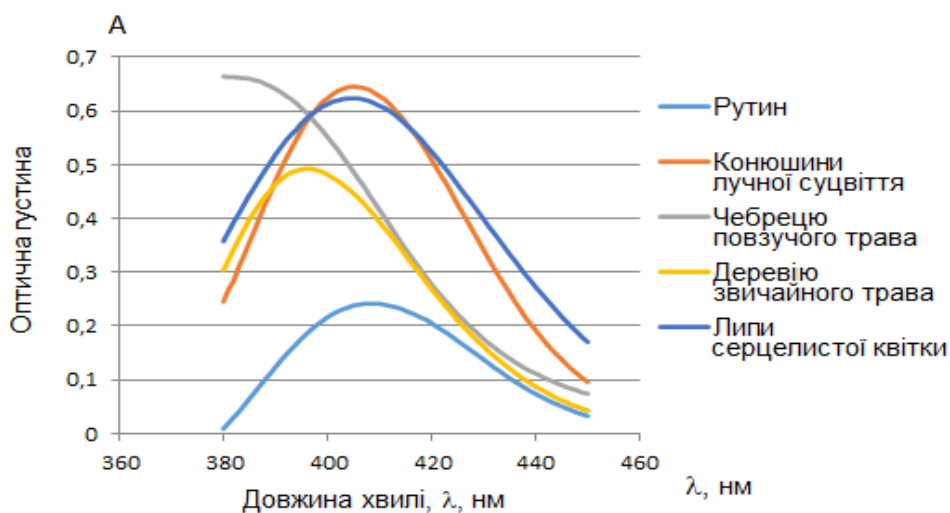


Рис. 3.4 УФ-спектр поглинання водних вилучень сировини (суцвіття конюшини, трави чебрецю, квіток липи, трави деревію) та 0,001 % розчину СФЗ рутину після реакції з реактивом алюмінію хлориду (n=5, P=95 %)

Визначено, що у суцвіттях конюшини та кіток липи вилучається 4,49 % та 4,21 % галової кислоти у порівнянні з іншими видами ЛРС (у траві чебрецю – 3,77 %, у траві деревію – 3,01 % відповідно). Це пов'язано з великим вмістом гідроксикоричних кислот у сировині конюшини.

Кількісне визначення вмісту суми флавоноїдів у рослинній сировині та зборі проводили методом, який описаний у розділі 2. Результати кількісного визначення флавоноїдів у перерахунку на рутин представлені у табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Результати кількісного визначення вмісту суми речовин флавоноїдної будови у перерахунку на рутин (n=5, P=95 %)

ЛРС	Номер серії	Кількість флавоноїдів у перерахунку на рутин, %	Середнє значення, %
1	2	3	4
Конюшини лучної суцвіття	1	0,56	0,58 ± 0,01
	2	0,61	

Продовж. табл. 3.6

1	2	3	4
	3	0,55	
	4	0,59	
	5	0,57	
Чебрецю повзучого трава	1	1,29	1,26 ± 0,01
	2	1,23	
	3	1,25	
	4	1,30	
	5	1,21	
Деревію звичайного трава	1	1,11	1,16 ± 0,02
	2	1,21	
	3	1,17	
	4	1,15	
	5	1,16	
Липи серцелистої квітки	1	1,62	1,61 ± 0,02
	2	1,59	
	3	1,58	
	4	1,64	
	5	1,60	

За результатами спектрофотометричного методу визначено, що у траві чабрецю, деревію та квітках липи кількість рутину майже не відрізняється (1,26 %, 1,16 %, 1,61 % відповідно), суцвіття конюшини мають менший зміст флавоноїдів – 0,58 %.

3.4 Обґрунтування умов екстрагування біологічно активних речовин збору

Одним з важливих етапів в комплексі досліджень при створенні нових лікарських препаратів є обґрунтування раціональних режимів екстрагування [225].

Оскільки лікарський засіб у формі збору є твердою лікарською формою, яка застосовується в медичній практиці у вигляді настоїв, відварів чи фіточаїв, то обґрунтування оптимальних умов виготовлення, як самого збору, так і водних витягів з нього повинно базуватися на комплексі фармакотехнологічних досліджень.

Процес отримання витяжки з рослинного лікарського збору орієнтований на максимальний вихід біологічно активних речовин. Оскільки витяг БАР з клітин ЛРС відбувається за рахунок екстракції, доцільно було вивчити вплив різних фармацевтичних факторів на вихід екстрактивних речовин [226].

На повноту і швидкість екстрагування лікарської рослинної сировини водою впливають такі фактори, як час (тривалість) екстрагування, температура та дисперсність частинок (ступінь подрібнення) сировини, яка характеризує поверхню екстрагування [227]. Ключовим фактором, який характеризує ефективність екстракції є режим екстрагування. Тому при розробці раціональної технології отримання водних витяжок необхідно обґрунтувати тривалість настоювання при підвищеній температурі і подальше настоювання при кімнатній температурі до охолодження.

Як екстрагент використовували воду очищену. Повноту екстракції визначали за кількісним вмістом екстрактивних речовин та поліфенольних речовин у перерахунку на галову кислоту і флавоноїдів у перерахунку на рутин. На даному етапі дослідження визначали кількісний вміст даних БАР в вихідній сировині та суміші ЛРС.

Водні витяжки зі збору та окремих видів ЛРС готували, дотримуючись класичних режимів екстракції при отриманні настоїв – настоювання на водяній бані – 15 хв і подальше настоювання при охолодженні – 30 хв. при ступені подрібнення 4–6 мм.

З метою вивчення впливу фармацевтичних факторів на вивільнення екстрактивних речовин з лікарської рослинної сировини були досліджені три фракції збору, однакових за складом, але різних за ступенем подрібнення компонентів, які отримували просіюванням через сита № 1–5. Лікарську сировину подрібнювали траворізкою. Розмір частинок першої фракції становив 1–3 мм, другий фракції – 3– мм, третьої – 4–6 мм. Екстракцію проводили при стандартному співвідношенні сировина:екстрагент 1:10.

В результаті проведених досліджень встановлена певна залежність виходу екстрактивних речовин з лікарської рослинної сировини від ступеня її дисперсності (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Залежність виходу сухого залишку від ступеня дисперсності лікарського рослинного збору (n=5, P=95 %)

Показник, розмірність	Ступінь дисперсності, мм		
	1–3	3–4	4–6
Сухий залишок, %	2,15 ± 0,08	1,8 ± 0,05	1,6 ± 0,03
Екстрактивні речовини, %	15,1 ± 0,1	13,2 ± 0,2	10,2 ± 0,1
Флавоноїди, у перерахунку на рутин, %	0,41 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,11 ± 0,1
Поліфенольні сполуки, у перерахунку на галову кислоту, %	4,55 ± 0,01	3,81 ± 0,02	3,42 ± 0,01

При подрібненні сировини до розміру 1–3 мм спостерігали більш високі показники вивільнення екстрактивних речовин через руйнування клітин ЛРС. При розмірах часток 3–4 та 4–6 мм відбувається зменшення вивільнення екстрактивних речовин і відповідно значення показників сухого залишку.

На підставі отриманих результатів для подальших досліджень по обґрунтуванню параметрів екстрагування обрана фракція ЛРС 1–3 мм.

Для оптимізації умов екстрагування вивчали вихід екстрактивних і біологічно активних речовин з лікарської рослинної сировини зі ступенем подрібнення 1–3 мм при різних режимах екстракції.

Відповідно до загальноприйнятої технології водних витягів, в підігріту інфундирку поміщали сировину, заливали водою очищеною кімнатної температури у співвідношенні 1:10 (збір не містить ЛРС, що вимагає іншого співвідношення з екстрагентом), враховуючи визначений нами коефіцієнт водопоглинання ($K_{\text{Взбору}}=2,35$), настоювали на киплячій водяній бані, залишали для подальшого охолодження при кімнатній температурі. Потім отриманий настій проціджували, доводячи загальний об'єм водної витяжки з ЛРС водою очищеною до необхідного об'єму. Для фракції збору вивчали різні варіанти режимів екстракції. Настоювання на водяній бані проводили протягом 5, 10, 15, 20, 25, 30 хв. Вибираючи часові інтервали

настоювання при кімнатній температурі, керувалися правилами охолодження настою ЛРС – 15, 30, 45 і 60 хв. Результати дослідження залежності вмісту сухого залишку, виходу екстрактивних речовин і флавоноїдів в перерахунку на рутин та поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту зі збору від температури і часу настоювання наведені в табл. 3.8 і на рис. 3.5–3.7.

Таблиця 3.8

**Залежність властивостей водних вилучень зі збору від режимів екстрагування
(n=5, P=95 %)**

Час настоювання на водяній бані, хв	Час охолодження до кімнатної температури, хв	Опис	Вміст сухого залишку, %	Вміст поліфенолів, у перерахунку на галову кислоту, мг/%	Вміст флавоноїдів, у перерахунку на рутин, мг/%
1	2	3	4	5	6
5	15	Світло-жовта рідина зі слабким специфічним трав'янистим запахом	1,89 ± 0,01	3,51 ± 0,01	0,29 ± 0,01
	30	Світло-жовта рідина зі слабким специфічним трав'янистим запахом	1,91 ± 0,01	3,66 ± 0,02	0,30 ± 0,01
	45	Світло-жовта рідина зі слабким специфічним трав'янистим запахом	1,92 ± 0,02	3,76 ± 0,02	0,31 ± 0,02
	60	Світло-жовта рідина зі слабким специфічним трав'янистим запахом	1,93 ± 0,01	3,81 ± 0,02	0,32 ± 0,02
10	15	Жовта рідина зі специфічним квітково-трав'янистим запахом	2,01 ± 0,01	4,05 ± 0,01	0,38 ± 0,01
	30	Жовта рідина зі специфічним квітково-трав'янистим запахом	2,02 ± 0,02	4,09 ± 0,02	0,39 ± 0,02

Продовж. табл. 3.8

1	2	3	4	5	6
	45	Жовта рідина зі специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,02 \pm 0,01$	$4,09 \pm 0,02$	$0,40 \pm 0,02$
	60	Жовта рідина зі специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,03 \pm 0,01$	$4,10 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,01$
15	15	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,16 \pm 0,01$	$4,41 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,01$
	30	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,17 \pm 0,01$	$4,59 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,02$
	45	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,17 \pm 0,02$	$4,60 \pm 0,01$	$0,46 \pm 0,02$
	60	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом. Спостерігається випадання осаду	$2,16 \pm 0,01$	$4,42 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,01$
20	15	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,16 \pm 0,01$	$4,42 \pm 0,02$	$0,44 \pm 0,01$
	30	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,17 \pm 0,01$	$4,42 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,01$
	45	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,17 \pm 0,01$	$4,44 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,02$
	60	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом. Спостерігається випадання осаду	$2,16 \pm 0,01$	$4,44 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,01$
25	15	Коричнево-зелена рідина з різким специфічним квітково-трав'янистим запахом	$2,16 \pm 0,01$	$4,39 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,01$

Продовж. табл. 3.8

1	2	3	4	5	6
	30	Коричнево–зелена рідина з різким специфічним квітково–трав'янистим запахом	$2,17 \pm 0,02$	$4,40 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02$
	45	Коричнево–зелена рідина з різким специфічним квітково–трав'янистим запахом	$2,16 \pm 0,01$	$4,39 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,01$
	60	Коричнево–зелена рідина з різким специфічним квітково–трав'янистим запахом. Спостерігається випадання осаду	$2,15 \pm 0,01$	$4,32 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,01$
30	15	Світло–коричнева рідина зі специфічним квітково–трав'янистим запахом	$2,15 \pm 0,01$	$4,21 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,01$
	30	Світло–коричнева рідина зі специфічним квітково–трав'янистим запахом	$2,16 \pm 0,02$	$4,22 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02$
	45	Світло–коричнева рідина зі специфічним квітково–трав'янистим запахом	$2,13 \pm 0,01$	$4,20 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,01$
	60	Світло–коричнева рідина зі специфічним квітково–трав'янистим запахом. Спостерігається випадання осаду	$2,12 \pm 0,01$	$4,19 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,01$

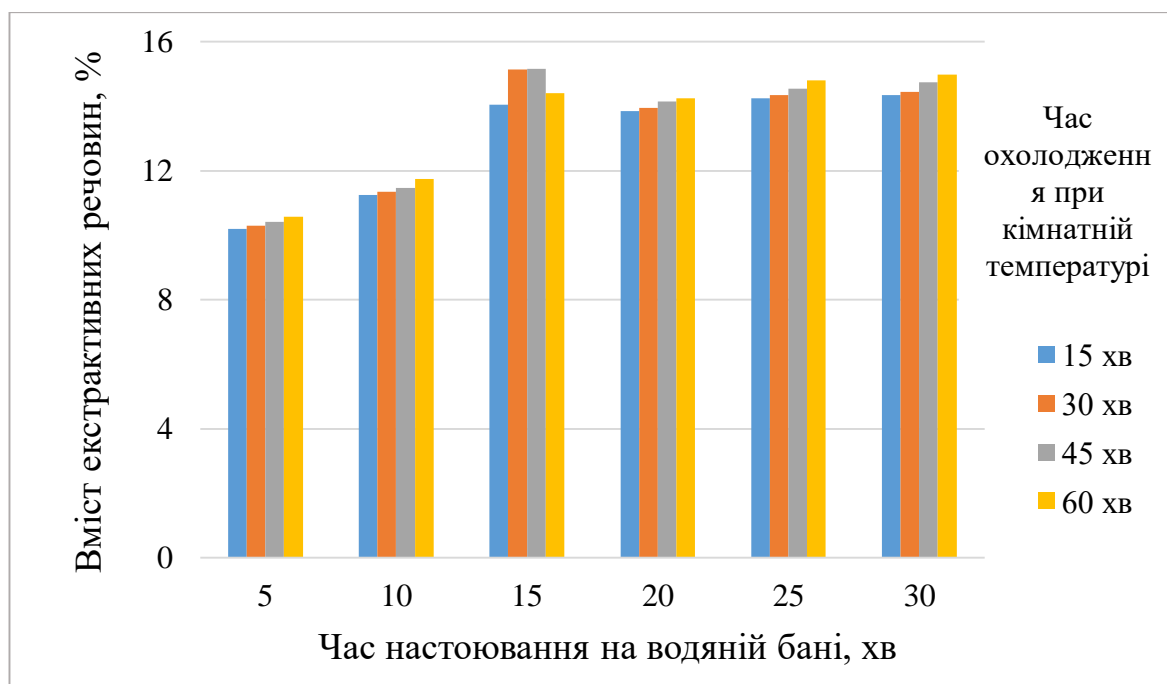


Рис. 3.5 Залежність виходу екстрактивних речовин від режиму екстракції збору (n=5, P=95 %)

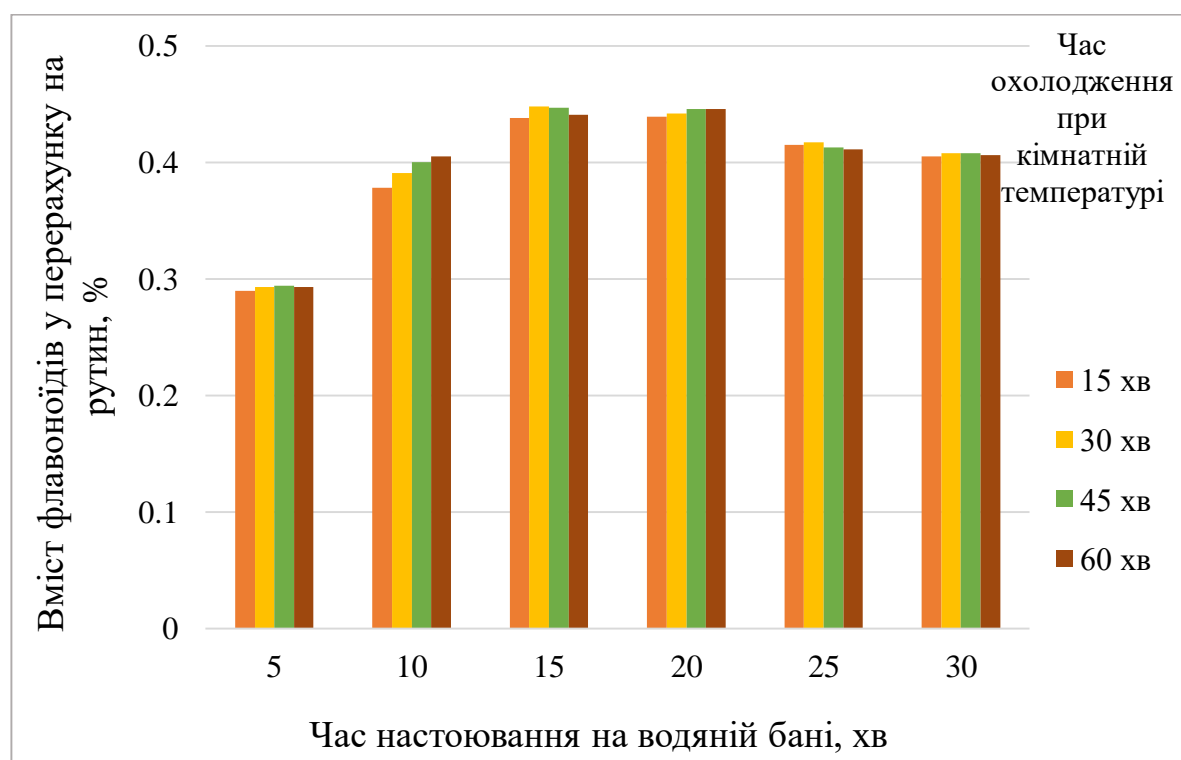


Рис. 3.6 Залежність виходу флавоноїдів у перерахунку на рутин від режиму екстракції збору (n=5, P=95 %)

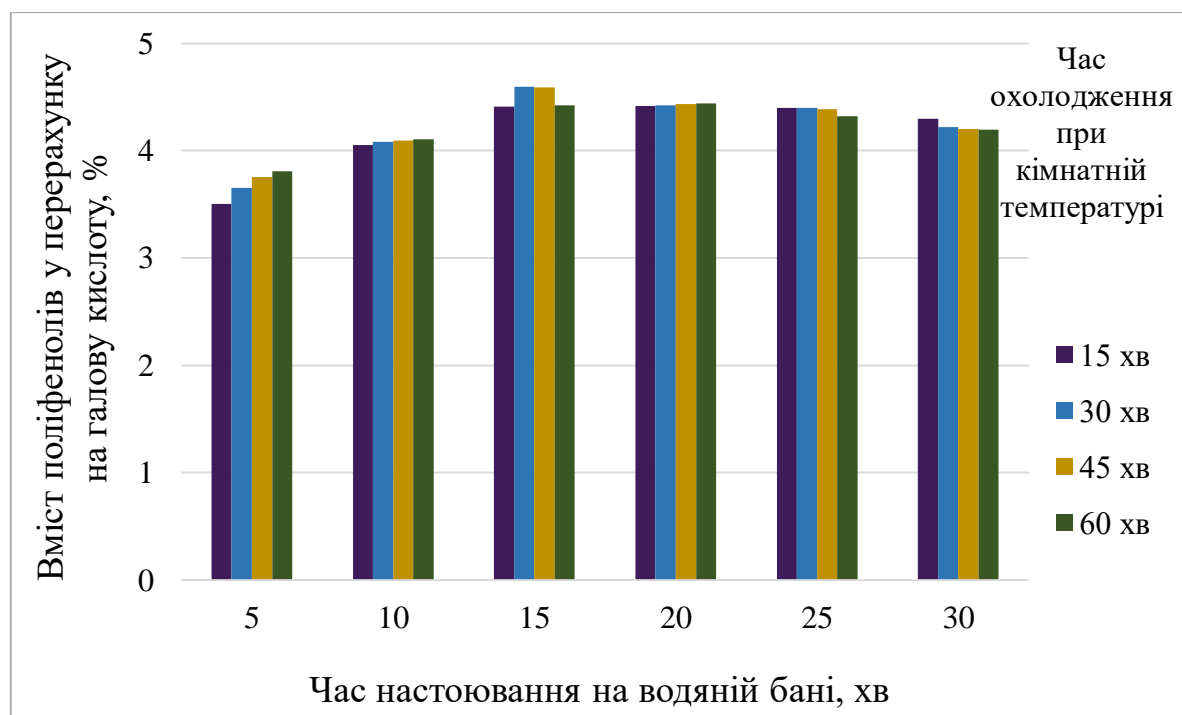


Рис. 3.7 Залежність виходу поліфенолів у перерахунку галову кислоту від режиму екстракції збору (n=5, P=95 %)

Експериментально встановлено, що збільшення часу настоювання на водяній бані від 5 до 15 хв. призводить до підвищення вмісту в настої як екстрактивних, так і біологічно активних речовин.

Подальше нагрівання на водяній бані не підвищує вихід екстрактивних речовин, флавоноїдних сполук та поліфенольних речовин, а зміна забарвлення може свідчити про руйнування ряду біологічно активних речовин під дією температури. Збільшення часу настоювання до охолодження доцільно проводити протягом 30–45 хв., так як подальше охолодження не підвищує вміст діючих речовин і приводить до осадження.

Таким чином максимальний вихід флавоноїдів у перерахунку на рутин (0,45 мг / л) та поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту (4,62 мг / л) забезпечується при отриманні настою при розмірі часток сировини 1–3 мм, співвідношенні сировини і екстрагента – 1:10, настоювання 15 хв при температурі 90 ± 5 °C, настоювання до охолодження – 30–45 хв.

3.5 Розробка технологічного процесу виготовлення збору

3.5.1 Виготовлення збору в умовах аптек [228]

На етапі підготовки сировини після проведення вхідного контролю на відсутність сторонніх домішок складових збору, подрібнювали окремо за допомогою траворізки до розміру часток 1–3 мм.

Подрібнені та просіяні компоненти відважити на електронних вагах (або вагах Мора) у зазначеній кількості (на 100,0 г збору): на конюшини суцвіття 40,0 г, липи квіток 20,0 г, деревію трави 20,0 г та чебрецю трави 20,0 г та змішували у порцеляновій ступці, додаючи спочатку ЛРС, прописану у меншій кількості, до рівномірного розподілу частин.

Поетапне виготовлення збору в умовах аптек із зазначенням стадій наведено у технологічній схемі на рис. 3.8.

Стадія 1. Підготовка робочого місця та сировини

Обробляють робочу поверхню стола розчином хлораміну Б. Підбирають посуд та допоміжні матеріали. Лікарську рослинну сировину, яка входить до складу збору оглядають окремо на столі для перегляду, видаляють вручну сторонні домішки при наявності.

Стадія 2. Подрібнення та просіювання ЛРС

За необхідності подрібнення сировини проводять за допомогою траворізки, після цього сировину збирають та просіюють у паперові мішки за допомогою сит із розміром отворів 3 мм та 1 мм. Недостатньо здрібнену сировину відправляють для додаткового подрібнення. Мішки з просіяною сировиною помічають етикеткою з відповідним найменуванням, номером серії та масою. Проводять письмовий контроль.

Стадія 3. Змішування ЛРС

Змішування інгредієнтів проводять за допомогою целулоїдної пластинки або лопатки у порцеляновій ступці (емальованій чашці). Сировину змішують до однорідності та визначають загальну масу збору. Проводять письмовий контроль.

Стадія 4. Контроль якості

Якість виготовленого збору контролюють за фізичним, органолептичним та опитувальним контролюми.

Стадія 5. Фасування, маркування, пакування (оформлення до відпуску)

Фасування у пакети виконують вручну та відважують необхідну для фасування масу збору. Пакети вкладають у пачки з картону для споживчої тари підгрупи хром–ерзац за ГОСТ 7933–89 або картону підгрупи хром–ерзац за ТУ У 13–0281041–356–89.

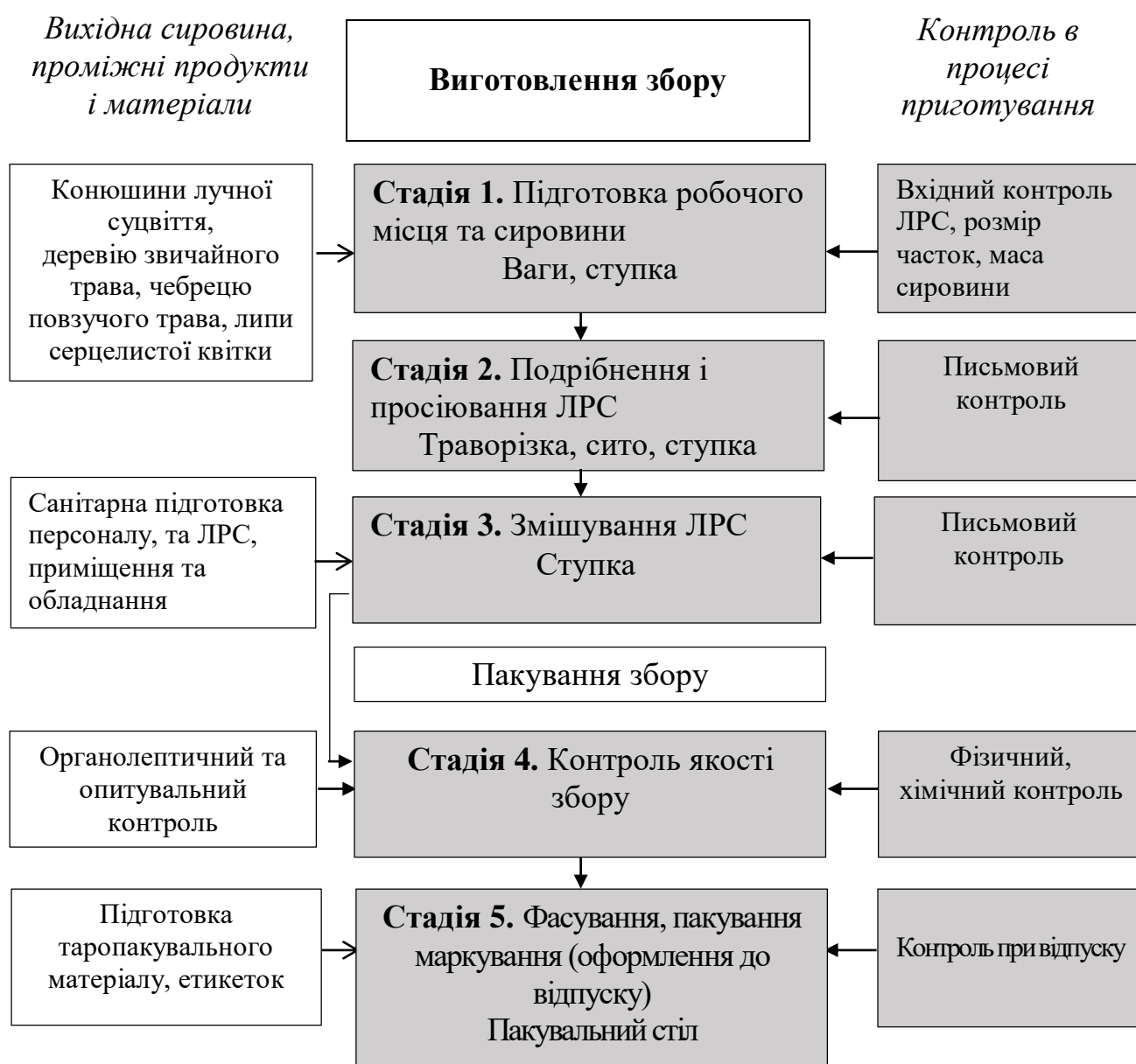


Рис. 3.8 Технологічна схема виготовлення збору в умовах аптек

Контролюють відповідність графічного оформлення серії, правильність друку (номер серії, термін придатності).

Технологію виготовлення розробленого збору в аптечних умовах викладено в інформаційному листі № 382–2018 («Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів»), який апробовано в низці виробничих аптек України.

3.5.2 Виготовлення збору в умовах промисловості

На етапі підготовки сировини після проведення вхідного контролю на відсутність сторонніх домішок складових збору, подрібнювали окремо за допомогою траворізки до розміру часток 1–3 мм.

Поетапне виготовлення збору в умовах промисловості із зазначенням стадій наведено у технологічній схемі на рис. 3.9.

Стадія 1. Підготовка сировини

Лікарську рослинну сировину, яка входить до складу збору оглядають окремо на столі для перегляду, видаляють вручну сторонні домішки.

Стадія 2. Подрібнення сировини

Подрібнення сировини проводять за допомогою траворізки до розміру часток 1–3 мм.

Стадія 3. Просіювання сировини

Сировину збирають та просіюють у паперові мішки за допомогою сит із розміром отворів 3 мм та 1 мм. Недостатньо здрібнену сировину відправляють для додаткового подрібнення. Мішки з просіяною сировиною помічають етикеткою з відпо відним найменуванням, номером серії та масою.

Стадія 4. Змішування ЛРС

Перед початком змішування сировини візуально перевіряють чистоту і справність змішувача, вмикають припливно–відпливну вентиляцію та надягають респіратор. У якості змішувача інгредієнтів використовують змішувач барабанного типу, що обертається на опорних роликах зі швидкістю 6–8 об./хв. Завантаження сировини проводять вручну та змішують до однорідності. Однорідність збору

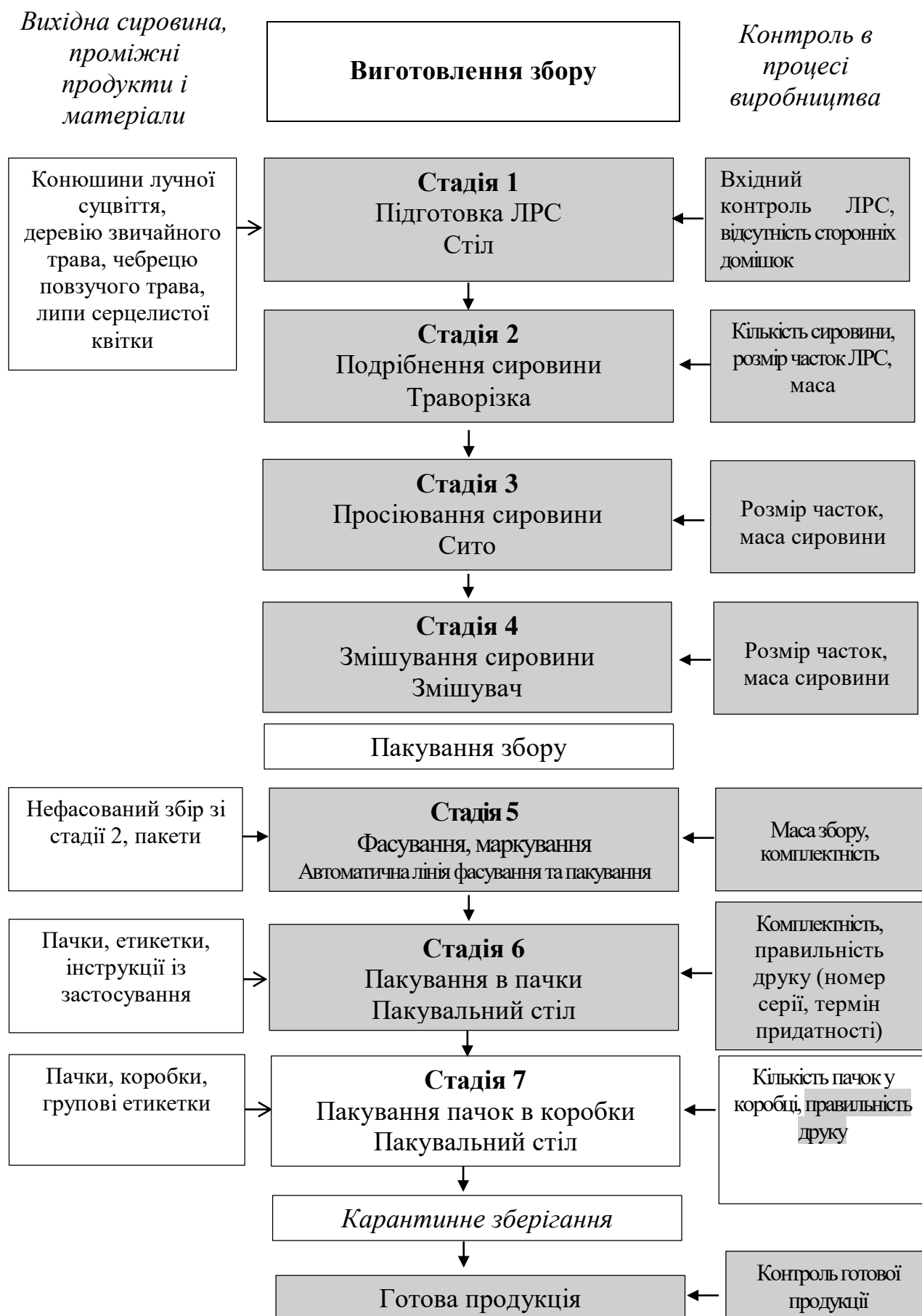


Рис. 3.9 Технологічна схема виробництва збору в умовах промисловості

перевіряється візуально. Суміш вивантажують з змішувача та визначають загальну масу збору.

Стадія 5. Фасування, маркування

Фасування у пакети виконується на автоматичній лінії фасування та пакування.

Стадія 6. Пакування в пачки

Пакети вкладають у пачки з картону для споживчої тари підгрупи хром–ерзац за ГОСТ 7933–89 або картону підгрупи хром–ерзац за ТУ У 13–0281041–356–89.

Стадія 7. Пакування пачок в 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. Отримана готова продукція відправляється на карантинне зберігання.

Кінцевим етапом виробництва збору є відправка його на склад готової продукції для подальшої реалізації.

3.6 Визначення показників якості розробленого збору

ДФУ регламентує збори як суміш видів ЛРС, з певним розміром часток, з морфологічними ознаками, що відповідають компонентам, які входять до складу зборів та використовуються як лікарські засоби [183].

Якість розробленого збору для терапії клімактеричних розладів під умовною назвою «Флавоклім» контролювали за наступними показниками: ідентифікація, зовнішній вигляд, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, зола, не розчинна в кислоті хлористоводневій, показник набухання сировини, екстрактивні речовини, мікробіологічна чистота, кількісне визначення [229–232].

Зовнішній вигляд розробленого збору

За зовнішнім виглядом розроблений збір є сумішшю шматочків різної форми жовто–зеленого кольору з включенням жовтого та оранжевого кольорів різних відтінків із ароматним запахом.

За результатами перегляду збору під лупою виявлені суцвіття кулястої форми до 3 см завдовжки, трійчасті листики з світло-зеленими прилистками з темними жилками, пелюстки рожевувано-пурпурного кольору, чашечка з 5 зубчиками, один з яких завдовжки вдвічі більше інших, вінчик метеликовий, смак солодкуватий, в'язучий (*конюшини суцвіття*).

Чашечка зелена з фіолетовими плямами, трубчаста, листок з сидячий з коротким черешком, опушена пластинка з зеленувато-сірими волосками. Колір листя зелений або сірувато-зелений, чашечки – буро-червоний. Шматочки віточок тонкі, 4-гранні, опушені, зеленувато-коричневі з фіолетовим відтінком. Запах ароматний, смак гіркувато-пряний, злегка в'язучий (*чебрецю трава*).

Листки сірувато-зеленого кольору, опушені, листя перисторозсічені на ланцетні та лінійні зони, корзинки з перепончатими буруватими краями, стебел та листя сірувато-зеленого кольору, крайових квіток-білий та жовто-рожеві, стебла опушені, подовжньо борозенчасті, завтовшки 3 мм, зі світлої серцевиною (*деревію трава*).

Суміш щіткоподібних суцвіть жовтаво-зеленого кольору та окремих квіток, бутонів, квітки правильні, 5-членні, жовто-білі або буруваті, чашолистки легко відокремлюються від квітколожа та густо опушені, пелюстки жовтаво-білого кольору, які мають тонке жилкування, краї вкриті поодинокими волосками. Запах слабкий, ароматний, смак солодкуватий, злегка в'язучий з присмаком слизу (*липи квітки*) (табл. 3.11).

Випробування втрати в масі при висушуванні

Втрата в масі при висушуванні розраховується як кількість гігроскопічної вологи та летких речовин в досліджуваній сировині. Визначення втрат в масі при висушуванні для розрахунку кількісного вмісту діючих речовин та золи проводили в наважці 1.0 г, яка була взята з аналітичної проби, що відібрана для визначення вмісту діючих речовин та золи.

Визначення втрати в масі при висушуванні проводили в трьох серіях лікарської рослинної сировини з 3 пробами. За результатами дослідження встановлено, що втрати в масі при висушуванні становить від 9,3 до 10,2 % (табл. 3.11). На підставі

отриманих даних було запропоновано ввести до технологічної інструкції та проєкту МКЯ на збір вимоги до втрати в масі при висушуванні не більше 11 % (табл. 3.13).

Визначення вмісту загальної золи у розробленому зборі

Загальна зола з досліджуваного зразку містить мінеральні домішки (пил, земля, пісок) та мінеральні речовини ЛРС, що могли потрапити при зборі та заготівлі.

Для визначення загальної золи лікарську рослинну сировину спалювали та прожарювали до отримання залишку, що не згорає. Збори мають витримувати випробування із визначення золи, яку визначали відповідно до загальної статті ДФУ 2.0 (п. 2.4.16) [186].

Випробування із визначення загальної золи проводили на 3 серіях з 3 пробами препарату. За результатами дослідження було встановлено, що значення загальної золи становить від 7,2 до 7,9 %. Результати дослідження наведено в табл. 3.11. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до НД на збір вимоги до загальної золи не більше 9 % (табл. 3.13).

Визначення у розробленому зборі вмісту золи, не розчинної у кислоті хлористоводневій

Залишок (загальна зола), який був отриманий у результаті спалювання досліджуваного збору, оброблявся 10 % розчином кислоти хлористоводневій. Зола містить залишки силікатів. Визначення золи, не розчинній в кислоті хлористоводневій, визначали за загальною статтею ДФУ, п. 2.8.1. [186].

Випробування із визначення золи, не розчинній в кислоті хлористоводневій, проводили на 3 серіях з 3 пробами препарату. За результатами дослідження було встановлено, що значення золи, не розчинній в кислоті хлористоводневій, становить від 1,5 до 2,2 %. Результати дослідження наведено в табл. 3.12. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до НД вимоги до загальної золи, не розчинної в 10 % розчині кислоти хлористоводневої не більше 2,5 % (табл. 3.13).

Визначення показника набухання розробленого збору

Показник набухання являє собою об'єм, у мілілітрах, що займає 1 г лікарської рослинної сировини зразка після її набухання у водному середовищі протягом 4 год, з урахуванням клейкого слизу.

Вимірювали об'єм, що займає випробовуваний зразок з урахуванням клейкого слизу. Паралельно виконували три випробовування. Показник набухання розраховували як середнє значення 3 випробувань.

За результатами дослідження було встановлено, що середнє значення показнику набухання розробленого збору становить від 9,2 до 10,5 мл. Результати дослідження наведено в табл. 3.11. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до НД на збір вимоги до набухання сировини не більше 11 мл (табл. 3.13).

Визначення екстрактивних речовин у розробленому зборі

Екстрактивні речовини – це сухий залишок після упарювання витяжки з лікарської рослинної сировини. Вміст екстрактивних речовин у лікарській рослинній сировині – важливий числовий показник, який визначає його доброякісність.

Залежно від хімічного складу лікарської рослинної сировини і розчинника у витяжки переходять ті чи інші діючі та супутні речовини. В якості екстрагента для отримання вилучення з ЛРС використовують воду очищену. Воду екстрагуються сполуки флавоноїдної природи, вуглеводи.

Вміст речовин, що екстрагуються водою, визначали за методикою, описаною у розділі 2. За результатами проведених досліджень встановлено вміст екстрактивних речовин : від 22 до 25 %. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до НД на збір вимоги до вмісту екстрактивних речовин не менше 20 % (табл. 3.13).

Мікробіологічна чистота

Визначення мікробіологічної чистоти збору проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Випробування мікробіологічної чистоти рослинних лікарських засобів для орального застосування та екстрактів, що використовують при їх виготовленні» (п. 2.6.12, с. 251, п. 2.6.31., с. 310) [186]. За показниками мікробіологічної чистоти екстракт відповідає вимогам ДФУ категорії А.

3.7 Розробка методик кількісного визначення діючих речовин збору

Кількісне визначення флавоноїдів та поліфенолів в УФ–області спектрів засновується на вимірюванні оптичної густини при довжині хвилі в максимумах

поглинання розчинів речовин, що аналізуються, і розчинів їх забарвлених комплексів.

Специфічністю володіють методики визначення флавонолів за барвною комплексною сполукою з хлоридом алюмінію. Забарвлені розчини мають максимуми в інтервалах 385 – 460 нм з хлористим алюмінієм. Чутливість методики із застосуванням хлористого алюмінію – 1–2 мкг.

Кількісне визначення речовин поліфенольної будови

Для доведення наявності речовин поліфенольної будови у складі досліджуваної рослинної сировини та фітокомпозиції використовували метод абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці. УФ–спектр поглинання водних витягів з суцвіття конюшини, квіток липи, трави деревію, трави чебрецю і збору в ділянці від 220 нм до 400 нм реєстрували на спектрофотометрі Evolution 60 S . Порівняння проводили відносно СЗ галової кислоти і СЗ хлорогенової кислоти (рис. 3.10).

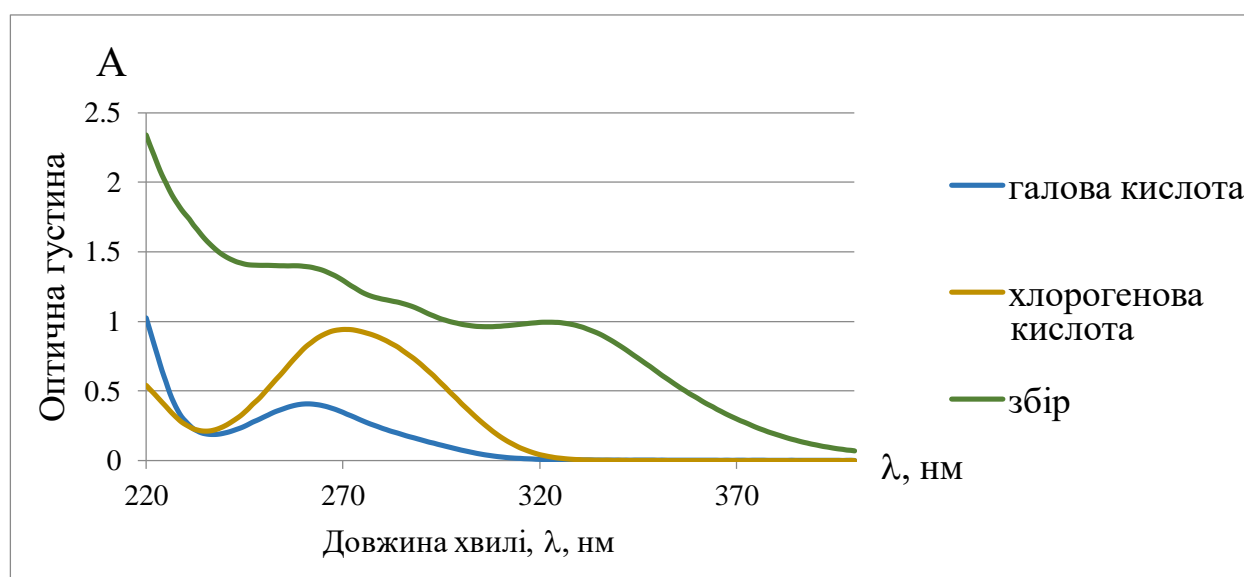


Рис. 3.10 УФ–спектр поглинання водних розчину збору, 0,001 % розчину СФЗ галової кислоти та 0,001 % розчину СФЗ хлорогенової кислоти (n=5, P=95 %)

Експериментальні дані (рис. 3.10) свідчать про те, що абсорбційний спектр поглинання водного вилучення зі збору характеризується наявністю двох максимумів поглинання при 257 нм і 322 нм. У той же час у 0,001 % водному розчині галової

кислоти максимум УФ–спектру спостерігається за довжини хвилі 261 нм, 0,001 % водному розчині хлорогенової кислоти – при 270 нм.

Таким чином, для стандартизації збору доцільно визначати вміст речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту.

Методика визначення речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту наведена у 2 розділі.

Результати визначення суми речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту у зборі наведені в таблиці 3.9.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що у діапазоні від 250 до 290 нм ультрафіолетовий спектр поглинання випробуваного розчину збору має максимум, що відповідає максимуму поглинання галової кислоти.

Отже, дана методика може бути застосована для кількісного аналізу розробленого збору. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до методів контролю якості лікарського засобу на збір вимоги до кількісного вмісту речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту не менше 4 %.

Таблиця 3.9

Результати кількісного визначення вмісту суми речовин поліфенольної будови у зборі, у перерахунку на галову кислоту (n=5, P=95 %)

ЛРС	Номер серії	Кількість поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, %	Середнє значення, %
Збір	1	4,61	4,62 ± 0,02
	2	4,64	
	3	4,69	
	4	4,58	
	5	4,60	

Кількісне визначення флавоноїдів

Для визначення кількісного вмісту речовин флавоноїдної будови у лікарській рослинній сировині використовують декілька спектрофотометричних методик, які ґрунтуються на реакції з розчином алюмінію хлориду у кислому середовищі.

Відомо, що найкращим екстрагентом для речовин флавоноїдної будови є спирт етиловий 40 %. Тому реакцію комплексоутворення проводили, використовуючи витяги з сировини зі спиртовим розчином алюмінію хлориду в оцтовокислому середовищі з додаванням спирту.

Абсорбційний спектр поглинання отриманих забарвлених розчинів в області від 380 нм до 450 нм наведені на рисунку 3.11.

Отримані результати (рис. 3.11) свідчать, що після реакції з розчином алюмінію хлориду в абсорбційному спектрі розчину збору спостерігається максимум поглинання 402 нм. Спектр поглинання рутину характеризується максимумом поглинання при довжині хвилі від 407 до 410 нм.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що у діапазоні від 380 до 450 нм ультрафіолетовий спектр поглинання випробуваних розчинів ЛРС та збору має максимум, що відповідає максимуму поглинання рутину.

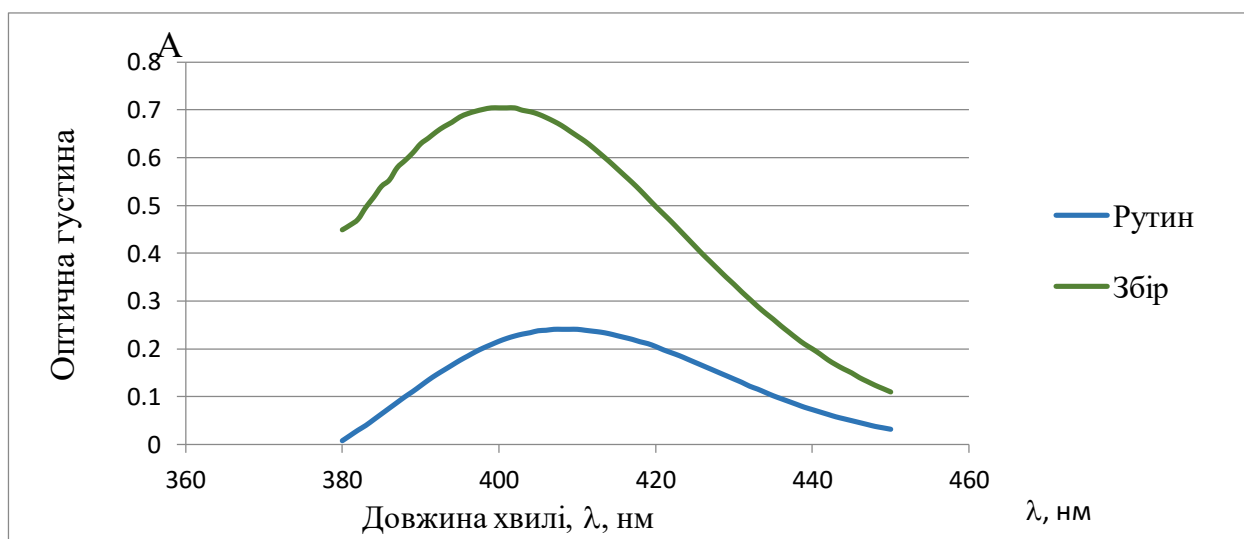


Рис. 3.11 Абсорбційний спектр поглинання водного вилучення зі збору та 0,001 % розчину СФЗ рутину після реакції з реактивом алюмінію хлориду (n=5, P=95 %)

Тому доцільно визначати кількісний вміст флавоноїдів у досліджуваному зборі за сумою речовин флавоноїдної будови у перерахунку на рутин.

Результати кількісного визначення вмісту флавоноїдів в рослинній сировині і зборі у перерахунку на рутин наведені в табл. 3.10.

Таблиця 3.10

Результати кількісного визначення вмісту суми речовин флавоноїдної будови у перерахунку на рутин (n=5, P=95 %)

ЛРС	Номер серії	Кількість флавоноїдів у перерахунку на рутин, %	Середнє значення, %
Збір	1	0,46	0,45 ± 0,03
	2	0,44	
	3	0,41	
	4	0,49	
	5	0,44	

Отже, дані методики можуть бути застосовані для кількісного аналізу розробленого збору. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до методів контролю якості лікарського засобу на збір вимоги до кількісного вмісту флавоноїдів у перерахунку на рутин не менше 0,4 %.

Узагальнені результати дослідження показників якості збору «Флавоклім» наведено у таблиці 3.11.

Таблиця 3.11

Результати дослідження показників якості збору «Флавоклім»

Параметр	Результат дослідження
1	2
Опис	Суміш шматочків різної форми жовто–зеленого кольору з включенням жовтого та оранжевого кольорів різних відтінків із ароматним запахом
Ідентифікація	А. Під лупою виявлені суцвіття кулястої форми до 3 см завдовжки, трійчасті листики з світло–зеленими прилистками з темними жилками, пелюстки рожевувато–пурпурного кольору, смак солодкуватий, в'язучий (<i>конюшини суцвіття</i>). Листок з сидячий з коротким черешком, опушена пластинка з зеленувато–сірими волосками. Колір листя зелений або сірувато–зелений, чашечки – буро–червоний. Шматочки віточок тонкі, 4–гранні, опушені, зеленувато–коричневі з фіолетовим відтінком. Запах

Продовж. табл. 3.11

1	2
Флавоноїди	ароматний, смак гіркувато–пряний, злегка в’яжучий (<i>чебрецю трава</i>). Листки сірувато–зеленого кольору, опушені, листя перисторозсічені на ланцетні та лінійні зони, корзинки з перепончатими буруватими краями, стебел та листя сірувато–зеленого кольору (<i>деревію трава</i>). Суміш щіткоподібних суцвіть жовтаво–зеленого кольору та окремих квіток, бутонів, квітки правильні, жовто–білі або буруваті, пелюстки жовтаво–білого кольору, які мають тонке жилкування. Запах слабкий, ароматний, смак солодкуватий, злегка в’яжучий з присмаком слизу (<i>липи квітки</i>) Якісні реакції В. Реакція Сальковського Утворюється забарвлення на границі розподілу фаз ТШХ С. Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчинів порівняння відповідає зонам рутину та гіперозиду
Врота в масі при висушуванні, %	10,2 ± 0,1
Загальна зола, %	7,9 ± 0,2
Зола, не розчинна у кислоті хлорис-товодневій, %	2,2 ± 0,1
Показник набухання, мл	10,5 ± 0,3
Екстрактивні речовини, що витягуються водою	24,0 ± 0,5
Маса вмісту пакування: збору у пакетах поліетиленових	100,18 ± 0,77
Мікробіологічна чистота: ТАМС: не більше 10 ⁷ КУО/г; ТҮМС: не більше 10 ⁵ КУО/г; <i>Escherichia coli</i> : не більше 10 ³ КУО/г; відсутність <i>Salmonella</i> в 25,0г.	до 250 відсутні 2,60x10 ⁴ 2,25x10 ³
Кількісне визначення <i>Вміст речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту, %</i> <i>Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин, %</i>	4,62 ± 0,01 0,45 ± 0,01
Пакування	100 г збору у пакетах поліетиленових

3.8 Дослідження стабільності збору у процесі зберігання

Для вивчення стабільності розробленого збору нами проводилися дослідження показників якості його зразків фізико–хімічними, хімічними, фармакогностичними, технологічними та біологічними методами. Зберігали досліджувані зразки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі, що не перевищувала 25 °С та вологості не вище 75 % протягом 27 місяців.

Упродовж зазначеного терміну збір кожні 3 місяця до 1 року та кожні 6 місяців від 12 до 27 місяців зберігання проводили контроль якості за такими показниками: органолептичні характеристики (зовнішній вигляд, колір, запах, смак), загальна зола, зола, не розчинна в розчині 10 % хлористоводневої кислоти, втрата в масі при висушуванні, вихід екстрактивних речовин, показник набухання, ідентифікація, кількісне визначення діючих речовин та мікробіологічна чистота.

Результати досліджень наведені у таблиці 3.12.

Як видно з наведених результатів, протягом 27 місяців розроблений збір, закладений на зберігання, при даному температурному режимі за зовнішніми ознаками, запахом та смаком відповідають початковому показнику та вимогам ДФУ. У ході досліджень встановлено, що загальна зола знаходиться в межах 7,24–7,88 %, зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті, – в межах 1,95–2,24 %, втрата в масі при висушуванні зразків протягом терміну зберігання не перевищувала 10 % і знаходиться в межах 9,0–9,70 %. Показник набухання для збору знаходиться в межах 8,4–9,0 мл. Вміст екстрактивних речовин у зборі в межах 25,06–27,79 %.

Проведеним аналізом доведено, що у досліджуваних зразках збору зберігаються основні групи діючих речовин. Хроматографічним аналізом встановлено присутність основних компонентів флавоноїдної природи у зборі. Сума біологічно активних речовин (флавоноїдів) у перерахунку на рутин протягом терміну зберігання складає 0,41–0,46 %, вміст поліфенолів у перерахунку на галову кислоту у препараті становить 4,46–4,64 %.

Згідно проведеного дослідження встановили, що протягом усього зазначеного

терміну спостереження показники якості, за якими контролювали збір, відповідав за всіма показниками до вимог технологічної інструкції та методів контролю якості, що представлено у табл. 3.13.

Враховуючи результати проведених досліджень, можна зазначити, що розроблений збір у пакетах поліетиленових, вкладених у пачки з картону залишається стабільним впродовж 27 місяців не втрачає у процесі зберігання своїх якісних показників і відповідає вимогам нормативної документації на збори. Що дає можливість рекомендувати термін зберігання препарату в оригінальному пакуванні – 2 роки при вологості не більше 75 % та температурі, що не перевищує 25 °С в захищеному від світла місці.

Продовж. табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Флавоноїди (методом ТШХ)</i>	Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчинів порівняння мають відповідати зонам рутину та гіперозиду	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення: поліфенолів у перерахунку на галову кислоту, % флавоноїдів у перерахунку на рутин, %	не менше 4 % не менше 0,4 %	4,62 ± 0,02 0,45 ± 0,01	4,58 ± 0,02 0,44 ± 0,02	4,56 ± 0,02 0,44 ± 0,02	4,55 ± 0,03 0,43 ± 0,02	4,52 ± 0,02 0,43 ± 0,01	4,50 ± 0,02 0,43 ± 0,01	4,50 ± 0,02 0,43 ± 0,02	4,49 ± 0,03 0,42 ± 0,01	4,48 ± 0,02 0,42 ± 0,01
Мікробіологічна чистота: ТАМС, КУО/г; ТҮМС, КУО/г; <i>Escherichia coli</i> : КУО/г; відсутність <i>Salmonella</i>	≤ 10 ⁷ КУО/г ≤ 10 ⁵ КУО/г ≤ 10 ³ КУО/г відсутність в 25,0 г.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Маса вмісту пакування:	100,0 ± 3%	100,18 ± 0,02	100,19 ± 0,03	100,19 ± 0,03	100,21 ± 0,01	100,22 ± 0,02	100,22 ± 0,04	100,23 ± 0,02	100,23 ± 0,03	100,24 ± 0,01

За проведеними дослідженнями у табл. 3.13 наведено показники та дані контролю якості розробленого збору.

Таблиця 3.13

Специфікація до проєкту технологічної інструкції та МКЯ на розроблений збір

Параметр	Допустима межа	Метод контролю
1	2	3
Опис	Суміш шматочків різної форми жовто–зеленого кольору з включенням жовтого та оранжевого кольорів різних відтінків із ароматним запахом	За п. 1 проєкту МКЯ. Візуально, органолептично
Ідентифікація	Під лупою має виявлятися суцвіття кулястої форми до 3 см завдовжки, трійчасті листики з світло–зеленими прилистками з темними жилками, пелюстки рожевувато–пурпурного кольору, смак солодкуватий, в’яжучий (<i>конюшини суцвіття</i>). Листок з сидячий з коротким черешком, опушена пластинка з зеленувато–сірими волосками. Колір листя зелений або сірувато–зелений, чашечки – буро–червоний. Шматочки віточок тонкі, 4–гранні, опушені, зеленувато–коричневі з фіолетовим відтінком. Запах ароматний, смак гіркувато–пряний, злегка в’яжучий (<i>чебрецю трава</i>). Листки сірувато–зеленого кольору, опушені, листя перисторозсічені на ланцетні та лінійні зони, корзинки з перепончатими буруватими краями, стебел та листя сірувато–зеленого кольору (<i>деревію трава</i>). Суміш щіткоподібних суцвіть жовтаво–зеленого кольору та окремих квіток, бутонів, квітки правильні, жовто–білі або буруваті, пелюстки жовтаво–білого кольору, які мають тонке жилкування. Запах слабкий, ароматний, смак солодкуватий, злегка в’яжучий з присмаком слизу (<i>липи квітки</i>).	За п. 2.1 проєкту МКЯ. Візуально
Флавоноїди	Якісні реакції В. Реакція Сальковського Має утворюватися забарвлення на границі розподілу фаз	За п. 2.2 проєкту МКЯ

Продовж. табл. 3.13

1	2	3
	ТШХ С. Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчинів порівняння мають відповідати зонам рутину та гіперозиду	За п. 2.3 проекту МКЯ, ДФУ, 2.2.27, Метод ТШХ
Випробовування		
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 11 %	За п. 3 проекту МКЯ, ДФУ, 2.2.32
Загальна зола	Не більше 9 %	За п. 4 проекту МКЯ, ДФУ, 2.4.16
Зола, не розчинна у кислоті хлористоводневій	Не більше 2,5 %	За п. 5 проекту МКЯ, ДФУ, 2.8.1
Показник набухання	Не більше 11 мл	За п. 6 проекту МКЯ, ДФУ, 2.8.4
Екстрактивні речовини, що витягуються водою	Не менше 20 %	За п. 7 проекту МКЯ
Маса вмісту пакування: збору у пакетах поліетиленових	100,18 ± 0,77	За п. 8 проекту МКЯ
Мікробіологічна чистота	Критерій прийнятності, Категорія А: ТАМС: не більше 10 ⁷ КУО/г; ТУМС: не більше 10 ⁵ КУО/г; <i>Escherichia coli</i> : не більше 10 ³ КУО/г; відсутність <i>Salmonella</i> в 25,0 г.	За п. 9 проекту МКЯ ДФУ, 2.6.12, 2.6.31

Продовж. табл. 3.13

1	2	3
Кількісне визначення <i>Вміст речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту</i> <i>Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин</i>	Не менше 4 % у перерахунку на галову кислоту Не менше 0,4 % у перерахунку на рутин	За п. 10 проекту МКЯ За п. 11 проекту МКЯ
Пакування	100 г збору у пакетах поліетиленових	За п. 12 проекту МКЯ
Маркування	Згідно з оригінал–макетом пакування	За п. 13 проекту МКЯ
Зберігання	В оригінальному пакуванні при температурі, що не перевищує 25 °С	За п. 14 проекту МКЯ
Термін придатності	2 роки	За п. 15 проекту МКЯ

3.9 Розробка та дослідження сухого екстракту зі збору

Більш раціональною формою переробки лікарської рослинної сировини може розглядатися сухий екстракт, головною перевагою якого є стабільність біологічно активних речовин у процесі їх отримання та зберігання, а також зручність створення на його основі у подальшому лікарських форм [233–235]. Складні сухі екстракти зберігають усі властивості багатокomпонентних зборів та забезпечують максимальний вміст БАР, точність дозування та комплексну фармакологічну дію фітокомпозиції [236, 237].

При розробці технології складного сухого екстракту брали до уваги попередні дані, отримані при виборі екстрагенту, способів підготовки та екстрагування сировини, ефективності вилучення БАР із сировини (п. 3.3). Технологія отримання сухого екстракту включає наступні стадії: підготовку сировини, екстрагування сировини з метою отримання водного вилучення, очистка вилучення, його упарювання та сушка.

3.10 Вивчення впливу параметрів екстрагування для розробки сухого екстракту

Для отримання сухого екстракту використовували збір зі ступенем подрібнення 1–3 мм, який заливали екстрагентом (вода очищена, $t=90$ °C) у співвідношенні 1:10, враховуючи коефіцієнт водопоглинання (2,35). Екстрагування проводили у мацераційному баку із нержавіючої сталі з паровою рубашкою одно-, дво- та трикратно. При послідуєчих екстракціях екстрагент додавали у кількості, рівній попередньому відпуску.

У ході експерименту було з'ясовано, що ефективним методом екстрагування є 3 кратна мацерація у порівнянні зі звичайною та двократною мацерацією (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Вміст сухого залишку та рутину у досліджуваній водній витяжці при різних умовах екстрагування (n=5, P=95 %)

Вид екстракції	Сухий залишок, % / Екстрактивні речовини, %	Вміст рутину, %
Мацерація	$2,61 \pm 0,10$ / $15,01 \pm 0,10$	$0,48 \pm 0,03$
Дробна мацерація (2–кратна)	$2,71 \pm 0,11$ / $17,12 \pm 0,10$	$0,52 \pm 0,02$
Дробна мацерація (3–кратна)	$2,83 \pm 0,11$ / $19,20 \pm 0,10$	$0,56 \pm 0,01$

Відомо, що динамічна рівновага при контактах фаз та часу екстрагування встановлюється протягом 60 хв екстрагування, тому цей час було обрано при розробці технології протягом 60 хв екстрагування, тому цей час було СЕ [259].

Отримане водне вилучення відстоювали протягом 48 годин при температурі 5–8°C та фільтрували через 4 шари малі та 2 шари бязі. Та випаровували на ротаційному випаровувачі RE–205, (виробництва «Shanghai Kankun Instrument Equipment Co., Ltd.», Китай). Отриманий густий екстракт коричневого кольору сушили у вакуум–сушильній шафі СВ–30 (виробництва ТОВ «РИВА–СТАЛЬ», м. Київ) при температурі до 75–80 °С. Визначено, що вихід готового продукту складав 19,2 %.

Отриманий складний сухий екстракт – аморфний порошок коричневого кольору. Запах специфічний. Смак гіркувато–солодкий.

Результати дослідження фармакотехнологічних показників сухого екстракту наведені у табл. 3.15.

Таблиця 3.15

**Фармакотехнологічні показники комбінованого сухого екстракту
«Флавоклім»**

Серія	Вологовміст, %	Плинність, с / 100 г	Розчинність у воді
1	4,35	37,51 ± 0,04	розчинний
2	4,29	38,21 ± 0,03	розчинний
3	4,17	36,98 ± 0,04	розчинний
4	4,38	37,25 ± 0,02	розчинний
5	4,22	37,85 ± 0,04	розчинний

Проведені дослідження з визначення вологовмісту сухого екстракту показали відповідність загальній статті ДФУ – не більше 5 % вологи. За отриманими даними, вологовміст склав 4,21 ± 0,05 %. Показник плинності є задовільним для подальшого використання при виготовленні твердих лікарських форм.

Як визначено за результатами досліджень, розчинність сухого екстракту не залежить від температури розчинника, що є важливим фактором в технології різних ЛФ за умови його використання в якості субстанції для виготовлення ЛЗ в умовах аптек.

3.11 Розробка технологічного процесу виготовлення сухого екстракту

Підготовку виробництва виконують згідно із промисловими умовами відповідно до операційних процедур та технологічних інструкцій. Сировину і допоміжні речовини зберігають на складах на піддонах або стелажах відповідно до вимог Правил пожежної безпеки для підприємств з виробництва лікарських засобів.

Стадія 1. Підготовка сировини і екстрагента. У якості сировини використовували розроблений склад збору (на 100,0 г збору): конюшини суцвіття 40,0 г, липи квіток 20,0 г, деревію трави 20,0 г та чебрецю трави 20,0 г. Для використання у виробництві сировина повинна відповідати всім показникам МКЯ та пройти попередній контроль відділу контролю якості. За необхідності сировину подрібнюють за допомогою млинів (дезембратори, дезинегратори), просіюють та відважують. Воду очищену відмірюють, враховуючи коефіцієнт водопоглинання.

Стадія 2. Ремацерація. Загальна кількість екстрагента поділяється на 3 частини, перша частина заливається у мацераційний бак з рослинною сировиною, нагрівається до температури 80 °С та настоюється протягом 60 хв. Перша частина екстрагента зливається та додається свіжий екстрагент та продовжується процес екстрагування протягом 60 хв. Друга частина екстрагента зливається до першого вилучення та додається свіжий екстрагент та продовжується процес екстрагування 60 хв.

Стадія 3. Декантація, фільтрування. Третє вилучення додають до двох попередніх частин екстракту та перемішують. Декантацію отриманого водного екстракту проводять у збірнику, обладнаного оболонкою для охолодження. Водний екстракт декантують при температурі 5–8 °С протягом 48 годин для отримання прозорі

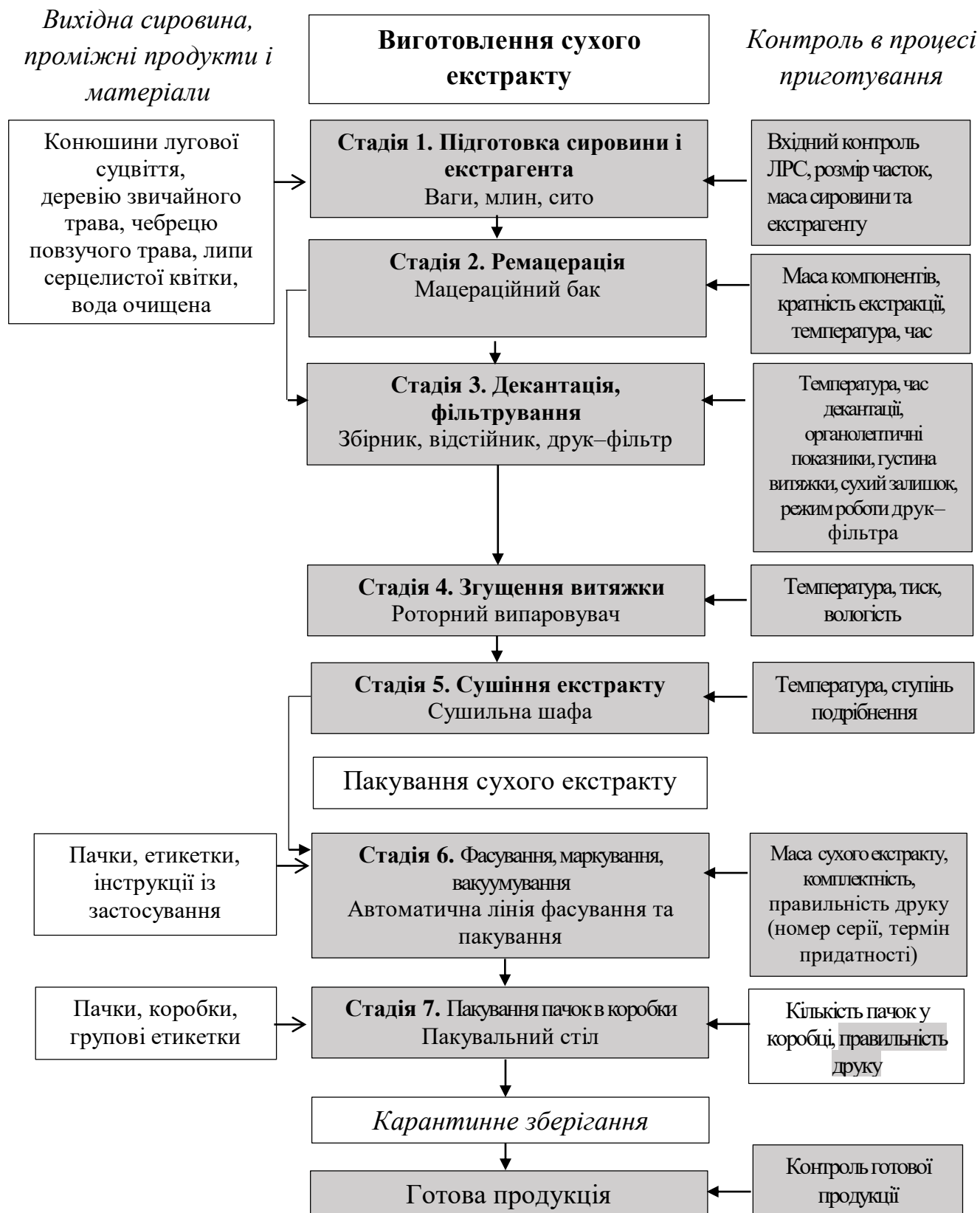


Рис. 3.12 Технологічна схема виробництва сухого екстракту в умовах промисловості

рідини. Відстояну в збірнику витяжку за допомогою насоса подають у друк-фільтр і фільтрують над надлишковим тиском (фільтруючий матеріал капрон або бязь) у збірник.

Стадія 4. Згущення витяжки. Упарюють витяжку у роторному випаровувачі при температурі 75–80 °С і глибині вакууму 700 ± 10 мм.рт.ст. Упарювання проводять до одержання концентрату із вологістю не більше 25 %, після цього одержаний концентрат передають на стадію сушіння екстракту.

Стадія 5. Сушіння екстракту. Сушіння згущеної витяжки відбувається в сушильній шафі при температурі не вище 80 °С. Отриманий сухий екстракт подрібнюють за допомогою млина і передають на стадії фасування та пакування екстракту.

Стадія 6–7. Фасування, пакування та маркування готової продукції. Операцію фасування та пакування сухого екстракту виконують на автоматах для фасування та пакування та на пакувальному столі.

Контроль якості готової продукції здійснюють згідно з МКЯ у лабораторному відділі контролю якості.

3.12 Визначення показників якості сухого екстракту «Флавоклім»

Для проведення контролю якості розробленого складного сухого екстракту дотримувалися рекомендацій і методик, наведених у ДФУ 2.1 (п. 2.8.17, с. 115) для сухих екстрактів [234]. Дослідження проводили на 5 серіях отриманого сухого екстракту.

Якість розробленого сухого екстракту для терапії клімактеричних розладів під умовною назвою «Флавоклім» контролювали за наступними показниками: зовнішній вигляд, втрата в масі при висушуванні, ідентифікація, кількісне визначення та мікробіологічна чистота.

Зовнішній вигляд розробленого сухого екстракту

Отриманий складний сухий екстракт – аморфний порошок коричневого кольору. Запах специфічний. Смак гіркувато–солодкий.

Випробування втрати в масі при висушуванні

Втрату в масі при висушуванні визначали за допомогою аналізатора вологи Sartorius MA150C (Німеччина). Проведені дослідження з визначення вологовмісту сухого екстракту показали відповідність загальній статті ДФУ – $4,28 \pm 0,15$ %.

Отримані дані наведено в табл. 3.16. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до технологічної інструкції та проекту МКЯ на сухий екстракт вимоги до втрати в масі при висушуванні не більше 4,5 %.

Мікробіологічна чистота

Визначення мікробіологічної чистоти сухого екстракту проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Випробування мікробіологічної чистоти рослинних лікарських засобів для орального застосування та екстрактів, що використовують при їх виготовленні» (п. 2.6.12, с. 251, п. 2.6.31., с. 310) [186]. За показниками мікробіологічної чистоти екстракт відповідає вимогам ДФУ категорії А.

Результати досліджень за показниками якості збору «Флавоклім» наведено у таблиці 3.16.

Таблиця 3.16

Результати дослідження показників якості на сухий екстракт «Флавоклім»

Параметр, розмірність	Результат дослідження
1	2
Опис	Аморфний порошок коричневого кольору. Запах специфічний. Смак гіркувато–солодкий
Ідентифікація <i>Флавоноїди</i>	Якісні реакції А. Реакція Сальковського Утворюється забарвлення на границі розподілу фаз
Втрата в масі при висушуванні, %	$4,35 \pm 0,11$
Маса вмісту пакування: екстракту у повітронепроникних контейнерах, г	$10,15 \pm 0,66$
Мікробіологічна чистота ТАМС: не більше 10^7 КУО/г; ТУМС: не більше 10^5 КУО/г;	до 250 -

Продовж. табл. 3.16

1	2
<i>Escherichia coli</i> : не більше 10^3 КУО/г;	$2,40 \times 10^4$
<i>Salmonella</i> в 25,0 г – відсутність	$2,10 \times 10^3$
Кількісне визначення Вміст речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту, %	$23,5 \pm 0,2$
Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин, %	$2,5 \pm 0,1$
Пакування	10,0 г сухого екстракту у повітронепроникних контейнерах

Ідентифікації БАР сухого екстракту за допомогою якісних реакцій

Ідентифікацію флавоноїдів проводили за допомогою групових кольорових реакцій. Досліджуваний сухий екстракт за результатами утворюваних реакцій з реактивами, які описані у 2 розділі, має у своєму складі речовини флавоноїдної природи.

Групу речовин флавоноїдної будови ідентифікували за допомогою кольорових реакцій: з розчином заліза (III) хлориду (утворення темно-зеленого забарвлення), ціанідинова проба (спостерігалось рожеве забарвлення), зі спиртовим розчином калію гідроксиду (утворення жовто-оранжевого забарвлення) та реакцію Сальковського, в результаті якої виникає червоно-оранжеве забарвлення на межі двох шарів розчинників. До НД запропоновано ввести реакцію Сальковського.

Кількісне визначення діючих речовин у сухому екстракті

Кількісне визначення флавоноїдів та поліфенолів проводили спектрофотометричним методом в УФ-області спектрів. Вимірюванні оптичної густини при довжині хвилі в максимумах поглинання розчинів речовин, що аналізуються, і розчинів їх забарвлених комплексів виконували за методиками, які описані у 2 розділі.

За результатами кількісного визначення сухий екстракт містить 23,5 % поліфенолів у перерахунку на галову кислоту та 2,5 % флавоноїдних сполук у перерахунку на рутин.

На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до методів контролю якості лікарського засобу на сухий екстракт вимоги до кількісного вмісту речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту не менше 22 % та флавоноїдних сполук у перерахунку на рутин не менше 2 %.

3.13 Дослідження стабільності сухого екстракту «Флавоклім» у процесі зберігання

Для вивчення стабільності розробленого складного сухого екстракту нами проводилися дослідження показників якості його зразків фізико-хімічними, хімічними, фармакогностичними, технологічними та біологічними методами. Зберігали досліджувані зразки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі до 25 °С протягом 15 місяців.

Упродовж зазначеного терміну сухий екстракт кожні 3 місяця зберігання проводили контроль якості за такими показниками: органолептичні характеристики (зовнішній вигляд, колір, запах, смак), втрата в масі при висушуванні, ідентифікація, кількісне визначення діючих речовин та мікробіологічна чистота. Результати досліджень наведені у таблиці 3.17.

Як видно з наведених результатів, протягом 15 місяців розроблений сухий екстракт, закладений на зберігання, при даному температурному режимі за зовнішніми ознаками, запахом та смаком відповідають початковому показнику та вимогам ДФУ [234]. У ході досліджень встановлено, втрата в масі при висушуванні зразків протягом 12 зберігання не перевищувала 4,5 % і знаходилася в межах 4,16–4,53 %. Однак після перевищення цього терміну вологовміст в екстракті збільшується і не відповідає нормам, закладеним в НД.

Проведеним аналізом доведено, що у досліджуваних зразках сухого екстракту зберігаються основні групи діючих речовин. Хроматографічним аналізом встановлено

Таблиця 3.17

Результати дослідження стабільності сухого екстракту при температурі зберігання 25 ± 2 °С у повітронепроникних контейнерах (n=5, P=95 %)

Показник якості	Термін зберігання, міс.						
	Норма	Початок	3	6	9	12	15
Зовнішній вигляд	Аморфний порошок коричневого кольору. Запах специфічний. Смак гіркувато–солодкий	Аморфний порошок коричневого кольору. Запах специфічний. Смак гіркувато–солодкий					
Втрата у масі при висушуванні, %	не більше 4,5 %	4,21 ± 0,05	4,23 ± 0,05	4,25 ± 0,05	4,24 ± 0,05	4,29 ± 0,05	4,48 ± 0,05
Ідентифікація <i>Флавоноїди</i>	Реакція Сальковського Утворюється забарвлення на границі розподілу фаз	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення: поліфенолів у перерахунку на галову кислоту, % флавоноїдів у перерахунку на рутин, %	не менше 22 %	23,52 ± 0,01	23,51 ± 0,02	23,49 ± 0,02	23,48 ± 0,03	23,45 ± 0,02	23,42 ± 0,02
	не менше 2 %	2,51 ± 0,01	2,50 ± 0,01	2,50 ± 0,02	2,49 ± 0,02	2,48 ± 0,01	2,47 ± 0,01
Мікробіологічна чистота: ТАМС, КУО/г; ТУМС, КУО/г; <i>Escherichia coli</i> : КУО/г; відсутність <i>Salmonella</i>	$\leq 10^7$ КУО/г $\leq 10^5$ КУО/г $\leq 10^3$ КУО/г відсутність в 25,0 г.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Маса вмісту пакування	10,0 ± 3 %	10,15 ± 0,66	10,15 ± 0,66	10,17 ± 0,71	10,17 ± 0,72	10,18 ± 0,75	10,17 ± 0,65

присутність основних компонентів флавоноїдної природи у сухому екстракті. Сума біологічно активних речовин (флавоноїдів) у перерахунку на рутин протягом терміну зберігання складає 2,46–2,52 %, вміст поліфенолів у перерахунку на галову кислоту у препараті становить 23,40–23,53 %.

Згідно проведеного дослідження встановили, що протягом усього зазначеного терміну спостереження показники якості, за якими контролювали сухий екстракт, відповідав за всіма показниками до вимог МКЯ, що представлено у табл. 3.18.

Враховуючи результати проведених досліджень, можна зазначити, що розроблений сухий екстракт у поліетиленових пакетах, вкладені в пачки з картону залишається стабільним впродовж 12 місяців та не втрачає у процесі зберігання своїх якісних показників і відповідає вимогам проєкту МКЯ та ДФУ на сухі екстракти. Щодає можливість рекомендувати термін зберігання сухого екстракту в оригінальному пакуванні в повітронепроникних контейнерах – 1 рік при температурі, що не перевищує 25 °С в захищеному від світла місці.

За проведеними дослідженнями у табл. 3.18 наведено показники та дані контролю якості розробленого сухого екстракту.

Таблиця 3.18

Специфікація до проєкту МКЯ на розроблений сухий екстракт

Параметр	Допустима межа	Метод контролю
1	2	3
Опис	Аморфний порошок коричневого кольору. Запах специфічний. Смак гіркувато–солодкий	За п. 1 проєкту МКЯ. Візуально, органолептично
Ідентифікація <i>Флавоноїди</i>	Якісні реакції А. Реакція Сальковського Має утворюватися забарвлення на границі розподілу фаз	За п. 2 проєкту МКЯ. Візуально
Випробовування		
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 4,5 %	За п. 3 проєкту МКЯ, ДФУ, 2.2.32

Продовж. табл. 3.18

1	2	3
Маса вмісту пакування: екстракту у пакетах поліетиленових	10,15 ± 0,66	За п. 4 проєкту МКЯ
Мікробіологічна чистота	Критерій прийнятності, Категорія А: ТАМС: не більше 10 ⁷ КУО/г; ТУМС: не більше 10 ⁵ КУО/г; <i>Escherichia coli</i> : не більше 10 ³ КУО/г; відсутність <i>Salmonella</i> в 25,0 г	За п. 5 проєкту МКЯ ДФУ, 2.6.12, 2.6.31
Кількісне визначення <i>Вміст речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту</i> <i>Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин</i>	Не менше 22 % у перерахунку на галову кислоту Не менше 2 % у перерахунку на рутин	За п. 6 проєкту МКЯ За п. 7 проєкту МКЯ
Пакування	10,0 г сухого екстракту у повітронепроникних контейнерах	За п. 8 проєкту МКЯ
Маркування	Згідно з оригінал-макетом пакування	За п. 9 проєкту МКЯ
Зберігання	В оригінальному пакуванні при температурі, що не перевищує 25 °С	За п. 10 проєкту МКЯ
Термін придатності	1 рік	За п. 11 проєкту МКЯ

Висновки до розділу 3

1. У результаті проведених досліджень встановлена відповідність лікарської рослинної сировини, що входить до складу лікарського збору вимогам відповідних монографій ДФУ на конкретний вид ЛРС.

2. Визначено основні технологічні параметри лікарської рослинної сировини, що входить до складу фітокомпозиції, які підтвердили, що ЛРС характеризується низькими значеннями питомої, об'ємної і насипної маси та

високими значеннями пористості, порізності, вільного об'єму шару сировини.

3. На підставі фармакотехнологічних досліджень вивчено вплив параметрів екстрагування на склад отриманих водних витягів з розробленого збору. Визначено, що оптимальним режимом екстракції водного витягу є настоювання на водяній бані (температура води – 90 ± 5 °C) впродовж 15 хв, настоювання при кімнатній температурі до охолодження – 30–45 хв.

4. Розроблено технологію виготовлення збору в аптечних та промислових умовах. Результати експерименту використані при розробці інформаційного листа на збір. Розроблено технологічну інструкції на збір, технологію збору апробовано в умовах низки виробничих аптек (додатки Г, Д).

5. Розроблено технологію виробництва сухого екстракту з розробленого збору в промислових умовах.

6. Розроблена методика кількісного визначення флавоноїдів у перерахунку на рутин та поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту у зборі та екстракті методом спектрофотометрії.

7. Визначено показники якості та розроблено специфікацію до технологічної інструкції та проєкту МКЯ на збір та сухий водний екстракт. Експериментально доведена стабільність збору протягом двох років зберігання при температурі 25 ± 2 °C у пакеті поліетиленовому, вкладеному в пачки з картону та сухого екстракту у повітронепроникних контейнерах, вкладених у пачки з картону при температурі 25 ± 2 °C протягом року зберігання. За результатами досліджень обрано термін та умови зберігання збору та екстракту.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Залежність ступеня вилучення екстрактивних речовин від дисперсності лікарського рослинного збору для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : збірник наукових праць, випуск 3. Харків : НФаУ, 2017. С. 157–159.

2. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Технологія виготовлення в умовах аптеки збору для лікування клімактеричного синдрому. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць, випуск 4. Харків : НФаУ, 2018. С. 115–117.
3. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research of the pharmaceutical composition development for climacteric syndrome therapy. *Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології* : Матеріали науково-практичної конференції, присвяченій 160-річчю з дня народження видатного українського патолога, ендокринолога, імунолога, мікробіолога професора Володимира Валеріановича Підвисоцького та Дню Фармацевта, м. Одеса, 15 вересня 2017 р. Одеса: Міжнародний гуманітарний університет, 2017. С. 33–35.
4. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Вплив часу та температури на вихід екстрактивних речовин при екстракції збору для корекції клімактеричного синдрому. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 14–15 листопада 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. С. 107–108.
5. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Розробка методик стандартизації лікарського рослинного збору для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків, 26–28 листоп. 2018 р. Харків: НФаУ, 2018. С. 100–101.
6. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection. *Annals of Mechnikov Institute*, N. 3, 2019. P. 50–53.
7. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Бевз Н. Ю. Разработка методик контроля качества настоя из гинекологического лекарственного растительного сбора. *Norwegian Journal of development of the International Science: Pharmaceutics*. 2019. № 35 (2) С. 43–48.
8. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів : інформ. лист. №382–2018. Київ, 2018. 4 с.

РОЗДІЛ 4
РОЗРОБКА СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТУ «ФЛАВОКЛІМ–ПЛЮС»

4.1 Контроль якості вхідної лікарської рослинної сировини

Створення багатокомпонентних рослинних композицій, які містять біологічно активні речовини з різноманітним спектром фармакологічної дії є одним зі шляхів збільшення асортименту вітчизняного ринку фітопрепаратів.

На основі літературних даних та використання комп'ютерного прогнозу фармакологічної активності хімічних речовин за програмою PASS [238] створена композиція, що містить суміш ЛРС (шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя), у співвідношенні 4:4:2, яка повинна забезпечувати седативну, естрогенну, вегето–судинну дії та регулювати ліпідний обмін [239].

Першим необхідним етапом розробки препарату була ідентифікація та визначення показників якості сировини, що входить до складу фітокомпозиції (табл. 4.1 та 4.2).

Таблиця 4.1

Випробування лікарської рослинної сировини, що входить до складу
фітокомпозиції (n=5, P=95 %)

Показник, розмірність	Лікарська рослинна сировина					
	Шавлії лікарської листя		Хмелю звичайного шишки		Кропиви дводомної листя	
	Норма за ДФУ	Результат досліджен ня	Норма за ДФУ	Результат досліджен ня	Норма за ДФУ	Результат досліджен ня
1	2	3	4	5	6	7
Втрата в масі при висушуванні, %	не≤14,0	9,2±0,2	не≤10,0	7,3±0,1	не≤12,0	9,5±0,3
Загальна зола, %	не≤12,0	8,9±0,1	не≤12,0	10,1±0,1	не≤20,0	14,8±0,2

Продовж табл. 4.1

1	2	3	4	5	6	7
Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті, %	–	1,2±0,2	–	1,5±0,1	не≤4,0	2,2±0,1
Екстрактивні речовини, %						
– вода очищена	–	18,4±0,2	не≥25,0	22,1±0,2	–	21,2±0,1
– етанол 40 %		22,1±0,2		28,5±0,2		24,7±0,1
– етанол 70 %		27,4±0,2		31,4±0,2		27,8±0,1
Ідентифікація: за ДФУ	На хроматограмі випробуваного розчину виявляються зони туйону у вигляді рожевувато–фіолетової плями та цинеолу у вигляді синьої плями		На хроматограмі випробуваного розчину виявляються зони, відповідні хумулону, виявляють коричневу флуоресценцію та лупулону – синю флуоресценцію		На хроматограмі розчину порівняння виявляються зони, відповідні скополетину та хлорогеновій кислоті у вигляді синіх плям	
Випробовування	відповідає вимогам ДФУ		відповідає вимогам ДФУ		відповідає вимогам ДФУ	


Примітки: «–» – значень не наведено

Дослідження проводили згідно вимог ДФУ 2.0. за методами, наведеними в розділі 2. Результати випробувань наведені в табл. 4.1 та 4.2 свідчать про те, що лікарська рослинна сировина відповідає вимогам ДФУ 2.0 [181].

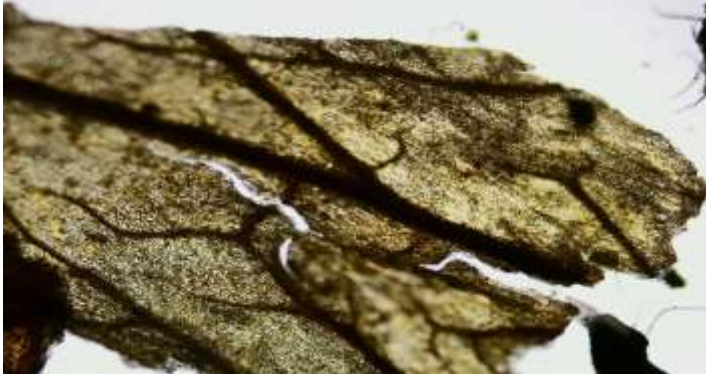
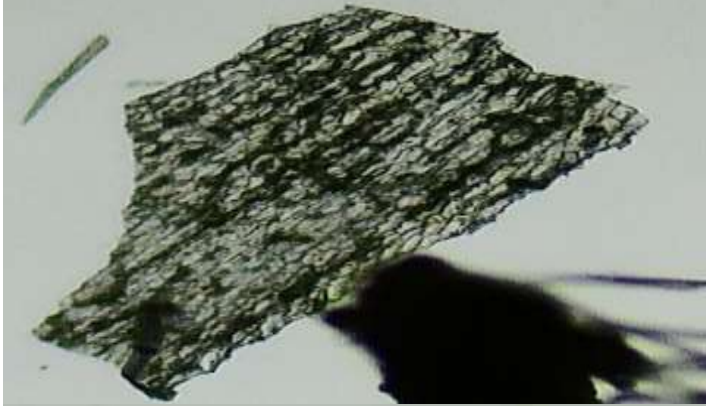

Розробка екстракційного лікарського засобу з лікарської рослинної сировини згідно запропонованого алгоритму включає декілька стадій: дослідження якості лікарської рослинної сировини, фармакотехнологічні дослідження лікарської рослинної сировини, вибір раціонального екстрагенту, визначення критеріїв ефективності екстракції (метод екстракції, кратність, час тощо), стандартизація та визначення умов зберігання розробленого засобу, дослідження фармакологічної активності та токсичності лікарських засобів [240–243].

Таблиця 4.2

Ідентифікація лікарської рослинної сировини, що входить до складу розробленої фітокомпозиції

Лікарська рослинна сировина	Опис	Ідентифікація	Діагностична характеристика, фото
1	2	3	4
Шавлії лікарської листя	Суміш шматочків листків і цільних листків, кількісно менше у ній представлені шматочки стебел. Сировина густо опушена. Колір листків зеленого, сірувато-зеленого або сріблясто-білого кольору. Запах своєрідний, ароматний. Смак гіркувато-пряний, в'язучий.	<p>1. Зеленого або сіруватого кольору.</p> <p>2. У сировині діагностовано фрагменти багатокутних клітин із слабозвивистими стінками верхньої епідерми листочка та фрагменти нижньої епідерми з більш звивистими стінками.</p> <p>3. Присутні продихи, які оточені двома навколопродиховими клітинами та ефіроолійні залозки округлої форми з обох сторін листка.</p> <p>4. Яскравовираженою діагностичною ознакою сировини є прості багатоклітинні довгі волоски, дрібні волоски з короткою ніжкою і кулястою 1–2-клітинною головкою.</p>	
Хмелю звичайного шишки	Шишки хмелю поодинокі, від 2 до 5 см завдовжки, черешкові, яйцеподібні; складаються із чисельних овальних,	<p>1. Зеленовато-жовтого кольору.</p> <p>2. У сировині виявляються такі діагностичні структури: фрагменти покривних листочків і приквітків із багатокутних, неправильної форми клітин епідерми зі звивистими оболонками.</p>	

Продовж. табл. 4.2

1	2	3	4
	<p>зеленувато–жовтих, сидячих, плівчастих покривних листочків, що сплюснені та симетричні. Запах характерний, ароматний.</p>	<p>3. Присутні залозисті волоски, звичайно вільні, із двоклітинною, дворядною ніжкою та голівкою із 8 дрібних клітин.</p> <p>4. Ярковираженою діагностичною ознакою сировини є померанчево–жовті залозки, які складаються із шару секреторних клітин із кутикулою з накопиченим смолистим вмістом.</p>	
Кропиви дводомної листя	<p>Листки цілі або частково подрібнені, прості, черешкові, яйцеподібно–ланцеподібні, загострені.</p> <p>Поверхня листка шорстко-волосиста, жилкування сітчасте, жилки помітно виступають на нижній поверхні листка. Листки темно–зелені, черешки – зелені. Запах слабкий. Смак гіркуватий.</p>	<p>1. Зеленого або сірувато–зеленого кольору.</p> <p>2. У сировині виявляються такі діагностичні структури: фрагменти одноклітинних жалких волосків, звивисті клітини нижньої епідерми, продихи, що оточені 3–5 клітинами епідерми (аномоцитний тип), дрібні групи судин, які супроводжуються паренхімою із друзами оксалату кальцію.</p> <p>3. Яскраво вираженою діагностичною ознакою сировини є ретортоподібні волоски із розширеною основою і витягнутою верхівкою, жалкі волоски з багатоклітинною підставкою і великою кінцевою клітиною, яка закінчується голівкою, що обламується.</p>	 

4.2 Вивчення технологічних властивостей лікарської рослинної сировини, яка входить до складу фітокомпозиції

Подальші дослідження були направлені на визначення технологічних параметрів ЛРС, які впливають на повноту екстракції. Першою стадією переробки сировини є подрібнення, яким визначаються послідовні режими технологічних процесів. Здрібненість сировини є одним із основних факторів, який прискорює процес екстракції біологічно активних речовин [181].

Однорідність часток досягалася за допомогою млину роторного ножового РМ–250. Основним завданням при подрібненні сировини можна вважати пошкодження її структури і збільшення площі екстракції. При пошкодженні структури сировини частина клітин відкривається і при екстракції вміст розкритих клітин легко вимивається екстрагентом. Внаслідок цього при екстракції сировини виникає розчинення і швидке вимивання речовини із пошкоджених клітин і повільна дифузія розчинних речовин із непошкоджених клітин [235].

Якість підготовки ЛРС оцінюється ситовим аналізом, який є кількісною характеристикою фракційного складу суміші подрібненої лікарської рослинної сировини.

Визначним параметром його є середньозважений розмір часток. Результати досліджень фракційного складу суміші подрібненої ЛРС та фітокомпозиції наведені у табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Фракційний аналіз лікарської рослинної сировини та фітокомпозиції (n=5, P=95 %)

Лікарська рослинна сировина	Діаметр сит, мм / Кількість сировини, що пройшла крізь сито, %										
	10	7	5	4,5	3,25	2,0	1,4	1,0	0,7	0,5	Піддон (пил)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Шавлії лікарської листя	0,06	0,37	1,29	2,68	15,5	18,5	21,1	23,47	4,79	4,27	7,97

Продовж. табл. 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Хмелю звичайного шишки	0,81	3,28	3,34	1,19	4,5	10,5	16,8	20,16	14,66	14,1	10,66
Кропиви дводомної листя	0,10	0,74	0,85	1,34	3,32	13,8	16,9	17,28	21,65	16,5	7,52
Фітокомпозиція	0,18	1,55	1,78	1,55	5,61	16,8	18,9	18,48	14,55	12,5	8,1

Фракційний аналіз показав, що близько 78 % фракції фітокомпозиції проходить через сита діаметром пор від 2,0 до 0,5 мм, що відповідає вимогам ДФУ [186]. Дані ситового аналізу вказують на те, що сировина обраних рослин є помірно крихкою і добре подрібнюється до необхідних розмірів для виготовлення екстракту.

Для розрахунку проведення процесу екстрагування необхідно знати наступні технологічні параметри лікарської рослинної сировини: вміст вологи, поглинання сировиною екстрагенту; питому, об'ємну та насипну маси, пористість, порізність і вільний об'єм шару сировини та ін., методики визначення яких наведені у 2 розділі.

Зазначені технологічні показники дозволяють визначити об'єм, який займає суха і набухла ЛРС, необхідні співвідношення сировини до готового продукту, і спрогнозувати об'єм мацераційного баку чи екстрактора–перколятора, обрати необхідне обладнання для здійснення процесу подрібнення ЛРС, екстракції та транспортування готового екстракту.

Результати визначення технологічних параметрів розробленої фітокомпозиції та її компонентів наведені у табл. 4.4.

Проведені технологічні дослідження підтвердили, що обрана ЛРС (шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишки, кропиви дводомної листя) і її суміш характеризується низьким значенням насипної маси (від 0,091 г/см³ у листя кропиви до 0,125 г/см³ у листя шавлії) і високою порізністю (у межах від 0,39 до 0,88, див. табл. 4.4). В умовах промислового виробництва фітопрепаратів сировину з низькою насипною масою і високою порізністю прийнято при завантаженні утрамбовувати в

екстрактор. Цю операцію проводять з одноразовим замочуванням сировини, що дає змогу в значній мірі знизити порожнини між частинками подрібненої ЛРС.

Таблиця 4.4

Технологічні параметри розробленої фітокомпозиції та її компонентів
(n=5, P=95 %)

Параметр, розмірність	Лікарська рослинна сировина			
	Шавлії лікарської листя	Хмелю звичайного шишки	Кропиви двodomної листя	Фітокомпози ція
Вологовміст, %	7,74 ± 0,2	5,81 ± 0,1	8,56 ± 0,3	7,4 ± 0,1
Питома маса (d_{Π}), г/см ³	0,746 ± 0,113	0,975 ± 0,121	0,751 ± 0,125	0,957 ± 0,125
Об'ємна маса (d_o), г/см ³	0,091 ± 0,015	0,225 ± 0,025	0,1116 ± 0,010	0,115 ± 0,035
Насипна маса (d_{Π}), г/см ³	0,125 ± 0,012	0,111 ± 0,013	0,0912 ± 0,011	0,121 ± 0,011
Пористість сировини (Pc)	0,667 ± 0,022	0,921 ± 0,031	0,575 ± 0,042	0,87 ± 0,075
Порізність шару (Пш)	0,39 ± 0,03	0,88 ± 0,01	0,51 ± 0,012	0,65 ± 0,011
Вільний об'єм шару (V)	0,878 ± 0,113	0,891 ± 0,110	0,801 ± 0,111	0,87 ± 0,012
Плинність, сек/100,0 г	45,48 ± 2,16	67,32 ± 3,25	51,43 ± 1,25	47,55 ± 1,15
Кут природного укоосу, град.	30,1 ± 0,15	33,2 ± 0,11	36,5 ± 0,15	33,7 ± 0,55

Усі зразки володіли високою пористістю (0,6 – 0,92). Цей показник свідчить, що при набуханні в процесі екстрагування буде утворюватися більше внутрішнього соку, що сприятиме молекулярній дифузії біологічно активних речовин.

Об'ємна маса досліджуваних зразків ЛРС відрізнялась і мала значення в межах (0,09 – 0,23) г/см³. Це пов'язано з тим, що шишки хмелю звичайного займають великий об'єм через свою структуру. Це важливий параметр, який враховують при використанні різних рослин і ЛРС для забезпечування рівномірного змішування складників та попередження їх розшаровування. Вільний об'єм шару для кожної ЛРС та їх суміші мав високі значення (0,80 – 0,89), що підтверджує необхідність

застосування більших об'ємів екстрагенту для змочування ЛРС й утримання її при завантаженні в екстракційний прилад.

Експериментальні дані (табл. 4.4) підтверджують залежність питомої та об'ємної мас від гістологічної будови ЛРС. Різниця між цими показниками є свідченням того, що листя кропиви та шавлії й шишки хмелю характеризуються низьким значенням об'ємної маси порівняно з питомою масою. Сировина займає великий об'єм, що потрібно врахувати при розрахунках співвідношення ЛРС і готового продукту, виборі розміру екстрактора, особливостей завантаження сировини тощо.

Важливою характеристикою у процесі екстрагування рослинної сировини є показник поглинання екстрагенту (K_p), що характеризує кількість екстрагенту, який заповнює міжклітинний простір і повітряні порожнини у сировині. Зазначений показник визначають при розрахунку об'єму екстрагенту, який необхідно взяти для приготування екстракційного препарату. Величина коефіцієнта поглинання залежить від ступеня подрібнення, пористості, вологості та гістологічної будови ЛРС, виду екстрагенту тощо. Коефіцієнт розраховували як співвідношення маси відпрацьованої ЛРС після набухання і повного відтискання (m_3) до маси сухої сировини (m_1) [181].

При визначенні коефіцієнта поглинання використовували такі екстрагенти: спирт етиловий 40 та 70 %. Результати визначення показника наведено в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Коефіцієнт поглинання екстрагенту фітокомпозицією

Маса суміші ЛРС (m_1)	Суміш ЛРС			Статистична обробка результатів
	Маса ЛРС після 5 годин настоювання (m_2)	Маса ЛРС без екстрагенту (m_3)	K_p	
1	2	3	4	5
Етанол 40 %				
10,02	38,31	34,21	3,42	$3,48 \pm 0,01$
10,00	39,12	34,88	3,49	
10,00	39,58	35,11	3,51	
10,01	38,56	34,42	3,44	
10,01	38,89	34,68	3,47	

Продовж. табл. 4.5

1	2	3	4	5
Етанол 70 %				
10,00	41,22	37,25	3,73	$3,7 \pm 0,01$
10,03	41,35	37,35	3,74	
10,01	42,10	37,62	3,76	
10,02	41,05	37,09	3,71	
10,01	41,17	37,33	3,73	

Експериментально встановлено, що числовий показник при визначенні коефіцієнта поглинання 70 % спирту етилового сумішшю ЛРС (шавлії лікарської листя: хмелю звичайного шишки: кропиви дводомної листя у співвідношенні 4 : 4 : 2) для приготування екстракту фітокомпозиції становить $3,7 \pm 0,01$. При екстрагуванні водою очищеною коефіцієнт поглинання складав $3,3 \pm 0,01$, спиртом етиловим 40 % – $3,48 \pm 0,01$, це пов'язано з тим, що етанол більше заповнює міжклітинний простір у порівнянні з неорганічним розчинником.

Показник набухання (K_n) – це об'єм, що займає 1,0 г випробовуваної ЛРС після її набухання у рідкому середовищі протягом 4 год. Даний показник впливає на вибір рівня завантаження екстрактора, часу екстрагування і кількості екстрагента [181]. Визначений коефіцієнт набухання фітокомпозиції в 70 % спирті етиловому склав $9,6 \pm 0,5$ та в 40 % спирті етиловому – $8,3 \pm 0,4$, що вказує на відносно помірну здатність ЛРС до набухання і можливість застосування екстракційного обладнання невеликих об'ємів.

За результатами дослідження можна зробити висновок, що розроблена фітокомпозиція є однорідною сумішшю і рослинна сировина не змінює свої технологічні властивості при змішуванні.

Наведені вище показники являються якісними параметрами, які дозволяють оцінити витратні норми сировини, необхідні об'єми обладнання, особливості підготовки ЛРС та враховані у процесі опрацювання технології екстракту.

4.3 Вивчення впливу технологічних параметрів на процес екстрагування біологічно активних речовин із фітокомпозиції

Для забезпечення ефективного вилучення БАР із рослинної сировини, належної швидкості екстрагування, економічних витрат на виробництво, безпеки при застосуванні, екстрагент має бути селективним до певних груп діючих речовин, які обумовлюють заявлений фармакологічний ефект. Важливою складовою є індиферентність до інших сполук, фармакологічна нейтральність, економічна та промислова доступність екстрагенту [244–247].

У технології екстрактів як екстрагент використовують спирт етиловий. Його концентрація варіюється в залежності від розчинності у ньому груп біологічно активних речовин, які необхідно екстрагувати – від 20 до 90 %. З огляду на те, що розроблений препарат передбачений для орального застосування та групи БАР екстрагуються спиртом етиловим концентрації вище 35 %, як екстрагент було обрано етанол 40 та 70 % [248–251].

На етапі обґрунтування ступеню подрібнення сировини та концентрації екстрагенту використовували метод мацерації. Екстрагування здійснювали за однакових умов, а саме стандартним методом мацерації на 40 та 70 % етанолі, використовуючи подрібнену і непросіяну ЛРС та її суміш (фітокомпозицію) з розміром часток 1–3, 3–4 та 4–6 мм [252]. Об'єм етанолу визначали з урахуванням коефіцієнту поглинання екстрагенту. Подрібнену сировину настоювали 7 діб при температурі, що не перевищує 25 °C і співвідношенні сировина : готовий продукт 1:10, відстоювання здійснювали при температурі 8–10 °C протягом 48 год. із метою седиментації баластних речовин, відстояний продукт декантували, фільтрували та доводили етанолом до потрібного об'єму.

Процес екстракції контролювали шляхом визначення в отриманих зразках кількісного вмісту екстрактивних речовин та флавоноїдів у перерахунку на рутин методом спектрофотометрії на спектрофотометрі Digitab U–2810 Spectrophotometer (фірма Hitachi, Японія).

Дослідження проводилися на базі кафедри аналітичної та екологічної хімії Факультету хімії Опольського Університету (м. Ополь, Республіка Польща) під керівництвом проф. П. Вечорек та доц. Гудзь Н. І.

На підставі аналізу літературних даних встановлено, що вибір аналітичної довжини хвилі і стандартного зразка для кількісного визначення суми флавоноїдів в препаратах рослинного походження здійснюється з використання декількох підходів:

1. з урахуванням близькості максимумів поглинання спектрів комплексів рутину, гіперозиду або іншого маркера з $AlCl_3$ та спектрів поглинання лікарської рослинної сировини і фітокомпозиції з $AlCl_3$;

2. з використанням коефіцієнту світлопоглинання певних активних маркерів для розрахунку вмісту суми флавоноїдів у субстанції відносно певного маркеру.

В таблиці 4.6, на підставі узагальнення результатів власних експериментальних досліджень і літературних даних, наведені ключові характеристики методики визначення сумарного вмісту флавоноїдів у обраній лікарській рослинній сировині та фітокомпозиції методом диференціальної спектрофотометрії: аналітична довжина хвилі та активний маркер.

Таблиця 4.6

Аналіз даних відносно максимумів поглинання маркерних сполук з класу флавоноїдів

Сировина	Екстрагент (етанол, концентрація, %)	λ_{\max} , нм	Активний маркер	Джерела літератури
1	2	3	4	5
Хмелю звичайного шишки	40	402	лютеолін, рутин	[255] [257] [258]
	70	406–409	рутин, кверцетин	[259] [254]
Шавлії лікарської листя	40	395–396	хризин, лютеолін, апигенін, рутин	[256] [257] [256] власні дослідження

Продовж. табл. 4.6

1	2	3	4	5
	70	396–397	лютеолін–7– глікозид, лютеолін, гіперозид, рутин	[253] [257] [257] власні дослідження
Кропиви двodomної листя	40	396–400	лютеолін, лютеолін–7– глікозид, гіперозид, рутин	[255] [253] [257] власні дослідження
	70	400–401	лютеолін, рутин	[255] власні дослідження
Фітокомпозиція	40	397–398	лютеолін–7– глікозид, гіперозид, лютеолін, рутин	[253] [257] [255] власні дослідження
	70	395–397	хризин, лютеолін, гіперозид, рутин	[256] [257] [257] власні дослідження

Наведені в табл. 4.6 дані свідчать про те, що вибір максимуму поглинання в більшості випадків проводиться з урахуванням близькості максимумів поглинання препарату та маркеру після додавання алюмінію (III) хлориду.

Найбільш простим і доступним методом ідентифікації та кількісного визначення поліфенольних сполук і контролю якості препаратів природного походження є метод диференціальної абсорбційної спектрофотометрії у видимій області спектра, що дозволяє визначати суму флавоноїдів в досліджуваних об'єктах [170, 239, 240].

Додавання алюмінію (III) хлориду та використання у якості компенсаційного розчину досліджуваних рослинних зразків без алюмінію (III) хлориду дає можливість усунути вплив інших забарвлених біологічно активних речовин окрім флавоноїдів, які поглинають світло [260, 261]. Принцип колориметричного методу з алюмінієм

(III) хлоридом полягає в тому, що алюміній (III) хлорид утворює комплекси з флавонами, флавоноїдами та хальконами [262–268].

Як показали дослідження, при подрібненні сировини до розміру 1–3 мм спостерігаються більш високі показники вивільнення екстрактивних речовин через руйнування клітин ЛРС (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Залежність виходу флавоноїдів та екстрактивних речовин від ступеня дисперсності фітокомпозиції та концентрації етанолу (n=5, P=95 %)

Ступінь дисперсності, мм	Концентрація етанолу, %	Сухий залишок, % / Екстрактивні речовини, %	Флавоноїди, мг/%
1–3	40	2,89 ± 0,09 / 15,35 ± 0,25	0,902 ± 0,021
3–4		2,75 ± 0,10 / 13,11 ± 0,12	0,813 ± 0,013
4–6		2,43 ± 0,11 / 12,88 ± 0,08	0,623 ± 0,015
1–3	70	4,23 ± 0,12 / 19,11 ± 0,21	1,205 ± 0,025
3–4		4,18 ± 0,10 / 18,52 ± 0,11	1,105 ± 0,015
4–6		3,88 ± 0,10 / 16,45 ± 0,15	0,912 ± 0,022

При розмірах часток 3–4 та 4–6 мм відбувається зменшення вивільнення екстрактивних речовин. Тому для подальших досліджень по обґрунтуванню параметрів екстрагування обрана фракція ЛРС 1–3 мм.

Результати кількісного визначення флавоноїдів в отриманих витяжках визначених з використанням модифікованого методу диференціальної спектрофотометрії наведені в табл. 4.8.

Отримані дані свідчать про те, що максимальний вихід екстрактивних речовин та суми флавоноїдів у перерахунку на рутин спостерігається при екстрагуванні сировини етанолом у концентрації 70 % (табл. 4.8, рис. 4.1, 4.2). Так, із шишок хмелю звичайного при екстрагуванні 70 % етанолом вилучається більше груп БАР

(хумулони, лупулони, пренілнарінгенін, рутин і т.д) у порівнянні із екстрагуванням 40 % етанолом.

Таблиця 4.8

Результати визначення сухого залишку та кількісного вмісту флавоноїдів у перерахунку на рутин в отриманих вилученнях

Найменування сировини	Вміст рутину, мг / % / Вміст сухого залишку, %			
	Етанол 40 %		Етанол 70 %	
Шишки хмелю звичайного	0,419 ± 0,014	2,1 ± 0,1	0,714 ± 0,031	2,6 ± 0,1
Листя шавлії лікарської	0,929 ± 0,021	2,5 ± 0,2	0,719 ± 0,022	3,1 ± 0,2
Листя кропиви дводомної	0,069 ± 0,001	0,8 ± 0,1	0,067 ± 0,001	1,7 ± 0,2
Фітокомпозиція	0,977 ± 0,022	3,2 ± 0,3	1,211 ± 0,039	5,1 ± 0,4

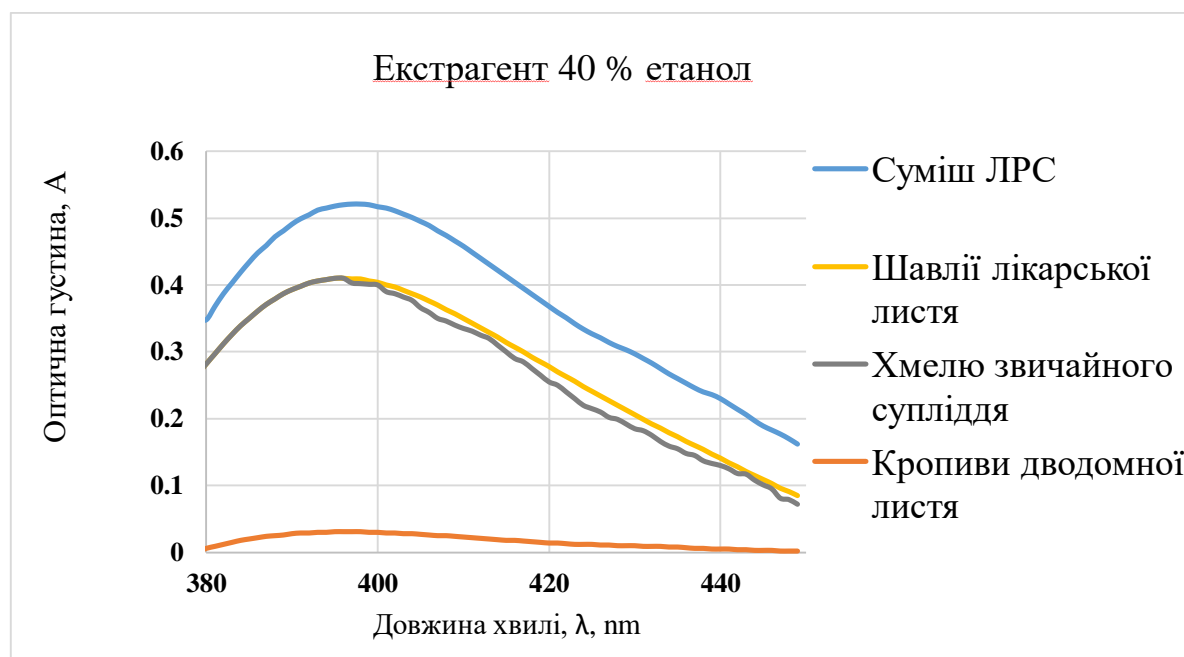


Рис. 4.1 Абсорбційний спектр поглинання досліджуваних вилучень при екстрагуванні 40 % етанолом та 0,001 % розчину СФЗ рутину після реакції з реактивом алюмінію хлориду

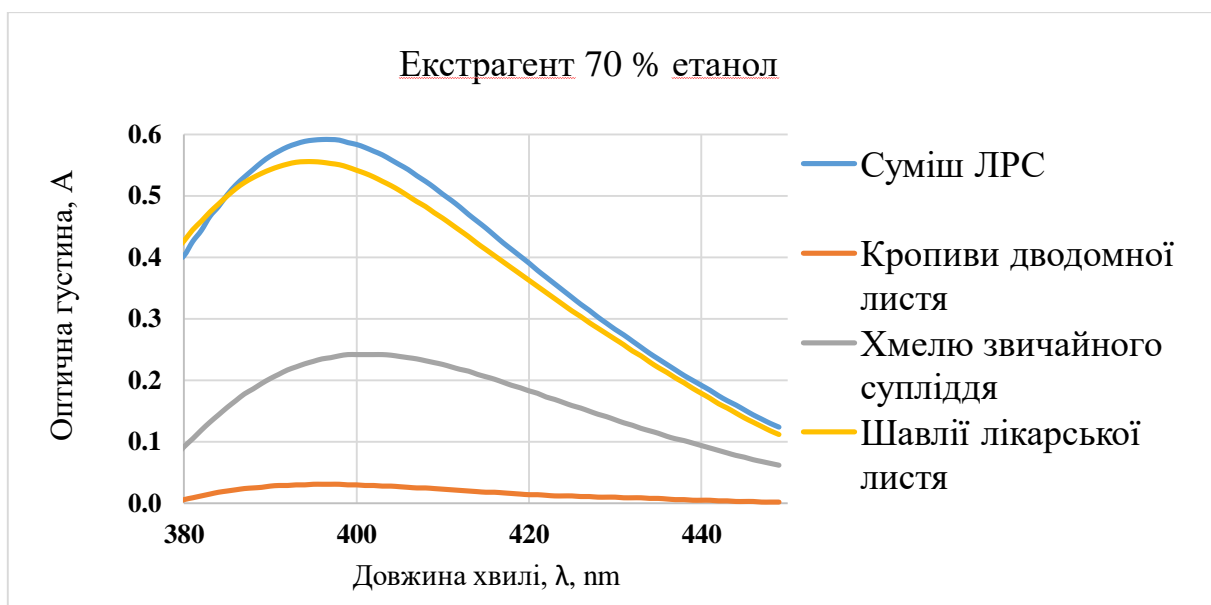


Рис. 4.2 Абсорбційний спектр поглинання досліджуваних вилучень при екстрагуванні 40 % етанолом та 0,001 % розчину СФЗ рутину після реакції з реактивом алюмінію хлориду

Із листя шавлії лікарської при екстрагуванні 40 % етанолом вилучається більше інших груп БАВ, а при екстрагуванні 70 % етанолом – більше флавоноїдних сполук, що для заданої фармакологічної активності є більш важливим фактором; для листя кропиви дводомної показники вмісту рутину та сухого залишку нижче у порівнянні з вищенаведеними ЛРС: це пов'язано з тим, що сировина у розробленій фітокомпозиції у співвідношенні до інших компонентів є у меншій кількості та має у своєму складі більше поліфенольних речовин та менше флавоноїдних сполук, що також відіграє важливу роль у прояві фармакологічного ефекту.

Таким чином, екстрагування 70 % етанолом забезпечує кращу ефективність вилучення БАВ з рослинної сировини при використанні методу мацерації. Слід зазначити, що мацерація не є ефективним, економічно вигідним методом і при цьому є часозатратним, тому обґрунтування умов екстрагування при отриманні екстракту фітокомпозиції проводили з використанням метод перколяції.

При обґрунтуванні параметрів екстракції методом перколяції, яку проводили в лабораторному фільтраційному екстракторі, кожен зразок відбирався фракційно з кроком DER 1 : 1 (drug extract ratio – співвідношення вихідного матеріалу й

одержаного екстракту). В екстрактор завантажували 50,0 г подрібненої сировини, подавали екстрагент до «дзеркала» і настоювали протягом 24 год. Після настоювання проводили перколяцію зі швидкістю 3–4 мл/хв. Зразки екстракту збирали окремо з кроком DER 1 : 1. Екстракцію проводили до одержання сумарного екстракту DER 1 : 10. У кожній із витяжок за допомогою аналізатора вологи Sartorius MA–150 (Німеччина) було досліджено кількість сухого залишку і на підставі отриманих даних розраховано вихід екстрактивних речовин протягом усього процесу екстракції для кожного виду сировини. З метою визначення оптимальних умов екстрагування сировини для кожного з експериментів була розрахована залежність основних критеріїв ефективності процесу екстрагування від зміни співвідношення «сировина : екстракт».

Вміст сухого залишку (A_n , г) в окремих порціях рідких екстрактів V_n , одержаних відповідним екстрагентом при відповідному співвідношенні «сировина : екстракт» визначають за формулою (4.1):

$$A_n = \frac{w_n \times V_n}{100}, \quad (4.1)$$

де V_n – об'єм окремо зібраної порції рідкого екстракту, одержаного екстрагентом із кроком співвідношення «сировина : екстракт» 1 : 1, мл;

w_n – сухий залишок в окремо зібраній порції рідкого екстракту n , %.

Вміст сухого залишку (B_n , г) у сумарних екстрактах V_{n+1} , одержаних екстрагентом при відповідному співвідношенні «сировина : екстракт», одержаних на стадії, визначають за формулою (4.2):

$$B_n = \sum_{n-1}^n A_n, \quad (4.2)$$

де A_n – сухий залишок в окремо зібраній порції екстракту V_n , г.

Вміст сухого залишку (C_n , %) в сумарних екстрактах V_{n+1} визначають за формулою (4.3):

$$C_n = \frac{B_n}{V_{n+1}} \cdot 100, \quad (4.3)$$

де V_{n+1} – об'єм сумарного екстракту на стадії, мл;

V_n – вміст сухого залишку в сумарних екстрактах V_{n+1} , г.

Визначення виходу екстрактивних речовин (абсолютно сухого екстракту) (D_n , %) з екстрагованої сировини на кожній зі стадій екстрагування відповідним екстрагентом при відповідному співвідношенні «сировина : екстракт» проводили за формулою (4.4):

$$D_n = \frac{B_n}{m_c} \cdot 100, \quad (4.4)$$

де m_c – маса сировини, завантаженої в екстрактор, г;

V_n – вміст сухого залишку в сумарних екстрактах V_{n+1} , г.

Характер зміни визначених критеріїв оцінки процесу в динаміці зміни співвідношення «сировина : екстракт» залежно від використаного екстрагенту наведено в табл. 4.9 та рис. 4.3.

Аналіз даних екстракції показав, що певне зменшення виходу екстрактивних речовин у витяжці з шишок хмелю відбувається після зразка № 6, з листя шавлії – після зразка № 5, листя кропиви – № 4 та витяжки з фітокомпозиції після зразка № 4 (рис. 4.3).

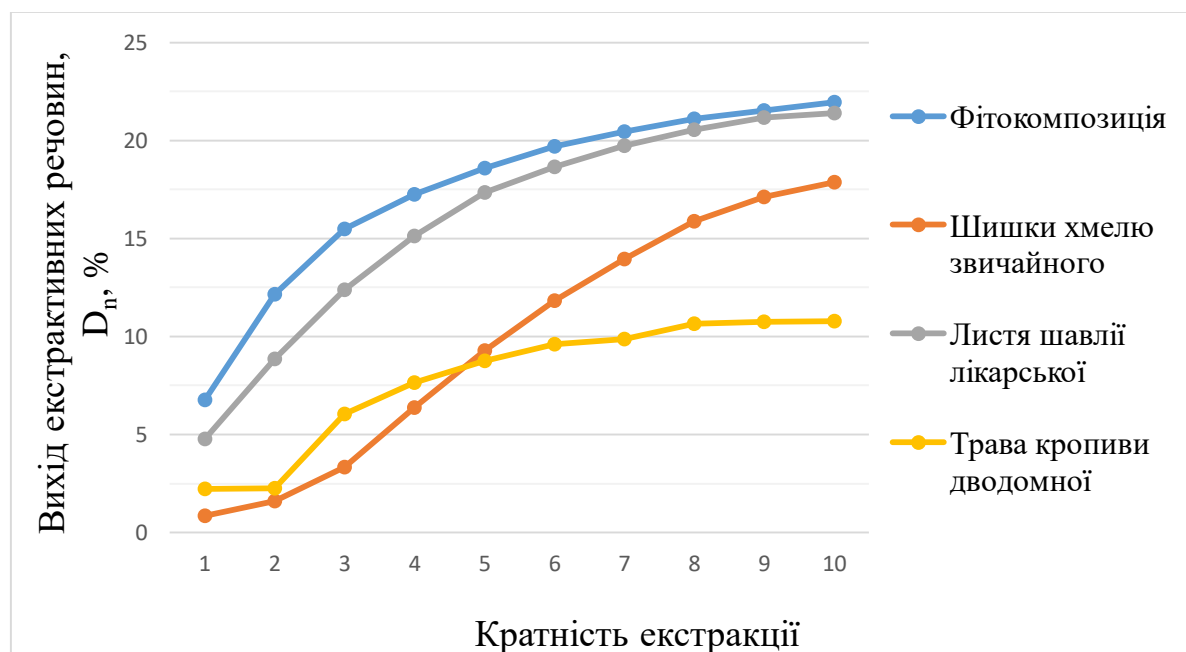


Рис. 4.3 Аналіз кратності екстракції досліджуваної сировини (n=5, P=95 %)

Таблиця 4.9

Визначення виходу екстрактивних речовин з фітокомпозиції та її компонентів

№ зразка	Drug–extract ratio (DER)	Об'єм окремої порції екстракту V _n , мл	Об'єм сумарного екстракту V _{n+1} на стадії, мл	Показник аналізатору вологи	Вміст сухого залишку, ω _n , г/100 мл	Вміст сухого залишку, A _n , г	Вміст сухого залишку, B _n , г	Вміст сухого залишку, C _n , %	Вихід екстрактивних речовин, D _n , %
Фітокомпозиція (шишки хмелю звичайного, листя шавлії лікарської, листя кропиви дводомної)									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1 : 1	50	50,00	3,39	6,78	3,39	3,39	6,78	6,78
2	1 : 2	50	100,00	2,68	5,36	2,68	6,07	6,07	12,14
3	1 : 3	50	150,00	1,68	3,35	1,68	7,75	5,16	15,49
4	1 : 4	50	200,00	0,89	1,77	0,89	8,63	4,32	17,26
5	1 : 5	50	250,00	0,67	1,33	0,67	9,23	3,72	18,59
6	1 : 6	50	300,00	0,55	1,09	0,55	9,84	3,28	19,68
7	1 : 7	50	350,00	0,38	0,76	0,38	10,22	2,92	20,44
8	1 : 8	50	400,00	0,33	0,65	0,33	10,55	2,66	21,09
9	1 : 9	50	450,00	0,23	0,45	0,23	10,77	2,39	21,54
10	1 : 10	50	500,00	0,21	0,41	0,21	10,98	2,11	21,95
Шишки хмелю звичайного									
1	1 : 1	50	50,00	1,67	3,33	1,67	1,67	0,84	3,34
2	1 : 2	50	100,00	1,53	3,05	1,53	3,19	3,19	6,38
3	1 : 3	50	150,00	1,45	2,89	1,45	4,63	3,09	9,28
4	1 : 4	50	200,00	1,27	2,54	1,27	5,91	2,96	11,82
5	1 : 5	50	250,00	1,08	2,15	1,08	6,98	2,80	13,96
6	1 : 6	50	300,00	0,97	1,93	0,97	7,94	2,65	15,88
7	1 : 7	50	350,00	0,62	1,23	0,62	8,56	2,45	17,12
8	1 : 8	50	400,00	0,38	0,75	0,38	8,94	2,35	17,88
9	1 : 9	50	450,00	0,12	0,23	0,12	9,05	2,01	18,1
10	1 : 10	50	500,00	0,03	0,05	0,03	9,08	1,82	18,16

Продовж. табл. 4.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Листя шавлії лікарської									
1	1 : 1	50	50,00	2,38	4,75	2,38	2,38	4,76	4,76
2	1 : 2	50	100,00	2,04	4,08	2,04	4,42	4,42	8,84
3	1 : 3	50	150,00	1,78	3,55	1,78	6,19	4,12	12,38
4	1 : 4	50	200,00	1,37	2,74	1,37	7,56	3,78	15,12
5	1 : 5	50	250,00	1,12	2,23	1,12	8,68	3,47	17,36
6	1 : 6	50	300,00	0,65	1,29	0,65	9,32	3,11	18,64
7	1 : 7	50	350,00	0,55	1,10	0,55	9,87	2,82	19,74
8	1 : 8	50	400,00	0,41	0,81	0,41	10,28	2,57	20,56
9	1 : 9	50	450,00	0,32	0,63	0,32	10,59	2,35	21,18
10	1 : 10	50	500,00	0,01	0,19	0,01	10,69	2,14	21,38
Листя кропиви дводомної									
1	1 : 1	50	50,00	1,12	2,24	1,12	1,12	2,24	2,24
2	1 : 2	50	100,00	1,01	2,02	1,01	2,13	2,13	2,26
3	1 : 3	50	150,00	0,93	1,85	0,93	3,06	2,04	6,06
4	1 : 4	50	200,00	0,76	1,52	0,76	3,82	1,91	7,64
5	1 : 5	50	250,00	0,56	1,12	0,56	4,38	1,75	8,76
6	1 : 6	50	300,00	0,44	0,87	0,44	4,81	1,60	9,62
7	1 : 7	50	350,00	0,12	0,23	0,12	4,93	1,41	9,86
8	1 : 8	50	400,00	0,40	0,79	0,40	5,32	1,33	10,64
9	1 : 9	50	450,00	0,06	0,11	0,06	5,38	1,20	10,76
10	1 : 10	50	500,00	0,01	0,02	0,01	5,39	1,08	10,78

За отриманими даними щодо виходу екстрактивних речовин у витяжках при проведенні перколяції можна стверджувати, що оптимальною кратністю екстракції при отриманні фітокомпозиції є 4. Саме при чотирьохкратній перколяції відбувається максимальний вихід екстрактивних речовин із лікарської рослинної сировини.

Таким чином, обрано умови екстрагування розробленої фітокомпозиції: ступінь подрібнення сировини 1–3 мм, екстрагент – 70 % етанол; метод перколяції з використанням кратності екстракції – 4.

4.4 Технологічний процес виготовлення екстракту

На основі результатів теоретичних та експериментальних досліджень розроблено промислову технологію комбінованого рідкого екстракту. Для виробництва використовували прилади й обладнання, що є характерними для технології екстракційних препаратів.

Блок–схема технологічного процесу виробництва екстракту наведена на рис. 4.4 і складається з наступних стадій виробництва:

Стадія 1. Підготовка екстрагента

Стадія 2. Подрібнення сировини

Стадія 3. Змішування ЛРС

Стадія 4. Приготування витяжки

Стадія 5. Відстоювання витяжки

Стадія 6. Фільтрація витяжки

Стадія 7. Миття та сушіння флаконів, пробок і кришок

Стадія 8. Фасування, маркування, пакування готової продукції

Стадія 9. Пакування пачок у коробки

Стадія 1. Підготовка екстрагента. Для виробництва екстракту використовують 70 % етанол, який готують із 96 % етанолу і води очищеної. Розрахунок кількості 96 % етанолу і води очищеної проводять по алкоголеметричним таблицям.

Стадія 2. Подрібнення сировини. ЛРС у мішках або ящиках, яка пройшла вхідний контроль якості, доправляють на дільницю зі складу рослинної сировини за допомогою транспортних візків. Сировину переглядають на відсутність цвілі, мінеральних (землі, каміння, скла) та органічних (рослинних домішок, шматочків паперу та мішківини) домішок; подрібнюють на траворізці і збирають у мішки, на які прикріплюють ідентифікаційні етикетки.

Для приготування фітокомпозиції для екстракту подрібнену ЛРС відважують у мішках за допомогою ваг у таких співвідношеннях:

- шавлії лікарської листя 40 частин
- хмелю звичайного шишки 40 частин
- кропиви дводомної листя 20 частин

Сировину збирають та просіюють у паперові мішки за допомогою сит із розміром отворів 3 мм та 1 мм. Недостатньо здрібнену сировину відправляють для додаткового подрібнення. Мішки з просіяною сировиною помічають етикеткою з відповідним найменуванням, номером серії та масою.

Стадія 3.Змішування ЛРС. Попередньо подрібнену та просіяну сировину завантажують у збірник, перемішують і передають на стадію 4 «Приготування витяжки».

Стадія 4. Приготування витяжки. До завантаженої сировини у перколяторі додають до дзеркала екстрагент. Після перемішування сировину залишають на 24 год. у закритій ємності для досягнення рівноважної концентрації. Зверху притискають перфорованим диском і заливають екстрагентом так, щоб максимально витиснути повітря до отримання ефекту «дзеркала». Висота шару екстрагенту над сировиною становить близько 30–40 мм. Зливають перколят й одночасно зверху подають екстрагент зі швидкістю, що не перевищує 1/24 (3–4 мл/хв) для частини робочого об'єму перколятора за 1 год. до повного використання екстрагенту.

Стадія 5. Відстоювання витяжки. Витяжку витримують при температурі (8 ± 2) °C протягом 2 діб для осадження баластних речовин.

Стадія 6. Фільтрація витяжки. Очистку витяжки проводять методом фільтрації через друк-фільтр та сухий складчастий фільтр. Відфільтрована витяжка

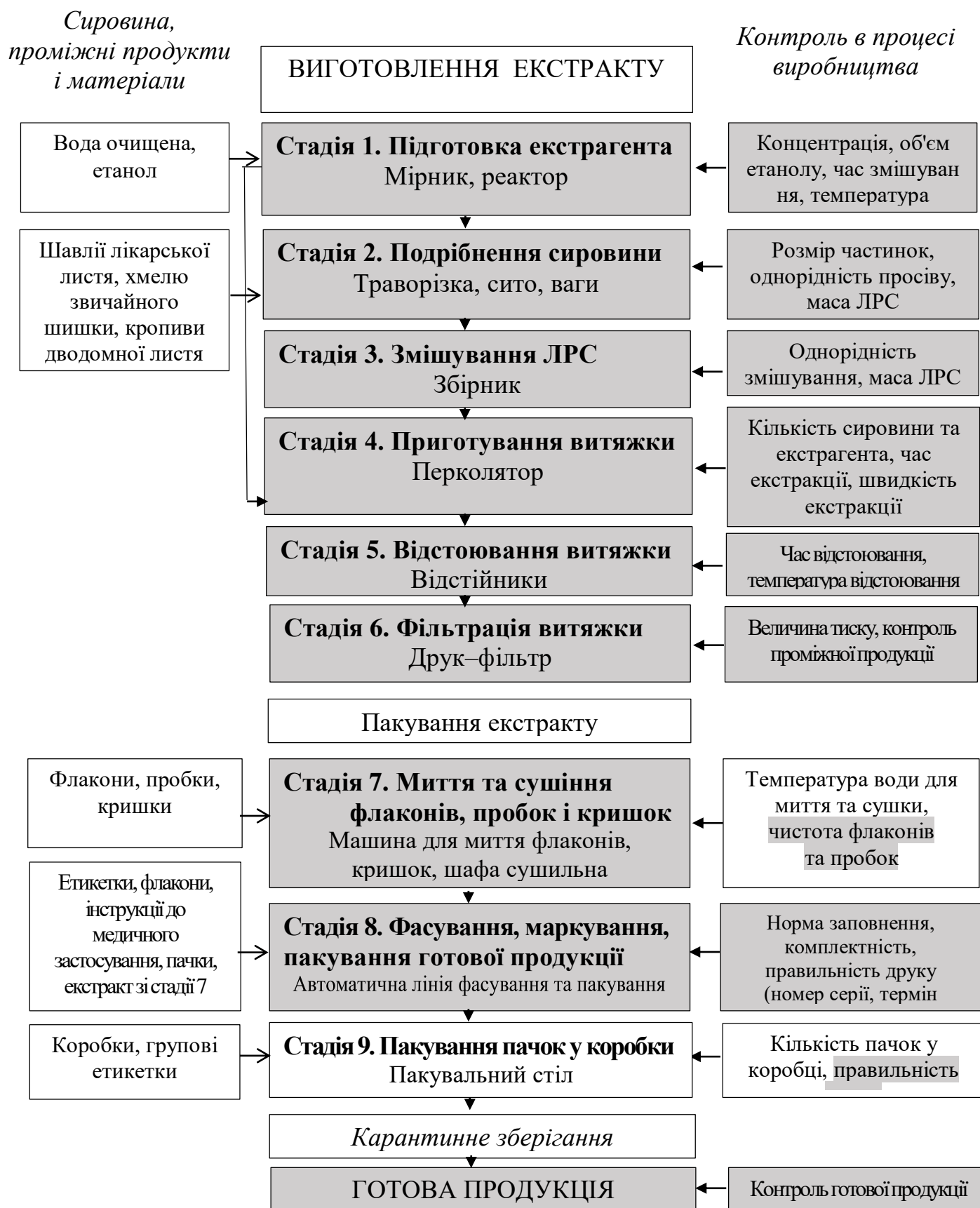


Рис. 4.4. Технологічна схема виробництва екстракту

повинна бути прозорою, без частинок рослинної сировини. До стадії фасування екстракт підлягає повному аналізу та, при отриманні позитивних результатів, йому присвоюється сертифікат якості.

Стадія 7. Миття та сушіння флаконів, пробок і кришок. Миття тари та допоміжних матеріалів проводять у миючо–споліскувальній машині карусельного типу безперервної дії. Подача флаконів, пляшок, пробок і кришок у машину здійснюється вручну. Флакони горлом уперед подаються в сопла миючої машини, де здійснюється полоскання флаконів гарячою очищеною водою (60 – 80) °С і висушуються у сушильній шафі. Чисті сухі флакони подаються на фасування.

Стадія 8. Фасування, маркування, пакування готової продукції. Нерозфасовану витяжку зі збірника подають самопливом на фасувальну автоматичну лінію. На дозувальній машині встановлюється необхідна доза – 100 мл. Наповнені флакони подаються по конвеєру на закупорювальний автомат, де їх закупорюють полімерними корками і накривають ковпачками вручну, які загвинчують за допомогою закупорювальної машини, і передають до етикетувальної машини.

Стадія 9. Пакування пачок у коробки. Флакони з екстрактом переносять у пачки та вкладають інструкції щодо застосування; складають в ящики з гофрованого картону на конвеєрі.

Коробки з готовим засобом передають на склад готової продукції. На завершальному етапі готовий засіб разом із накладною передається на склад збуту.

4.5 Визначення показників якості розробленого засобу

ДФУ регламентує [180] спиртові екстракти як рідкі лікарські засоби, в яких лікарська рослинна сировина та етанол підхожої концентрації приготувані з певним співвідношенням сировина: екстрагент.

Якість розробленого екстракту під умовною назвою «Флавоклім–плюс» контролювали за наступними показниками: ідентифікація (якісні реакції на сполуки флавоноїдної будови та методи ТШХ на флавоноїди та ефірні олії), важкі метали, відносна густина, вміст етанолу, вміст метанолу і 2–пропанолу, сухий залишок,

мікробіологічна чистота, кількісне визначення флавоноїдів у перерахунку на рутин та поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту.

Опис. Однорідна прозора рідина без сторонніх включень темно–коричневого кольору із характерним духмяним запахом.

Ідентифікація. Ідентифікацію екстракту проводили за кольоровими реакціями на флавоноїдні сполуки, згідно методик, які описані у розділі 2.

Групу речовин флавоноїдної будови ідентифікували за допомогою реакції з мінеральними кислотами (на межі двох шарів утворювалось червоно–оранжеве забарвлення) використовували ціанідінову пробу (рожеве забарвлення), реакцію зі спиртовим розчином калію гідроксиду (жовто–оранжеве забарвлення) і розчином заліза (III) хлориду (спостерігалось темно–зелене забарвлення). До проєкту МКЯ запропоновано ввести реакцію із розчином заліза (III) хлориду.

У відповідності до вимог ДФУ [181] ідентифікація БАР шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя проводиться методом ТШХ (рис.4.5), тому для ідентифікації БАР в екстракті, порівняно в ЛРС, використовували даний метод (методика описана у розділі 2).

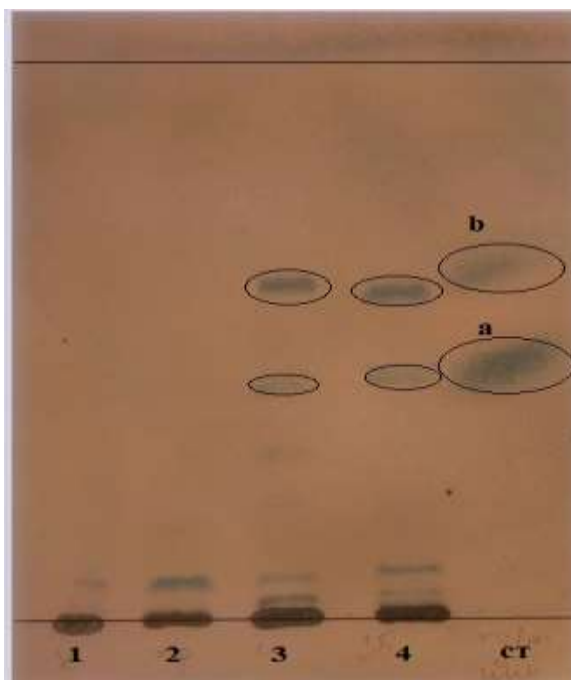


Рис. 4.5 Хроматограма, отримана у процесі ідентифікації спиртових вилучень ЛРС та екстракту: де 1– шишки хмелю звичайного; 2– листя кропиви дводомної; 3– листя шавлії лікарської; 4– екстракти; а – зона цинеолу; б – зона туйону

При проведенні ідентифікації методом ТШХ зі стандартними зразками було виявлено синю зону цинеолу (R_f система I – 0,4347) та рожевувато-фіолетову зону (α -туйон та β -туйон; R_f система II – 0,5618).

Важкі метали (2.4.8, метод А) [186]. Важкі метали – це допустимо-нормовані за вмістом неспецифічні технологічні домішки лікарських речовин або реактивів, які належать до групи загальних технологічних домішок (переважно Hg, Pb, Ag, Co, Ni, Cd, Fe).

Випробування із визначення важких металів проводили на 3 серіях з 3 пробами препарату. За результатами дослідження було встановлено, що вміст важких металів становить від 0,0006 до 0,0007 %. На підставі отриманих даних запропоновано ввести до преку МКЯ на екстракт вміст важких металів не більше 0,0008 % (табл. 4.12).

Відносна густина (2.2.5) [186]. Відносна густина речовини являє собою відношення маси певного об'єму цієї речовини при заданій температурі, до маси такого самого об'єму води. Значення відносної густини, які у рідких лікарських засобах визначають за допомогою пікнометра або ареометра, мають бути у двох повторностях та мати 2 зразки порівняння з водою *P*.

За результатами дослідження встановлено, що значення відносної густини екстракту становить від 0,830 до 0,880 г/см³. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до МКЯ на екстракт вимоги до відносної густини не більше 0,890 г/см³ (табл. 4.12).

Вміст етанолу (2.9.10) [186]. Вміст етанолу в рідких лікарських засобах виражають як кількість об'ємів етанолу в 100 об'ємах рідини при температурі $20 \pm 0,1$ °C. Встановлено, що вміст етанолу у випробуваному екстракті становить від 67 до 71 %. На підставі отриманих даних до МКЯ на спиртовий екстракт внесена вимога до вмісту етанолу не менше 65 % (табл. 4.12).

Метанол і 2-пропанол (2.9.11) [186]. Визначення метанолу і 2-пропанолу методом парафазної газової хроматографії (2.2.28) наведено у розділі 2. За результатами дослідження було встановлено, що значення вмісту метанолу становить від 0,02 до 0,03 % та вмісту 2-пропанолу від 0,01 до 0,02 % . На підставі отриманих

даних було запропоновано ввести до МКЯ на спиртовий екстракт вимоги до вмісту метанолу не більше 0,05 % (об/об) та вмісту 2–пропанолу не більше 0,05 % (об/об).

Сухий залишок (2.8.16) [186]. Визначення сухого залишку у екстракті (2.8.16) наведено у розділі 2. За результатами дослідження встановлено, що вміст сухого залишку становить від 4,8 до 5,9 % (табл. 4.10). Запропоновано ввести до МКЯ на спиртовий екстракт вимоги до вмісту сухого залишку не менше 4 %.

Мікробіологічна чистота. Визначення мікробіологічної чистоти екстракту проводили відповідно до вимог статті ДФУ 2.0 «Випробування мікробіологічної чистоти рослинних лікарських засобів для орального застосування та екстрактів, що використовують при їх виготовленні» (п. 2.6.31., с. 310) [186].

За показниками мікробіологічної чистоти екстракт відповідає вимогам ДФУ категорії В.

Кількісне визначення

Поліфенольні сполуки

Для доведення наявності речовин поліфенольної будови у складі розробленого екстракту використовували метод абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці. УФ–спектр поглинання екстракту в ділянці від 220 нм до 400 нм реєстрували на спектрофотометрі Evolution 60 S . Порівняння проводили відносно СЗ галової кислоти (рис. 4.6).

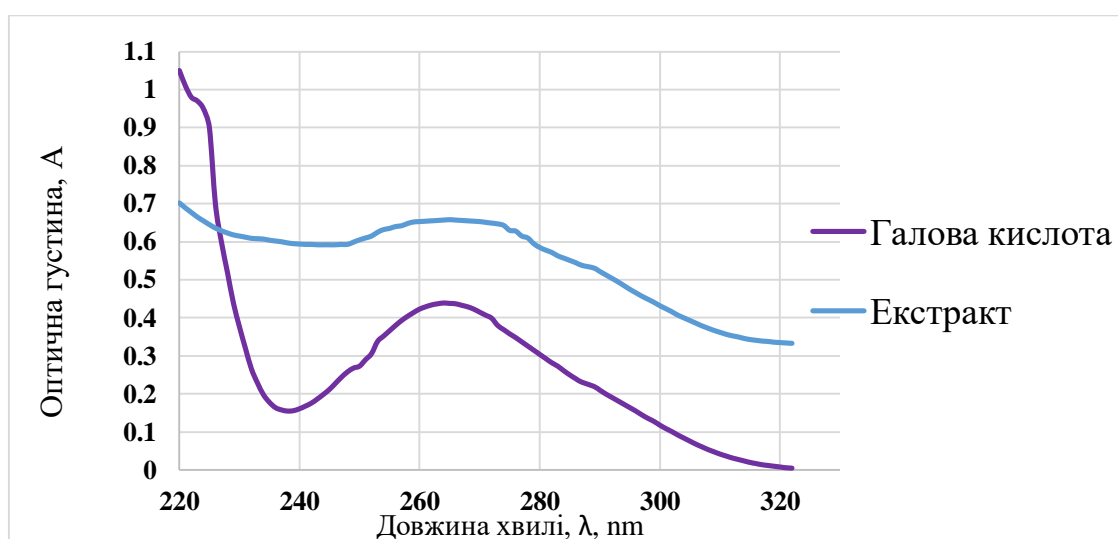


Рис. 4.6 УФ–спектр поглинання екстракту у порівнянні з 0,001 % розчину СФЗ галової кислоти

Абсорбційний спектр поглинання екстракту характеризується наявністю двох максимумів поглинання при 250 нм і 273 нм. У той же час у 0,001 % спиртовому розчині галової кислоти максимум УФ–спектру спостерігається за довжини хвилі 265 нм.

За результатами дослідження встановлено, що у діапазоні від 220 до 400 нм ультрафіолетовий спектр поглинання випробуваних розчинів ЛРС та екстракту має максимум, що відповідає максимуму поглинання галової кислоти. Кількісний вміст поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту в межах від 0,70 до 0,74 %.

На підставі отриманих даних запропоновано ввести до методів контролю якості на екстракт вимоги до кількісного вмісту поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту не менше 0,7 %.

Флавоноїдні сполуки

Кількісне визначення вмісту біологічно активних речовин проводили методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці спектра за сумою флавоноїдів у перерахунку на рутин (ДФУ, ст. 2.2.25) [184].

Встановлено, що в абсорбційному спектрі поглинання екстракту після реакції комплексоутворення з розчином алюмінію хлориду в оцтовокислому середовищі спостерігається максимуми поглинання при довжині хвилі 394–407 нм, який відповідає максимуму поглинання 0,001 % спиртового розчину рутину в тих же умовах.

Абсорбційний спектр поглинання отриманих забарвлених розчинів в області від 380 до 450 нм наведені на рисунку 4.7.

Отримані результати (рис. 4.7) свідчать, що після реакції з розчином алюмінію хлориду в абсорбційному спектрі розчину екстракту спостерігається максимум поглинання при довжині хвилі 396 нм, що вказує на присутність флавоноїдів, близьких за будовою до рутину.

Тому доцільно визначати кількісний вміст флавоноїдів у досліджуваному екстракті за сумою речовин флавоноїдної будови у перерахунку на рутин.

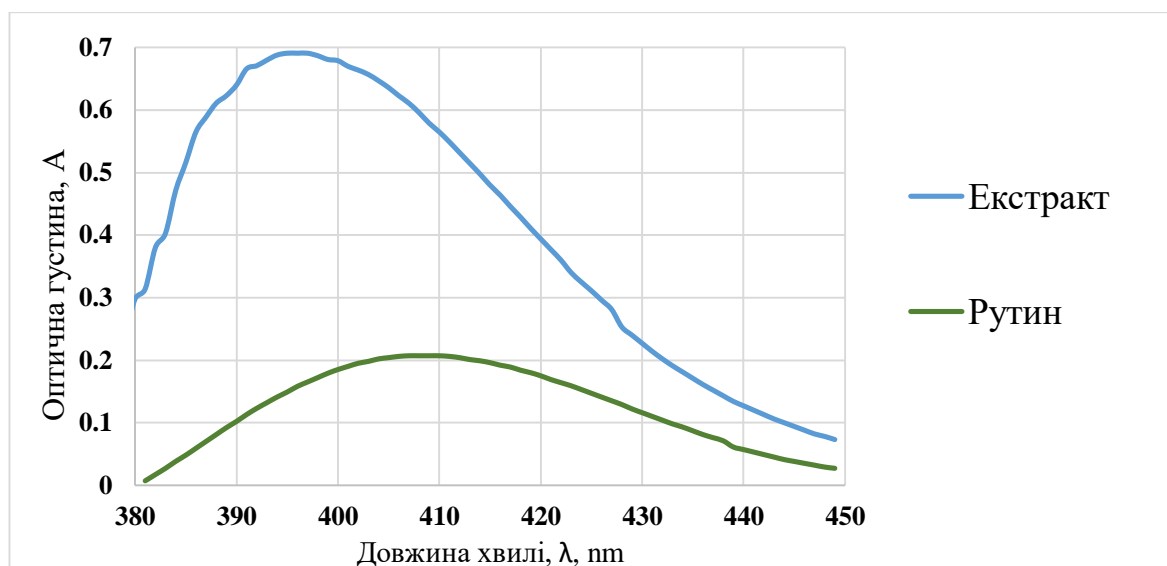


Рис. 4.7 Абсорбційний спектр поглинання досліджуваних спиртових розчинів сировини, що входить до складу екстракту, після реакції з реактивом алюмінію хлоридом

Випробування проводили за методикою, описаною у розділі 2. Кількісний вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин в межах від 1,5 до 1,8 %. На підставі отриманих даних було запропоновано ввести до методів контролю якості на екстракт вимоги до кількісного вмісту флавоноїдів у перерахунку на рутин не менше 1,5 %.

Результати досліджень за показниками якості збору «Флавоклім» наведено у таблиці 4.10.

Таблиця 4.10

Результати дослідження показників якості на екстракт «Флавоклім–плюс»

Параметр, розмірність	Результат дослідження
1	2
Опис	Однорідна прозора рідина без сторонніх включень темно-коричневого кольору із характерним духмяним запахом
Ідентифікація <i>Флавоноїди</i>	Якісні реакції А. Реакція з залізом (III) хлоридом Утворюється темно-зелене або коричневе забарвлення ТШХ
<i>Ефірні олії</i>	В. Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчинів порівняння відповідають зонам цинеолу та туйону.

1	2
<i>Поліфеноли</i>	С. Абсорбційний спектр розчину в діапазоні (220-320) нм має максимум за довжині хвилі (265) нм, що відповідає галовій та (275) нм хлорогеновій кислотам.
Важкі метали, %	0,0007 ± 0,0001
Відносна густина, г/см ³	0,880 ± 0,011
Вміст етанолу, %	68 ± 1
Метанол і 2–пропанол, % (об/об)	0,03 ± 0,01 0,02 ± 0,01
Сухий залишок, %	5,5 ± 0,1
Маса вмісту пакування, мл	100,0 ± 0,55
Мікробіологічна чистота загальне число толерантних до жовчі грамнегативних бактерій: не більше 10 ² КУО/г <i>Escherichia coli</i> в 1,0 г – відсутність <i>Salmonella</i> в 25,0 г – відсутність ТАМС: не більше 10 ⁴ КУО/г ТҮМС: не більше 10 ² КУО/г	відсутні відсутні 1,1x10 ² до 20
Кількісне визначення <i>Вміст речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту, %</i> <i>Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин, %</i>	0,74 ± 0,01 1,7 ± 0,1
Пакування	100 мл спиртового екстракту в скляних флаконах

4.6 Вивчення стабільності розробленого екстракту «Флавоклім–плюс»

Для дослідження стабільності спиртового екстракту закладали п'ять зразків в скляних флаконах по 100 мл при температурі до 25 °С протягом прогнозованого терміну – 27 місяців. Упродовж зазначеного терміну екстракт кожні 3 міс. до 1 року та кожні 6 міс. від 12 до 27 міс. зберігання проводили контроль якості за такими

показниками: органолептичні характеристики (зовнішній вигляд, колір, запах, смак), відносна густина, вміст етанолу, сухий залишок, ідентифікація та кількісне визначення діючих речовин та мікробіологічна чистота.

Результати досліджень наведені у таблиці 4.11.

Як видно з наведених результатів, протягом 27 міс. розроблений екстракт, закладений на зберігання, при даному температурному режимі у скляних флаконах за зовнішніми ознаками, запахом та смаком відповідають початковому показнику та вимогам ДФУ [183]. У ході досліджень встановлено, що відносна густина знаходиться в межах 0,819–0,887 г/см³, вміст етанолу зразків протягом терміну зберігання не зменшувався нижче 66 %, сухий залишок у екстракті знаходиться в межах 4,7–5,3 % (табл. 4.11).

Проведеним аналізом доведено, що у досліджуваних зразках екстракту зберігаються основні групи діючих речовин. Сума біологічно активних речовин (флавоноїдів) у перерахунку на домінуючий компонент (рутин) протягом терміну зберігання складає 1,75–1,83 %, вміст поліфенолів у перерахунку на галову кислоту у препараті становить 0,71–0,75 %.

Враховуючи результати проведених досліджень, можна зазначити, що розроблений екстракт залишається стабільним впродовж 27 місяців та не втрачає у процесі зберігання свої якісні показники і відповідає вимогам проєкту МКЯ та монографії ДФУ на рідкі екстракти. Що дає можливість рекомендувати термін зберігання рідкого екстракту (крапель) 2 роки при температурі, що не перевищує 25 °С.

За проведеними дослідженнями у табл. 4.12 наведено показники якості розробленого екстракту.

Таблиця 4.12

Специфікація до проєкту МКЯ на розроблений екстракт

Параметр	Допустима межа	Метод контролю
1	2	3
Опис	Однорідна прозора рідина без сторонніх включень темно-коричневого кольору із характерним духмяним запахом	За п. 1 проєкту МКЯ. Візуально, органолептично
Ідентифікація	Якісні реакції	За п. 2.1 проєкту МКЯ.
<i>Флавоноїди</i>	А. Реакція з залізом (III) хлоридом Має утворюватися темно-зелене або коричневе забарвлення	
<i>Ефірні олії</i>	ТШХ В. Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчинів порівняння мають відповідати зонам цинеолу та туйону.	За п. 2.2 проєкту МКЯ, ДФУ, 2.2.27, Метод ТШХ
<i>Поліфеноли</i>	С. Абсорбційний спектр розчину в діапазоні (220-320) нм має мати максимум за довжині хвилі (265) нм, що відповідає галовій та (275) нм хлорогеновій кислотам.	
Випробовування		
Важкі метали	Не більше 0,0008 %	За п. 3 проєкту МКЯ, ДФУ, 2.4.8, метод А
Відносна густина	Не більше 0,890 г/см ³	За п. 4 проєкту МКЯ, ДФУ, 2.2.5
Вміст етанолу	Не менше 65 %	За п. 5 проєкту МКЯ, ДФУ, 2.9.10
Метанол і 2-пропанол	Метанолу не більше 0,05 % (об/об) 2-пропанолу не більше 0,05 % (об/об)	За п. 6 проєкту МКЯ, ДФУ, 2.9.11
Сухий залишок	Не менше 4 %	За п. 7 проєкту МКЯ ДФУ, 2.8.16
Маса вмісту пакування	100 ± 0,55 мл	За п. 8 проєкту МКЯ
Мікробіологічна чистота	Критерій прийнятності, Категорія В: ТАМС: не більше 10 ⁴ КУО/г; ТҮМС: не більше 10 ² КУО/г; загальне число толерантних до жовчі	За п. 9 проєкту МКЯ ДФУ, 2.6.12, 2.6.31

Продовж. табл. 4.12

1	2	3
	грамнегативних бактерій: не більше 10^2 КУО/г; відсутність <i>Escherichia coli</i> в 1,0 г; відсутність <i>Salmonella</i> в 25,0 г.	
Кількісне визначення <i>Вміст речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту</i> <i>Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин</i>		За п. 10 проєкту МКЯ За п. 11 проєкту МКЯ
Пакування	100 мл спиртового екстракту в скляних флаконах	За п. 12 проєкту МКЯ
Маркування	Згідно з оригінал–макетом пакування	За п. 13 проєкту МКЯ
Зберігання	В оригінальному пакуванні при температурі, що не перевищує 25 °С	За п. 14 проєкту МКЯ
Термін придатності	2 роки	За п. 15 проєкту МКЯ

Висновки до розділу 4

1. У результаті проведених досліджень встановлена відповідність лікарської рослинної сировини, що входить до складу фітокомпозиції, створеної для отримання екстракту, вимогам відповідних монографій ДФУ на конкретний вид ЛРС.

2. Визначено основні технологічні параметри лікарської рослинної сировини, що входить до складу фітокомпозиції, які підтвердили, що ЛРС характеризується низькими значеннями питомої, об'ємної і насипної маси та високими значеннями пористості, порізності, вільного об'єму шару сировини. Результати використано у підборі екстрагента та метода екстрагування.

3. За результатами кількісного визначення виходу екстрактивних речовин та спектрофотометричного визначення виходу флавоноїдів у перерахунку на рутин

встановлено, що 40 % етанол екстрагує флавоноїдні сполуки у перерахунку на рутин у кількості $0,977 \pm 0,022$ мг/%, що на 19,4 % менше, ніж при екстрагуванні 70 % ($1,211 \pm 0,039$ мг/%); при екстрагуванні 40 % етанолом вилучається $3,2 \pm 0,3$ % екстрактивних речовин, що на 37 % менше, ніж при екстрагуванні 70 % ($5,1 \pm 0,4$ %). Це вказує на те, що оптимальним екстрагентом фітокомпозиції для отримання екстракту є 70 % етанол.

4. За результатами аналізу динаміки вилучення екстрактивних речовин визначена ефективність використання методу перколяції з кратністю екстракції фітокомпозиції – 4.

5. Розроблено технологію виготовлення екстракту в промислових умовах. Результати експерименту використані при розробці патенту на корисну модель. Технологія екстракту апробована в промислових умовах (додаток Г).

6. Визначено показники якості екстракту згідно вимог ДФУ та розроблено специфікацію до проєкту МКЯ на розроблений рідкий спиртовий екстракт (краплі) під умовною назвою «Флавоклім–плюс».

7. Для ідентифікації БАР обрано кольорові реакції на флавоноїди та метод ТШХ на ефірні олії. Розроблено методики кількісного визначення флавоноїдів та поліфенольних сполук у екстракті методом спектрофотометрії.

8. Експериментально доведена стабільність екстракту протягом 27 місяців зберігання при температурі, що не перевищує 25 °С. Мікробіологічними дослідженнями встановлено, що розроблений екстракт за показниками мікробіологічної чистоти відповідає вимогам ДФУ категорії В.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Коноваленко И. С, Половко Н. П. Изучение технологических свойств сбора для лечения климактерического синдрома. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології*: збірник наукових праць. Харків : НФаУ, 2016. С. 318–320.

2. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Study of the technological properties of dry extract of *salvia officinalis*. Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: збірник наукових праць, випуск 2. – Х.: Вид –во НФаУ, 2017. – С. 15–17.

3. Konovalenko I. S., Evtushenko T. I., Polovko N. P. Development of the technological properties of motherwort dry extract for solid dosage form. Актуальні питання створення нових лікарських засобів: тези доповідей XXIV міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів(20 квітня 2017 р.). в 2-х.т., Т.1. – Х.: Вид-во НФаУ, 2017. –С. 327.

4. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Quantitative determination of the amount of flavonoids in *salvia officinalis* for climacteric syndrome treatment. Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології: Матеріали науково-практичної конференції, присвяченій 150-річчю з дня народження видатного гістолога та ембріолога, завідувача кафедр Новоросійського і Софійського університетів, професора Олександра Федоровича Маньківського та Дню Фармацевта, м. Одеса, 21 вересня 2018 р. – Одеса: Міжнародний гуманітарний університет, 2018. – С. 80-83.

5. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Количественное определение флавоноидов в спиртовых каплях для лечения климактерического синдрома. Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2019: сб. тезисов докладов LXXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых – Минск, БГМУ, 2019 – С. 1532.

6. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Гудзь Н. І., Вечорек Пьотр П. Дослідження лікарської рослинної сировини, яка входить до складу гінекологічних крапель. Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології». ОМІ МГУ, Одеса, 04.10.2019– С. 88–93.

7. Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді що проявляє седативну, естрогенну, вегето-судинну дію та регулює ліпідний обмін : пат. 138102 України на корисну модель. Коноваленко І. С., Половко Н. П, Загайко

А. Л., Литкін Д. В. власник НФаУ. № 201903243; заяв. 01.04.2019; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22. 4 с.

8. Konovalenko I., Polovko N. The substantiation of the conditions for extracting the phytocomposition for nonhormonal therapy of menopause. *Danish Scientific Journal: Pharmaceutics*. 2020. № 39. Vol. 2. P. 63–68.

9. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research of technological properties of Salvia dry extract for solid dosage medicinal for development. *Actual problems of medicine and pharmacy 2017: collection of abstracts of the international conference*. 2017. С. 1515.

10. Konovalenko I., Polovko N. Research of extraction conditions of phytocomposition for non-hormonal treatment of menopause. *Book of Abstracts of the 4th International Scientific Conference Agrobiodiversity for Improve for the Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life*, P. 101.

РОЗДІЛ 5

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТА БЕЗПЕЧНОСТІ РОЗРОБЛЕНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Важливим етапом фармацевтичної розробки нового лікарського засобу є проведення доклінічних досліджень, які включають такі ключові характеристики, як фармакологічна активність і гостра токсичність. Отримані дані дозволяють прогнозувати ефективність і безпеку лікарських засобів для людини.

При дослідженні специфічної активності використовували модель оваріоектомії, яка в експериментальній медицині застосовується для створення дефіциту естрогенів і гестагенів, що необхідно для вивчення механізму біологічної дії цих статевих стероїдних гормонів. Раніше, на моделі оваріоектомії у щурів, доведена терапевтична роль мелатоніну і естрадіолу в якості захисних протизапальних агентів для центральної нервової системи в період менопаузи у жінок за рахунок зниження експресії протизапальних цитокінів в гіпокампі [269]. Модель допомагає вивчити вплив естрогену і естрадіолу у оваріоектомованих щурів, екстраполювати на клініку зниження рівня статевих гормонів у жінок в менопаузу та зміну статевої поведінки [270].

5.1 Алгоритм проведення доклінічних досліджень

Клінічні прояви клімактеричного синдрому включають в себе низьку розладів органів й систем організму, спричинених угасанням гормональної функції яєчників. В більшості випадків у пацієток з клімактеричним синдромом діагностують когнітивні й психоемоційні порушення; серцево–судинні хвороби пов’язані зі змінами в реології крові й ліпідним обміном; прояви метаболічного синдрому [271–273].

Ефективність перспективних фармакологічних засобів для корекції проявів клімактеричного синдрому повинна бути оцінена за впливом на вищезазначені

розповсюджені патологічні стани, оскільки саме вони найбільш асоційовані з ризиком передчасної смертності у пацієнток з клімактеричним синдромом[274, 275].

Вивчення специфічної фармакологічної активності та гострої токсичності розроблених лікарських засобів проводили у Центральній науково–дослідній лабораторії НФаУ під керівництвом проф. Загайка А. Л.

Об'єктами дослідження виступали дослідні зразки фітопрепаратів:

1) Екстракт спиртовий (70% етанол) (краплі) комбінованого складу, виготовлений з фітокомпозиції, що містить: шишок хмелю звичайного, листя шавлії лікарської і листя кропиви собачої;

2) Збір, що містить лікарську рослинну сировину комбінованого складу, виготовлений з суцвіть конюшини лучної, квіток липи серцелистої, трави деревію звичайного й чебрецю повзучого, з якого готували настій.

В якості референтного засобу в експериментальному дослідженні використовували зареєстровані на ринку України препарати рослинного походження Тазалок (ТОВ «Універсальне агентство «Про–Фарма», Україна) та Клімапін (ХФЗ Червона зірка, Україна).

Експеримент проводили на 60 білих аутбредних самицях щурів одного віку (приблизно 7 місяців) з масою тіла 205–235 г. Піддослідні тварини утримувались у віварії згідно зі стандартними санітарними нормами та рекомендованими умовами на необхідному харчовому раціоні. Усі дослідження проводились у відповідності з директивою Ради ЄС 86/609 ЄЕС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети.

1 група – несправжньооперовані тварини (НО);

2 група – тварини з модельною патологією, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію (КП);

3 група – тварини, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію та проводили лікування досліджуваним тест–зразком екстрактом спиртовим комбінованого складу (ЕСКС);

4 група – тварини, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію та проводили лікування досліджуваним тест–зразком настоєм комбінованого складу (НКС);

5 група – тварини, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію та проводили лікування референтним–зразком краплями Тазалок (РТ1).

6 група – тварини, у яких відтворювали експериментальну оваріоектомію та проводили лікування референтним–зразком настійкою Клімапін (РТ2).

Для полегшення дозування рідких лікарських форм комбінованого складу було вирішено виражати дози, що застосовувалися в даному дослідженні, в мл/кг [276]. При перерахунку доз для референтного зразку доза еквівалентна для тварин (AED) була розрахована із урахуванням середньотерапевтичної добової дози препарату для людини й міжвидової різниці маси та площі поверхні тіла, та склала 0,27 мл/кг для щурів. Для об'єктивної оцінки ефективності досліджуваних експериментальних тест-зразків та доцільності їх подальших досліджень й релевантної інтерпретації отриманих результатів було вирішено застосовувати таку ж саму дозу (0,27 мл/кг) й для них [277, 278].

Для моделювання у тварин стану, еквівалентного клімактеричному синдрому у жінок, застосовували хірургічну методику видалення яєчників – білатеральну оваріоектомію по Кіршенблату. Експериментальну оваріоектомію піддослідних тварин проводили в асептичних умовах під хлороформним наркозом, несправжньооперованим тваринам проводили розтин і ушивання рани без видалення яєчників [279–281].

Згідно літературним даним стійка зміна гормонального статусу тварин встановлюється на 35–й день після експериментальної оваріоектомії, тому на цю добу починали вводити досліджувані фармакологічні засоби в якості коректора проявів клімактеричного синдрому. Досліджувані тест–зразки й референтний зразок вводили тваринам внутрішньошлунково за допомогою спеціального зонду кожен добу вранці впродовж 21–ї доби.

При проведенні фармакологічних досліджень стадії естрального циклу у інтактних самок щурів були наближені до дієструса, що оцінювалося по зміні форми клітин вагінального епітелію [282].

Через 72 год. після останнього введення препаратів проводили евтаназію піддослідних тварин шляхом декапітації під хлороформним наркозом, у тварин збирали кров для подальшого виготовлення сироватки.

Отримані результати статистично оброблялися із використанням методу однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA за допомогою стандартного пакету комп'ютерної програми STATISTICA 7.0 та статистико–логістичним методом 4P1 за допомогою інтернет–сервісу для вільного використання MyAssays® [283].

5.2 Вивчення динаміки зміни маси тіла

Збільшення маси тіла у жінок з клімактеричним синдромом є наслідком порушення вмісту естрогенів і гестагенів в крові та їх дисбалансу, а також психосоматичних порушень, які з'являються згодом [284–288].

Оцінювання результатів стосовно маси тіла тварин розглядали в абсолютних значеннях в грамах, оскільки перед початком експерименту тварини були одного віку й практично не відрізнялися по масі всередині та між групами [289–294].

Впродовж експерименту маса усіх тварин збільшувалася, але в групі ЛО цей показник зростав в рамках фізіологічної та онтогенетичної норми, в той час, як в групі КП цей показник патологічно неконтрольовано вірогідно зростав майже на 20,9 г у порівнянні з неоваріоектомованими тваринами.

Внутрішньошлункове введення оперованим тваринам ЕСКС в дозі 0,27 мл/кг впродовж 21–ї доби вірогідно зменшувало патологічну масу тіла і середньому на 14,7 г у порівнянні з аналогічним показником в групі КП. Крім того це значення не мало статистично значущих відмінностей з групою НО, що свідчить про вагомий вплив на масу тіла тварин після оваріоектомії (рис. 5.1).

Тест–зразок НКС в умовах експерименту мав слабку тенденцію до зниження маси тіла прооперованих тварин, що виражалося в зниженні цього показника у тварин

цієї групи в середньому на 9,1 г ($p > 0,05$) у порівнянні з середньою масою тварин в групі КП (рис. 5.1).

В ході експерименту відмічалось, що референтні зразки в таких саме умовах, як і досліджувані тест-зразки майже не впливав на зростання маси тіла тварин після експериментальної оваріоектомії (рис. 5.1).

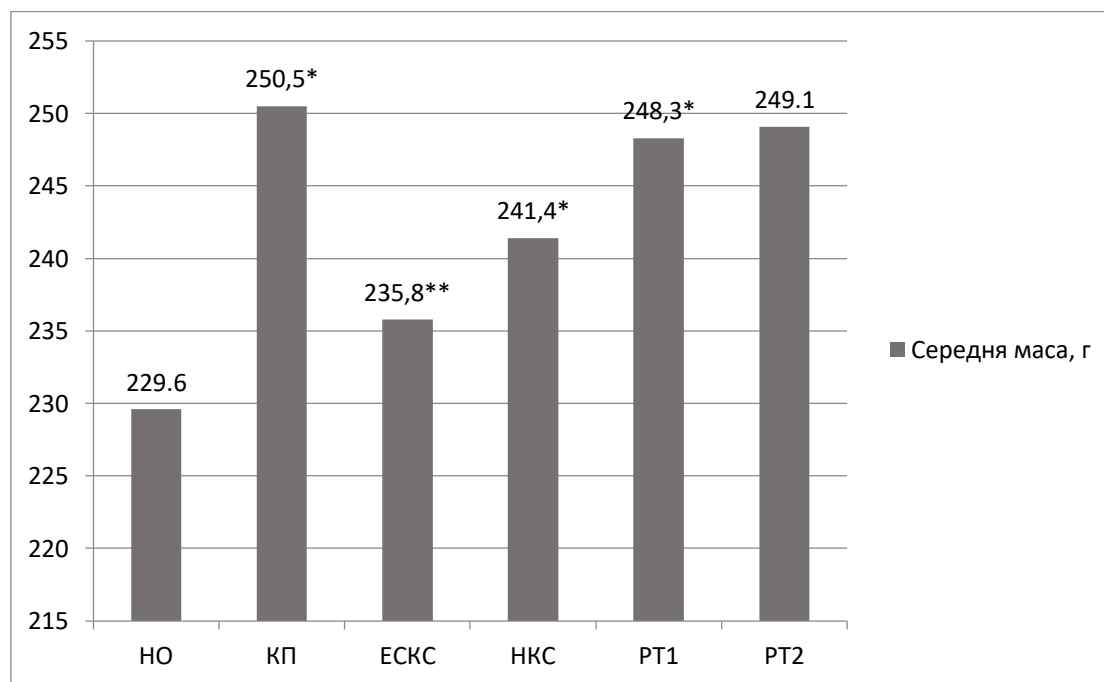


Рис. 5.1 Середня маса тіла самиць щурів після 21-го лікування досліджуваними тест-зразками за умов експериментальної оваріоектомії ($n=10$, $P=95\%$)

Примітки: * – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$);

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

Даний етап дослідження продемонстрував, що тільки один із зразків, а саме ЕСКС, в дозі 0,27 мл/кг при внутрішньо шлунковому введенні впродовж 21-ї доби був здатний вагомо та позитивно впливати на надмірний набір маси тіла у самиць щурів з експериментальною оваріоектомією.

5.3 Вивчення психоемоційного порушення

Депресія, порушення емоційного стану, зниження інтелектуальної активності і хронічна втома є невід'ємною компонентами клімактеричного синдрому, які вкрай

негативно впливають на рівень життя пацієнта, а один з напрямів клінічної терапії клімактеричного синдрому на зменшення проявів депресії й психозу [295–297].

5.3.1 Тест «піднесений хрестоподібний лабіринт»

Здатність препаратів впливати на прояв тривожності і дослідницьку активність у тварин в умовах гіпоестрогенемії оцінювали за допомогою тесту «піднесений хрестоподібний лабіринт» [298, 299].

У тварин, в яких видаляли яєчники, спостерігали ознаки тривожної поведінки й пригнічення дослідницької активності, що виражалося у вірогідно меншому латентному періоду входу в темний рукав лабіринту, незначному часу проведеному в світлому рукаві та невелика кількість переходів між рукавами (табл. 5.1).

Під дією курсового лікування тест-зразком ЕСКС, у тварин зменшувалося тривожність: латентний період та кількість переходів в цій групі вірогідно не відрізнялися від аналогічних показників в групі НО, а час, який тварини знаходилися у світлому рукаві статистично значуще виріс майже в 2 рази у порівнянні з нелікованими тваринами ($p \leq 0,05$) (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Вплив тест-зразків на орієнтовно-дослідницьку активність і тривожний стан тварин в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» ($\bar{X} \pm S_x$, $n=10$, $P=95\%$)

Експериментальна група	Латентний період входу в темний рукав (t, с)	Тривалість перебування в світлому рукаві (t, с)	Кількість переходів (n)
НО	20,2 ± 3,1	201,3 ± 5,7	15,3 ± 1,5
КП	3,5 ± 0,3*	86,5 ± 9,8*	3,7 ± 0,6*
ЕСКС	16,9 ± 2,5**	168,7 ± 8,3*/**	12,8 ± 0,9**
НКС	17,4 ± 3,6**	159,9 ± 8,6*/**	10,8 ± 1,1*/**
РТ1	22,3 ± 3,3**	175,3 ± 7,4*/**	6,9 ± 0,5*/**
РТ1	23,3 ± 3,4**	177,9 ± 7,8*/**	7,1 ± 0,5*/**

Примітки: * – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$);

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

У тварин, що в якості корегуючого засобу отримували НКС впродовж 21-ї доби, відмічалася нормалізація латентного періоду входу в темний рукав, час в світлому рукаві лабіринту збільшувався приблизно в 1,8 разів, а кількість переходів між рукавами в 2,9 разів у порівнянні з цими показниками у тварин групи контрольної патології (табл. 5.1).

Введення референтних препаратів Тазалок та Клімапін викликало у самиць щурів під час цього тесту збільшення латентного періоду входу в темний рукав лабіринту до рівня норми, а час проведений в світлому полі зростав більш ніж в 2 рази. Проте кількість переходів між рукавами під дією референтного препарату збільшувалася досить помірно – лише в 1,9 разів (табл. 5.1).

Дані, отримані в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт», свідчать про те, що всі досліджувані зразки в тій чи іншій мірі вірогідно впливали на корекцію тривожного стану й поліпшення дослідницької активності у оваріоектомованих самиць щурів. Проте найкращий результат в даних умовах в цьому тесті проявив тест-зразок ЕСКС в дозі 0,27 мл/кг.

5.3.2 Тест «поведінкового відчаю»

На другу добу проводили поведінковий тест для оцінки антидепресивних властивостей препаратів в умовах нейрогенних розладів при експериментальній оваріоектомії [300, 301]. Так у тварин, в яких гормональний фон не змінювався, відмічали відсутність депресивної поведінки й ознаки «боротьби». А у тварин в яких проводили видалення яєчників були зареєстровані ознаки депресивної поведінки, що виражалось у збільшенні часу й кількості актів відчаю (табл. 5.2).

Всі досліджувані тест зразки мали певний помірний ефект на корекцію депресивного стану після 21-денного внутрішньошлункового ведення в дозі 0,27 мл/кг у оваріоектомованих самиць щурів.

В першу чергу вплив досліджуваних фармакологічних засобів впливав на сумарний час актів іммобільності тварин, проте на кількість актів не один з них вірогідно не впливав. Під впливом зразку ЕСКС сумарний час іммобілізації

статистично значуще зменшувався в 1,5 разів, під впливом НКС – в 1,3 рази, й під впливом референтних препаратів – майже в 1,5 рази.

Таблиця 5.2

Вплив тест-зразків на депресивний стан тварин в тесті «поведінкового відчаю»

$(\bar{X} \pm S_x, n=10, P=95 \%)$

Експериментальна група	Сумарний час іммобілізації (t, с)	Число актів іммобільності (n)
НО	89,1 ± 4,8	6,2 ± 0,6
КП	238,2 ± 9,5*	16,1 ± 1,5*
ЕСКС	156,9 ± 11,2**/**	8,4 ± 0,9*
НКС	184,3 ± 8,7**/**	7,1 ± 0,7*
РТ1	162,5 ± 8,5**/**	8,2 ± 0,8*
РТ2	164,5 ± 8,6**/**	8,7 ± 0,5*

Примітки: * – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$);

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

Дані, отримані в тесті «поведінкового відчаю», свідчать про те, що всі досліджувані експериментальні зразки помірно поліпшували депресивний стан у самиць щурів після оваріоектомії практично з однаковою ефективністю, та впливали лише на тривалість актів відчаю, а не на їх кількість. Додаткові розрахунки показали, що між показниками в цих трьох групах також не було вірогідних відмінностей.

5.4 Вивчення метаболічних порушень

Метаболічні розлади, що виникають при клімактеричному синдромі, в першу чергу є наслідками порушення гормональної регуляції на ланки обміну ліпідів й вуглеводів [302–304]. Клімактеричний синдром у жінок частіше за все асоційований з дисліпідемією й порушенням толерантності до глюкози, що практично відповідає патогенезу метаболічного синдрому та збільшує ризик смертності від серцево-судинних захворювань у жінок [305–307].

Оскільки з клімактеричним синдромом досить сильно корелюють метаболічні розлади в сироватці крові вимірювали ряд маркерів порушення обміну [308].

5.4.1 Визначення рівня глюкози

Для оцінки впливу досліджуваних тест-зразків на показники вуглеводного обміну виміряли рівень глюкози в сироватці крові самиць щурів натщесерце. Після хірургічного видалення яєчників даний показник в сироватці самиць щурів помірно вірогідно збільшувався в середньому на 1,8 ммоль/л (рис. 5.2).

Слід зазначити, що статистично значуще зменшення глюкози натщесерце реєстрували лише у тварин, які отримували ЕСКС, більш того, значення даного показника в цій групі вірогідно не відрізнялося від аналогічного показника у неспарвжньооперованих тварин. Інші експериментальні зразки в даному лікувальному режимі не проявляли жодного статистично значущого ефекту на сироватковий рівень глюкози в крові тварин натщесерце.

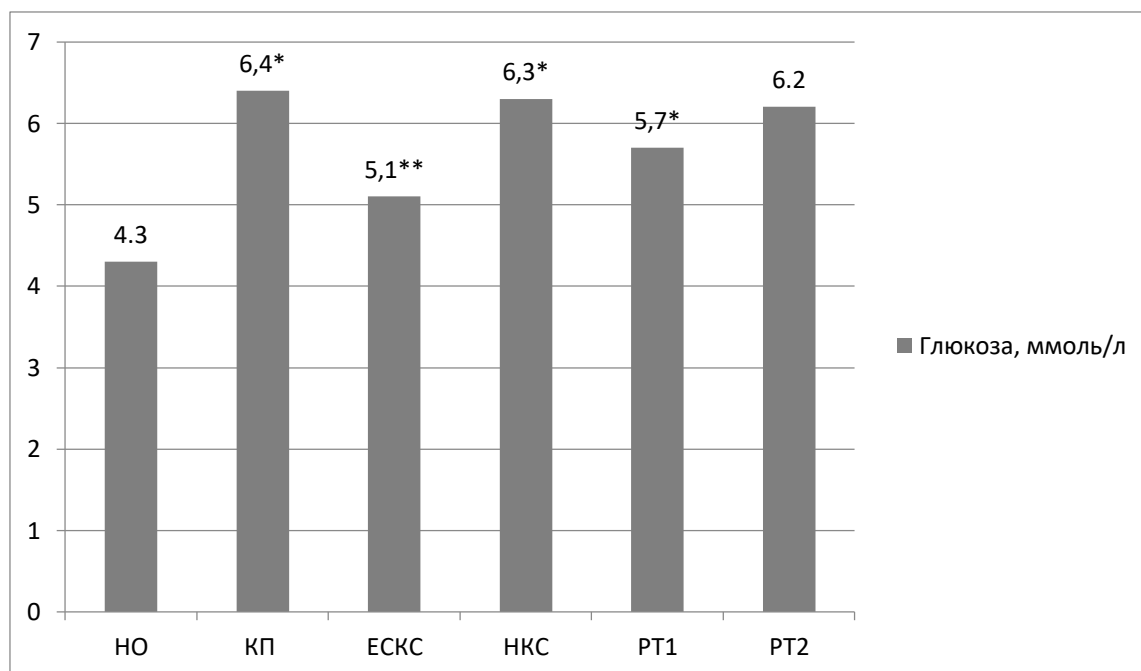


Рис. 5.2 Середній рівень сироваткової глюкози натщесерце у самиць щурів після 21-го лікування досліджуваними тест-зразками за умов експериментальної оваріоектомії (n=10, P=95 %)

Примітки: * – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$);

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

Таким чином, дані, отримані в ході даного етапу дослідження вказують на наявність позитивного впливу на сироватковий рівень глюкози лише у тест-зразка ЕСКС в дозі 0,27 мл/кг при внутрішньо шлунковому введенні впродовж 3-х тижнів. У зв'язку з цим подальший пошук впливу іншого зразку НКС на показник вмісту глюкози в рамках даної роботи не є перспективним. А при подальших дослідженнях можливо доцільна його комбінація з рослинними компонентами із доведеною цукрознижувальною активністю.

5.4.2 Визначення рівня ліпідів

Також в рамках дослідження впливу тест-зразків на корекцію метаболічних розладів вивчали ліпидограму сироватки крові у оваріоектомованих самиць щурів [309]. В рамках цього етапу досліджування у тварин вимірювали рівень ТГ, ЗХ, ЛПНЩ-Х, ЛПВЩ-Х.

У тварин, в яких були видалені яєчники, відмічалось значуще збільшення вмісту ТГ, ЗХ й ЛПНЩ-Х в сироватці крові. При цьому показник ЛПВЩ-Х трохи зменшувався, але зміна була не вірогідною ($p > 0,05$) (табл. 5.3).

Так застосування зразку ЕСКС в дозі 0,27 мл/кг впродовж трьох тижнів викликало практичну нормалізацію рівня ТГ та ЗХ в сироватці крові прооперованих тварин, а відповідні показники статистично не відрізнялися від вмісту аналогічних маркерів крові тварин з групи ЛО ($p > 0,05$). Рівень ЛПНЩ-Х вірогідно зменшувався на 23,2 % у порівнянні з КП, без вагомego впливу на ЛПВЩ-Х (табл. 5.3).

Під впливом курсового лікування тест-зразком НКС у оваріоектомованих самиць щурів не спостерігалось значущих змін, окрім статистично помітного зменшення рівня загального холестеролу на 12,7 % без вагової зміни різних його фракцій (табл. 5.3).

Застосування референтного зразку РТ1 не змінювало вміст ТГ й ЗХ, але певним чином впливало на розподіл фракцій холестеролу, вірогідно зменшуючи рівень ЛПНЩ-Х на 18,6 % у порівнянні з цим значенням в групі КП ($p \leq 0,05$). Також було помічено незначна тенденція до збільшення рівня ЛПВЩ-Х, проте й статистично не

значуща ($p > 0,05$) (табл. 5.3). При застосуванні референтного зразку РТ2 вміст ТГ й ЗХ не змінювався також, мала незначне збільшення рівня ЛПВЩ-Х (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Маркери обміну ліпідів в сироватці крові самиць щурів після 21-го лікування досліджуваними тест-зразками за умов експериментальної оваріоектомії

$(\bar{X} \pm S_x, n=10, P=95 \%)$

Експериментальна група	ТГ (мг/дл)	ЗХ (мг/дл)	ЛПНЩ-Х (мг/дл)	ЛПВЩ-Х (мг/дл)
НО	79,3 ± 5,6	152,5 ± 8,3	69,8 ± 8,1	58,1 ± 5,7
КП	112,5 ± 9,4*	205,7 ± 10,2*	130,4 ± 9,5*	47,3 ± 4,9
ЕСКС	87,2 ± 7,2**	172,5 ± 7,7**	100,1 ± 7,2**/**	49,6 ± 4,8
НКС	95,8 ± 3,8*	179,8 ± 6,4**/**	111,4 ± 8,6*	47,6 ± 6,2
РТ1	97,6 ± 6,7*	198,3 ± 11,3*	106,1 ± 6,5**/**	64,2 ± 8,5
РТ2	99,3 ± 1,3*	199,9 ± 6,4*	108,1 ± 5,5**/**	66,2 ± 7,7

Примітки: * – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$);

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

В ході даного етапу дослідження був показаний певний помірний вплив кожного досліджуваного зразка на прояви дисліпідемії у оваріоектомованих самиць щурів. Проте найбільшу ефективність показав зразок ЕСКС в дозі 0,27 мл/кг, що впродовж 21-ї доби отримували прооперовані тварини, під впливом якого відмічалася часткова нормалізація ліпідного профілю сироватки крові.

5.5 Вивчення гормональних порушень

Хірургічне видалення або дисфункція яєчників насамперед впливає на зменшення рівня естрадіолу і прогестерону у жінок [310]. Проте, деякі препарати, що не відносяться до повноаналогової замісної гормональної терапії, можуть викликати вірогідне збільшення рівня цих гормонів в крові в умовах пригніченого або повністю відсутнього продукування їх в яєчниках [311]. Такий факт є більш негативним, ніж

позитивним, оскільки ймовірніше за все ці препарати викликають збільшення периферійної ароматазної активності (в т. ч. й в жировій тканині) й перенавантажують гормонсинтезуючі системи наднирників, що є своєрідним проявом токсичності [312].

Таким чином в нашому дослідженні визначення рівня статевих гормонів не виступає головним методом верифікації, але дає нам інформацію щодо відтворення експериментальної моделі, а також уявлення про ймовірний механізм основної або побічної дії [313, 314].

Після видалення яєчників рівень естрадіолу й прогестерону в сироватці крові щурів вірогідно зменшувалися, що вказує на безпомилково проведені хірургічні маніпуляції й релевантно відтворену експериментальну модель (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Рівень статевих гормонів в сироватці крові самиць щурів після 21-го лікування досліджуваними тест-зразками за умов експериментальної оваріоектомії

($\bar{X} \pm S_x$, n=10, P=95 %)

Експериментальна група	Рівень естрадіолу, пг/мл	Рівень прогестерону, нг/мл
НО	49,6 ± 4,8	22,8 ± 4,4
КП	22,3 ± 3,2*	8,3 ± 1,4*
ЕСКС	24,2 ± 3,5*	8,7 ± 1,8*
НКС	23,8 ± 3,7*	10,9 ± 1,1*
РТ1	22,9 ± 3,7*	10,1 ± 2,1*
РТ2	19,8 ± 3,7*	7,4 ± 1,3*

Примітки: * – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$);

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

Дані імуноферментного дослідження стосовно вмісту статевих гормонів в крові прооперованих щурів, що отримували експериментальні й референтний зразки, продемонстрували, що не один з фармакологічних засобів вірогідно не змінював рівень естрадіолу й прогестерону у порівнянні з аналогічними показниками в групі контрольної патології ($p > 0,05$) (табл. 5.4).

Дані цього етапу дослідження вказують на те, що не один з тест-зразків не збільшував вміст вимірюваних статевих гормонів в крові оваріоектомованих тварин. Це може вказувати на те, що експериментальні засоби не викликають збільшення периферійної ароматазної активності й гіперфункції наднирників, що є позитивною токсикологічною характеристикою.

Враховуючи літературні дані щодо фітохімічного складу рослинної сировини (фітоестрогени), використаної при розробці препаратів, а також помірні позитивні результати попередніх етапів дослідження, можна зробити гіпотезу, що дані тест-зразки корегують прояви гіпоестрогенового стану (експериментальної оваріоектомії) шляхом прямої взаємодії з естрогеновими рецепторами, й істотно не впливають на синтез естрогенів в організмі.

5.6 Вивчення гострої токсичності розроблених засобів

Вивчення гострої токсичності є обов'язковим етапом дослідження нових лікарських засобів та діючих речовин, яке дозволяє оцінити небезпечність речовин для здоров'я в умовах короткотривалої дії та дозволяє визначити клас токсичності та широту терапевтичної дії [315–318].

При виборі доз для вивчення гострої токсичності лімітуючим стало введення максимальної дози IV класу токсичності згідно з вимогами методичних рекомендацій яка склала 5000 мг/кг за лікарською формою для внутрішньошлункового способу введення та 1000 мг/кг відповідно для парентерального шляху введення (табл. 5.5).

Термін спостереження за тваринами при вивченні гострої токсичності, згідно з методичними рекомендаціями склав 14 днів. Реєстрували прояви порушень фізіологічного стану тварин, виживаність, динаміку маси тіла.

Оцінку фізіологічного стану кожної тварини проводили один раз на добу за допомогою інтегральних показників (загальний стан, зміни положення тіла, стан шкіри, колір слизових оболонок, температура тіла) та окремих симптомів (міоз, сльозоточивість, саливація, діарея, зміни кольору сечі та фекалій, сонливість, тремор,

судоми та ін.). Індивідуальну масу тіла тварин визначали натщесерце перед введенням препарату та на 3–ю, 7–у й 14–у (перед евтаназією) добу експерименту.

Таблиця 5.5

Дизайн дослідження гострої токсичності для ЕСКС та НКС

Група	Доза за лікарською формою, мг/кг	Кількість тварин у групі	
		самці	самиці
Інтактний контроль	–	6	6
Ентеральний шлях введення			
ЕСКС	5000	6	6
НКС	5000	6	6
Парентеральний шлях введення			
ЕСКС	1000	6	6
НКС	1000	6	6

По закінченню терміну спостереження тварин знеживлювали шляхом дислокації шийного хребцю під хлороформним наркозом, проводили розтин та макроскопічне обстеження внутрішніх органів, розраховували їх масові коефіцієнти (МК). Усі дослідження проводились у відповідності з директивою Ради ЄС 86/609 ЄЕС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [278].

Отримані експериментальні дані статистично обробляли методом варіаційної статистики на рівні значущості $p < 0,05$ (вираховували середнє арифметичне та його стандартну похибку). Статистичні висновки при порівнянні рядів експериментальних даних отримували на основі однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA.

Після введення щурам тест–зразків в максимальній дозі 5000 мг/кг ентерально та 1000 мг/кг парентерально ознак інтоксикації у тварин не спостерігали: всі інтегральні показники не відрізнялися від показників тварин інтактної групи. Тварини були охайними, активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та

судом не спостерігали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена. При спостереженні за тваринами протягом двох тижнів не було встановлено гибелі в жодній з експериментальних груп. Порівняння поведінки тварин, споживання води та їжі дослідних та інтактних тварин показало відсутність жодних відмінностей (табл. 5.6, 5.7).

Таблиця 5.6

Результати дослідження гострої токсичності ЕСКС

Шлях введення препарату	Вид тварин	Стать	Доза, мг/кг	Загибель тварин/ тварини, що вижили
Внутрішньо- шлунковий	щури	самці	5000	0/6
		самиці	5000	0/6
Внутрішньо- черевинний	щури	самці	1000	0/6
		самиці	1000	0/6

Таблиця 5.7

Результати дослідження гострої токсичності НКС

Шлях введення препарату	Вид тварин	Стать	Доза, мг/кг (за ЛФ)	Загибель тварин/ тварини, що вижили
Внутрішньо- шлунковий	щури	самці	5000	0/6
		самиці	5000	0/6
Ректальний	щури	самці	1000	0/6
		самиці	1000	0/6

Показники динаміки маси тіла тварин, яким вводили досліджувані тест-зразки ентеральним та парентеральним шляхами, не виходили за межі фізіологічної норми та вірогідно не відрізнялися від аналогічних показників у групі інтактних тварин впродовж всього експерименту (табл. 5.8).

Розтин та макроскопічне дослідження внутрішніх органів тварин проводили через 14 діб після початку експерименту. Оскільки даний препарат пропонується для лікування пацієнтів жіночої статі, то для макроскопічного аналізу у самиць щурів був

Таблиця 5.8

Динаміка маси тіла тварин, яким вводили тест-зразки, $M \pm m$ $(\bar{X} \pm S_x, n=6, P=95 \%)$

Група тварин	Стать	Вихідна маса тіла, г	Маса тіла на 4-у добу, г	Маса тіла на 7-у добу, г	Маса тіла на 14-у добу, г
Інтактні тварини	самці	212,5 ± 3,8	212,9 ± 3,6	213,1 ± 3,7	214,0 ± 3,9
	самиці	207,8 ± 3,1	208,0 ± 2,9	208,2 ± 2,8	208,5 ± 3,0
ЕСКС (ентеральне введення)	самці	210,8 ± 2,9	211,2 ± 3,2	211,5 ± 3,0	212,1 ± 2,8
	самиці	209,1 ± 2,5	209,6 ± 2,4	209,9 ± 2,7	210,2 ± 2,6
ЕСКС (парентеральне введення)	самці	211,3 ± 2,8	211,6 ± 2,8	212,0 ± 2,9	212,1 ± 2,7
	самиці	209,5 ± 2,4	209,7 ± 2,5	209,8 ± 2,5	210,3 ± 2,4
НКС (ентеральне введення)	самці	213,0 ± 2,9	213,0 ± 2,9	213,3 ± 2,9	213,8 ± 2,8
	самиці	210,4 ± 2,2	210,5 ± 2,2	211,1 ± 2,3	211,3 ± 2,4
НКС (парентеральне введення)	самці	211,6 ± 2,5	211,7 ± 2,5	211,7 ± 2,5	212,2 ± 2,6
	самиці	208,4 ± 2,1	208,9 ± 2,2	209,0 ± 2,3	209,2 ± 2,3

взятий дещо більший набір органів, зокрема яєчники. За розміром, кольором, консистенцією, а також розташуванням, внутрішні органи щурів обох статей контрольної та дослідних груп не виходили за межі фізіологічної норми і не відрізнялися між собою.

Після розрахунку масових коефіцієнтів внутрішніх органів встановлено, що даний показник не відрізняється у тварин обох статей інтактного контролю та дослідних груп (табл. 5.9, 5.10).

Таким чином, комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності екстракту спиртового комбінованого складу та настою комбінованого складу на

Таблиця 5.9

Масові коефіцієнти внутрішніх органів самців білих щурів при двох шляхах введення досліджуваних тест-зразків, $M \pm m (\bar{X} \pm S_x, n=6, P=95 \%)$

МК органів г/100г	Експериментальна група				
	Інтактний контроль	ЕСКС	НКС	ЕСКС	НКС
		Внутрішньошлунково		Внутрішньочеревинно	
Печінка	4,836 ± 0,123	4,793 ± 0,109	4,803 ± 0,099	4,882 ± 0,117	4,814 ± 0,095
Головний мозок	1,358 ± 0,048	1,397 ± 0,039	1,356 ± 0,045	1,322 ± 0,049	1,375 ± 0,041
Нирки	0,802 ± 0,052	0,837 ± 0,067	0,798 ± 0,055	0,842 ± 0,064	0,820 ± 0,055
Серце	0,457 ± 0,024	0,468 ± 0,032	0,443 ± 0,026	0,460 ± 0,030	0,454 ± 0,023
Наднирники	0,036 ± 0,002	0,035 ± 0,002	0,038 ± 0,003	0,034 ± 0,002	0,036 ± 0,001

Таблиця 5.10

Масові коефіцієнти внутрішніх органів самиць білих щурів при двох шляхах введення досліджуваних тест-зразків, $M \pm m (\bar{X} \pm S_x, n=6, P=95 \%)$

МК органів г/100г	Експериментальна група				
	Інтактний контроль	ЕСКС	НКС	ЕСКС	НКС
		Внутрішньошлунково		Внутрішньочеревинно	
Печінка	4,322 ± 0,079	4,289 ± 0,084	4,306 ± 0,075	4,330 ± 0,080	4,325 ± 0,076
Головний мозок	1,322 ± 0,052	1,331 ± 0,056	1,318 ± 0,049	1,335 ± 0,055	1,328 ± 0,047
Нирки	0,828 ± 0,043	0,826 ± 0,039	0,842 ± 0,045	0,814 ± 0,035	0,838 ± 0,042
Серце	0,514 ± 0,032	0,502 ± 0,028	0,520 ± 0,035	0,506 ± 0,031	0,498 ± 0,031
Наднирники	0,033 ± 0,002	0,034 ± 0,002	0,033 ± 0,001	0,032 ± 0,002	0,033 ± 0,002
Яєчники	0,072 ± 0,005	0,069 ± 0,004	0,073 ± 0,004	0,072 ± 0,004	0,071 ± 0,005

основі рослинної сировини на щурах дозволив встановити відсутність токсичної дії

препаратів при парентеральному ($LD_{50} > 1000$ мг/кг) та ентеральному ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) шляхах введення. Згідно з класифікацією речовин за токсичністю екстракту спиртового комбінованого складу відносяться до IV класу токсичності – при внутрішньошлунковому та внутрішньочеревинному введенні. Настій комбінованого складу також відноситься до IV класу токсичності речовин при двох досліджених введеннях. Оскільки при експериментальному дослідженні не було виявлено загибелі жодної тварини, то подальші дослідження із введенням більших доз є недоцільними. При дослідженні стану внутрішніх органів також не встановлено токсичного впливу досліджуваних препаратів.

Висновки до розділу 5

1. Досліджено фармакологічну активність комбінованих засобів рослинного походження на моделі експериментальної оваріоектомії у щурів.
2. Встановлено, що всі експериментальні й референтні зразки в однаковій дозі – 0,27 мл/кг при внутрішньо шлунковому введенні впродовж трьох тижнів корегували патологічні прояви гіпоестрогенового стану у щурів.
3. Екстракт спиртовий комбінованого складу «Флавоклім–плюс» вірогідно зменшував масу тіла тварин на 5,86 % (14,7 г); відновлював до нормальних значень показники латентного періоду входу в темний рукав та кількості переходів, й вірогідно збільшував час знаходження тварин в світлому рукаві лабіринту в 2 рази в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт»; вірогідно зменшував сумарний час іммобілізації тварин в 1,5 рази в тесті «поведінкового відчаю»; відновлював рівень сироваткової глюкози натщесерце; відновлював рівень тригліцеридів та загального холестеролу в сироватці крові тварин до нормальних показників, при цьому вірогідно зменшував вміст холестеролу ліпопротеїнів низької щільності на 23,2 %; й також не викликав гіперпродукції статевих гормонів у самиць щурів в умовах оваріоектомії.
4. Настій з лікарської рослинної сировини комбінованого складу «Флавоклім» відновлював до значень норми показник латентного періоду входу в темний рукав, вірогідно збільшував час знаходження тварин в світлому рукаві

лабіринту в 1,8 разів й кількість переходів між рукавами – в 2,9 разів в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт»; вірогідно зменшував сумарний час іммобілізації тварин в 1,3 рази в тесті «поведінкового відчаю»; вірогідно зменшував вміст загального холестеролу на 12,7 %; й також не викликав гіперпродукції статевих гормонів у самиць щурів в умовах оваріоектомії.

5. Референтний зразок краплі оральні Тазалок відновлював до значень норми показник латентного період входу в темний рукав та вірогідно збільшував час знаходження тварин в світлому рукаві більш ніж в 2 рази й кількість переходів між рукавами – в 1,9 рази в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт»; вірогідно зменшував сумарний час іммобілізації тварин майже в 1,5 рази в тесті «поведінкового відчаю»; вірогідно зменшував рівень холестеролу ліпопротеїнів низької щільності на 18,6 %; й також не викликав гіперпродукції статевих гормонів у самиць щурів в умовах оваріоектомії.

6. Референтний зразок настойка Клімапін в даному лікувальному режимі відновлював до значень норми показник латентного період входу в темний рукав та вірогідно збільшував час знаходження тварин в світлому рукаві більш ніж в 2 рази й кількість переходів між рукавами – в 2,1 рази в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт»; вірогідно зменшував сумарний час іммобілізації тварин майже в 1,5 рази в тесті «поведінкового відчаю»; не впливав рівень холестеролу ліпопротеїнів низької щільності; й також не викликав гіперпродукції статевих гормонів у самиць щурів в умовах оваріоектомії.

7. Найбільшу ефективність в даному дослідженні показав екстракт спиртовий комбінованого складу «Флавоклім–плюс», він нормалізує психоемоційний стан, не викликає гіперпродукції статевих гормонів у самиць щурів в умовах оваріоектомії на рівні референс препаратів. Таким чином він є рекомендованим для подальших фармакологічних досліджень та впровадження в фармацевтичне виробництво, як перспективний засіб для корекції патологічних проявів клімактеричного синдрому.

8. Проведені дослідження з вивчення гострої токсичності розроблених лікарських засобів дозволили встановити відсутність токсичної дії препаратів при

парентеральному (ЛД₅₀ >1000 мг/кг) та ентеральному (ЛД₅₀>5000 мг/кг) шляхах введення. Екстракт спиртовий та настій відносяться до IV класу токсичності при двох досліджених введеннях. Токсичного впливу на внутрішні органи не встановлено.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Konovalenko I. S. , Polovko N. P., Lytkin D. V., Zagayko A. L. Research of acute toxicity of medicinal drugs on the basis of plant raw material for non–hormonal therapy of climateric syndrome. *Клінічна Фармація*. 2018. №3 (22).С. 11–16.

2. Konovalenko I. S. , Polovko N. P., Lytkin D. V., Zagayko A. L. Development of composition, technology and study of acute toxicity of combined composition on the basis of plant raw material for treatment of climacteric syndrome. *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. 170.

3. Коноваленко И. С., Лыткин Д. В., Половко Н. П., Загайко А. Л. Изучение острой токсичности спиртовых капель комбинированного состава на основе лекарственного растительного сырья для терапии климактерического синдрома. *Материалы XIII научно–практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием, посвящённой «Году развития туризма и народных ремесел», г. Душамбе, 27 апреля 2018 г.* Т. 1. С. 30.

4. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. Динаміка зміни маси тіла у щурів при фармакологічному вивченні засобів на основі рослинної сировини на моделі експериментальної оваріоектомії. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології*. 2018. Випуск 5. С. 180–183.

5. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Литкін Д. В., Загайко А. Л. Фармакологічне вивчення лікарського рослинного збору на моделі експериментальної оваріоектомії у щурів. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : збірник наукових праць, м. Харків, 1 берез. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019., випуск 3. С. 113–117.

6. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Литкін Д. В., Загайко А. Л. Фармакологічне вивчення лікарського рослинного збору на моделі експериментальної оваріоектомії у щурів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали III Міжнар. наук.–практ. конф., м. Харків, 14–15 берез. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019., Т. 1.С. 110–114.

7. Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді що проявляє седативну, естрогенну, вегето-судинну дію та регулює ліпідний обмін : пат. 138102 України на корисну модель. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. власник НФаУ. № 201903243; заяв. 01.04.2019; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22. 4 с.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі уперше науково обґрунтовано та експериментально розроблено склад, технологію та проекти методик контролю якості на комбіновані фітопрепарати у формі збору, сухого водного екстракту та рідкого спиртового екстракту (крапель) для терапії ускладнень, спричинених клімактеричними розладами.

1. У результаті проведеного аналізу даних наукової літератури встановлено актуальність розробки комбінованих рослинних засобів для застосування при терапії ускладнень, викликаних клімактеричними розладами, проаналізовано сучасний стан патологічних проявів при менопаузі, напрямки їх фармакотерапії та фітотерапії.

2. Проаналізовано номенклатуру сучасних лікарських засобів, що застосовуються при клімактеричному синдромі та встановлено, що вітчизняний фармацевтичний ринок препаратів для лікування клімактеричного синдрому представлений 7 лікарськими засобами, які належать до групи N05C M – Снодійні та седативні препарати, згідно класифікаційній системі АТС, що підтверджує актуальність створення фітопрепаратів для лікування проявів клімактеричного синдрому багатоспрямованої дії.

3. Обґрунтовано вибір об'єктів дослідження та розроблено алгоритм вибору лікарських рослин для негормональної терапії клімактеричного синдрому з урахуванням етіопатогенетичних та симптоматичних чинників захворювання. За результатами комп'ютерного прогнозування біологічної активності діючих речовин для подальших досліджень обрано: квітки липи серцелистої, листя кропиви дводомної, листя шавлії лікарської, трава чебрецю повзучого, трава деревію звичайного, суцвіття конюшини лучної, шишки хмелю звичайного.

4. На підставі фармакотехнологічних досліджень впливу параметрів екстрагування збору визначено, що оптимальним режимом екстракції є настоювання на водяній бані (при температурі – 90 ± 5 °C) впродовж 15 хв, настоювання до охолодження – 30–45 хв. Дані параметри екстракції сприяють вилучення більшої

кількостів гідроксикоричних кислот і флавоноїдів, які проявляють необхідний фармакологічний ефект.

5. Обґрунтовано технологію виробництва сухого водного екстракту зі збору в промислових умовах. Розроблено проекти технологічних інструкцій, технологічного регламенту та методик контролю якості на збір та сухий екстракт «Флавоклім», які апробовано в умовах низки виробничих аптек: аптека № 171 КП ММРЗО «Центральна міська аптека №171», м. Мелітополь; аптека № 6 ТОВ «Леда», аптека № 195 КП ХОР «Фармація», м. Харків; ТОВ аптека «Центорія», м. Івано–Франківськ; Навчально–виробнича аптека № 1 Львівського національного медичного університету (ЛНМУ) ім. Данила Галицького, м. Львів (акти впровадження від 24.10.2019 р., 5.03.2020 р., 20.02.2020 р., 28.09.2020 р., 4.02.2020 р., відповідно).

6. За результатами отриманих фармакотехнологічних і фізико–хімічних характеристик з урахуванням сучасних фармакопейних вимог, розроблено методики якісного та кількісного визначення суми флавоноїдів та гідроксикоричних кислот, складено специфікацію на збір та сухий водний екстракт які включені до проекту методів контролю якості. За результатами дослідження стабільності збору та сухого водного екстракту запропоновано умови зберігання та встановлено термін придатності – 2 роки при температурі, що не перевищує 25 °С.

7. На підставі результатів дослідження умов одержання рідкого екстракту з фітокомпозиції, що містить шавлії лікарської листя, хмелю звичайного шишок, кропиви дводомної листя вивчена залежність виходу біологічно активних речовин від розміру часток лікарської рослинної сировини, типу екстрагенту та умов екстрагування. За результатами досліджень динаміки вилучення екстрактивних та біологічно активних речовин визначена ефективність використання 70 % етанолу, методу перколяції з кратністю екстракції фітокомпозиції – 4 з розміром часток сировини – 1–3 мм. Технологія екстракту апробована у НВФК «Ейм» (акти апробації від 6.07.2020 р.).

8. Визначено показники якості екстракту згідно вимог Державної Фармакопеї України та розроблено специфікацію до проекту методик контролю якості на екстракт під умовною назвою «Флавоклім–плюс». Для ідентифікації

біологічно активних речовин обрано кольорові реакції на флавоноїди та метод тонкошарової хроматографії на ефірні олії. Розроблено методики кількісного визначення флавоноїдів та поліфенольних сполук у екстракті методом спектрофотометрії. Експериментально доведена стабільність екстракту протягом 27 місяців зберігання при температурі 25 ± 2 °С.

9. Мікробіологічними дослідженнями встановлено, що розроблений екстракт за показниками мікробіологічної чистоти відповідає вимогам Державної Фармакопеї України категорії В. Розроблено проєкти технологічного регламенту та методик контролю якості на екстракт «Флавоклім–плюс», які апробовано в умовах низки виробничих аптек: аптека № 6 ТОВ «Леда», аптека № 195 КП ХОР «Фармація», м. Харків (акти апробації технології від 5.03.2020 р., 20.02.2020 р., відповідно).

10. Досліджено фармакологічну активність комбінованих засобів рослинного походження на моделі експериментальної оваріоектомії у щурів. Встановлено, що усі експериментальні й референтні зразки в однаковій дозі при внутрішньо шлунковому введенні впродовж трьох тижнів корегували патологічні прояви гіпоестрогенового стану у щурів. Встановлено, що настій, отриманий зі збору та екстракт (краплі) зменшували масу тіла тварин; нормалізували психоемоційний стан; відновлювали рівень сироваткової глюкози; тригліцеридів та загального холестеролу в сироватці крові тварин до нормальних показників, зменшували вміст холестеролу ліпопротеїнів низької щільності; не викликали гіперпродукції статевих гормонів у самиць щурів в умовах оваріоектомії. Розроблений екстракт перевищував дію на ЛПНЩ–Х у порівнянні з референс препаратами, що вказує на ефективність впливу на метаболічні порушення. Настій зі збору виявив помірний фармакологічний ефект та може використовуватися в комплексній терапії. Наукова новизна підтверджено патентом України на корисну модель № 138102 від 25.11.2019 р. «Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді, що проявляє седативну, естрогенну, вегето–судинну дію та регулює ліпідний обмін», за результатами проведених досліджень подано заявку на отримання патенту на винахід № а 201903220 від 01.04.2019 р. «Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді, що проявляє седативну, естрогенну, вегето–судинну дію та

регулює ліпідний обмін».

11. За результатами проведених досліджень з вивчення гострої токсичності розроблених лікарських засобів встановлено відсутність токсичної дії препаратів при парентеральному ($LD_{50} > 1000$ мг/кг) та ентеральному ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) шляхах введення. Настій, виготовлений з розробленого збору та екстракт відносяться до IV класу токсичності.

Фрагменти наукових досліджень упроваджено в освітній процес медичних та фармацевтичних ЗВО.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Poomalar G. K., Arounassalame B. The quality of life during and after menopause among rural women. *J. Clin. Diagn. Res.* 2013. Vol. 7, № 1. P. 135–139.
2. Ceylan B., Ozerdoğan N. Menopausal symptoms and quality of life in Turkish women in the climacteric period. *Climacteric.* 2014. № 6. P. 705.
3. Daan N. M. Cardiovascular risk in women with premature ovarian insufficiency compared to premenopausal women at middle age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2016. Vol. 101, № 9. P. 3306-3315.
4. Jones H. J. Bladder Symptoms in the Early Menopausal Transition. *J. Womens Health.* 2016. Vol. 25, № 5. P. 457–463.
5. Menopause and hormone replacement therapy: the 2017 Recommendations of the Italian Menopause Society / M. Gambacciani et al. *Minerva Ginecol.* 2018. Vol. 70, № 1. P. 27-34. doi:10.23736/S0026-4784.17.04151-X
6. Дильман В. М. Большие биологические часы. Москва, 1982. 108 с.
7. Дубоссарська З. М. Еволюція уявлень про клімактерій та менеджмент менопаузи. *Медицинские аспекты здоровья женщины.* 2010. № 5–6 (33–34). С. 26–29.
8. Де Вільерс Т., Татарчук Т. Ф. Національний консенсус щодо ведення пацієток у клімактерії. *Репродуктивна ендокринологія.* 2016. № 1 (27) С. 8–25.
9. Татарчук Т. Ф., Єфіменко О. А., Дубовка К. М. Проблема клімактерію у практиці сімейного лікаря. *Репродуктивна ендокринологія.* 2012. № 4 (6). С. 22–32.
10. Сметник В. П. Системные изменения у женщин в климактерии. *Русский медицинский журнал.* 2001. № 9. С. 354-357.
11. Тихомиров А. Л. Заместительная гормональная терапия в физиологической и хирургической постменопаузе. *Фарматека.* 2007. № 10. С. 37-41.
12. Сергеев П. В. Биохимическая фармакология : учеб. пособие / под ред. П. В Сергеева, Н. Шимановского. Москва : ООО «Медицинское информационное агенство», 2010. 624 с.

13. Состояние сердечно–сосудистой системы и показатели минеральной плотности костной ткани у женщин после двусторонней овариэктомии / Т. В. Митрохина и др. *Проблемы женского здоровья*. 2011. № 3. С. 18–25.
14. Calleja–Agius J., Brincat M. P. The urogenital system and the menopause. *Climacteric*. 2015. Vol. 18, Suppl 1. P. 8–22.
15. Callejaa–Agius J., Brincat M. P. The effect of menopause on the skin and of the connective tiissues. *Gynecol Endocrinol*. 2011. Vol. 28 (4). P. 273–277.
16. Callejaa–Agius J., MuscattBaron Y., Brincat M. P. Skin ageing. *Review Menopause International*. 2007. Vol. 13, № 2. P. 60–64.
17. Леонова З. А. Синтез и функции женских половых гормонов. Фізіологія та патологія клімактеричного періоду. *Нова медицина*. 2002. № 5. С. 18–25.
18. Walf A. A., Frye C. A. A Review and Update of Mechanisms of Estrogen in the Hippocampus and Amygdala for Anxiety and Depr ession Behavior. *Neuropsychopharmacology*. 2006. Vol. 31, № 6. P. 1097–1111.
19. Лихачев В. К. Гормональная диагностика в практике акушера-гинеколога: Руководство для врачей. Киев, 2012. С. 115.
20. Біохімія : підручник / М. Є. Кучеренко та ін. Київ : ВПЦ «Київський університет», 2002. 324 с.
21. Северин Е. С. Биохимия : учебник. Москва : ГЭОТАР–МЕД, 2009. 779 с.
22. Гончаров Н. П., Колесникова Г. С. Биохимические маркеры врожденной дисфункции коры надпочечников и нарушений стероидогенеза. *Проблемы эндокринологии*. 2007. Т. 53, № 1. С. 30–33.
23. Назаренко Т. А., Дмитриев Д. В. Ингибиторы ароматазы в репродуктивной медицине. *Проблемы репродукции*. 2007. № 1. С. 14–20.
24. Леонова З. А., Флоренсов В. В. Синтез и функции женских половых гормонов. *Сибирский мед. журн.* (г. Иркутск). 2013. Т. 117, № 2. С. 10–13.
25. Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v–erbA / S. Green et al. *Nature*. 1986. Vol. 320 (6058). P. 134–139.
26. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary / G. G. Kuiper et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996. Vol. 93, № 12. P. 5925–5930.

27. Weiser M. J., Foradori C. D., Handa R. J. Estrogen receptor beta in the brain: from to function. *Brain research reviews*. 2008. Vol. 57, № 2. P. 309–320.
28. Юренева С. В., Ильина Л. М., Муллабаева С. М. Кожа и половые гормоны (эффекты менопаузы и заместительной гормональной терапии). Обзор. *Акушерство и гинекология*. 2010. № 6. С. 16–22.
29. Requirements of estrogen receptor alpha in insulin like growth factor–I(IGF–1) induced uterine responses and in vivo evidence for IGF–1/estrogen receptor crosstalk / P. Ciana et al. *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 8531–8537.
30. Fillardo E. J. Epidermal growth factor receptor (EGFR) transactivation by estrogen via the G–protein coupled receptor, GPR30; a novel signaling pathway with potential significance for breast cancer. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2002. Vol. 277. P. 8531–8537.
31. Prossnitz E. R., Barton M. Estrogen biology: new insights into GPER function and clinical opportunities. *Molecular and cellular endocrinology*. 2014. Vol. 389, № 1. P. 71–83.
32. Muramatsu M., Inoue S. Estrogen receptors: how do they control reproductive and non–reproductive functions. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 2000. Vol. 270. P. 1–10.
33. Pelletier G., Ren L. Localization of sex steroid receptors in human skin. *Histol. Histopathol.* 2004. Vol. 19, № 2. P. 629–636.
34. The distribution of estrogen receptor beta is distinct to that of estrogen receptor alpha and the androgen receptor in human skin and the pilosebaceous unit / M. J. Thornton et al. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 2003. Vol. 8. P. 100–103.
35. Климактерический синдром / В. П. Сметники др. Москва : Медицина, 1988. 288с.
36. Menopausal symptoms and risk factors for cardiovascular disease in postmenopause / A. Cagnacci et al. *Climacteric*. 2012. Vol. 15 (2). P. 157–62.
37. Allison M. A., Manson J. E. Age, hormone therapy use, coronary heart disease, and mortality. *Menopause*. 2011. Vol.18, № 3. P. 243–5.
38. Bittner V. Menopause, age, and cardiovascular risk: a complex relationship. *J Am Coll Cardiol*. 2009. Vol. 54, № 25. P. 2374–5.

39. Коноваленко И. С., Половко Н. П. Патофизиология климактерического синдрома. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доп. І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, 18 жовт. 2018 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2018. С. 122–123
40. Руководство по климактерию / под ред. В. П. Сметник, В. И. Кулакова. Москва : Мед. информ. агентство, 2001. 685 с.
41. Sleep difficulty in women at midlife: a community survey of sleep and the menopausal transition / Н. М. Kravitz et al. *Menopause*. 2003. Vol. 10, № 1. P. 19-28.
42. A population-based longitudinal study of cognitive functioning in the menopausal transition / Р. М. Meyer et al. *Neurology*. 2003. Vol. 61, № 6. P. 801-806.
43. Поворознюк В. В., Григорьева Н. В. Менопауза и костно-мышечная система. Киев : «Эспресс», 2004. 512 с.
44. Григорян О. Р. Современные принципы коррекции метаболического синдрома у женщин в период постменопаузы. *Consilium medicum*. 2005. Т. 7, № 9. С. 734-736.
45. Сметник В. П. Климактерические расстройства и методы их коррекции. *Consilium medicum*. 2007. Т. 9, № 6. С. 65-70.
46. Тихомиров А. Л. Заместительная гормональная терапия в физиологической и хирургической постменопаузе. *Фарматека*. 2007. № 10. С. 37-41.
47. Клиническая фармакология по Гудману и Гилману / под общ. ред. А. Г. Гилмана. Москва : Практика, 2006. 1648 с.
48. Балан В. Е. Применение фитопрепаратов для лечения климактерических расстройств. *Consilium medicum*. 2007. Т. 9, № 6. С. 73-76.
49. Евтушенко И. Д., Удинцев С. Н., Краснов Е. А., Серебров В. Ю. Климактерический синдром и методы его не гормональной коррекции. Томск, 2006. 128 с.
50. An overview of menopause associated vasomotor symptoms and options available in its management / Т. С. Okeke et al. *Niger J Med*. 2013. Vol. 22 (1). P. 7-14
51. Andrikoula M., Prelevic G. Menopausal hot flushes revisited. *Climacteric*. 2009. № 12 (1). P. 3-15.

52. Casper R. F., Yen S. S. Neuroendocrinology of menopausal flushes: an hypothesis of flush mechanism. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 1985. № 22 (3). P. 293-312.
53. Freedman R. R., Krell W. Reduced thermoregulatory null zone in postmenopausal women with hot flashes. *Am. J. Obstet. Gyn.* 1999. № 181 (1). P. 66-70.
54. Rosenberg J., Larsen S. I. Hypothesis: pathogenesis of postmenopausal hot flash. *Med Hypotheses*. 1991. № 35 (4). P. 349-350.
55. Thurston R. C., Crandall C., Manson J. E. Vasomotor Symptoms and Accelerated Epigenetic Aging in the Women's Health Initiative (WHI) *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2020. Vol. 104 (4) DOI:10.1210/clinem/dgaa081.
56. Andenas R., Smastuen M. C., Misvar N., Ribu, L., Vistad I., Helseth, Solvi. Associations between menopausal hormone therapy and sleep disturbance in women during the menopausal transition and post-menopause: data from the Norwegian prescription database and the HUNT study. *BMC women's health*. 2020. Vol. 20 (1) P. 54.
57. Davis S. R. Phytoestrogens therapy for menopausal symptoms. *Br. Med. J.* 2001. Vol. 323. P. 354-355.
58. Rosenberg J., Larsen S. I. Hypothesis: pathogenesis of postmenopausal hot flash. *Med Hypotheses*. 1991. № 35 (4). P. 349-350.
59. Shively C. A., Bethea C. L. Cognition, mood disorders, and sex hormones. *ILAR J.* 2004. Vol. 5, № 2. P. 189-199.
60. Freedman R. R. Menopausal hot flashes. *Menopause: biology and pathobiology* / Ed. R. Lobo, J. Kelsey, R. Marcus: 1 ed. San Diego : Academic Press, 2000. P. 215–227.
61. Atsalis S., Margulis S. W. Perimenopause and menopause: Documenting life changes in aging female gorillas. *Interdisciplinary Topics in Gerontology*. 2008. № 36. P. 119–146.
62. Бабычев В. Н. Нейроэндокринная регуляция репродуктивной системы. Пушино, 1995. 238 с.
63. Сметник В. П., Кулаков В. И. Руководство по климактерию. Москва : МИА, 2001. 685 с.

64. Wakatsuki A., Ikenoue N., Sagara Y. Effects of estrogen on susceptibility to oxidation of low-density and high-density lipoprotein in postmenopausal women. *Maturitas*. 1998. Vol. 28. P. 229-234.
65. Mendelsohn M., Karas R. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N. Engl. J. Med.* 1999. Vol. 340. P. 1801-1811.
66. Заместительная гормональная терапия как средство профилактики сердечно-сосудистых заболеваний: опрощенное «нет» или взвешенное «да»? / В. И. Подзолков и др. *Кардиология*. 2004. Т. 9. С. 67-71.
67. Wu S., Chou P., Tsai S. The impact of years since menopause on the development of impaired glucose tolerance. *J. Clin. Epidemiol.* 2001. Vol. 54. P. 117–120.
68. The distribution of estrogen receptor beta is distinct to that of estrogen receptor alpha and the androgen receptor in human skin and the pilosebaceous unit / M. J. Thornton et al. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 2003. Vol. 8. P. 100–103.
69. Черныш О. В. Нарушения углеводного и липидного обмена, чувствительность тканей к инсулину у женщин в климактерическом периоде с впервые выявленной гипергликемией. *Проблемы здоровья и экологии*. 2010. № 4 (26). С. 58–61.
70. Wakatsuki A., Sagara Y. Lipoprotein metabolism in postmenopausal and oophorectomized women. *Obstetrics and Gynecology*. 2005. Vol. 85, № 4. P. 523–528.
71. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal Joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes / R. Kahn et al. *Diabetes care*. 2005. Vol. 28, № 9. P. 2289–2304.
72. Lizcano F., Guzmán G. Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause. *BioMed research international*. 2014. Published online 2014 Mar 6. ; doi: 10.1155/2014/757461.
73. Stevenson J., Crook D., Godsland I. Influence of age and menopause on serum lipids and lipoproteins in healthy women. *Atherosclerosis*. 2003. Vol. 98. P. 83–90.
74. Future Forum Editorial Board. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions / P. Barter et al. *Atherosclerosis*. 2003. Vol. 168. P. 195-211.

75. Schrott H. G. Adherence to National Cholesterol Educational Program Treatment goals in postmenopausal women with heart disease: the Heart and Estrogen/progestin Replacement Therapy (HERS) / H. G. Schrott et al. *JAMA*. 2007. Vol. 277. P.1281-6.
76. Estrogen aging and the cardiovascular system / J. P. Stice et al. *Futurecardiology*. 2009. Vol. 5, № 1. P. 93–103.
77. Овчинников А. Г. Ожирение и сердечно-сосудистая система. *Сердце*. 2005. № 5 (23). С. 243-253.
78. Obesity, insulin resistance and diabetes: sex differences and role of oestrogen receptors / M. R. Meyer et al. *Acta Physiol (Oxf)*. 2011. Vol. 203 (1). P. 259-69.
79. Estrogen and mechanisms of vascular protection / D. Xing et al. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2009. Vol. 29, № 3. P. 289–295.
80. Menopause and cardiovascular risk / R. Rossi et al. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*. 2002. Vol. 32, № 5–6. P. 325–328.
81. 17β -Estradiol downregulates tissue angiotensin-converting enzyme and ANG II type 1 receptor in female rats / S. A. Dean et al. *Am. J. Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2005. Vol. 288, № 3. P. R759–R766.
82. Raine-Fenning N. J., Brincat M. P., Muscat-Baron Y. Skin aging and menopause: implications for treatment. *Am. J. Clin. Dermatol*. 2003. Vol. 4. P. 371–384.
83. Khraibi A. A. Renal interstitial hydrostatic pressure and sodium excretion in hypertension and pregnancy. *J Hypertens Suppl*. 2002. Vol. 20. P. 21-7.
84. Meneton P. G., Warnock D. Involvement of renal apical Na transport systems in the control of blood pressure. *Am J Kidney Dis*. 2001. Vol. 37, (1 suppl 2). P. 39-47.
85. Estradiol induces proliferation of keratinocytes via receptormediate mechanisms / S. Verdier-Sevrain et al. *FASEB J*. 2004. Vol. 18. P. 1252–1254.
86. Metabolic syndrome among pre- and post-menopausal rural women in Bangladesh: result from a population-based study / S. Jesmin et al. *BMC Res Notes*. 2013. Vol. 6 (1). P. 157.
87. American Association of Clinical Endocrinologists. American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the diagnosis and

treatment of menopause: executive summary of recommendations / N. F. Goodman et al. *Endocr Pract.* 2011. Vol. 17 (6). P. 949-54.

88. Affinito P. et al. Effects of postmenopausal hypoestrogenism on skin collagen. *Maturitas.* 1999. Vol. 33. P. 239–247.

89. Thornton M. J. et al. The distribution of estrogen receptor beta is distinct to that of estrogen receptor alpha and the androgen receptor in human skin and the pilosebaceous unit. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 2003. Vol. 8. P. 100–103.

90. Setchell K. D. et al. S–equol a potent ligand for estrogen receptor beta, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. Vol. 81, № 5. P. 1072–1079.

91. Simoncig-Netjasov A. et al. Influence of duration of menopause, anthropometric and hormonal parameters on metabolic syndrome. *Med Pregl.* 2010. Vol. 63 (1-2). P. 33-39.

92. Wassertheil-Smoller S. et al. Hypertension and its treatment in postmenopausal women: baseline data from the Women's Health Initiative. *Hypertension.* 2000. Vol. 36. P. 780-789.

93. S. M. O'sullivan et al. Bisphosphonates in pregnancy and lactation–associated osteoporosis. *Osteopor. international.* 2006. № 7 (17). P. 1008–1012.

94. Руководство по остеопорозу / под ред. Л. И. Боневоленской. Москва : Бином. Лаборатория знаний, 2003. 523 с.

95. Eriksen E. F., Kassem M., Langdahl B. European and North American experience with HRT for the prevention of osteoporosis. *Bone.* 1996. Vol. 19, № 5. P. 179–183.

96. Roman–Blas J. A. et al. Osteoarthritis associated with estrogen deficiency. *Arthritis research & therapy.* 2009. Vol. 11, № 5. P. 1–14.

97. Riggs B. The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. *J. Clin. Invest.* 2000. Vol. 106. P. 120–126.

98. Файтельсон А. В., Радж Р. Д., Зохиров А. Н. Изменения параметров микроциркуляции в надкостнице и костной ткани у животных с экспериментальным

гипоэстрогенным остеопорозом. *Вест. Курской гос. сель.-хоз. академии*. 2012. № 5. С. 72–73.

99. Репина М. А. Проблемы менопаузального перехода: низкодозированная заместительная гормональная терапия микронизированным эстрадиолом в сочетании с дидрогестероном. *Фарматека*. 2008. № 14. С. 39–44.

100. Sites C. K. Bioidentical hormones for menopausal therapy. *Womens Health (Lond Engl)*. 2008. Vol. 4, № 2. P. 163–171.

101. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial / J. E. Rossouw et al. *JAMA*. 2002. Vol. 288, № 3. P. 321–333.

102. Pines A. et al. HRT in the early menopause: scientific evidence and common perceptions. *Climacteric*. 2008. Vol. 11 (4). P. 267-272.

103. Макацария А. Д., Бицадзе В. О., Акинынина С. В. Патогенез и профилактика тромботических осложнений при применении заместительной гормональной терапии. *Акушерство и гинекология*. 2007. № 2. С. 6670.

104. Updated practical recommendations for hormone replacement therapy in the peri- and postmenopause / G. Bednarek-Tupikowska et al. *Climacteric*. 2008. Vol. 11. P. 108-123.

105. Effect of hormone replacement therapy on cardiovascular events in recently postmenopausal women: randomised trial / L. L. Schierbeck et al. *BMJ*. 2012. Vol. 345. P. e6409.

106. Clarkson T. B. Timing hypothesis for postmenopausal hormone therapy: its origin, current status, and future. *Menopause*. 2013. Vol. 20. P. 342–353.

107. Hodis H. N., Mack W. J. A ‘window of opportunity:’ the reduction of coronary heart disease and total mortality with menopausal therapies is age and time–dependent. *Brain Res*. 2011. Vol. 1379. P. 244–252.

108. Iris L Tong Nonpharmacological treatment of postmenopausal symptoms. *The Obstetrician & Gynaecologist*. 2013. Vol. 15. P. 19–25.

109. Witchl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: a handbook for practice on a scientific basis. Stuttgart, 2012. 688 p

110. Грищенко О. В., Строчак А. В. Возможности селективных модуляторов эстрогенных рецепторов растительного происхождения в терапии климактерического синдрома. *Репродуктивное здоровье женщины*. 2004. Т. 18, № 2. С. 75-82.

111. Плотникова Т. М., Анищенко А. М., Плотников М. Б. Фитоэстрогены: механизмы коррекции сердечно-сосудистых осложнений климактерического синдрома. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2017. № 1. С. 39–44.

112. Xiao C. W. Health effect of soy protein and isoflavones in humans. *J. Nutr.* 2008. Vol. 138. P. 244–1249.

113. Beck V., Rohr U., Jungbauer A. Phytoestrogens derived from red clover: An alternative to estrogen replacement therapy? *J. Steroid Bioch.* 2005. Apr. Vol. 94 (5). P. 499-518.

114. Chan H. Y., Wang H., Leung L. K. The red clover isoflavone biochanin A modulates the biotransformation pathways of 7,12 dimethylbenz(a)anthracene, *Br. J. Nutr.* 2003. Vol. 90. P. 87-92.

115. The effect of red clover isoflavones on menopausal symptoms, lipid and vaginal cytology in menopausal women: A randomised double blind, placebo-controlled study / L. A. Hidalgo et al. *J. Gynecology endocrinology*. 2005. № 21 (5). P. 257-277.

116. Phytoestrogen supplements for the treatment of hot flashes: The isoflavone clover extract (ICE) study: a randomized controlled trial / Jeffrey A. Tice et al. *JAMA*. 2003. Vol. 290 (2). P. 207-214 (doi:10.1001/jama.290.2.207).

117. Milan M., Terzic, J., Dotlic, S., Maricic. Influence of red clover-derived isoflavones on serum lipid profile in postmenopausal women. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2009. Vol. 35, № 6. P. 1091-1095.

118. Kurzer M. S., Xu X. Dietary phytoestrogens. *Annu. Rev. Nutr.* 1997. № 17. P. 353-381.

119. Мурашко Н. К. Перспективы использования лекарственных растений при оказании помощи пациентам с болевым синдромом. *Медицина газета «Здоров'я України»*. 2013. № 15–16 (316–317). С. 42–43.

120. Mazur W. M., Duke J. A., Wahala K., Rasku S. Isoflavonoids and lignans in legumes: nutritional and health aspects in humans. *J. Nutr. Biochem.* 1998. Vol. 9. P. 193-200.

121. Кудина Е. В. Коррекция клинических проявлений климактерического синдрома: роль фитоэстрогенов. *Справочник поликлинического врача.* 2018. № 5. С. 69–72.

122. John A. Eden. Phytoestrogens for menopausal symptoms: a review. *Maturitas.* 2012. Vol. 72, № 2. P. 157-159.

123. Use of Plant-Based Therapies and Menopausal Symptoms: A Systematic Review and Meta-analysis / Franco O. H. et al. *Jama.* 2016. Vol. 315. P. 2554-63.

124. Кузнецова И. В., Успенская Ю. Б. Применение фитоэстрогенов у женщин в период менопаузального перехода и постменопаузе. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* 2014. № 2. С. 82–87.

125. Чулкова О. В., Чулкова Е. А. Климактерический синдром: возможности терапии. *Consilium medicum.* 2014. № 6. С. 66–69.

126. Xiang H., Schevzov G., Gunning P., Williams H. M. A comparative study of growth-inhibitory effects of isoflavones and their metabolites on human breast and prostate cancer cell lines. *Nutr. Cancer.* 2002. Vol. 42. P. 224-232.

127. Zand R. S. Rosenberg, Jenkins D. J., Brown T. J. Flavonoids can block PSA production by breast and prostate cancer cell lines. *Clin. Chim. Acta.* 2002. Mar. Vol. 317 (1-2). P. 17-26.

128. Philp H. A. Hot flashes a review of the literature on alternative and complementary treatment approaches. *Altern. Med. Rev.* 2003. Vol. 8, № 3. P. 284–302.

129. Вишневикий А. С. Эстрогены (Климадинон) соединения первого ряда при лечении вегетососудистых расстройств у больных с климактерическим синдромом. *Медицинская кафедра.* 2002. № 3. С. 64-69.

130. Phytoestrogens for vasomotor menopausal symptoms / A. Lethaby et al. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013. Vol. 10, № 12. P. CD001395. doi: 10.1002/14651858.CD001395.pub4.PMID: 24323914

131. Pinell S. R. Cutaneous photodamage, oxidative stress and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol*. 2003. Vol. 48, № 1. P. 1–19.
132. The phytoestrogen equol increases nitric oxide availability by inhibiting superoxide production: an antioxidant mechanism for cell mediated LDL modification / J. Hwang et al. *J. Biol.Med*. 2003. Vol. 34. P. 1271–1282.
133. Calleja_Agius J., Brincat M. P. The effect of menopause on the skin and of the connective tissues. *Gynecol Endocrinol*. 2011. Vol. 28 (4). P. 273.
134. Calleja_Agius J., Muscat_Baron Y., Brincat M. P. Skin ageing. *Review Menopause International*. 2007. Vol. 13. P. 60–64.
135. Effect of red clover_derived isoflavone supplementation on insulin_like growth factor, lipid and antioxidant status in healthy female volunteers: a pilot study / M. J. Campbell et al. *European J of Clinical Nutrition*. 2004. № 58. P. 173–179.
136. Hoffmann D. Medical herbalism. The Science and Practice of Herbal Medicine. Vermont : Heling Arts Press, 2003. 672 p.
137. Factors related to age at natural menopause: longitudinal analyses from SWAN / E. B. Gold et al. *Am J Epidemiol*. 2013. Vol. 178, № 1. P. 70–83.
138. Chae C. U., Derby C. A. The menopausal transition and cardiovascular risk. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2016. Vol. 38, № 3. P. 477–88.
139. Safety of bazedoxifene in a randomized, double-blind, placebo- and active-controlled Phase 3 study of postmenopausal women with osteoporosis / C. Christiansen et al. *BMC Musculoskelet Disord*. 2010. Vol. 11. P. 130.
140. База даних «Лекарственные средства» ООО «Морион» URL: www.morion.kiev.ua (дата обращения: 20.05.2020)
141. Державний реєстр лікарських засобів. URL: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/mtph_register_medicines/ (дата звернення: 20.05.2020)
142. Konovalenko I. S., Lytkin D. V., Polovko N. P. Development of composition, technology and study of acute toxicity of combined composition on the basis of plant raw material for treatment of climacteric syndrome. *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. 170 p.*

143. Коваленко В. Н., Викторова А. П. Компендиум–2016. Лекарственные препараты. Киев : МОРИОН, 2016. С. 761–785.
144. Lipids, menopause, and early atherosclerosis in Study of Women's Health Across the Nation Heart women / G. A. Woodard et al. *Menopause*. 2018. Vol. 18, № 4. P. 376–84.
145. Lifetime history of depression and anxiety disorders as a predictor of quality of life in midlife women in the absence of current illness episodes / H. Joffe et al. *Arch Gen Psychiatry*. 2015. Vol. 69, № 5. P. 484–92.
146. Effects of genistein on hot flushes in early postmenopausal women: a randomized, double blind. EPT and placebo controlled study / A. Crisafulli et al *Menopause*. 2014. Vol. 11, № 4. P. 400-404.
147. Manson J. E. Estrogen therapy and coronary–artery calcification. *N Engl J Med*. 2017. Vol. 356, № 25. P. 2591–602.
148. Progression rates of carotid intima-media thickness and adventitial diameter during the menopausal transition / S. R. Khoudary et al. *Menopause*. 2013 Vol. 20, № 1. P. 8–14.
149. Freedman R. R. Menopausal hot flashes: mechanisms, endocrinology, treatment. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014. Vol. 142. P. 115–120.
150. He C., Murabito J. M. Genome-wide association studies of age at menarche and age at natural menopause. *Mol. Cell Endocrinol*. 2014. Vol. 382, № 1. P. 767–779.
151. Torgerson D. J., Thomas R. E., Reid D. M. Mothers and daughters menopausal ages: is there a link? *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. 1997. Vol. 74, № 1. P. 63–66.
152. Lipids, menopause, and early atherosclerosis in Study of Women's Health Across the Nation Heart women / G. A. Woodard et al. *Menopause*. 2018. Vol. 18, № 4. P. 376–384.
153. Vascular Effects of Early versus Late Postmenopausal Treatment with Estradiol / H. N. Hodis et al. *N. Engl. J. Med*. 2016. Vol. 374, № 13. P. 1221–1231.
154. Kravitz H. M., Joffe H. Sleep during the perimenopause: a SWAN story. *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am*. 2015. Vol. 38, № 3. P. 567–586.

155. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging / F. Labrie et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997. Vol. 82, № 8. P. 2396–2402.
156. Державний формуляр лікарських засобів. Вип. 10. Київ, 2018. 1222 с.
157. Premature menopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition / J. L. Luborsky et al. *Hum. Reprod.* 2013. Vol. 18, № 1. P. 199–206.
158. Deaths: final data for 2008 / A. M. Minino et al. *Natl. Vital Stat. Rep.* 2011. Vol. 59, № 10. P. 1–126.
159. Role for kisspeptin/neurokinin B/dynorphin (KNDy) neurons in cutaneous vasodilatation and the estrogen modulation of body temperature / M. A. Mittelman-Smith et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2012. Vol. 109, № 48. P. 19846–19851.
160. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Маркетингові дослідження ринку біологічно активних речовин, що застосовуються для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine* : international research and practice conference, April 28-29, 2017. Lublin, 2017. P.149–154.
161. Konovalenko I. Marketing research of the pharmaceutical market of medicinal products for correction of menopause disorders. *The potential of modern science.* 2019. Vol. 3. P. 106-118.
162. Herbal Almanac / ed. by J. Ackman. Woodbury : Llewellyn Publications, 2015. 312 p.
163. 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.
164. Кортиков В. Н., Кортиков А. В. Полная энциклопедия лекарственных растений. Ростов н/Д : Изд-во «Эврика», 2009. С. 230–231.
165. Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations. *British Pharmacopoeia.* London, 2009. Vol. 4. P. 6706–7530.
166. Heinrich M. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy. Oxford : Elsevier Health Sciences, 2012. P. 336.

167. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія. Київ : Вид-во А.С.К., 2013. 552 с.

168. Соколов С. Я. Фитотерапия и фитотерапевтика : рук. для врачей. Москва : Медицинское информационное агентство, 2010. 926 с.

169. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Перспективи використання шалфея лікарського при негормональній терапії клімактерического синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених)* : тези доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю з дня народж. І. Г. Герцена, г. Одеса, 27-28 квіт. 2017 р. Одеса : ОНМедУ, 2017. С. 60.

170. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Наукове обґрунтування складу композиції лікарської рослинної сировини для лікування клімактерического синдрому. *Збірник наук. праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2018. № 29. С. 205–214.

171. Poroikov V., Filimonov D., Ihlenfeldt W., Glorizova T., Lagunin A., Borodina Y., Stepanchikova A., Nicklaus M. PASS biological activity spectrum predictions in the enhanced open NCI database browser. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 2003. Vol. 43, № 1. P. 228–236.

172. Вишневська Л. І. Технологічні дослідження лікарської рослинної сировини та її композицій у створенні нових препаратів. *Вісник фармації*. 2008. № 4. С. 33-38.

173. Григорчук О. Ю., Тихонов О. І., Грошовий Т. А. Вплив режимів екстракції на вихід діючих речовин суплідь хмелю. *Вісник фармації*. 2002. № 3. С. 47–50.

174. Гриценко О. М. Технологічні аспекти ефективності фітозасобів. *Фітотерапія. Часопис*. 2008. № 1. С. 53-63.

175. Зеліско Д. С., Кравчук Ж. Н. Современные требования к качеству и стандартизации лекарственного растительного сырья. *Агроекологічний журнал*. 2016. № 2. С. 49-59.

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

177. Moore T. R., Franks R. B., Fox C. Review of Efficacy of Complementary and Alternative Medicine Treatments for Menopausal Symptoms. *J. Midwifery Womens Health*. 2017. Vol. 62, № 3. P. 286–297.

178. Dietz B. M., Hajirahimkhan A., Dunlap T. L., Bolton J. L. Botanicals and Their Bioactive Phytochemicals for Women's Health. *Pharmacol. Rev.* 2016. Vol. 68, № 4. P. 1026–1073.

179. Diel P., Kurrat A., Oden C., Hanke L. Risk and benefit of nutritional supplements for the treatment of postmenopausal complaints. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2017. Vol. 60, № 3. P. 297–304.

180. 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.

181. 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.

182. 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.

183. Державна Фармакопея України. Доповнення 2 / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. –336 с.

184. Державна Фармакопея України. Доповнення 2 / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2008. –620 с.

185. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид., Т. 3. Харків : Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр», 2014. 732 с.

186. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

187. Государственная Фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е изд. Москва : Медицина, 1990. 398 с.

188. 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.

189. 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.

190. Шульга Л. І., Безценна Т. С., Журавель І. О., Пімінов О. Ф. Вивчення технологічних параметрів рослинної сировини та лікарських форм на її основі. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика*. 2012. Вип. 21, кн. 4. С. 490-495.

191. Баранова І. І., Гладух Є. В., Целюба Ю. С. Вивчення основних технологічних параметрів порошку бодяги звичайної (*Spongilla lacustris* L.). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2010. Вип. XXIII, № 1. С. 11-13.

192. Трутаєв С. І., Тихонов О. І., Шпичак О. С. Визначення технологічних параметрів лікарської рослинної сировини, що входить до складу складної настоянки «Равісол». *Вісник фармації*. 2008. № 4. С. 39–45.

193. 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.

194. Галкін О. Ю., Котов А. Г. Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів у плодах софори японської. *Фармацевтичний часопис*. 2011. № 4. С. 77–81.

195. Практикум по фармакогнозии : учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалёв и др. ; под общ. ред. В. Н. Ковалёва. Харьков : Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. 512 с.

196. 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. 495 с.

197. 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.

198. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

199. Gudz' N. Ways of the total flavonoids content determination in herbal products by spectrophotometric method. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health, and life quality : The scientific proceedings of the International network AgroBioNet*. Nitra, 2017. P. 174–178.

200. Meda A. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 2005. Vol. 91. P. 571–577.

201. 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.

202. Rozemond H., Vet Q. Laboratory animal protection: the European Convention and the Dutch Act. *Journal Veterinary Quarterly*. 1986. Vol. 8, Iss. 4. P. 346–349.

203. Functional Status and Body Mass Index in Postmenopausal Women with Fibromyalgia: A Case-control Study / L. Cerón Lorente et al. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2019. Vol. 16, № 22. URL:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6888241/> (Date of access: 16.11.2019).

204. Hayden R., Sawyer S., Frey E., Mori S., Migliaccio A. A., Della Santina C.C. Virtual labyrinth model of vestibular afferent excitation via implanted electrodes: validation and application to design of a multichannel vestibular prosthesis. *Exp. Brain. Res.* 2011. Vol. 210, № 3-4. P. 623–640.

205. Virtual Rhesus Labyrinth Model Predicts Responses to Electrical Stimulation Delivered by a Vestibular Prosthesis / A. Hedjoudje et al. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 2019. Vol. 20, № 4. P. 313–339.

206. Green S .M., Key B. L., McCabe R. E. Cognitive-behavioral, behavioral, and mindfulness-based therapies for menopausal depression. *Maturitas*. 2015. Vol. 80, № 1. P. 37–47.

207. Stachowiak G., Pertyński T., Pertyńska-Marczewska M. Metabolic disorders in menopause. *Menopause Review*. 2015. Vol. 14, № 1. P. 59–64.

208. Mauvais-Jarvis F. Menopause, Estrogens, and Glucose Homeostasis in Women. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. Vol. 1043. P. 217–225.

209. Karvonen-Gutierrez C. A., Park S. K., Kim C. Diabetes and Menopause. *Curr. Diab. Rep.* 2016. Vol. 16, № 4. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11892-016-0714-x> (Date of access: 15.02.2019).

210. Stuenkel C. A. Menopause, hormone therapy and diabetes. *Climacteric*. 2017. Vol. 20, № 1. P. 11–21.

211. Al-Safi Z. A., Polotsky A. J. Obesity and Menopause. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2014. Vol. 29, № 4. P. 548–553.

212. Wijk L., Ljungqvist O., Nilsson K. Female sex hormones in relation to insulin resistance after hysterectomy: A pilot study. *Clinical nutrition*. 2019. Vol. 38, № 6. P. 2721–2726.
213. Tang F. R., Loke W. K., Khoo B. C. Low-dose or low-dose-rate ionizing radiation-induced bioeffects in animal models. *J. Radiat. Res.* 2017. Vol. 58, № 2. P. 165–182.
214. Evaluation of safety of modified-Danggui Buxue Tang in rodents: immunological, toxicity and hormonal aspects / J. H. Xie et al. *J. Ethnopharmacol.* 2016. Vol. 183. P. 59–70.
215. Березовская И. В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. *Химико-фармацевтический журнал*. 2003. № 3 (37). С. 32-34.
216. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармако-пейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
217. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3–е изд. Москва : МедиаСфера, 2006. 312 с.
218. Фармакогнозия : учеб. пособ. для студ. высш. учеб. завед. / В. Н. Ковалёв и др. Харьков : Изд-во НФаУ, 2007. 272 с.
219. Практикум по фармакогнозии : учеб. пособ. для студ. вузов / В. Н. Ковалёв и др. ; под общ. ред. В. Н. Ковалёва. Харьков : Изд-во НФаУ ; Золотые страницы, 2003. 512 с.
220. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / В. М. Ковальов та ін. ; за ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин. Тернопіль : ТДМУ, 2014. 264 с.
221. Васенда М. М. Сучасний стан виробництва фітопрепаратів. *Фармацевтичний часопис*. 2013. № 4. С. 143-147.

222. Баула О. П., Деркач Т. М. Забезпечення якості лікарських засобів рослинного походження: стан та перспективи. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 2. С.79-78.

223. Світова флора седативних лікарських рослин, сучасний асортимент їх препаратів в Україні та доцільність створення нових засобів / С. А. Данилов та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2011. № 5. С. 88–89.

224. Сучасна фітотерапія : навч. посіб. / С. В. Гарна та ін. Харків : «Друкарня Мадрид», 2016. 580 с.

225. Шалата В. Я., Сур С. В. Вивчення технологічних властивостей багатокомпонентної лікарської рослинної сировини. *Запорозький медичинський журнал*. 2012. № 2. С. 111-115.

226. Грабов Л. Н., Посулько Д. В. Интенсификация тепломасообменных процессов получения галеновых препаратов. *Одеська національна академія харчових технологій* : наук. пр. 2015. Т. 3, вип. 45. С. 66–69.

227. Іщенко М. В. Вибір оптимального екстрагента для вилучення біологічно активних речовин квіток липи серцелистної та липи широколистої. *Фармацевтичний часопис*. 2010. № 2. С. 30-32.

228. Настанова. Лікарські засоби Фармацевтична розробка (ICH Q8) СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. / М. Ляпунов та ін. ; ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції». 42 с. URL: <http://www.koleso-to.narod.ru/quolity/farmrazrab.pdf> (дата звернення: 02.05.2019).

229. Зелиско Д. С., Кравчук Ж. Н. Современные требования к качеству и стандартизации лекарственного растительного сырья. *Агроекологічний журнал*. 2016. № 2. С. 49-59.

230. Гризодуб О. І., Євтіфеева О. А., Проскуріна К. І. Особливості фармакопейних підходів щодо кількісного визначення лікарської рослинної сировини та сумарних фітопрепаратів. *Фармаком*. 2012. № 3. С. 7–31.

231. Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. Реалізація сучасних підходів до стандартизації полікомпонентних фітопрепаратів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2012. Т. 30, № 5. С. 99-106.

232. Крикова А. В., Ляхова Н. С., Давыдов В. С. Биологическая активность растительных источников флавоноидов. *Фармация*. 2006. № 3. С. 36–37.
233. Сампиев А. М., Давитавян Н. А., Староверова В. В. Разработка технологии получения сухого экстракта из травы стальника полевого. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017. № 1 (162). С. 124–127.
234. 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.
235. Технология лекарств промышленного производства : учебник для студ. высш. учеб. завед. : перевод с укр. яз. / В. И. Чуешов и др. Винница : Новая книга, 2014. 696 с.
236. A framework for solvent selection based on herbal extraction process design / S. N. H. M. Azmin et al. *Journal of Engineering Science and Technology*. 2015. № 10. P. 25-34.
237. Белей С. Я., Грошовий Т. А. Вивчення оптимальних умов екстрагування та одержання сухого екстракту подорожника ланцетовидного. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 2. С.22-25.
238. Poroikov V., Filimonov D., Ihlenfeldt W., Glorizova T., Lagunin A., Borodina Y., Stepanchikova A., Nicklaus M. PASS biological activity spectrum predictions in the enhanced open NCI database browser. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 2003. Vol. 43, № 1. P. 228–236.
239. Konovalenko I., Polovko N. Marketing research of the pharmaceutical market of medicinal products for correction of menopause disorders. *The potential of modern science*. London : PH SCIEMCEE, 2019. Vol. 3. P. 106–118.
240. Becut M. Potential of selected Lamiaceae plants in anti(retro)viral therapy. *Pharmacological Research*. 2018. Vol. 133. P. 301–314
241. Шпичак О. С. Ідентифікація трави меліси, суплідь хмелю та суцвіть лаванди у сумішах з рослинної сировини методом тонкошарової хроматографії. *Вісник фармації*. 2012. № 1. С. 57–60.

242. Шафикова С. Ф. Фармакогностическое изучение листьев хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* L.). Самара, 2013. С. 23.

243. Романенко Є. А., Кошовий О. М., Комісаренко А. М., Штриголь С. Ю. Фітохімічне вивчення рідкого екстракту трави кропиви собачої та дослідження його психотропної активності. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. № 24 (5). С. 212-217.

244. Вишневська Л. І. Технологічні дослідження лікарської рослинної сировини та її композицій у створенні нових препаратів. *Вісник фармації*. 2008. № 4. С. 33-38.

245. Григорчук О. Ю., Тихонов О. І., Грошовий Т. А. Вплив режимів екстракції на вихід діючих речовин суплідь хмелю. *Вісник фармації*. 2002. № 3. С. 47–50.

246. Гриценко О. М. Технологічні аспекти ефективності фітозасобів. *Фітотерапія. Часопис*. 2008. № 1. С. 53-63.

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

248. Бойко М. М., Зайцев О. І. Вивчення кінетики поглинання екстрагенту під час процесу екстрагування з лікарської рослинної сировини. *Вісник фармації*. 2008. № 2 (54). С. 17–20.

249. Визначення оптимальних розмірів частинок при сумісному екстрагуванні різних видів рослинної сировини, яка входить до складу настойки «Венотон» / С. А. Куценко та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної практики*. 2014. № 1. С. 31–34.

250. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / І. А. Перцев та ін. ; за ред. І. А. Перцева. Харків : Золоті сторінки, 2010. 600 с.

251. Дячок В. В. Науково-теоретичні основи екстрагування лікарської рослинної сировини : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра. техн. наук. Київ, 2010. 41 с.

252. Дячок В. В., Ятчишин Ю. Й. Про коефіцієнт дифузії при екстрагуванні рослинної сировини. *Вопросы химии и химической технологии*. 2013. № 1. С. 47-49.
253. Zarivna N. O. Do pitannya standartizatsii travi chebretsuyu povzuchogo za vmistom flavonoidiv (On the issue of standardization of *Thymus serpyllum* herb by content of flavonoids). *Upravlinnya, ekonomika ta zabezpechennya yakosti v farmatsii*. 2005. № 5. P. 21–26.
254. Nikolaieva N. Development of analytical procedure of determination of sum of flavonoids in hazelnut (*Corylus avellana* L.) pollen. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health, and life quality*. Nitra, 2017. P. 347–352.
255. Єzers'ka O. I., Kalinyuk T. G., Vrons'ka L. V. Vznachennya vmistu sumi flavonoidiv v ekstraktah priimochok zi stovpchikami kukurudzi. *Farmatsevtichnii chasopis*. 2011. № 3. P. 65–67.
256. Chang Ch.-Ch. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002. Vol. 10, № 3. P. 178–182.
257. Smalyuh O. I., Sur S. V. Standartizatsiya plodiv morkvi dikoї za skladom i vmistom flavonoidiv. *Aktual'ni pitannya farmatsevtichnoї ta medichnoї nauki ta praktiki*. 2013. № 1. P. 88–93.
258. GOST 31776-2012. *Perga. Tehnicheskie usloviya*. Moskva : Standartinform, 20 p.
259. Blyznyuk N. Development of methods for determination of phenolic acids and flavonoids in capsules containing *Corylus avellana* L. dry extract. *Journal "ScienceRise"*. 2016. № 2/4 (19). P. 18–22.
260. Guideline on quality of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products / European Medicines Agency. 2011. 13 p. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/09/WC500113209.pdf (Date of access: 01.05.2018).
261. Bojac M. Antithrombotic activity of flavonoids and polyphenols rich plant species. *Acta Pharm*. 2019. Vol. 69, № 4. P. 483–495.

262. Dostálek, P.; Karabín, M.; Jelínek, L. (2017) Hop Phytochemicals and Their Potential Role in Metabolic Syndrome Prevention and Therapy. *Molecules*. 2017. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6151408/> (Date of access: 19.10.2019).

263. Meda A. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 2005. Vol. 91. P. 571–577.

264. Khokhlova K., Zdoryk O., Vyshnevskaya L. Chromatographic characterization on flavonoids and triterpenes of leaves and flowers of 15 *crataegus* L. species. *Natural Product Research*. 2020. Vol. 34, Iss. 2. P. 317–322.

265. Hudz N., Yezerska O., Grygorieva O., Felsociova S., Brindza J., Wiczorek P., Kacaniova M. Analytical procedure elaboration of total flavonoid content determination and antimicrobial activity of bee bread extracts. *Acta Poloniae–Drug Research*. 2019. Vol. 76, № 3. P. 439–452.

266. Hudz N. Approaches to the identification and assay of flavonoids in bee bread extracts by spectrophotometric method. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health, and life quality*. 2017. P. 168–173.

267. 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.

268. Wayne W. D. Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences. 10th ed. New York : Wiley, 2009. 958 p.

269. Melatonin and oestrogen treatments were able to improve neuroinflammation and apoptotic processes in dentate gyrus of old ovariectomized female rats / R. A. Kireev et al. *Age*. 2014. Vol. 36. №. 5. P. 9707.

270. Jones S. L., Ismail N., Pfaus J. G. Facilitation of sexual behavior in ovariectomized rats by estradiol and testosterone: A preclinical model of androgen effects on female sexual desire. *Psychoneuroendocrinology*. 2017. Vol. 79. P. 122–133.

271. Шилов С. Ю., Шилов Ю. И., Крылова Е. И., Зимина Ю. В. Влияние эстрадиола и прогестерона на иммунный ответ у крыс в условиях овариэктомии. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2009. № 2/1 (24). С. 304-305.
272. Messinis I. E., Messini C. I., Dafopoulos K. Novel aspects of the endocrinology of the menstrual cycle. *Reproductive BioMedicine Online*. 2014. Vol. 28. № 6. P. 714–722.
273. Ortmann O., Latruch C. The Treatment of Climacteric Symptoms. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2012. Vol. 109, № 17. P. 316–324.
274. Makara-Studzińska M. T., Kryś-Noszczyk K. M., Jakiel G. Epidemiology of the symptoms of menopause – an intercontinental review. *Menopause Review*. 2014. Vol. 13, № 3. P. 203–211.
275. The appropriate prescribing of hormone replacement therapy. Bestpractice evidence-based guideline / New Zealand Guidelines Group. Wellington, 2001. 105 p.
276. Ortmann O., Dören M., Windler E. Hormone therapy in perimenopause and postmenopause (HT): Interdisciplinary S3 Guideline, Association of the Scientific Medical Societies in Germany AWMF 015/062-short version. *Arch Gynecol Obstet*. 2011. Vol. 284. P. 343–355.
277. Okeke T. C., Anyaehie U. B., Ezenyeaku C. C., Premature Menopause. *Annals of Medical and Health Sciences Research*. 2013. № 3. P. 90–95.
278. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose / Council of Europe. Strasbourg, 1986. 52 p.
279. Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ : Державний фармакологічний центр МОЗ України, 2002. 155 с.
280. Anroop V. N., Shery J. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J. Basic Clin. Pharm.* 2016. Vol. 7, № 2. P. 27–31.
281. *Куршенблат Я. Д.* Практикум по эндокринологии. Москва, 1969. С. 55-57.
282. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. Москва : Гриф и К, 2012. 944 с.

283. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. Москва : МедиаСфера, 2006. 312 с.

284. Independent Roles of Estrogen Deficiency and Cellular Senescence in the Pathogenesis of Osteoporosis: Evidence in Young Adult Mice and Older Humans / J. N. Farr et al. *J. Bone Miner. Res.* 2019. Vol. 34, № 8. P. 1407–1418. DOI: 10.1002/jbmr.3729 (Date of access: 21.06.2019).

285. Therapeutic effects of whole-body vibration on fracture healing in ovariectomized rats: a systematic review and meta-analysis / J. Chen et al. *Menopause.* 2018. Vol. 26, № 6. P. 677–686. DOI: 10.1097/GME.0000000000001285 (Date of access: 17.12.2019).

286. Estradiol modulation of the renin-angiotensin system and the regulation of fear extinction / J. N. Parrish et al. *Transl. Psychiatry.* 2019. Vol. 9, № 1. P. 36. DOI: 10.1038/s41398-019-0374-0 (Date of access: 29.01.2019).

287. Age-dependent variations of cancellous bone in response to ovariectomy in C57BL/6J mice / S. Zhou et al. *Exp. Ther. Med.* 2018. Vol. 15, № 4. P. 3623–3632. DOI: 10.3892/etm.2018.5839 (Date of access: 01.01.2018).

288. Egermann M., Goldhahn J., Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos. Int.* 2005. Vol. 16, Suppl. 2. P. S129–S138. DOI: 10.1007/s00198-005-1859-7 (Date of access: 05.03.2019).

289. Proietto J. Obesity and weight management at menopause. *Aust. Fam. Physician.* 2017. Vol. 46, № 6. P. 368–370.

290. Understanding weight gain at menopause / S. R. Davis et al. *Climacteric.* 2012. Vol. 15, № 5. P. 419–429. DOI: 10.3109/13697137.2012.707385 (Date of access: 15.09.2019).

291. Changes in body composition and weight during the menopause transition / G. A. Greendale et al. *JCI Insight.* 2019. Vol. 4, № 5. P. e124865. DOI: 10.1172/jci.insight.124865 (Date of access: 07.03.2019).

292. Avis N. E., Crawford S. L. Menopause and weight. *Menopause.* 2001. Vol. 8, № 4. P. 230–232. DOI: 10.1097/00042192-200107000-00002 (Date of access: 08.04.2020).

293. Menopause and cardiovascular disease: the evidence / G. M. Rosano et al. *Climacteric*. 2007. Vol. 10, Suppl. 1. P. 19–24. DOI: 10.1080/13697130601114917 (Date of access: 08.01.2020).

294. Menopause, estrogens, progestins, or their combination on body weight and anthropometric measures / A. Cagnacci et al. *Fertil. Steril.* 2007. Vol. 88, № 6. P. 1603–1608. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.01.039 (Date of access: 01.04.2020).

295. Green S. M., Key B. L., McCabe R. E. Cognitive-behavioral, behavioral, and mindfulness-based therapies for menopausal depression. *Maturitas*. 2015. Vol. 80, № 1. P. 37–47.

296. Chichanovskaia L. V., Solov'eva A. V., Kolbasnikov S. V., Bakhareva O. N., Briantseva V. M., Sergeeva E. N. Clinical characteristics of hypertensive encephalopathy in the perimenopausal period. *Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S. S. Korsakova*. 2014. Vol. 114, № 6. P. 74–76.

297. Soares C. N. Depression and Menopause: Current Knowledge and Clinical Recommendations for a Critical Window. *Psychiatr. Clin. North Am.* 2017. Vol. 40, № 2. P. 239–254. DOI: 10.1016/j.psc.2017.01.007 (Date of access: 06.03.2019).

298. Association of Age at Menopause and Duration of Reproductive Period With Depression After Menopause: A Systematic Review and Meta-analysis / M. K. Georgakis et al. *JAMA Psychiatry*. 2016. Vol. 73, № 2. P. 139–149. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2015.2653 (Date of access: 06.01.2019).

299. Bromberger J. T., Epperson C. N. Depression During and After the Perimenopause: Impact of Hormones, Genetics, and Environmental Determinants of Disease. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 2018. Vol. 45, № 4. P. 663–678. DOI: 10.1016/j.ogc.2018.07.007 (Date of access: 25.10.2018).

300. Avis N. E., Crawford S. L., Green R. Vasomotor Symptoms Across the Menopause Transition: Differences Among Women. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 2018. Vol. 45, № 4. P. 629–640. DOI: 10.1016/j.ogc.2018.07.005 (Date of access: 25.10.2018).

301. Guidelines for the evaluation and treatment of perimenopausal depression: summary and recommendations / P. M. Maki et al. *Menopause*. 2018. Vol. 25, № 10. P. 1069–1085. DOI: 10.1097/GME.0000000000001174 (Date of access: 01.01.2018).

302. Stachowiak G., Pertyński T., Pertyńska-Marczewska M. Metabolic disorders in menopause. *Przegląd Menopauzalny*. 2015. Vol. 14, № 1. P. 59–64. DOI: 10.5114/pm.2015.50000 (Date of access: 25.03.2019).

303. Papadopoulou S. A., Kaski J. C. Ischaemic heart disease in the ageing woman. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2013. 27(5). P.689–697 (Date of access: 25.03.2019).

304. Colpani V., Oppermann K., Spritzer P. M. Causes of death and associated risk factors among climacteric women from Southern Brazil: a population based-study. *BMC Public Health*. 2014. Vol. 14, № 194. DOI: 10.1186/1471-2458-14-194 (Date of access: 21.02.2019).

305. Mumusoglu S., Yildiz B. O. Metabolic Syndrome During Menopause. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2019. Vol. 17, № 6. P. 595–603. DOI: 10.2174/1570161116666180904094149 (Date of access: 08.04.2020).

306. Stefanska A., Bergmann K., Sypniewska G. Metabolic Syndrome and Menopause: Pathophysiology, Clinical and Diagnostic Significance. *Adv. Clin. Chem.* 2015. № 72. P. 1–75. DOI: 10.1016/bs.acc.2015.07.001 (Date of access: 21.08.2019).

307. Metabolic syndrome in menopause and associated factors: a meta-analysis / D. Pu et al. *Climacteric*. 2017. Vol. 20, № 6. P. 583–591. DOI: 10.1080/13697137.2017.1386649 (Date of access: 24.10.2019).

308. Minkin M. J. Menopause: Hormones, Lifestyle, and Optimizing Aging. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 2019. Vol. 46, № 3. P. 501–514. DOI: 10.1016/j.ogc.2019.04.008 (Date of access: 21.06.2019).

309. Ko S. H., Kim H. S. Menopause-Associated Lipid Metabolic Disorders and Foods Beneficial for Postmenopausal Women. *Nutrients*. 2020. Vol. 12, № 1. P. 202. DOI: 10.3390/nu12010202 (Date of access: 13.01.2020).

310. Thornton K., Chervenak J., Neal-Perry G. Menopause and Sexuality. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2015. Vol. 44, № 3. P. 649–661. DOI: 10.1016/j.ecl.2015.05.009 (Date of access: 01.09.2019).
311. Ovarian hormones and obesity / B. Leeners et al. *Hum. Reprod. Update.* 2017. Vol. 23, № 3. P. 300–321. DOI: 10.1093/humupd/dmw045 (Date of access: 02.03.2019)
312. Migraine, hormones and the menopausal transition / M. A. Hipolito Rodrigues et al. *Climacteric.* 2018. Vol. 21, № 3. P. 256–266. DOI: 10.1080/13697137.2018.1439914 (Date of access: 09.03.2018).
313. Borda L. J., Wong L. L., Tosti A. Bioidentical hormone therapy in menopause: relevance in dermatology. *Dermatol. Online J.* 2019. Vol. 25, № 1. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30710894/> (Date of access: 15.01.2019).
314. Fenton A., Panay N. Estrogen, menopause and joints. *Climacteric.* 2016. Vol. 19, № 2. P. 107–108. DOI: 10.3109/13697137.2016.1151151 (Date of access: 25.02.2019).
315. Nonanimal Models for Acute Toxicity Evaluations: Applying Data-Driven Profiling and Read-Across / D. P. Russo et al. *Environ. Health Perspect.* 2019. Vol. 127, № 4. DOI: 10.1289/EHP3614 (Date of access: 01.04.2019).
316. Nephrotoxicity and Chinese Herbal Medicine / B. Yang et al. *Clin. J Am. Soc. Nephrol.* 2018. Vol. 13, № 10. P. 1605–1611. DOI: 10.2215/CJN.11571017 (Date of access: 08.10.2018).
317. Acute and sub-acute toxicity evaluation of the root extract of *Rheum turkestanicum* Janisch / A. Jahani Yazdi et al. *Drug Chem. Toxicol.* 2019. P. 1–7. DOI: 10.1080/01480545.2018.1561713 (Date of access: 02.07.2019).
318. Acute and chronic toxicity of a polyherbal preparation – Jueyin granules / Y. Chen et al. *BMC Complement. Altern. Med.* 2018. Vol. 18, № 1. P. 148. DOI: 10.1186/s12906-018-2211-z (Date of access: 18.05.2018).

ДОДАТКИ

Додаток А

Таблиця А.1

Аналіз асортименту лікарських засобів, що застосовуються для негормональної терапії клімактеричного синдрому, на фармацевтичному ринку України

№	Назва	Форма випуску	Фірма, країна-виробник	Об'єм, мл/маса, г	Склад	Код АТХ	Вартість, грн
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Аб'юфен	таблетки	Лабораторії Бушара Рекордаті, Франція	табл. 400 мг блістер, № 10, № 15, № 30	Бета-аланін, 400 мг Допоміжні речовини: магнію стеарат, гліцерину пальмітостеарат, кремній гідратований, крохмаль пшеничний	Інші засоби в гінекології G02C X10	129,08(за уп.№30) 64,54(за уп. №15)
2	Адаптол	таблетки	АТ «Олайнфарм»/J SC «Olainfarm», Латвія	По 10 таблеток у блистері; 2 блистери в пачці	діюча речовина: мебікар; 1 таблетка містить мебікару 500 мг; допоміжні речовини: метилцелюлоза, кальцію стеарат.	Анксиолітики N05B X	252,26
3	Акласта	р-н для інфузій	Новартіс Фарма Штейн, Швейцарія	фл 0,05мг/мл 100мл	100 мл розчину для інфузій містять: золедронової кислоти - 5 мг (еквівалентно 5,33 мг моногідрату золедронової кислоти)	M05B A08 Засоби, що впливають на структуру і мінералізацію кісток. Біофосфонати	7827,24
4	Алора	сироп	НОБЕЛ ІЛАЧ САНАЇ ВЕ ТІДЖАРЕТ А.Ш., Туреччина	По 100 мл у флаконі	діюча речовина: Passiflora incarnata; 5 мл сиропу містять рідкого екстрату пасифлори 694,444 мг; допоміжні речовини: сахароза, гліцерин, етанол, метилпарагідроксибензоат (Е 218), пропілпарагідроксибензоат (Е 216), вода очищена	Снодійні та седативні засоби. N05C M	106,50

Продовж. табл. А. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
5	Анжелік	таблетки	Байер Фарма АГ, Німеччина	таблетки № 28	діючі речовини: естрадіол, дроспіренон; 1 таблетка містить естрадіолу (у вигляді естрадіолу гемігідрату) 1,0 мг і дроспіренону 2,0 мг; допоміжні речовини: лактози моногідрат, крохмаль кукурудзяний, крохмаль прежелатинізований, повідон 25000, магнію стеарат, гідроксипропілметилцелюлоза, макрогол 6 000, тальк, титану діоксид (Е 171), заліза оксид червоний (Е 172).	Гормони статевих залоз. Естроген-гестагенні комбінації. G03F A1	422,78
6	Бонвіва	таблетки	Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд Швейцарія	Таблетки вкриті плівковою оболонкою № 1 № 3 у блистері у картонній коробці	Діюча речовина: ibandronic acid; 1 таблетка містить 150 мг ібандронової кислоти у формі 168 75 мг натрію ібандронату моногідрату; Допоміжні речовини: лактоза моногідрат; повідон K25; целюлоза мікрористалічна; кросповідон; кислота стеаринова 95; кремнію діоксид колоїдний безводний; плівкова оболонка: Опадрай 00A28646 (гіпромелоза титану діоксид (Е 171) тальк) макрогол 6000	Засоби що впливають на структуру та мінералізацію кісток. Бісфосфонати. Кислота ібандронова. M05B A06	1252,00
7	Дівігель	гель	Оріон Фарма, Російська Федерація	гель 0,1% пакетик 0,5 г, № 28	гель 0,1% пакетик 0,5 г, № 28 містить: естрадіол 0,5мг Допоміжні речовини: карбомер 974Р, триетаноламін, пропіленгліколь, етанол 96%, вода очищена	Гормони статевих залоз та препарати, що застосовуються при патології статевої сфери. Естрогени. Код АТС G03C A03	214,20
				гель 0,1% пакетик 1 г, № 28	гель 0,1% пакетик 1 г, № 28 містить: естрадіол 1 мг Допоміжні речовини: карбомер 974Р, триетаноламін, пропіленгліколь, етанол 96%, вода очищена		257,09

Продовж. табл. А. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
8	Ів Кер	капсули	Хімалая Драг Компані, Індія	капсули № 30 у флаконі	1 капсула містить екстракти: сараки індійської кори <i>Saraca indica</i> 85 мг; дашмули коренів <i>Dashmoola</i> 35 мг; симпlockосу червоного кори <i>Symplocos racemosa</i> 35 мг; тиноспори серделистої стебла <i>Tinospora cordifolia</i> 35 мг; пасльону чорного рослин <i>Solanum nigrum</i> 35 мг; берхавії розлогої коренів <i>Boerhaavia diffusa</i> 35 мг; спаржи гроновидної коренів <i>Asparagus racemosus</i> 35 мг; алоє справжнього листя <i>Aloe Vera</i> 25 мг; сандалового дерева деревини <i>Santalum album</i> 25 мг; адгатоди вазики листя <i>Adhatoda vasica</i> 20 мг; кіперусу круглого бульб <i>Cyperus rotundus</i> 25 мг; дерева бавовнику кори <i>Bombax malabaricum</i> 15 мг; трифали <i>Triphala</i> 20 мг; трикату <i>Trikatu</i> 20 мг; порошки: касиси годанті бхасми <i>Kasisa godanti bhasma</i> 35 мг; яшад бхасми <i>Yashad bhasma</i> 20 мг; допоміжні речовини: целюлоза мікрокристалічна.	G02CX02 Інші гінекологічні засоби	104,20
9	Інволіум	краплі оральні	ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика», Україна, м. Житомир	По 25 мл або 40 мл у флаконі	Діючі речовини: 1 мл препарату містить водно-спиртового екстракту (1:3) (екстрагент – етанол 40 %) із суміші: пасифлори трави (<i>Passiflorae herba</i>) 100 мг; липи квіток (<i>Tiliae flores</i>) 100 мг; материнки трави (<i>Origanum herba</i>) 66,7 мг; шавлії листя (<i>Salviae officinalis folia</i>) 33,3 мг; меліси трави (<i>Melissae herba</i>) 33,3 мг; Допоміжні речовини: крім екстрагенту, відсутні.	Снодійні та седативні засоби. N05C M.	127,55
10	Клеверол	капсули	«Ядран-Галенська Лабораторія д.д.», Хорватія	Капсули № 30 (15 капсул в 1 блістері)	діюча речовина: сухий екстракт червоного клеверу; 1 капсула містить 100 мг сухого екстракту червоного клеверу; допоміжні речовини: целюлоза мікрокристалічна, кремнію діоксид, магнію стеарат.	Засоби, що впливають на статеву сферу. G03X A10	234,35

Продовж. табл. А. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
11	Клімадінон	краплі оральні	Біонорика СЕ, Німеччина	По 50 мл у флакони	діючі речовини: 100 г крапель містить 12 г рідкого екстракту кореневища циміцифуги (1:5) (<i>Cimicifuga rhizome</i>); (екстрагент етанол 50 % (об/об)); допоміжні речовини: сахарин натрію дигідрат, олія м'яти перцевої, етанол 38 %, вода очищена.	Засоби, які застосовуються у гінекології. Циміцифуги кореневища. G02CX04	159,47
12	Клімадінон Уно	таблетки	Біонорика СЕ, Німеччина	По 15 таблеток у блістері; по 2 блістери № 30 (15x2)	діючі речовини: 1 таблетка містить 32,5 мг сухого екстракту кореневища циміцифуги (<i>Cimicifuga Racemosa</i>)(4,5-8,5:1), що відповідає 6,5 мг сухого нативного екстракту (екстрагент етанол 60 % (об/об)); допоміжні речовини: целюлоза порошкоподібна, кремнію діоксид колоїдний безводний, лактози моногідрат, крохмаль кукурудзяний, магнію стеарат, кальцію гідрофосфат дигідрат, натрію крохмальгліколят (тип А), гіпромелоза, макрогол 4000, титану діоксид (Е 171), заліза (ІІІ) оксид червоний (Е 172), заліза оксиду гідрат жовтий (Е 172).	Статеві гормони та засоби, що впливають на статеву систему. G03X	253,10
13	Клімапін	настойка	Червона зірка, ХФЗ, ПАО, м.Харків, Україна	настойка по 100 мл у фл.	Діючі речовини: 100 мл препарату містять настойки з суміші лікарської рослинної сировини «Клімапін®» (1:10) (екстрагент – етанол 40 %): <i>Crataegi fructus</i> (глоду плоди) – 3 г; <i>Lupuli strobili</i> (хмелю шишки) – 2 г; <i>Leonuri cardiacaе herba</i> (собачої кропиви трава) – 1,5 г; <i>Urticae folia</i> (кропиви листя) – 1 г; <i>Salviae officinalis folium</i> (шавлії листя) – 1,5 г; <i>Origanі vulgaris herba</i> (материнки трава) – 0,5 г; <i>Belladonnae folia</i> (беладонни листя) – 0,5 г; Допоміжні речовини: відсутні, крім екстрагенту.	Снодійні та седативні препарати. N05C M.	51,15
14	Клімаланін	таблетки	Лабораторія Бушара, Франція	таблетки № 30	1 таблетка містить: Активні речовини: бета-аланін 400 мг. Допоміжні речовини: магнію стеарат - 8,0 мг, гліцерину пальміто стеарат - 31,2 мг, гідратований кремній - 36 мг, крохмаль пшеничний - 304,80 мг.	Препарати для лікування гінекологічних захворювань інші G02CX	251,00

Продовж. табл. А. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
15	Клімасед	краплі оральні	ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика», м. Житомир, Україна	По 25 мл або 40 мл у флаконі в пачці	Діючі речовини: 1 мл препарату містить екстракту рідкого (1:3) із суміші: пасифлори трави 0,1 г, липи квіток 0,1 г, материнки трави 0,0667 г, шавлії листя 0,0333 г, меліси трави 0,0333 г; допоміжна речовина: етанол 40%.	Снодійні та седативні препарати. Інші засоби, включаючи комбінації. N05C M50*	39,95
							55,25
16	Клімен	драже	Дельфарм-Лілля для фірми Байер, Німеччина, Франція	драже № 21	Драже в упаковці з календарної шкалою по 21 штуці (11 драже білого кольору і 10 драже рожевого кольору). Кожне драже білого кольору містить 2 мг естрадіолу валерату. У кожному драже рожевого кольору міститься 2 мг естрадіолу валерату і 1 мг ципротерону ацетату)	G03C A53 Прості препарати природних та напівсинтетичних естрогенів	357,11
17	Клімодієн	таблетки	Bayer Schering Pharma	По 28 таблеток вкритих оболонкою у блистерах	Діючі речовини: estradiol valerate dienogest; 1 таблетка містить 2 мг естрадіолу валерату та 2 мг дієногесту; допоміжні речовини: лактози моногідрат крохмаль кукурудзяний крохмаль кукурудзяний прежелатинізований повідон K25 магнію стеарат сахароза глюкозний сироп кальцію карбонат титану діоксид (E 171) заліза оксид червоний (E 172) макрогол 35000 віск карнаубський	Комбіновані препарати які містять гестагени та естрогени. G03F A15	445,50
18	Клімонорм	драже	Байер Ваймар ГМБХ, Німеччина	драже № 21	Драже в упаковці по 21 штуці (9 жовтого і 12 бірюзового кольору). Одне драже жовтого кольору містить 2 мг естрадіолу валерату, Одне драже бірюзового кольору містить 2 мг естрадіолу валерату та 0,15 мг гестагена левоноргестрелу	Комбіновані препарати які містять гестагени та естрогени. G03 F B09	239,31
19	Лівіал	таблетки	Н.В. Органон, Нідерланди	таблетки по 2,5 мг в упаковці по 28 штук	Діюча речовина: 1 таблетка містить 2,5 мг тиболону Допоміжні речовини: крохмаль картопляний, магнію стеарат аскорбілпальмітат; лактози моногідрат.	G03C X01 Інші естрогени	1508,49

Продовж. табл. А. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
20	Лютеніл	таблетки	Laboratories Theramex Монако	По 10 таблеток у блістери; по 1 або 3 блістери в пачці	1 таблетка містить 5 мг номегестролу ацетату; допоміжні речовини: лактоза целюлоза мікрокристалічна гліцерилпальмітостеарат кремнію діоксид колоїдний безводний	Гормони статевих залоз і препарати які застосовуються при патології статевої системи. Гестагени. Код АТС G03DB04	314,25
21	Менопейс	капсули	Вітабіотікс Лтд, 1 Епслі Уей, Лондон NW2 7HF, Великобританія	капсули № 30	1 капсула містить: ретинолу ацетат – 750 мкг, холекальциферол – 2,5 мкг, D-α-токоферол – 30 мкг, тіаміну моногідрат – 10 мг, рибофлавін – 5 мг, піридоксину – 40 мг, ціанокобалбамін – 9 мг, нікотинамід – 20 мг, фолієва кислота – 400 мкг, біотин – 30 мкг, аскорбінова кислота – 45 мкг, кальцію пантотенат – 30 мг, пара-амінобензойна кислота – 30 мг, заліза fumarату – 12 мг, цинку сульфат гідрат – 15 мг, магнію оксид – 100 мг, марганцю сульфату гідрат – 2 мг, калію йодид – 225 мкг, міді сульфат гідрат – 1 мг, хрому аміноацетохілат – 50 мкг, натрію селенат – 100 мкг, натрію борат – 2 мг. Допоміжні речовини: желатин, комплекс міді з хлорофілом (E 141), титану діоксид (E171), вода очищена.	Полівітаміни з добавками. Полівітаміни з іншими мінералами, включаючи комбінації. Код АТС A11A A03	279,90
22	Неврозал	Сироп	Др. Мюллер Фарма, Чеська Республіка	сироп по 100 г у флакони	5 мл (6,500 г) сиропу містить: рідкого екстракту квітів і листя звіробою (1:10) 975 мг; рідкого екстракту хмелю (1:10) 650 мг; допоміжні речовини: калію сорбат, мальтитол, сорбітол, полівінілпіролідон, вода очищена.	Снодійні та седативні засоби. N 05C M	175,30
23	Норколут	таблетки	ВАТ «Гедеон Ріхтер», Угорщина	10 таблеток у блістери; 2 блістери у картонній	діюча речовина: норетистерон; 17α-етиніл-17β-окси-4-естрен-3-он; 1 таблетка містить 5 мг норетистерону; допоміжні речовини: крохмаль картопляний, магнію стеарат, кремнію діоксид колоїдний безводний, желатин, тальк, крохмаль кукурудзяний, лактози моногідрат.	Гормони статевих залоз та препарати, що застосовуються	135,26

Продовж. табл. А. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
				упаковці		при патології статевої сфери. Гестагени. G03D C02.	
24	Онагріс	капсули	Алкала-Фарма, Іспанія	по 15 капсул у блістері	Діюча речовина: 1 капсула містить 100 мг сухого екстракту насіння сої Допоміжні речовини: олія кіпрейна, гліцерину моностеарат, лецитин. Склад капсули: желатин, гліцерин, понсо 4R (E 124), титану діоксид E 171)	Гормони статевих залоз і препарати, що застосовують при патології статевої сфери. G03X A10	133,00
25	Осталон	таблетки вкриті оболонкою	Гедеон Ріхтер, Угорщина	по 4 таблетки у блістері	Діюча речовина: алендронату тригідрату натрію - 91,35 мг (у перерахунку на алендронову кислоту - 70 мг) Допоміжні речовини: безводний колоїдний діоксид кремнію, магнію стеарат, целюлоза мікрокристалічна, натрію кроскармелоза, Lustre Clear LC 103.	Засоби, які впливають на структуру і мінералізацію кісток. M05B A04	115,00
26	Пасимона	Сироп	АБДІ ІБРАХІМ Ілач Санаї ве Тіджарет А.Ш., Туреччина	сироп 700 мг/5 мл по 200 г во флак.	5 мл (1 ложка) містять 700 мг рідкого екстракту пасіфлори; допоміжні речовини: гліцерин, сахароза, етанол, ніпагін, ніпазол, вода дистильована.	Снодійні та седативні засоби. N05C M50.	112,75
27	Префемін	таблетки вкриті оболонкою	Макс Зеллер Зоне, Швейцарія	30 таблеток у блістері	Діюча речовина: 1 таблетка містить: сухого екстракту плодів верболозу звичайного (Fructis Agni Casti) (нативного) (6-12: 1) - 20 мг (екстрагент - етанол 60% (м / м)); Допоміжні речовини: целюлоза мікрокристалічна лактоза моногідрат, магнію стеарат, кремнію діоксид колоїдний гіпромелоза, макрогол 400, титану діоксид (E 171), макрогол 20000, пропіленгліколь	Засоби, що застосовують у гінекології. G02C X03	229,23

Продовж. табл. А. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
28	Прогіноорм Ово	Капсули	ЛАБОРАТОРІО С ЛЕОН ФАРМА, С.А., Литовська Республіка	По 15 капсул м'яких у блістері; № 30 (15 × 2) у картонній пачці	Склад: діюча речовина: прогестерон; 1 капсула м'яка містить прогестерону 100 мг або 200 мг; допоміжні речовини: олія арахісова, соєвий лецитин; оболонка капсули: желатин 150 Bloom, гліцерин 99 %, титану діоксид (E171).	Гормони статевих залоз та препарати, які застосовують у випадках патології статевої сфери. Гестаген и. Похідні прегнену (4). Прогестерон. G03D A04	489,50
29	Прогінова	таблетки вкриті оболонкою	Дельфарм- Лілл для фірми Байер, Німеччина, Франція	21 таблетка у блістері	Діюча речовина: естрадіолу валерату - 2 мг Допоміжні речовини: лактозимоногідрат.	Гормони статевих залоз і препарати, що застосовуються при патології статевої сфери. Естрогени. G03C A03	293,73
30	Проліа	розчин для ін'єкцій	GSK Consumer Healthcare (Великобританія)	розчин для ін'єкцій 60 мг/мл шприц 1 мл №1	діюча речовина: деносуаб; 1 мл розчину містить 60 мг деносуабу; допоміжні речовини: кислота оцтова льодяна натрію гідроксид сорбіт (E 420) полісорбат 20	Лікарські засоби для лікування захворювань кісток інші	5750,50

Продовж. табл. А.1

1	2	3	4	5	6	7	8
					(лише у попередньо заповненому шприці) вода для ін'єкцій.	лікарські засоби що впливають на структуру та мінералізацію кісток. M05B X04	
31	Ризостин	таблетки	Pharmascience, Канада	таблетки п/об. 35 мг №4	Діюча речовина: ризедронат натрію 1 таблетка містить 35 мг ризедронату натрію в формі ризедронату натрію геміпентагідрату; Допоміжні речовини: кремнію діоксид колоїдний мальтодекстрин вабиль (Е 421) повідон крохмаль кукурудзяний натрію крохмалю (тип А) натрію стеарилфумарат етанол безводний	Засоби, що впливають на структуру та мінералізацію кісток. Бісфосфонати M05B A07	197,00
32	Сагеніт	таблетки	АТ «Нижфарм», Російська Федерація	таблетки по 100 мг №10	діюча речовина: мезодіетилетилендибензолсульфонату дикалію дигідрат (сигетин); 1 таблетка містить: мезодіетилетилендибензолсульфонату дикалію дигідрату (сигетину) 100 мг; допоміжні речовини: крохмаль прежелатинізований, кислота стеаринова, целюлоза мікрористалічна.	Засоби, що застосовуються у гінекології. G02C X	550,20
33	Седафітон	таблетки	ПАТ «Фітофарм», м. Бахмут, Україна	По 12 таблеток у блістері; по 2 або 4, або 8 блістерів у пачці	діючі речовини: 1 таблетка містить: валеріани кореневищ з коренями екстракту густого (Valerianae radix cum radicibus) (1:2,5) (екстрагент – етанол 40 %) 0,05 г, пустирника трави екстракту густого (Leonuri herba) (екстрагент – етанол 40 %) (1:3,0) 0,03 г, глоду плодів екстракту густого (Crataegi fructus) (екстрагент – етанол 70 %) (1:1,7) 0,03 г; допоміжні речовини: магнію карбонат важкий, крохмаль картопляний, повідон, тальк, магнію стеарат.	Снодійні та седативні засоби. N05C M	84,25
34	Седістрес	таблетки	ТОВ «Фарма Старт», м.Київ, Україна	таблетки №60	діючі речовини: сухий екстракт пасифлори, етиловий ефір α -бромізовалеріанової кислоти; 1 таблетка містить: сухого екстракту пасифлори (Passiflorae herba) (3-7/1), екстрагент	Снодійні та седативні препарати.	192,12

Продовж. табл. А.1

1	2	3	4	5	6	7	8
					– метанол 70 % (об/об) – 300 мг, містить не менше 4 % суми флавоноїдів у перерахуванні на вітексин; етилового ефіру α -бромізовалеріанової кислоти 10,2 мг; допоміжні речовини: олія м'ятна; β -циклодекстрин; гліцин; маніт; кросповідон; кислота лимонна, моногідрат; аспартам; кремнію діоксид колоїдний безводний; магнію стеарат.	N05C M.	
35	Сойфем	таблетки вкриті оболонкою	Біофарм ЛТД, Польща	табл. в / о 100 мг блістер, № 30, № 60	Діюча речовина: 100 мг сухого екстракту насіння сої, який включає 26 мг комплексу ізофлавонів в перерахунку на геністеїн Допоміжні речовини: целюлоза мікрокристалічна, повідон, кросповідон, магнію стеарат, гідроксипропілметилцелюлоза, тальк, гліцерин.	Інші засоби що застосовуються в гінекології. G02CX	143,58
36	Сімідона- уно	таблетки	Макс Зеллер Зоне, Швейцарія	табл. 6.5 мг №30	Діючі речовини: 1 таблетка містить 6 5 мг сухого екстракту кореневищ циміцифуги (Cimicifugae rhizoma) сухий нативний екстракт (4 5-8 5:1) екстрагент – етанол 60% (об/об); Допоміжні речовини: натрію кроскармелоза; целюлоза мікрокристалічна; лактоза моногідрат; магнію стеарат; кремнію діоксид колоїдний безводний.	Інші засоби що застосовуються в гінекології. Препарати циміцифуги. G02C X04	202,00
37	Сімідона- форте			табл. 13мг №30	Діюча речовина : екстракт кореневищ циміцифуги (Cimicifugae rhizome), 13 мг сухого нативного екстракту (4,5-8,5:1), що відповідає 84,5 мг сухої рослинної сировини		217,97
38	Тазалок	краплі	Др. Густав Кляйн ГМБХ, Німеччина	Краплі оральні р-н фл. 50 (100) мл	До складу препарату входить суміш лікарської рослинної сировини і спирт етиловий 40% у співвідношенні 1:10. Суміш лікарської рослинної сировини містить: Коріння комірника шестипелюсткового; Коріння петрушки кучерявої (свіжі); Коріння селери (свіжі); Трава подмарінніка справжнього, Трава ленка звичайного, Квітки нагідок	Засоби, що застосовуються у гінекології. G02CX	211,30 (314,70)

Продовж. табл. А.1

1	2	3	4	5	6	7	8
39	Трипсидан	капсули	Сур'я Хербел Лтд для «Американ Нортон Корпорейшин», Індія/США	По 10 капсул у блістері; по 1 або 4 блістери у коробці	діючі речовини: 1 капсула містить: 200 мг екстракту з коріння вітанії снодійної (<i>Withania somnifera</i>) (1 : 9); 150 мг екстракту з кори терміналії арджуна (<i>Terminalia arjuna</i>) (1 : 8); 50 мг порошку кореневища нардостакісу великоквіткового (<i>Nardostachys jatamansi</i>); 50 мг порошку кореневища валеріани валлічі (<i>Valeriana Wallichii</i>); допоміжні речовини: тальк очищений.	Снодійні та седативні препарати. N05C M50	88,00
40	Утрожестан	капсули	Безен Меньюфекчурінг Белджіум СА, Бельгія	Капсули 100 мг – по 15 капсул у блістері; по 2 блістери у коробці	діюча речовина: прогестерон; 1 капсула містить прогестерону мікронізованого 100 мг або 200 мг; допоміжні речовини: олія соняшникова, лецитин соєвий, желатин, гліцерин, титану діоксид (E 171).	Гормони статевих залоз. Гестагени. G03D A04	459,46
41	Фемостон	таблетки вкриті оболонкою	Аббот Біолоджикалс, Нідерланди	таблетки по 5 мг в упаковці по 28 штук	Діюча речовина : 1 мг естрадіолу, 5 мг дидрогестерону Допоміжні речовини: лактози моногідрат, кукурудзяний крохмаль, метилгідроксипропілцелюлоза, безводний колоїдний кремнію діоксид, макрогол 400, магнію стеарат, оксид заліза червоний і жовтий, титану діоксид, Opadry помаранчевий.	Дідрогестерон і естроген G03FB08	402,69
42	Флора	Еліксир для орального застосування	ТОВ «ФК «Здоров'я»», м. Харків, Україна	По 100 мл у флаконі у коробці	діючі речовини: 100 мл еліксиру містять екстракту рідкого з лікарської рослинної сировини (1:8,5; екстрагент: етанол 45 %, етанол 40 %): буркуну трави (<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Lam.) 59,3 мг; солодки коренів (<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.) 22,7 мг; нагідок квіток (<i>Calendula officinalis</i> L.) 11,9 мг; розторопші плямистої плодів (<i>Silybum marianum</i> L.) 16,5 мг; коріандрю плодів (<i>Coriandrum sativum</i> L.) 59,6 мг; допоміжні речовини: кислота лимонна, моногідрат; кислота аскорбінова; цукор-пісок; карамель сульфату аміаку (E 150d); барвник Жовтий захід FCF (E 110); ароматизатор харчовий «Абрикос 696», що містить пропіленгліколь; сік яблучний спиртований; етанол 96 %; вода очищена.	Снодійні і седативні препарати. N05C M	25,55

Продовж. табл. А.1

1	2	3	4	5	6	7	8
43	Флорисед-Здоров'я	капсули	ТОВ «ФК «Здоров'я»», м. Харків, Україна	Капсули № 10x2 у блістерах у коробці	діючі речовини: 1 капсула містить збору седативного екстракту сухого (збір седативний містить траву кропиви собачої, шишки хмелю звичайного, листя м'яти перцевої, кореневища з коренями валеріани, корені і кореневища солодки (4:2:1,5:1,5:1)) 311,5 мг; допоміжні речовини: кальцію стеарат; лактоза, моногідрат; оболонка капсули містить титану діоксид (Е 171), заліза оксид червоний (Е 172), заліза оксид жовтий (Е 172), желатин.	Психолептичні засоби. Снодійні і седативні препарати. N05C M	56,00
44	Ци-клім	таблетки	ЗАО «Эвалар», Російська Федерація	Таблетки «№ 60	1 таблетка, вкрита оболонкою містить: Цимицифуги екстракт сухий з вмістом суми тритерпенових сапонінів в перерахунку на безводний есцин не менше 2,5% - 0,020 г Допоміжні компоненти: Целюлоза мікрокристалічна, крохмаль картопляний, кальцію стеарат.	Протиклімактеричний засіб рослинного походження G02CX	121,44

Додаток Б

Список публікацій здобувача

1. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Наукове обґрунтування складу композиції лікарської рослинної сировини для лікування клімактеричного синдрому. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2018. № 29. С. 205–214. (Особистий внесок: формування мети, узагальнення даних, підготовка публікації).

2. Konovalenko I. S., Polovko N. P., Lytkin D. V., Zagayko A. L. Research of acute toxicity of medicinal drugs on the basis of plant raw material for non–hormonal therapy of climateric syndrome. *Clinical Pharmacy Journal*. 2018. Vol. 22, №3. P. 11–16. (Особистий внесок: формування мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення даних, підготовка публікації).

3. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection. *Annals of Mechnikov Institute*. 2019. № 3. P. 50–53. (Особистий внесок: формування мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення даних, підготовка публікації).

4. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Бевз Н. Ю. Разработка методик контроля качества настоя из гинекологического лекарственного растительного сбора. *Norwegian Journal of development of the International Science: Pharmaceuticals*. 2019. № 35, Том 2. – С. 43–48. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

5. Konovalenko I., Polovko N. The substantiation of the conditions for extracting the phytocomposition for nonhormonal therapy of menopause. *Danish Scientific Journal: Pharmaceuticals*. 2020. № 39. Vol. 2. P. 63–68. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

6. Фармацевтична композиція для застосування у клімактеричному періоді що проявляє седативну, естрогенну, вегето–судинну дію та регулює ліпідний обмін : пат. 138102 України на корисну модель. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. власник НФаУ. № 201903243; заяв. 01.04.2019; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22. 4 с. (*Особистий внесок: планування патентного пошуку, розробка складу та технології фармацевтичної композиції, підготовка формули та опису до патенту*).

7. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів: інформ. лист. № 382–2018. Київ, 2018. 4 с. (*Особистий внесок: узагальнення даних та написання інформаційного листа*).

8. Коноваленко І.С., Половко Н. П. Изучение технологических свойств сбора для лечения климактерического синдрома. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: збірник наукових праць*. 2016. С. 318–320. (*Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації*).

9. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Study of the technological properties of dry extract of *Salvia officinalis*. *Modern achievements of pharmaceutical technology and biotechnology: a collection of scientific papers*. 2017. Vol. 2. P. 15–17. (*Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації*).

10. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Залежність ступеня вилучення екстрактивних речовин від дисперсності лікарського рослинного збору для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: збірник наукових праць*. 2017. Випуск 3. С. 157–159. (*Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації*).

11. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Маркетингові дослідження ринку біологічно активних речовин, що застосовуються для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *International research and practice conference "Innovative technology in medicine experience of Poland and Ukraine*. 2017. С.149–154. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

12. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Обоснование выбора лекарственного растительного сырья для негормональной терапии климактерического синдрома. *Инновации в медицине и фармации – 2017*: материалы международной научно–практической конференции БГМУ, г. Минск, 10 октября 2017. С. 832–839. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

13. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Технологія виготовлення в умовах аптеки збору для лікування клімактеричного синдрому. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : збірник наукових праць. 2018. Випуск 4. С. 115–117. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

14. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. Динаміка зміни маси тіла у щурів при фармакологічному вивченні засобів на основі рослинної сировини на моделі експериментальної оваріоектомії. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології*. 2018. Випуск 5. С. 180–183. (Особистий внесок: формулювання мети, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

15. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. Фармакологічне вивчення лікарського рослинного збору на моделі експериментальної оваріоектомії у щурів. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів*. 2019. Випуск 3. С.113–117. (Особистий внесок: формулювання мети, приготування зразків препаратів, участь у проведенні

експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

16. Konovalenko I., Polovko N. Marketing research of the pharmaceutical market of medicinal products for correction of menopause disorders. *The potential of modern science*. 2019. Vol. 3. P. 106–118. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

17. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Загайко А. Л., Литкін Д. В. Фармакологічне вивчення лікарського рослинного збору на моделі експериментальної оваріоектомії у щурів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали III Міжнар. наук.–практ. конф., м. Харків, 14–15 березня 2019 року. Харків : НФаУ. 2019. Т. 1. С. 110–114. (Особистий внесок: формулювання мети, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

18. Коноваленко І. С., Половко Н. П., Гудзь Н. І., Вечорек Пётр П. Дослідження лікарської рослинної сировини, яка входить до складу гінекологічних крапель. *Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології*. 2019. С. 88–93. (Особистий внесок: формулювання мети, приготування зразків препаратів, участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

19. Konovalenko I. S., Evtushenko T. I., Polovko N. P. Development of the technological properties of motherwort dry extract for solid dosage form. *Topical issues of new drug development*. 2017. Vol. 1. P. 327.

20. Konovalenko I. S., Evtushenko T. I., Deryvedmid L.V. Dry extract of the oregano as perspective raw material for correction of climacteric syndrome. *Topical issues of new drug development*. 2017. Vol. 2. P. 73.

21. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research of technological properties of Salvia dry extract for solid dosage medicinal for development. *Actual problems of medicine and pharmacy 2017: collection of abstracts of the international conference*. 2017. С. 1515.

22. Коноваленко И. С., Половко Н. П. Перспективы использования шалфея лекарственного при негормональной терапии климактерического синдрома. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*. 2017. С. 60.

23. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research of the pharmaceutical composition development for climacteric syndrome therapy. *Modern aspects of pharmacology, cosmetology and aromology*. 2017. P. 33–35.

24. Коноваленко И. С., Половко Н. П. Вплив часу та температури на вихід екстрактивних речовин при екстракції збору для корекції клімактеричного синдрому. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матер. III Міжнар. науково–практ. інтернет–конф., м. Харків, 14–15 листопада 2017 р. Харків: НФаУ. 2017. С. 107–108.

25. Коноваленко И. С., Половко Н. П., Лыткин Д. В., Загайко А. Л. Изучение острой токсичности спиртовых капель комбинированного состава на основе лекарственного растительного сырья для терапии климактерического синдрома. *Медицинская наука: новые возможности*: матер. XIII науч.–практ. конф. мол. уч. и студ. с межд. уч., г. Душамбе, 27 апреля 2018 г. Душамбе. 2018. С. 30.

26. Konovalenko I. S., Lytkin D. V., Polovko N. P. Development of composition, technology and study of acute toxicity of combined composition on the basis of plant raw material for treatment of climatic syndrome. *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. 2018. P. 170.

27. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Scientific substantiation of the composition of alcohol drops combined composition based on medical plant raw material for the treatment of climacteric syndrome. *Pharmaceutical science and practice: problems, achievements, prospects*. 2018. P. 39.

28. Коноваленко И. С., Половко Н. П. Патофизиология климактерического синдрома. *Механизмы развития патологических процессов и болезней и их фармакологическая коррекция*: тез. докл. I науч.–практ. инт.–конф. с межд. уч. г. Харьков, 18 октября 2018 г. Харьков. 2018. С.122–123.

29. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Розробка методик стандартизації лікарського рослинного збору для негормональної терапії клімактеричного синдрому. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матер. III міжн. наук.–практ. int.–конф. м. Харків, 26–28 листопада 2018 р. м. Харків. 2018. С. 100–101.

30. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Quantitative determination of the amount of flavonoids in salvia officinalis for climacteric syndrome treatment. *Modern problems of pharmacology, cosmetology and aromatology*. 2018. P. 80–83.

31. Коноваленко І. С., Половко Н. П. Количественное определение флавоноидов в спиртовых каплях для лечения климактерического синдрома. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2019*: сб. тезисов докладов LXXIII Международной научно–практической конференции студентов и молодых ученых. Минск. 2019. С. 1532.

32. Konovalenko I., Polovko N. Research of extraction conditions of phytocomposition for non–hormonal treatment of menopause. *Book of Abstracts of the 4th International Scientific Conference Agrobiodiversity for Improve for the Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life*, P. 101.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. V Науково–практична інтернет–конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 18 листопада 2016 р., форма участі – публікація статті)
2. I Міжнародна науково–практична конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (Харків, 3–4 березня 2017 р., форма участі – публікація статті).
3. VI Науково–практична інтернет–конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 13 жовтня 2017 р., форма участі – публікація статті).
4. Дистанционная научно–практическая конференция молодых учёных и студентов «Инновации в медицине и фармации – 2017» (Минск, 2017, форма участі – публікація статті).
5. XXIV Міжнародна науково–практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 20 квітня 2017 р., форма участі – публікація тез).
6. Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): науково–практична конференція з міжнародною участю, присвячена 100–річчю з дня народження І. Г. Герцена (Одеса, 27–28 квітня 2017 р., форма участі – публікація тез).
7. Internaitional research and practice conference “Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine”: Conference Proceedings (Lublin, April 28–29, 2017, форма участі – публікація статті).
8. III Міжнародна науково–практична Інтернет — конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 14-15 листопада 2017 р., форма участі – публікація статті).
9. Сучасні проблеми фармакології, косметології та аромології: науково–практична конференція, присвячена 160–річчю з дня народження видатного

українського патолога, ендокринолога, імунолога, мікробіолога професора Володимира Валеріановича Підвисоцького та Дню Фармацевта (Одеса, 15 вересня 2017 р., форма участі – усна доповідь та публікація тез).

10. VII Науково–практична інтернет–конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 23 листопада 2018 р., форма участі – публікація статті).

11. II Міжнародна науково–практична конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (Харків, 1 березня 2018 р., форма участі – постерна доповідь та публікація тез).

12. XXV Міжнародна науково–практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 18–20 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез).

13. II Науково–практична інтернет–конференція з міжнародною участю "Pharmaceutical science and practice : problems, achievements, prospects" (Харків, 27 квітня 2018 р., форма участі – публікація статті).

14. XIII Научно–практическая конференция молодых учёных и студентов с международным участием, посвящённая году развития туризма и народных ремесел (Душамбе, 27 апреля 2018 г., форма участі – публікація тез).

15. Науково–практична конференція «Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології», присвячена 150–річчю з дня народження видатного гістолога та ембріолога, завідувача кафедр Новоросійського і Софійського університетів, професора Олександра Федоровича Маньківського та Дню Фармацевта (Одеса, 21 вересня 2018 р., форма участі – постерна доповідь та публікація тез).

16. I Науково–практична інтернет–конференція з міжнародної участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 18 жовтня 2018 р., форма участі – публікація тез).

17. III Міжнародна науково–практична internet–конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 26–28 листопада 2018 р., форма участі – публікація тез).

18. III Міжнародна науково–практична конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (Харків, 1 березня 2019 р., форма участі – публікація статті).
19. LXXIII Международная научно–практическая конференция студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2019» (Минск, 17–19 апреля 2019 г., форма участі – усна доповідь та публікація тез).
20. Agrobiodiversity for improve the nutrition, health and quality of human and bees life (Nitra, 11–12 вересня 2019 р., форма участі – постерна доповідь та публікація тез).
21. III Міжнародна науково–практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 15 березня 2019 р., форма участі – публікація тез).
22. Науково–практична конференція «Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології», яка присвячена 100 річчю з дня народження видатного українського фармаколога, професора Ярослава Борисовича Максимовича, 10 річчю з дня заснування Одеського медичного інституту МГУ та Дню Фармацевта (Одеса, 4 жовтня 2019 р., форма участі – публікація статті).
23. VIII Міжнародна науково–практична конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології», присвячена 15–річчю з дня створення кафедр промислової фармації та біотехнології (Харків, 8 листопада 2019 р., форма участі – усна та постерна доповідь).
24. Міжнародна науково–практична конференція «Пріоритетні напрямки вирішення актуальних проблем медицини» (Дніпро, 11–12 вересня 2020 р., форма участі – публікація тез).

Додаток В

Патент України на корисну модель



Продовж. дод. В

Патент України на винахід

ВУНІУ
С.ОС.І
В4

МІНЕКОНОМПРОЗВИТКУ

**ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ"
(УКРПАТЕНТ)**

вул. Глазунова, 1, м. Київ-42, 01601, Україна Тел.: (044) 494-05-05 Факс: (044) 494-05-06
E-mail: office@ukrpatent.org

15.04.2019 № 9038/ЗА/19

Стосується заявки № а 2019 03220
/ при листуванні просимо посилатися на цей № /

Адреса для листування
Національний фармацевтичний університет,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002

**Повідомлення
про встановлення дати подання заявки на винахід (корисну модель)**

(21) Реєстраційний номер заявки а 2019 03220

(71) Заявник(и)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(54) Назва винаходу /корисної моделі/

**ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ У
КЛІМАКТЕРИЧНОМУ ПЕРІОДІ ЩО ПРОЯВЛЯЄ СЕДАТИВНУ, ЕСТРОГЕННУ,
ВЕГЕТО-СУДИННУ ДІЮ ТА РЕГУЛЮЄ ЛІПІДНИЙ ОБМІН**

Матеріали заявки відповідають вимогам ст.13 Закону щодо встановлення дати подання заявки на дату одержання Державним підприємством "Український інститут інтелектуальної власності":

- матеріалів заявки

Дата подання заявки 01.04.2019

Начальник відділу



Л.М. Луценко

Виконавець
Телефон

Шустерова І.В.
494-05-98

Продовж. дод. В

6x343
27.08.1
B6

МІНЕКОНОМПРОЗВИТКУ

**ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ"
(УКРПАТЕНТ)**

вул. Глазунова, 1, м. Київ-42, 01601, Україна Тел.: (044) 494-05-05 Факс: (044) 494-05-06
E-mail: office@ukrpatent.org

24.07.2019 № 16935/ЗА/19

Стосується заявки № а 2019 03220
/ при листуванні просимо посылатися на цей № /

Адреса для листування
Національний фармацевтичний
університет, вул. Пушкінська, 53, м.
Харків, 61002

**Повідомлення про завершення формальної експертизи за заявкою на
винахід**

(21) Реєстраційний номер заявки а 2019 03220

(22) Дата подання 01.04.2019

(71) Заявник(и)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(72) Повне ім'я винахідника(ів)

*Коноваленко Ілона Сергіївна, Половко Наталя Петрівна, Загайко Андрій Леонідович,
Литкін Дмитро Валерійович*

(51) МПК

A61K 36/53 (2006.01)

A61P 5/30 (2006.01)

A61K 36/18 (2006.01)

A61P 15/12 (2006.01)

A61P 25/20 (2006.01)

(54) Назва винаходу

**ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ У
КЛІМАКТЕРИЧНОМУ ПЕРІОДІ ЩО ПРОЯВЛЯЄ СЕДАТИВНУ, ЕСТРОГЕННУ,
ВЕГЕТО-СУДИННУ ДІЮ ТА РЕГУЛЮЄ ЛІПІДНИЙ ОБМІН**

Відповідно до частини чотирнадцятої статті 16 Закону України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі» (далі – Закон) повідомляємо про завершення формальної експертизи та можливість проведення кваліфікаційної експертизи за умови дотримання вимог частини сімнадцятої статті 16 Закону.

Нагадуємо, що згідно з частиною сімнадцятою статті 16 Закону, кваліфікаційна експертиза проводиться після одержання закладом експертизи відповідної заяви будь-якої особи та документа про сплату збору за її проведення.

Заявник може подати зазначені заяву та документ про сплату збору (код збору 11600 відповідно до Порядку сплати зборів за дії, пов'язані з охороною прав на об'єкти інтелектуальної власності – далі Порядок) протягом трьох років від дати подання заявки.

Строк подання зазначеної заяви та документа продовжується, але не більше, ніж на шість місяців, якщо до його спливу буде подано відповідне клопотання та сплачено збір за його подання (код збору 11701 або 11702 відповідно до Порядку). Цей строк, пропущений з поважних причин, поновлюється, якщо протягом дванадцяти місяців від його спливу буде подано відповідне клопотання та сплачено збір за його подання (код збору 11801 або 11802 відповідно до Порядку). Якщо заявник не виконає зазначених вимог у встановлений строк, то заявка вважається відкликаною.

Продовж. дод. В

EXM4
21.11.

B15

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України

**ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ"
(УКРПАТЕНТ)**

вул. Глазунова, 1, м. Київ-42, 01601, Україна Тел.: (044) 494-05-05 Факс: (044) 494-05-06
E-mail: office@ukrpatent.org

28.10.2019 № 25101/ЗА/19

На Ваш лист від 17.10.2019 № 1984/03
Стосується заявки № а 2019 03220
/ при листуванні просимо посилатися на цей № /

Адреса для листування
Національний фармацевтичний
університет, вул. Пушкінська, 53, м.
Харків, 61002

Повідомлення по заявці на винахід (корисну модель)

(21) Реєстраційний номер заявки а 2019 03220

(22) Дата подання 01.04.2019

(71) Заявник(и)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(54) Назва винаходу /корисної моделі/

**ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ У
КЛІМАКТЕРИЧНОМУ ПЕРІОДІ ЩО ПРОЯВЛЯЄ СЕДАТИВНУ, ЕСТРОГЕННУ,
ВЕГЕТО-СУДИННУ ДІЮ ТА РЕГУЛЮЄ ЛІПІДНИЙ ОБМІН**

Ваше клопотання, подане заявником(ами) відповідно до ч. 17 ст. 16 Закону, отримане Укрпатентом 21.10.2019, прийнято як клопотання про проведення кваліфікаційної експертизи заявки на видачу патенту на винахід.

Кваліфікаційна експертиза за цим клопотанням проводиться відповідно до п. 6 Правил розгляду відділом хіміко-біологічних технологій.

Наведені нижче терміни використані у тексті цього повідомлення у такому значенні: Закон - Закон України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі"; Правила розгляду - "Правила розгляду заявки на винахід та заявки на корисну модель", які затверджено Наказом Міністерства освіти і науки України 15.03.2002 № 197, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 15.04.2002 за № 364/6652.

Акти апробації технології



АКТ

апробації технології виробництва та методів контролю якості оральних крапель

В умовах цеху фітохімічних лікарських засобів ТОВ "Науково-виробнича фармацевтична компанія "ЕЙМ" апробовано технологію виробництва та методів контролю якості оральних крапель, що містять рідкий екстракт з фітокомпозиції, до складу яких входить лікарська рослинна сировина (хмелю звичайного шишки, шавлії лікарської листя, кропиви дводомної листя) 1:4 (екстрагент - 70% етанол).

За результатами експерименту встановлено повну відтворюваність технології препарату, викладеної в проекті технологічного регламенту.

Виготовлені зразки оральних крапель за усіма показниками якості відповідають вимогам специфікації та проекту методів контролю якості лікарського засобу.

Директор виробництва

Продовж. дод. Г

ЗАТВЕРДЖУЮ
Голова Ради засновників НВФК «ЕЙМ»
к. ф. н. Ніжковський Ю. Г.



АКТ

апробації технології виробництва та методів контролю якості збору

В умовах фітохімічного цеху ТОВ "Науково-виробнича фармацевтична компанія "ЕЙМ" апробовано технологію виробництва та методів контролю якості збору, до складу якого входить лікарська рослинна сировина (коношини лучної трава, липи серцелистої суцвіття, чебрецю польового трава, деревію звичайного трава).

За результатами експерименту встановлено повну відтворюваність технології препарату, викладеної в проєкті технологічного регламенту.

Виготовлені зразки збору за всіма показниками якості відповідають вимогам специфікації та проєкту методів контролю якості лікарського засобу.

Директор виробництва

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖЕНО»

Завідувач КП ХОР «Фармація»

«Аптека № 195»

Кандиба О. В.

«20» листопада 2020 р.

АКТ

**АПРОБАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ
В УМОВАХ АПТЕЧНОГО ВИРОБНИЦТВА**

Даний акт складено в тому, що в умовах КП ХОР «Фармація» «Аптека № 195», Україна (м. Харків) було опрацьовано технологію збору та настою з лікарського рослинного збору для лікування клімактеричного синдрому під умовною назвою «Флавоклім» та перевірено відтворюваність параметрів технологічної інструкції на виробництво препарату.

Завідувач

КП ХОР «Фармація» «Аптека № 195»



О. В. Кандиба

Асистент кафедри аптечної технології ліків

Національного фармацевтичного університету

Доктор фармацевтичних наук,

професор кафедри аптечної технології ліків

Національного фармацевтичного університету



І. С. Коноваленко



Н. П. Половко


Продовж. дод. Г



АКТ
АПРОБАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ
В УМОВАХ АПТЕЧНОГО ВИРОБНИЦТВА

Даний акт складено в тому, що в умовах ТОВ «Леда», Україна (м. Харків) було опрацьовано технологію збору та настою з лікарського рослинного збору та сухого екстракту для лікування клімактеричного синдрому під умовною назвою «Флавоклім» та перевірено відтворюваність параметрів технологічної інструкції на виробництво препарату.

Зам. завідуючої
аптеки № 6 ТОВ «Леда»

 О. В. Березовська

Асистент кафедри аптечної технології ліків
Національного фармацевтичного університету

 І. С. Коноваленко

Доктор фармацевтичних наук,
професор кафедри аптечної технології ліків

Національного фармацевтичного університету  Н. П. Половко

Продовж. дод. Г

Технологічні інструкції



ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ

по виготовленню в умовах КП ХОР «Фармація» «Аптека № 195» лікарського засобу

Збір «Флавоклім» для внутрішнього застосування

Склад:

На 100,0 г збору:

конюшини лучної трави 40,0 г

листя серцелистої квіток 20,0 г

деревію звичайного трави 20,0 г

чебрецю повзучого трави 20,0 г

Завідувач

КП ХОР «Фармація» «Аптека № 195»

 О. В. Кандиба

Асистент кафедри аптечної технології ліків


Національного фармацевтичного університету

Доктор фармацевтичних наук,

професор кафедри аптечної технології ліків

Національного фармацевтичного університету

 І. С. Коноваленко

 Н. П. Половко

Продовж. дод. Г

ТОВ «Леда»			
ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ			
ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ			Стор. 1
Збір «Флавоклім»			
Рецептурно-виробничий відділ аптеки № 6 ТОВ «Леда»	Дата впровадження:	Серія	1 екземпляр з Версія № 01

ЗАТВЕРДЖУЮ:
Директор ТОВ «Леда»
Т.М. Чанчалейшвілі
« 5 » БЕРЕЗНЯ 2020 р.

Діє від « 5 » БЕРЕЗНЯ 2020 р.
Дата перегляду « » 20... р.

**ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЕКСТЕМПОРАЛЬНОГО
ЗБОРУ
Збір «ФЛАВОКЛІМ»**

Розроблено / змінено	Узгоджено	Затверджено
Асистент кафедри аптечної технології ліків	Завідувач кафедри аптечної технології ліків, професор	Зам. завідувачої аптеки № 6 ТОВ «Леда»
Коноваленко І. С. Підпис: <i>IK</i>	Вишневська Л. І. Підпис: <i>LV</i>	О. В. Березовська Підпис: <i>OB</i>
Дата: 3.03.2020р.	Дата: 3.03.2020р.	Дата: 5.03.2020р.
Доктор фармацевтичних наук, професор кафедри аптечної технології ліків		
Половко Н. П. Підпис: <i>NP</i>		
Дата: 3.03.2020р.		

Продовж. дод. Г

ТОВ «Леда»			
ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ			
ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ Сухий екстракт «Флавоклім»			Стор. 1
Рецептурно-виробничий відділ аптеки № 6 ТОВ «Леда»	Дата впровадження:	Серія	1 екземпляр з _____ Версія № 01

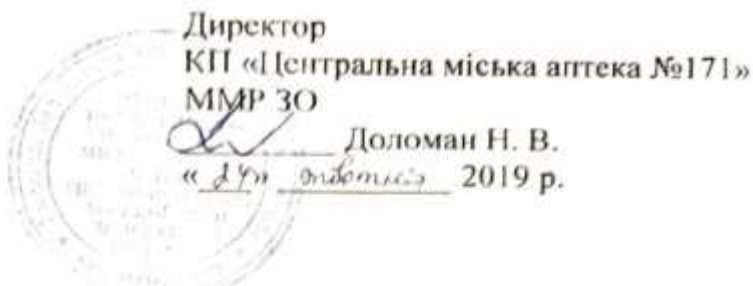
ЗАТВЕРДЖУЮ:
Директор ТОВ «Леда»
І. М. Чанчалейшвілі
« 5 » березня 2020 р.

Діє від « 5 » березня 2020 р.
Дата перегляду « » 20... р.

**ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЕКСТЕМПОРАЛЬНОГО
СУХОГО ЕКСТРАКТУ**
Сухий екстракт «ФЛАВОКЛІМ»

Розроблено / змінено	Узгоджено	Затверджено
Асистент кафедри аптечної технології ліків	Завідувач кафедри аптечної технології ліків, професор	Зам. завідувачої аптеки № 6 ТОВ «Леда»
Коноваленко І. С. Підпис: <i>І. С. Коноваленко</i>	Вишне夫ська Л. І. Підпис: <i>Л. І. Вишне夫ська</i>	О. В. Березовська Підпис: <i>О. В. Березовська</i>
Дата: <i>3.03.2020р.</i>	Дата: <i>3.03.2020р.</i>	Дата: <i>5.03.2020р.</i>
Доктор фармацевтичних наук, професор кафедри аптечної технології ліків		
Половко Н. П. Підпис: <i>Н. П. Половко</i>		
Дата: <i>3.03.2020р.</i>		

Акти впровадження



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження:

Розробка складу та технології крапель та збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Ким запропоновано, адреса виконавця:

Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

3. Укладачі:

ас. І. С. Коноваленко, д. фарм. н., проф. Н. П. Половко.

4. Джерело інформації:

Інформаційний лист «Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів» // Укрмедпатентінформ МОЗ України. – К., 2018. – Вип. 54. – з проблеми «Фармація». – №382-2018. – рішення ПК «Фармація» (протокол №104 від 24.10.2018 р.). – 4 с.

5. Ким і коли впроваджено:

КП «Центральна міська аптека №171» ММР ЗО, м. Мелітополь, вул. Гризодубової, 39 – жовтень 2019 р.

6. Ефективність впровадження:

Запропонований склад і технологія лікарського рослинного збору дозволить розширити асортимент лікувальних засобів, призначених для лікування клімактеричного синдрому, а також забезпечить можливість якісного приготування лікувального засобу в умовах аптек.

7. Зауваження та пропозиції:

Немає.

Директор
КП «Центральна міська аптека №171»ММР ЗО

Н. В. Доломан

Продовж. дод. Д

Директор ТОВ «Леда»

І.М.Чанчалеїшвілі

«5» БЕРЕЗНЯ 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Виготовлення настою з лікарського рослинного збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; ас. І. С. Коноваленко, д.фарм.н., проф. Н.П. Половко.

3. Джерела інформації: Інформаційний лист «Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів» // Укрмедпатентінформ МОЗ України. – К., 2018. – Вип. 54. – з проблеми «Фармація». – №382-2018.– рішення ПК «Фармація» (протокол №104 від 24.10.2018 р.). – 4 с.

4. Впроваджено: у виробничий процес аптеки з екстемпоральним виготовленням лікарських засобів ТОВ «Леда»: аптека № 6 м. Харків.

5. Термін впровадження: БЕРЕЗЕНЬ 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації. Результати наукових досліджень використовуються у екстемпоральному виготовленні лікарських рослинних зборів.		

Зам. завідувачої аптеки № 6 ТОВ «Леда»

Березовська О.В.

Продовж. дод. Д

Завідувач КП ХОР
«Фармація»
«Аптека № 195»
Кандиба О. В.
12 листопада 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. *Назва пропозиції для впровадження:*
Розробка складу та технології крапель та збору для лікування клімактеричного синдрому.
2. *Ким запропоновано, адреса виконавця:*
Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.
3. *Укладачі:*
ас. І. С. Коноваленко, д. фарм. н., проф. Н. П. Половко.
4. *Джерело інформації:*
 1. Інформаційний лист «Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів» // Укрмедпатентінформ МОЗ України. – К., 2018. – Вип. 54. – з проблеми «Фармація». – №382-2018.– рішення ПК «Фармація» (протокол №104 від 24.10.2018 р.). – 4 с.
 2. Konovalenko I. S. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection / I. S. Konovalenko, N. P. Polovko // Annals of Mechnikov Institute. N 3, 2019. – P. 50-53.
5. *Ким і коли впроваджено:*
КП ХОР «Фармація» «Аптека № 195», м. Харків, проспект Архітектора Альошина, 37 – березень 2020 р.
6. *Ефективність впровадження:*
Запропонований склад і технологія лікарського рослинного збору дозволить розширити асортимент лікувальних засобів, призначених для лікування клімактеричного синдрому, а також забезпечить можливість якісного приготування лікувального засобу в умовах аптек.



Завідувач
КП ХОР «Фармація» «Аптека № 195»

О. В. Кандиба



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження:

- 1.1. Виготовлення збору для лікування клімактеричного синдрому.
- 1.2. Виготовлення настою з лікарського рослинного збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Ким запропоновано, адреса виконавця:

Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

3. Укладачі:

ас. І. С. Коноваленко, д. фарм. н., проф. Н. П. Половко.

4. Джерело інформації:

Інформаційний лист «Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів» // Укрмедпатентінформ МОЗ України. – К., 2018. – Вип. 54. – з проблеми «Фармація». – №382-2018.– рішення ПК «Фармація» (протокол №104 від 24.10.2018 р.). – 4 с.

Konovalenko I. S. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection / I. S. Konovalenko, N. P. Polovko // Annals of Mechnikov Institute, N 3, 2019. – P. 50-53.

5. Ким і коли впроваджено:

Навчально-виробнича аптека №1 Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького, м. Львів, вул. Пекарська, 75 – квітень-травень 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Запропонований склад і технологія лікарського рослинного збору дозволить розширити асортимент лікувальних засобів, призначених для лікування клімактеричного синдрому, а також забезпечить можливість якісного приготування лікувального засобу в умовах аптек.

7. Зауваження та пропозиції:

Немає.

Відповідальний за впровадження:
Провізор-аналітик вищої категорії
Навчально-виробничої аптеки №1
ЛНМУ ім. Д. Галицького

Процах Л. В.


 Директор ТОВ Аптеки «Центорія»
 Самборська Я. І.
 «28» вересня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Виготовлення настою з лікарського рослинного збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; ас. І. С. Коноваленко, д.фарм.н., проф. Н.П. Половко.

3. Джерела інформації: Інформаційний лист «Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів» // Укрмедпатентінформ МОЗ України. – К., 2018. – Вип. 54. – з проблеми «Фармація». – №382-2018.– рішення ПК «Фармація» (протокол №104 від 24.10.2018 р.). – 4 с.

4. Впроваджено: у виробничий процес аптеки з екстемпоральним виготовленням лікарських засобів ТОВ аптека «Центорія, м. Івано-Франківськ, березень-травень 2020 р.

5. Термін впровадження: 28 вересня 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації.		
Результати наукових досліджень використовуються у екстемпоральному виготовленні лікарських рослинних зборів.		

Відповідальний за впровадження:
Провізор ТОВ аптека «Центорія»



Маланій О. І.

Продовж. дод. Д

С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ



КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА
ASFENDIYAROV KAZAKH NATIONAL
MEDICAL UNIVERSITY

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан Школы Фармации
доктор фармацевтических наук, профессор
Сакипова З.Б.
« 20 » « 11 » 2018 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

1. Название предложения для внедрения: Разработка состава и технологии капель и сбора для лечения климактерического синдрома.

2. Учреждение, его адрес, исполнители: Национальный фармацевтический университет, г. Харьков (Украина), кафедра аптечной технологии лекарств, 61002, Украина, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53; ас. Коноваленко И. С., проф. Половко Н. П.

3. Источники информации:

- Коноваленко И.С. Изучение влияния фармацевтических факторов на оптимизацию высвобождения биологически активных веществ при получении водных вытяжек из сбора для негормональной терапии климактерического синдрома / И.С. Коноваленко, Н.П. Половко // Вестник ЮКГФА Онтустік Қазақстан Мемлекеттік Фармацевтика академиясі Хабаршы. – № (4) . – 2017. – С. 35-41
- Коноваленко І.С. Залежність ступеня видлучення екстрактивних речовин від дисперсності лікарського рослинного збору для негормональної терапії клімактеричного синдрому / Коноваленко І.С., Половко Н.П. // Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: збірник наукових праць, випуск 3. – Х.: Вид -во НФаУ, 2017. – 157-159 с.
- Коноваленко І.С. Наукове обґрунтування складу композиції лікарської рослинної сировини для лікування клімактеричного синдрому / Коноваленко І.С., Половко Н.П. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО, 2017.-вип..28 – с.68-80.

4. Внедрено: кафедра технологии лекарств и инженерных дисциплин.

5. Форма внедрения: учебный процесс, научно-исследовательская работа.

6. Эффективность внедрения: усовершенствование и оптимизация учебного процесса, в частности, расширение информации о технологии получения и исследовании жидких и твердых лекарственных форм в виде комплексных настоек, настоев, отваров и лекарственных растительных сборов.

7. Сроки внедрения: 2017-2018 уч. год.

Утверждено на заседании кафедры, протокол № 8 от «11» мая 2018 г.

Ответственный за внедрение:

Заведующая кафедрой технологии лекарств и инженерных дисциплин
Казахского Национального медицинского университета
имени С.Д. Асфендиярова
доктор фарм. наук, профессор

Г.О. Устенова

Продовж. дод. Д



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького,
професор М.Р.Гжегоцький
« 14 » 11 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу та технології виготовлення збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Установа, автори: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м.Харків, вул.Пушкінська, 53.; ас.І.С.Коноваленко, д.фарм.н., проф.Н.П.Половко.

3. Джерела інформації:

3.1. Наукове обґрунтування складу композиції лікарської рослинної сировини для лікування клімактеричного синдрому / І.С.Коноваленко, Н.П.Половко // 36. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика.-2018.-205-214 с.

3.2.Konovalenko I.S. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection / Konovalenko I.S., N.P.Polovko // Annals of Mechnikov Institute, N 3, 2019.-P. 50-53

3.3.Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів: Інформаційний лист № 382-2018 (Укрмедпатентінформ МОЗ України).-Київ,2018.-Вип. 54.-4с. (рішення ПК "Фармація", протокол №104 від 24.10.18р.) .

3.4.Konovalenko I.S. Research of extraction conditions of phytocomposition for non-hormonal treatment of menopause / Konovalenko I.S., N.P.Polovko // Book of Abstracts of the 4th International Scientific Conference Agrobiodiversity for Improve for the Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life, Slovak University of Agriculture in Nitra Publishing House, Litva.-P. 101.

4. Де впроваджено: в навчальний процес і наукову роботу кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, у лекційний курс при вивченні теми "Лікарські рослинні збори як форма використання ЛРС".

5.Термін впровадження: 2018/2019 навчальний рік.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелах інформації Результати наукових досліджень використовуються на кафедрі фармакогнозії і ботаніки під час лекційних і практичних занять, а також при виконанні дипломних і магістерських робіт.		

Розглянуто на засіданні кафедри, протокол №3 від 12.11.2019 року.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки
Львівського національного медичного університету
ім. Данила Галицького, канд.фарм.наук, доцент

Р. С. Дармограй

Продовж. дод. Д



ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
науково-педагогічної роботи

Львівського національного
медичного університету

імені Данила Галицького

чл. Колегії АМН України М. Р. Гжегоцький

2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу і технології крапель та збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53; ас. І. С. Коноваленко, д.фарм.н., проф. Н.П. Половко.

3. Джерела інформації:

3.1. Konovalenko I., Polovko N. Research of extraction conditions of phytocomposition for non-hormonal treatment of menopause. Book of Abstracts of the 4th International Scientific Conference Agrobiodiversity for Improve for the Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life, Slovak University of Agriculture in Nitra Publishing House, Litva. 2019. P. 101.

3.2. Konovalenko I. S., Polovko N. P. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection. *Annals of Mechnikov Institute*. 2019. №3. P. 50-53.

3.3. Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів: інформ. лист. №382 – 2018; Укрмедпатентінформ МОЗ України / Коноваленко І.С., Половко Н.П. К., 2018. Вип. 54.

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького при вивченні теми «Екстракційні препарати».

5. Термін впровадження: з 1.03. 2019 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації. Результати наукових досліджень включено в навчальний процес кафедри.		

Відповідальні за впровадження:

Доцент кафедри технології ліків і біофармації
ЛНМУ імені Данила Галицького

К. Ф. Ващенко

Завідувач кафедри технології ліків і біофармації
ЛНМУ імені Данила Галицького, доцент

С. Б. Білоус

Продовж. дод. Д

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Івано-Франківського національного
медичного університету,
проф. *М. М. Ерстенюк*
«11» *листопада* 2019 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу та технології крапель та збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; ас. І. С. Коноваленко, д.фарм.н., проф. Н.П. Половко.

3. Джерела інформації:

3.1. Konovalenko I. Research of extraction conditions of phytocomposition for non-hormonal treatment of menopause / Konovalenko I., Polovko N. // Book of Abstracts of the 4th International Scientific Conference Agrobiodiversity for Improve for the Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life, Slovak University of Agriculture in Nitra Publishing House, Litva. – P. 101.

3.2. Konovalenko I. S. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection / I. S. Konovalenko, N. P. Polovko // Annals of Mechnikov Institute, N 3, 2019. – P. 50-53.

3.3. Коноваленко И. С. Разработка методик контроля качества настоя из гинекологического о лекарственного растительного сбора / И. С. Коноваленко, Н. П. Половко, Н. Ю. Бевз // Norwegian Journal of development of the International Science: Pharmaceutics. 2019. № 35/2019, Том 2, – С. 43-48.

4. Впроваджено: в навчальний процес на кафедрі організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету, у лекційний курс при вивченні теми «Екстракційні препарати».

5. Термін впровадження: *зусиль* 2019 р.

Затверджено на засіданні кафедри, протокол № 4 від «07» листопада 2019 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації		
Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі організації та економіки фармації і технології ліків		

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри організації та
економіки фармації і технології ліків,
д. фарм. н., проф.

Д. В. Семенів

Продовж. дод. Д



«Затверджую»
 Викладача-методиста з науково-педагогічної роботи
 Національного фармацевтичного
 університету, проф.
 Ірина ВЛАДИМИРОВА

«15» вересня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу та технології крапель та збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; ас. І. С. Коноваленко, д.фарм.н., проф. Н.П. Половко,

3. Джерела інформації:

3.1. Konovalenko I. S. Study of the influence of pharmaceutical factors of the optimization of the release of biologically active substances upon receipt the water extracts from gynecological plant medical collection / I. S. Konovalenko, N. P. Polovko // Annals of Mechnikov Institute, N 3, 2019. – P. 50-53.

3.2. Інформаційний лист «Склад та технологія виготовлення в умовах аптек збору для корекції клімактеричних розладів» // Укрмедпатентінформ МОЗ України. – К., 2018. – Вип. 54. – з проблеми «Фармація». – №382-2018.– рішення ПК «Фармація» (протокол №104 від 24.10.2018 р.). – 4 с.

3.3 Konovalenko I, Research of extraction conditions of phytocomposition for non-hormonal treatment of menopause / Konovalenko I., Polovko N. // Book of Abstracts of the 4th International Scientific Conference Agrobiodiversity for Improve for the Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life, Slovak University of Agriculture in Nitra Publishing House, Litva. – P. 101.

4. Впроваджено: в навчальний процес на кафедрі технології ліків Національного фармацевтичного університету, у лекційний курс при вивченні теми «Водні витяги із ЛРС».

5. Термін впровадження: *з моменту* 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації		
Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі технології ліків		

Відповідальний за впровадження:
 завідувач кафедри технології ліків,
 д. фарм. н., проф.

Т. Г. Ярних



«Затверджую»
 В. О. пропектор з науково-педагогічної роботи
 Національного фармацевтичного
 університету, проф.
 Інна ВЛАДИМИРОВА

«15» вересня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу та технології крапель та збору для лікування клімактеричного синдрому.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; ас. І. С. Коноваленко, д.фарм.н., проф. Н.П. Половко.

3. Джерела інформації:

3.1. Konovalenko I.S. Scientific substantiation of the composition of alcohol drops combined composition based on medical plant raw material for the treatment of climacteric syndrome / I. S. Konovalenko, N. P. Polovko // Матеріали II науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю "Pharmaceutical science and practice : problems, achievements, prospects" (м. Харків, 27 квітня 2018 р.), – с. 39.

3.2. І. С. Коноваленко, Н. П. Половко, Н. І. Гудзь, Пьотр П. Вечорек Дослідження лікарської рослинної сировини, яка входить до складу гінекологічних крапель / Коноваленко І. С., Половко Н. П., Гудзь Н. І. Вечорек Пьотр П. // Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології». ОМІ МГУ, Одеса, 04.10.2019 – С. 88–93.

4. Впроваджено: в навчальний процес на кафедрі заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету, у лекційний курс при вивченні теми «Екстракційні препарати».

5. Термін впровадження: ~~з 15 вересня~~ 2020 р.

Затверджено на засіданні кафедри, протокол №1 від «15» вересня 2020 р.

6. Ефективність впровадження: Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації

Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі заводської технології ліків

Відповідальний за впровадження:
 завідувач кафедри заводської технології ліків,
 д. фарм. н., проф.

О. А. Рубан