

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
кафедра фармацевтичної хімії**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «РОЗРОБКА МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ АФІ ГЕЛЮ
ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СУГЛОБІВ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти групи
Фм22(1,5з)-01а

спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Ірина УЙВАН

Керівник: професор закладу вищої освіти кафедри
фармацевтичної хімії, д.фарм.н., професор
Людмила СИДОРЕНКО

Рецензент: завідувачка кафедри медичної хімії,
д.фарм.н., професор Ліна ПЕРЕХОДА

Харків – 2024 рік

АНОТАЦІЯ

Розроблено методики для стандартизації та проведення контролю якості сухого екстракту кори верби білої, складового гелю для лікування запальних захворювань суглобів. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, експериментальної частини, загальних висновків, переліку використаних літературних джерел, викладена на 48 сторінках, включає 8 таблиць, 14 рисунків та 31 джерело літератури.

Ключові слова: стандартизація, контроль якості, екстракт кори верби білої, гель, фізико-хімічні методи аналізу

ANNOTATION

Methods for standardisation and quality control of white willow bark dry extract, a component of the gel for the treatment of inflammatory joint diseases, have been developed. The qualification work consists of an introduction, literature review, experimental part, general conclusions, list of used literature sources, is presented on 48 pages, includes 8 tables, 14 figures and 31 references.

Key words: standardisation, quality control, white willow bark extract, gel, physicochemical methods of analysis

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ХІМІКО-ФАРМАКОГНОСТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОСЛИН РОДУ <i>SALIX</i>	9
1.1. Характеристика роду <i>Salix</i>	9
1.2. Фітохімія	13
1.2.1. Флавоноїди	14
1.2.2. Фенольні глікозиди	16
1.2.3. Нефенольні глікозиди	18
1.2.4. Органічні кислоти	19
1.2.5. Прості фенольні сполуки	20
1.2.6. Стерини і терпени	21
1.2.7. Лігнани	22
1.2.8. Леткі речовини	23
Висновки до розділу 1	25
РОЗДІЛ 2. ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ РОДУ <i>SALIX</i>	26
2.1. Історія використання кори верби	26
2.2. Протизапальні властивості <i>Salix alba</i>	27
2.3. Застосування кори верби білої: асортимент засобів та показання до застосування	28
Висновки до розділу 2	30
РОЗДІЛ 3. РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ВЕРБИ БІЛОЇ КОРИ ЕКСТРАКТУ СУХОГО	31
3.1 Ідентифікація біологічно активних сполук сухого екстракту кори верби білої	31

3.2	Випробування на чистоту сухого екстракту кори верби білої	33
3.3	Кількісне визначення суми саліцилових похідних у сухому екстракті кори верби білої	36
3.4	Кількісне визначення суми речовин флавоноїдної будови	43 47
	Висновки до розділу 3	48
	ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	49
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	53
	ДОДАТКИ	

ВСТУП

Актуальність теми. Впродовж останніх років спостерігається підвищена увага вчених всього світу до проблеми ревматичних захворювань (РЗ), які є групою мультифакторних хвороб, представлених великою кількістю нозологічних форм, що відрізняються за походженням і об'єднані переважно за ознакою локалізації основного патологічного процесу у сполучній тканині та за таким клінічним проявом, як суглобовий синдром. Рівень смертності у хворих на РЗ вищий, принаймні, у два рази, ніж у загальній популяції. Це хронічне системне захворювання сполучної тканини з ураженням периферичних суглобів і характерними позасуглобовими проявами. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я поширеність ревматичних хвороб серед світової популяції складає до 1,0 %. В Україні налічується біля 123 тис. хворих на ревматоїдний артрит, серед яких близько 57 тисяч – це люди працездатного віку, які перебувають під диспансерним наглядом. Приблизно 20-30 % пацієнтів з РЗ повністю втрачають працездатність впродовж перших 2-3 років хвороби та близько 90 % впродовж 20 років. РЗ впливають на національну економіку, призводять до значних витрат на лікування та знижують якість життя хворих. Негативний соціальний вплив РЗ зумовлений не лише їх значною поширеністю, а й ураженням усіх вікових груп населення, схильністю до хронізації та неухильного прогресування патологічного процесу, що призводить до зниження дієздатності, здатності до самообслуговування, фізичної, психічної та соціальної дезадаптації і як результат – до ранньої та швидкої інвалідизації.

Порівняно з синтетичними субстанціями лікарські препарати, отримані на основі лікарської рослинної сировини, набагато рідше викликають побічні ефекти, добре переносяться хворими, тому можуть застосовуватися довготривало, а також із супутніми патологіями, тому вони знаходять широке

застосування як у вигляді монотерапії, так і у комбінаціях із синтетичними засобами, зокрема і з можливістю зниження їх терапевтичної дози.

Мета дослідження. Розробити методики для стандартизації нового гелю для лікування запальних захворювань суглобів, до складу якого входить екстракт кори верби білої для запровадження в методики контролю якості для подальшого контролювання якості лікарського засобу впродовж «життєвого циклу».

Завдання дослідження. Для вирішення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

- провести огляд літератури щодо вмісту біологічно активних речовин в корі верби білої;
- визначити асортимент лікарських засобів, до складу яких входить кора верби білої;
- провести огляд літератури щодо показань до застосування лікарської рослинної сировини верби білої;
- запропонувати маркери біологічно активних речовин для проведення стандартизації сухого екстракту кори верби білої;
- підібрати умови хроматографічного визначення біологічно активних речовин сухого екстракту кори верби білої;
- підібрати умови спектрофотометричного визначення біологічно активних речовин сухого екстракту;
- провести статистичну обробку отриманих результатів;
- вивчити валідаційні характеристики запропонованих методик;
- зробити висновок щодо можливості запровадження запропонованих методик для проведення контролю якості гелю для лікування запальних захворювань суглобів.

Об'єкт дослідження. Об'єктом дослідження обрано м'яку лікарську форму у вигляді гелю для лікування запальних захворювань суглобів, однією зі складових якого є рослинний компонент, а саме сухий екстракт

кори верби білої, яка була розроблена на кафедрі аптечної технології ліків НФаУ під керівництвом д.фарм.н., професора Л.І. Вишневської.

Предмет дослідження. Стандартизацію верби білої кори екстракту сухого проводили згідно загальної статті «Екстракти» Державної Фармакопеї України за такими показниками, як опис, ідентифікація, випробування на чистоту (за параметрами визначення важких металів та води) і кількісне визначення.

Методи дослідження. Для проведення досліджень використані хімічні методи та фізико-хімічні методи. При випробуванні на чистоту визначали вміст важких металів і залишкову кількість вологи. Сумарний вміст води встановлювали напівмікрометодом. Для ідентифікації саліцину в екстракті використовували метод тонкошарової хроматографії. Кількісне визначення суми саліцилових похідних, у перерахунку на саліцин, здійснювали за методикою монографії ДФУ «Вербна кора» методом рідинної хроматографії у градієнтному режимі. Вміст у досліджуваному екстракті речовин флавоноїдного походження визначали методом абсорбційної спектрофотометрії, яка базується на утворенні комплексних сполук з розчином алюмінію хлориду в кислому середовищі. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерних технологій.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблені методики є валидними для завдань фармацевтичної галузі, зокрема для здійснення контролю якості м'якої лікарської форми – гелю з екстрактом кори верби білої для лікування запальних процесів суглобів.

Апробація результатів дослідження і публікації. Результати роботи були представлені на IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Youth Pharmacy Science» (6-7 грудня 2023 р., м. Харків) доповіддю на засіданні студентського наукового товариства кафедри фармацевтичної хімії та висвітлені в тезах:

Уйван І.Є., Бевз Н.Ю., Сидоренко Л.В. Хроматографічне визначення біологічно активних речовин гелю на основі екстракту кори верби білої.

Youth Pharmacy Science: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (6-7 грудня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. С. 99-100.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, експериментальної частини, загальних висновків, переліку використаних літературних джерел, викладена на 48 сторінках, включає 8 таблиць, 14 рисунків та 31 джерело літератури.

РОЗДІЛ 1

ХІМІКО-ФАРМАКОГНОСТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОСЛИН РОДУ *SALIX*

Верби (рід *Salix*), які налічують понад 330–500 видів і 200 гібридів, є деревами, кущами або розпростертими рослинами, які широко поширені в Африці, Північній Америці, Європі та Азії. Рід традиційно використовується в народній медицині і є цінним джерелом біологічно активних сполук, серед яких саліцин, проліки саліцилової кислоти. Загалом у роді охарактеризовано 322 вторинних метаболітів, включаючи 94 флавоноїди (флавоноли, флавони, флаванони, ізофлавони, флаван-3-оли (катехіни та проціанідини), халкони, дигідрохалкон, антоціани, дигідрофлавоноли), фенольні глікозиди (76), органічні кислоти (28) і нефенольні глікозиди (17), стерини і терпени (17), прості фенольні сполуки 13) і лігнани 7) на додаток до летких речовин і жирних кислот (69). Крім того, верби мають болезаспокійливу, протизапальну, антиоксидантну, протипухлинну, цитотоксичну, антидіабетичну, протимікробну дію, діють проти ожиріння, нейропротекторну та гепатопротекторну дії [1].

1.1. Характеристика роду *Salix*

Salicaceae (родина вербових і тополиних) традиційно включає роди *Populus* (тополя) і *Salix* (верба), які поширені в північних регіонах з помірним кліматом і є аментиферними (вирощують сережки). В даний час Salicaceae було збільшено, щоб включити більшість тропічних представників Flacourtiaceae, які не утворюють кетягів. Таким чином, сімейство Salicaceae наразі включає близько 56 родів і 1220 видів [2].

Salix — це великий гетерогенний рід, що включає понад 300 видів, які демонструють значні варіації у розмірах рослин, звичках росту та архітектурі крони, починаючи від маленьких карликових кущів до великих

дерев. Справжні верби, *Salix alba* L. (верба біла) і *Salix fragilis* L. (верба тріщина), є типовими деревними піонерними видами в алювіальних рівнинах і прибережних зонах; ці види належать до підроду *Amerina* Dum., секції *Fragiles* Fr. *Salix fragilis* в основному тетраплоїдний ($2n=4x=76$), але також можливі диплоїдний ($2n=2x=38$) і гексаплоїдний ($2n=6x=114$) *типи, тоді як S. alba* є лише тетраплоїдним і включає чотири різні підвиди; *ssp. alba*, *ssp. coerulea* Sm., *ssp. vitellina* (L.) (Arcang.) і *ssp. Міканс* Андерсс. *Salix × rubens* Schrank — це вид, який виник шляхом природної гібридизації між *S. alba* та *S. fragilis* і включає широкий спектр варіантів від типових *S. alba* до особин, подібних до *S. fragilis*. *Salix babylonica* L., *S. pentandra* L. і *S. triandra* L. є єдиними видами, які успішно схрещуються як з *S. alba*, так і з *S. fragilis*. Незважаючи на подібні екологічні характеристики, *S. fragilis* і *S. alba* відрізняються за вимогами до температури та місцями спонтанного виникнення; перший походить із Західної Азії та натуралізувався в Центральній і Північній Європі, а другий більш широко поширений у помірних регіонах і Середземноморському басейні.

Морфологія вказує, що *S. alba*, *S. fragilis*, *S. × rubens* та їх природні гібриди утворюють поліплоїдний комплекс близькоспоріднених верб. Цей комплекс включає в основному тетраплоїдні дводомні дерева, які є облігатними ауткроссерами. Як наслідок, природні популяції цих верб можуть бути представлені сумішшю високогетерозиготних генотипів, що мають спільний генофонд в результаті повторюваної гібридизації. Враховуючи систему розмноження видів верби, генетичні варіації в популяціях зазвичай такі ж високі, як і генетична диференціація між популяціями, тоді як потік генів між видами досить помірний. Природні насадження та невпорядковані популяції верб, що належать до цього комплексу, широко поширені по всій Європі, де межі ареалів часто перетинаються, а також можуть існувати змішані спільноти. Виходячи з морфології, обидва збалансовані *S. alba*–*S. fragilis* гібриди та інтрогресивні гібриди, що походять від повторного зворотного схрещування гібридів з

батьківськими типами, здається, домінують у цій галузі. Аналіз листя, бруньок і гілочок показав, що в природних популяціях присутні багато потенційних гібридів. Цей висновок узгоджується зі спостереженнями кількох ботаніків, що переважна більшість верб у *S. Alba – S. Fragilis* complex можуть бути гібридами або інтрогресантами. Однак через їх безперервну варіацію більшість фенотипових особливостей мають низьку діагностичну цінність для ідентифікації міжвидових гібридних конституцій, оцінки моделей інтрогресії та визначення структури генетичної варіації та спорідненості на рівні популяції. Нещодавні молекулярні дослідження, проведені в контрольованих схрещуваннях і польових клонах, суперечать традиційній гіпотезі щодо широкого поширення гібридів у *S. alba–S. Fragilis* комплекс. Зокрема, молекулярні маркери показали, що обидва види зберігають свої генофонди добре розділеними і що міжвидова гібридизація насправді не є домінуючим процесом. Отже, таксономічна класифікація чистих видів, а також ідентифікація гібридних особин залишається предметом дискусії [3].

Нові біотехнологічні розробки розширили діапазон аналізів поліморфізму ДНК рослин для характеристики та дослідження ресурсів зародкової плазми та генетичної спорідненості, а також для картування зв'язків, визначення генів та допоміжного розведення. Ці методи включають не лише маркери RFLP, але й молекулярні маркери на основі ПЛР. Останній тип маркерів пропонує майже необмежену кількість молекулярних ознак для розпізнавання відбитків пальців рослинних матеріалів без попереднього знання цільових послідовностей ДНК. Галузь дослідження верби, яка демонструє найбільший розвиток щодо використання технології молекулярних маркерів, це популяційна генетика, тоді як інформація про базову геноміку мізерна.

Маркери на основі ПЛР виявилися дуже корисними для розробки та інтеграції генетичних карт багатьох видів рослин. Зокрема, технологія AFLP (ампліфікований поліморфізм довжини фрагмента) була об'єднана з

перевагами повторів одиночної послідовності в єдиному аналізі, який дозволяє селективну ампліфікацію мікросателітних поліморфних локусів. Ключ до успіху полягає в їх мультилокусній природі, яка дозволяє перевіряти багато ознак хромосоми одночасно. Однак надзвичайна складність візуалізованих профілів смуг створює труднощі в ідентифікації маркерних алелів і, як наслідок, у виконанні генетичного аналізу. Крім того, у деяких поліплоїдних видів визначення закономірностей успадкування є проблематичним завданням через невизначеність конституції геному.

Тетраплоїдія *S. alba* та *S. fragilis* ($2n = 4x = 76$) робить генетичний аналіз нелегким. Нічого не відомо про геномну конституцію верби та про те, чи є види автополіплоїдними чи алополіплоїдними. Крім того, цитологічні спостереження за поведінкою тетраплоїдної верби при спаровуванні, щоб виявити двовалентне або багатовалентне утворення, є складними через високу кількість хромосом і малий розмір хромосом. Оскільки верби мають високе базове число хромосом ($x=19$), види з $2n=38$ можуть бути стародавніми поліплоїдними похідними, які поводяться як функціональні диплоїди. Практичний спосіб обробки даних молекулярних маркерів у поліплоїдах полягає в тому, щоб розглядати кожну смугу як маркерний алель окремого локусу даного генотипу та робити висновок про його алельну дозу шляхом вивчення співвідношення сегрегації серед потомства. Смуга, присутня в одній дозі (маркер одноразової дози) у тетраплоїдній рослині, наприклад, буде успадкована половиною гамет. Якщо таку рослину схрестити з рослиною, у якій відсутній цей маркер, очікуване співвідношення сегрегації в потомстві буде 1:1 (наявність *проти* відсутності). У той час як при самозапиленні або схрещуванні з рослиною, що має цей маркер, очікувалося, що потомство матиме співвідношення сегрегації 3:1 (наявність *проти* відсутності), незалежно від дисомної чи тетрасомної спадковості. Ситуація ускладнюється, коли потрібно розшифрувати коефіцієнт поділу двох SDM. Дві SDM можуть бути або зчепленими в одній хромосомі, або зчепленими в двох гомологічних хромосомах, або зовсім не

зчепленими. Як очікувані коефіцієнти сегрегації, так і рівняння зв'язку для маркеру одноразової дози, пов'язаних у зв'язуванні, еквівалентні таким для диплоїдів. Те ж саме стосується зв'язків фази відштовхування у видів з переважним спаровуванням, таких як алополіплоїди. Визначення очікуваних коефіцієнтів сегрегації є більш складним для автополіплоїдів і залежить від багатьох факторів, включаючи рівень плоїдності, поведінку спарювання хромосом і ступінь подвійної редукції [4].

Генетичний аналіз верби був обмежений не тільки через складність геному, але також через відсутність відповідних систем маркерів і потребу в експериментальних популяціях, які піддаються генетичному аналізу. Як наслідок, для тетраплоїдної верби не було визначено ані генетичних карт, ані моделей сегрегації чи оцінок рекомбінації. Молекулярні дослідження диплоїдних видів, що належать до *S. alba*–*S. fragilis* комплекс може надати цінні дані про генетичну структуру геному верби, і цілком імовірно, що частина інформації також буде застосовна до тетраплоїдної верби. Однак не можна припустити, що відстань на карті, розрахована для диплоїдної верби, буде однаковою в тетраплоїдному геномі, і може бути неможливо відобразити всі характеристики, які спостерігаються в тетраплоїдній вербі (зокрема, кількісні ознаки) у диплоїдному фоні. Розробка карти тетраплоїдного геному з використанням міжвидових *S. alba*–*S. fragilis* гібриди та реципрокні також були б дуже корисними для оцінки геномної спорідненості та розуміння потенціалу рекомбінації між двома видами [5].

1.2. Фітохімія

Повідомлялося про різні фітоскладові або вторинні метаболіти роду *Salix*, такі як флавоноїди, глікозиди (фенольні та нефенольні глікозиди), проціанідини, органічні кислоти та їх похідні, прості фенольні сполуки, стерини та терпени, лігнани, леткі речовини та жирні кислоти. *Листя*

салікса в основному містять флавоноїди, фенольні кислоти, їх похідні та фенольні глікозиди, тоді як кора стебла містить в основному проціанідини.

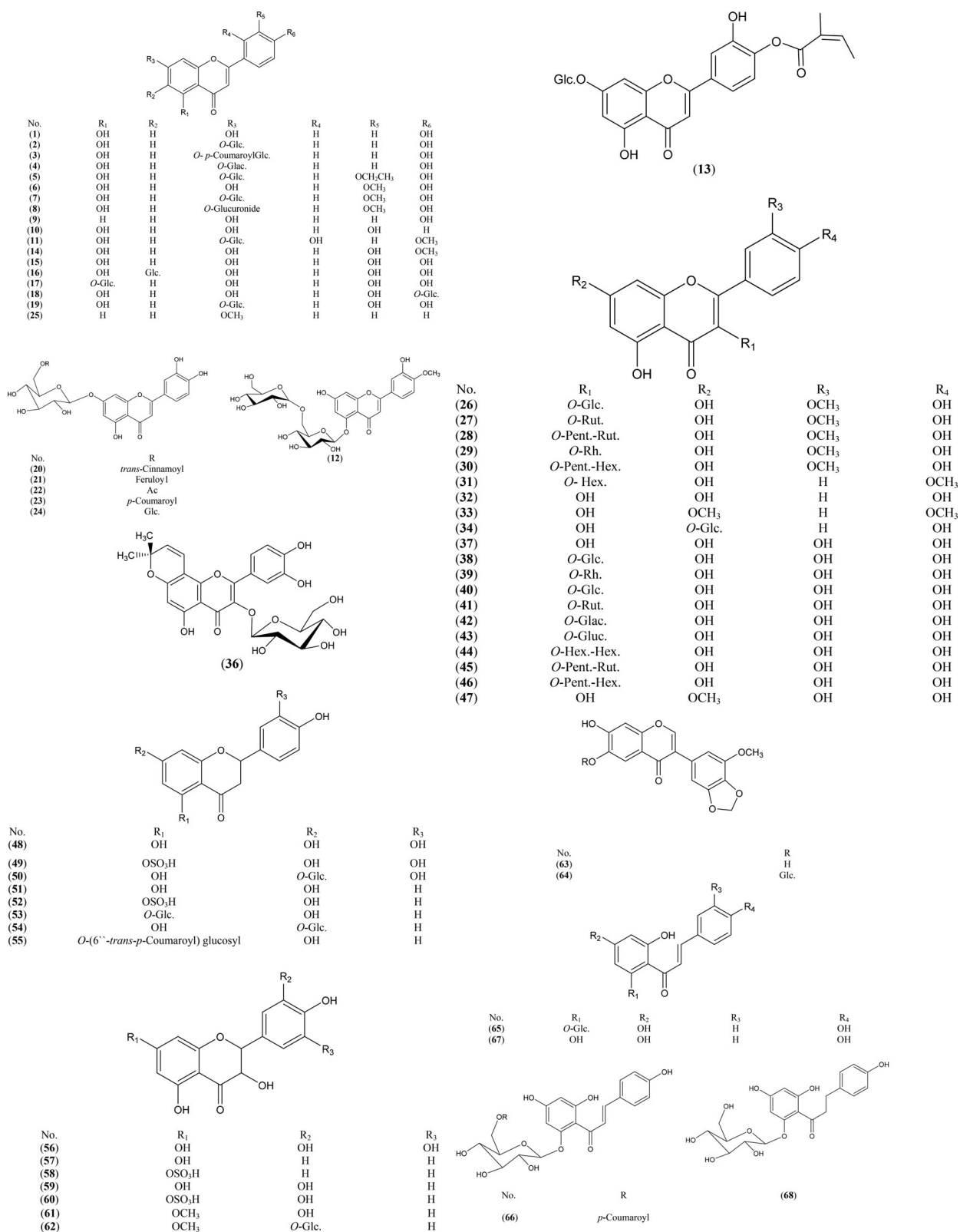
1.2.1. Флавоноїди

Salix містить широкий спектр флавоноїдів, які є відмінними для кожного виду, як флавони, флавоноли, флаванони, дигідрофлавоноли, ізофлавоноли, халкони, дигідрохалкони, флаван-3-оли та антоціани. Структури складових похідних флавоноїдів наведені на рисунку 1.1 [6, 7].

Найбільшу кількість різних класів флавоноїдів виявлено в листках і рідко в коренях. Флавони, такі як апігенін та його глікозиди (1, 2, 4, 5), є основними складовими *S. acutifolia* Willd. листя, *S. matsudana* Koidz. листя і *S. babylonica* L. листя та коріння. Тоді як хризоееріол (6), його 7-*O*-D-глюкозид 7) і 7-*O*-глюкуронід 8) є основними складовими *S. babylonica* L., *S. matsudana* Koidz. листя і *S. subserrata* Willd. листя відповідно. Сполуки (12, 14) були виявлені в листках *S. denticulate*. *S. gilgiana* Seemen. листя характеризуються накопиченням ацильованих глюкозидів лютеоліну (19–23). Сполуки (25, 35) є хімічними маркерами для *S. matsudana* Koidz. листя. Встановлено, що кемпферол 32) і його 7,4'-диметил похідне 33) є найбільш помітними компонентами *S. bordensis* Turcz. . Крім того, кемпферол-7-*O*-глюкозид 34) є основною сполукою в листі та коренях *S. babylonica* L.

Ангелоксифлавонол 13) та ізофлавоноли (63, 64) є хімічними маркерами для *S. cheilophila* CK Schneid. гілочки. Молоде стебло *S. integra* × *S. suchowensis* характеризувалося накопиченням сульфатованих флаванонів і дигідрофлавонолу як сполук (49, 52, 58, 60). Сполука 11) була виявлена в надземних частинах *S. denticulate* Andersson.

Найбільше халконів, катехінів, проціанідинів і антоціанів виявлено в корі верб . Кора *S. daphnoides* Vill. , *S. elbursensis* Boiss. , *S. acutifolia* Willd. і *S. rubra* Huds. характеризувались накопиченням халконів (65–67) [8].

Рисунок 1.1. Структури зареєстрованих флавоноїдів з роду *Salix*

1.2.2. Фенольні глікозиди

Глікозиди є основними вторинними метаболітами рослин таро. Фенольні глікозиди складають 30% від сухої ваги рослин. Вони поділяються на глікозиди, похідні саліцину (саліциноїди) та інші фенольні глікозиди, такі як глікозильовані фенілпропаноїди, фенілетаноїди, бензоноїди та глікозильовані похідні саліцилової кислоти. Саліциноїди вважаються таксономічними маркерами роду *Salix* і складаються з однієї або декількох гідроксильних груп спиртового або глюкозного фрагмента саліцилової кислоти (переважно 2' та/або 6' глюкози) та оцтової, бензойної, 1-гідрокси-6-оксоциклогекс-2-ен-1-карбонової кислот. Це похідні саліцину, утворені шляхом етерифікації органічними кислотами, такими як. Фенольні глікозиди, виділені та ідентифіковані з *Salix* spp. показані на рисунку 1.2. [9].

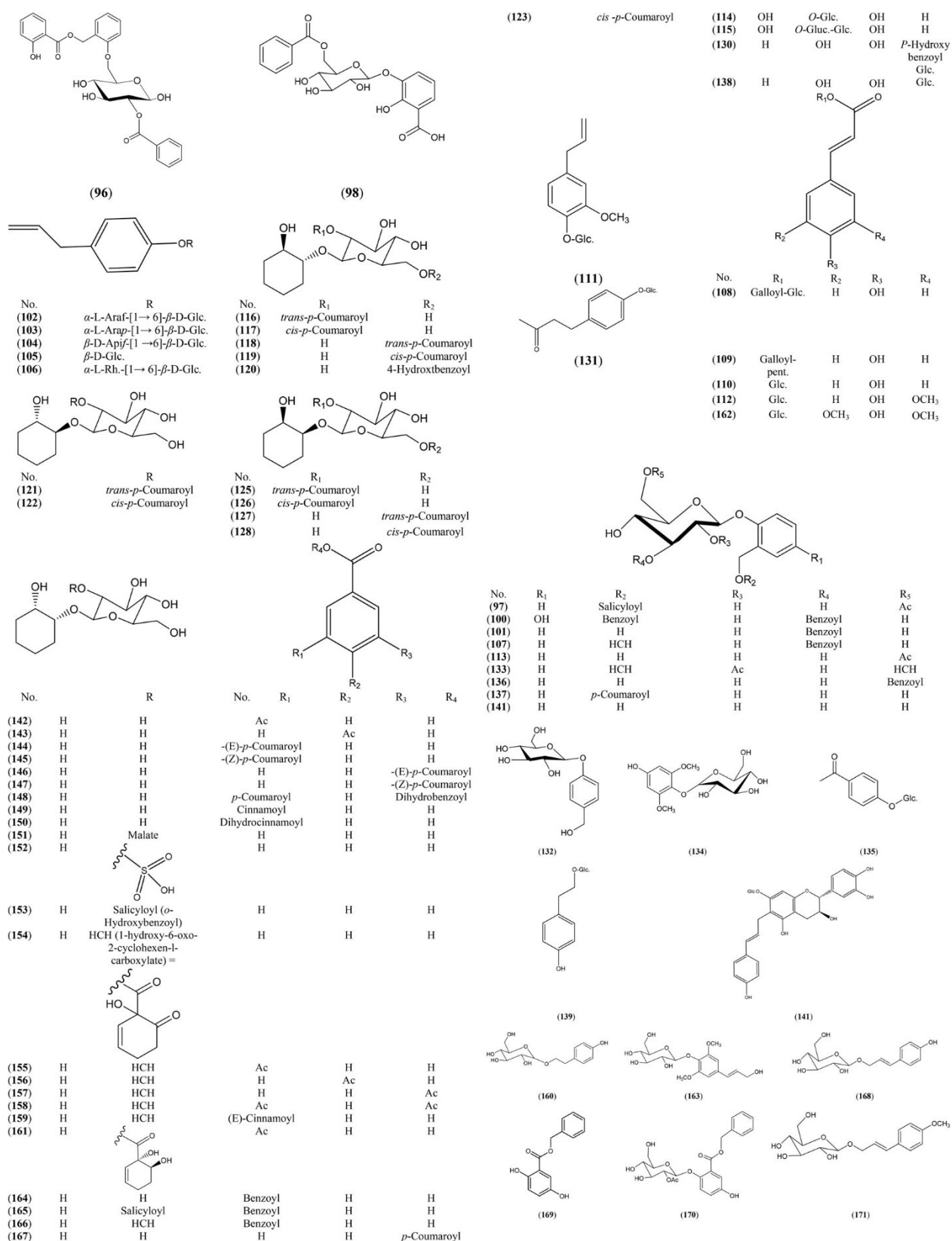


Рисунок 1.2. Структури ідентифікованих фенольних глікозидів в рослинах роду *Salix*

Найбільшу кількість фенольних глікозидів було виявлено в листі *Salix*, потім у гілках, стеблах і корі. Встановлено, що саліцин (141), тремулоїдин (164), тремулацин (166) є основними компонентами *S. Acutifolia* Willd. ювенільного стебла та кори, листя *S. chaenomeloides* Kimura, *S. glandulosa* Seemen. гілочки та *S. tetrasperma* Roxb. листя.

Деякі фенольні глікозиди були ідентифіковані як таксономічні маркери для різних видів *Salix*. Акмофілін А (96) і акмофілін В (97), визначені як таксономічний маркер для *S. astophylla* Boiss. листя. Хеномелоїдин (101), кохінхізид А (107), лазіандрін (133), леонурізид А (134), саліцин-7-сульфат (152) визначені як таксономічні маркери для листя *S. chaenomeloides* Kimura, *S. glandulosa* Seemen. гілочки, листя та гілки *S. lasiandra*, *S. matsudana* Koidz. листя і *S. koriyanagi* Kimura. Стебла відповідно. Сахалізид 1 (139) і сахалізид 2 (140) були ідентифіковані як таксономічні маркери для *S. sachalinensis* F. Schmidt [10].

Деякі види *Salix* характеризуються накопиченням 1,2-циклогександіол глікозидів. Сполуки (116–128) були виявлені в *S. glandulosa* Seemen. гілочки. Крім того, акутіфолізид, похідна бензойної кислоти (98), був хімічним маркером для *S. acutifolia* Willd. ювенільного стебла [11].

1.2.3. Нефенольні глікозиди

Результати показали, що основними компонентами *S. triandra* L. х *dasyclados* Wimmer Wood є нефенольні глікозиди (172, 173, 174, 175, 176, 182-188). Крім того, сполуки (170, 171) є основними компонентами гілочок *S. arbusculoides* Andersson. Кілька видів *Salix* характеризуються накопиченням 1,2-циклогександіолових глікозидів: сполуки (177, 180) виявлено у гілках *S. glandulosa* Seemen. та грандидензин (181) у корі *S. purpurea* L. (рис. 1.3) [12].

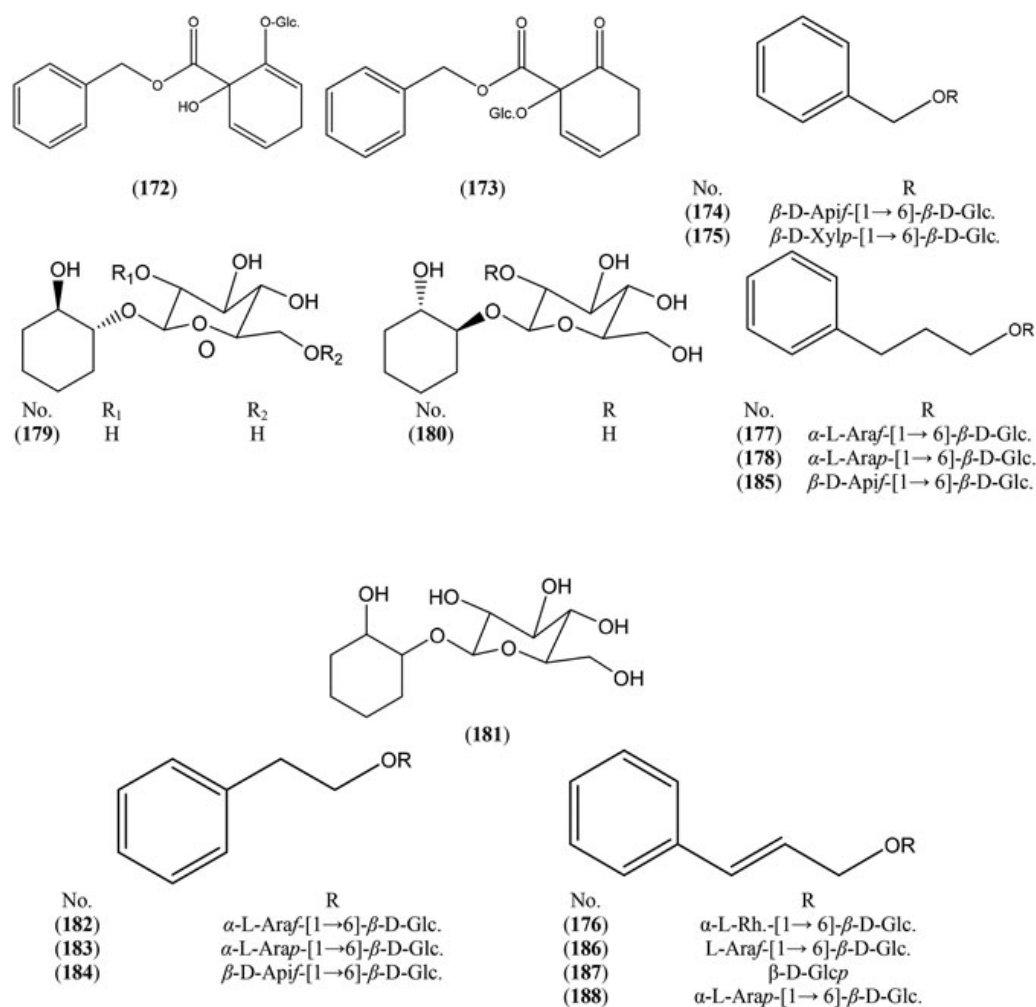


Рисунок 1.3. Структури зареєстрованих нефенольних глікозидів з роду *Salix*.

1.2.4. Органічні кислоти

Рослини верби багаті на фенольні кислоти у вільній або естерифікованій формі у вигляді бензилових, коричних кислот та фенілетилових ефірів. п-гідроксибензойна кислота, п-анісова кислота, галова кислота, саліцилова кислота, гентизинова кислота, ванільна кислота, 2-аміно-3-метоксибензойна кислота, похідні бензойної кислоти, такі як протокатехова кислота, та похідні гідроксикоричної кислоти, такі як п-кумарова кислота, кавова кислота, ізoferринова кислота та ферулова кислота (Рис. 1.4).

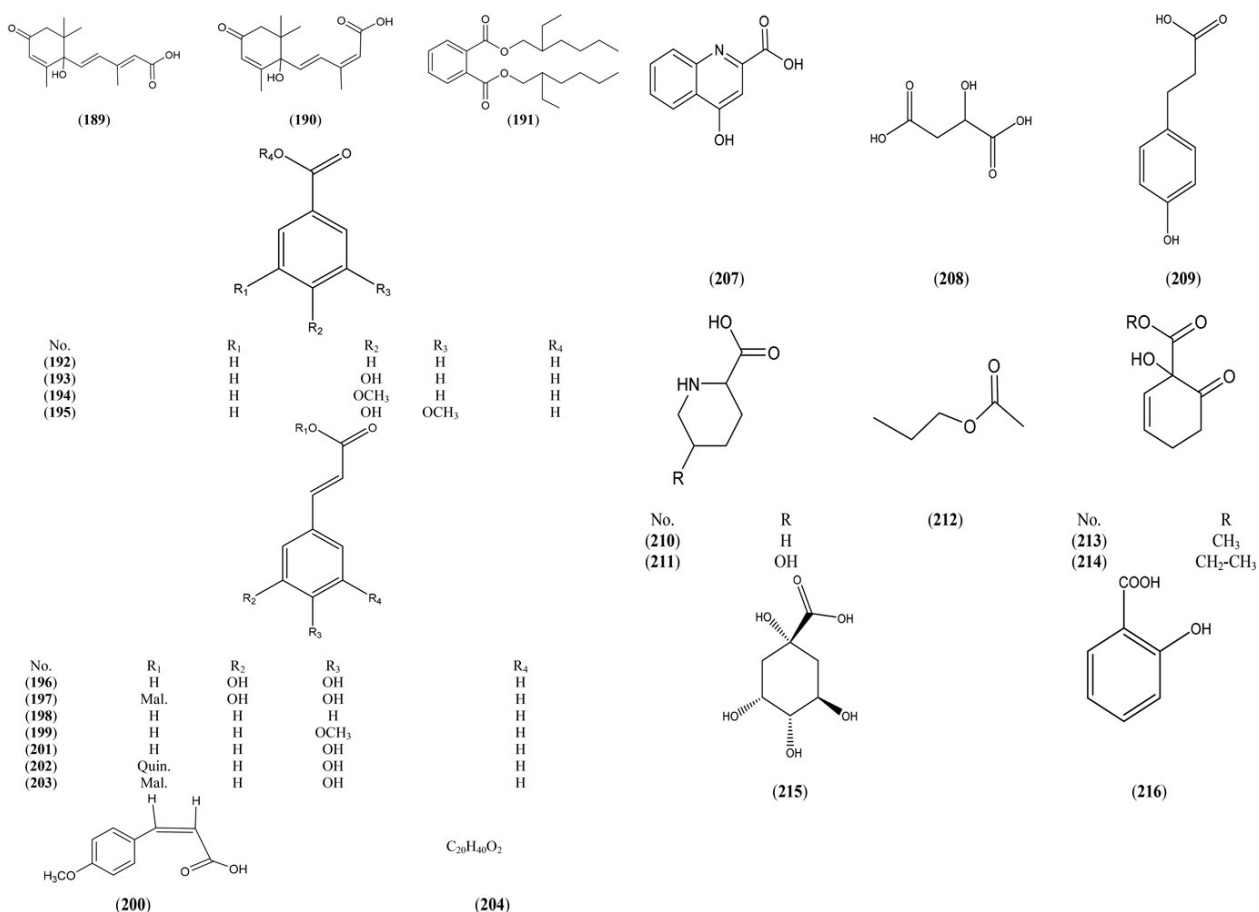


Рисунок 1.4 . Структури зареєстрованих органічних кислот з роду *Salix*.

Найбільшу кількість органічних кислот виявлено в корі *S. purpurea* L., *S. alba* L., які містять сполуки (192–194, 198–200, 214), *S. tetrasperma* Roxb. квіти та кора, які містять сполуки (197, 202, 203, 204, 205–206, 208, 209, 215) [13].

1.2.5. Прості фенольні сполуки

Рід *Salix* містить широкий спектр простих фенольних сполук (фенольні кислоти та їх похідні): кора *S. capensis* Thunb. bark, *S. acutifolia* Willd. bark, *S. subserrata* Willd. bark та суцвіття *S. caprea* L. є основними компонентами саліциноїдів *S. caprea* L. характеризується накопиченням саліцилатних спиртів [228], які є основним компонентом саліциноїдів. Деревина *S. caprea* L. також містить аукупарин (218), метоксинаукупарин (219), хвойний спирт

(221), п-кумариновий спирт (222), 4,2'-дигідрокси-3,5-диметоксибіфеніл 223), як показано на рисунку 1.5, а також синапіральдегід 229), що характеризується накопиченням різноманітних простих фенольних сполук. [14].

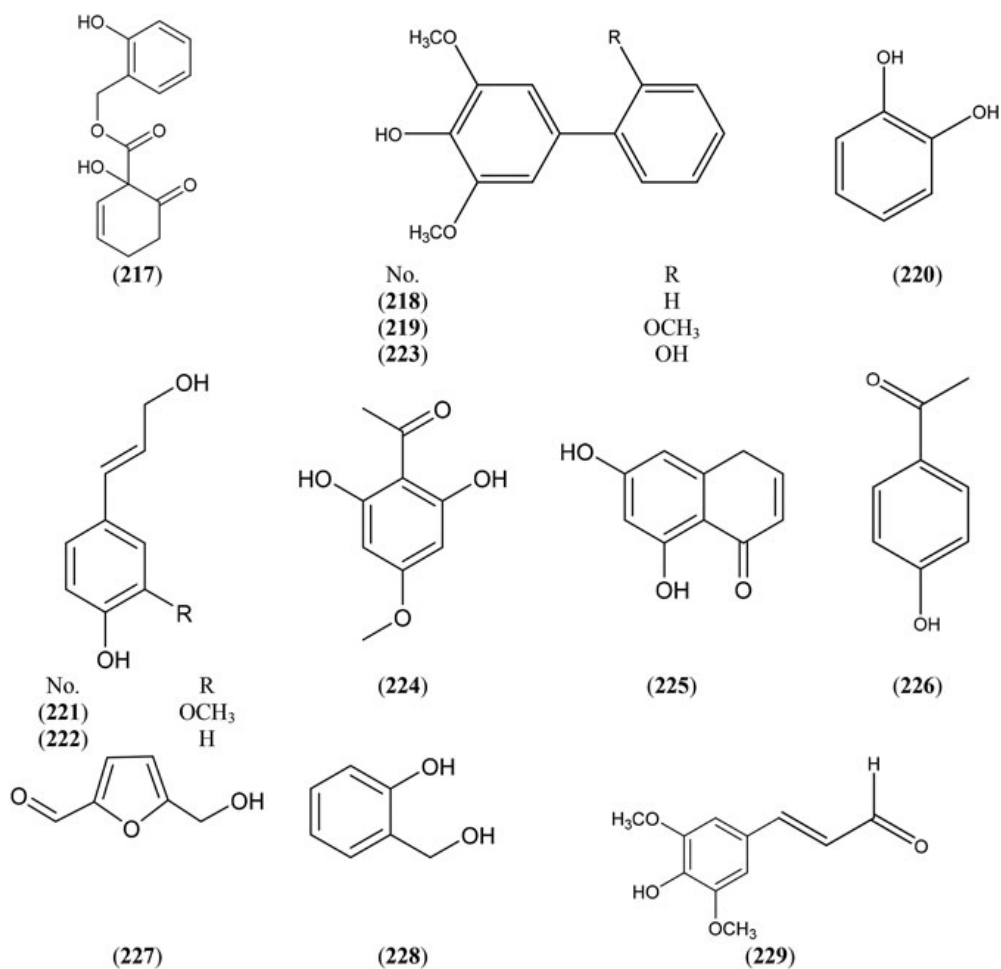


Рисунок 1.5 . Структури зареєстрованих простих фенольних сполук з роду *Salix*.

1.2.6. Стерини і терпени

Гілочки *S. cheilophila* CK Schneid., кора, листя і квітки *S. tetrasperma* Roxb., листя *S. subserrata* Willd., пилчасті надземні частини, корені *S. babylonica* L., *S. subserrata* Кора та листя Willd. містили найвищий вміст стеринів та тритерпенів. Як показано на рисунку 1.6, основними

компонентами гілочок *S. cheilophila* CK Schneid були фітани та пімаранові дитерпени. [15].

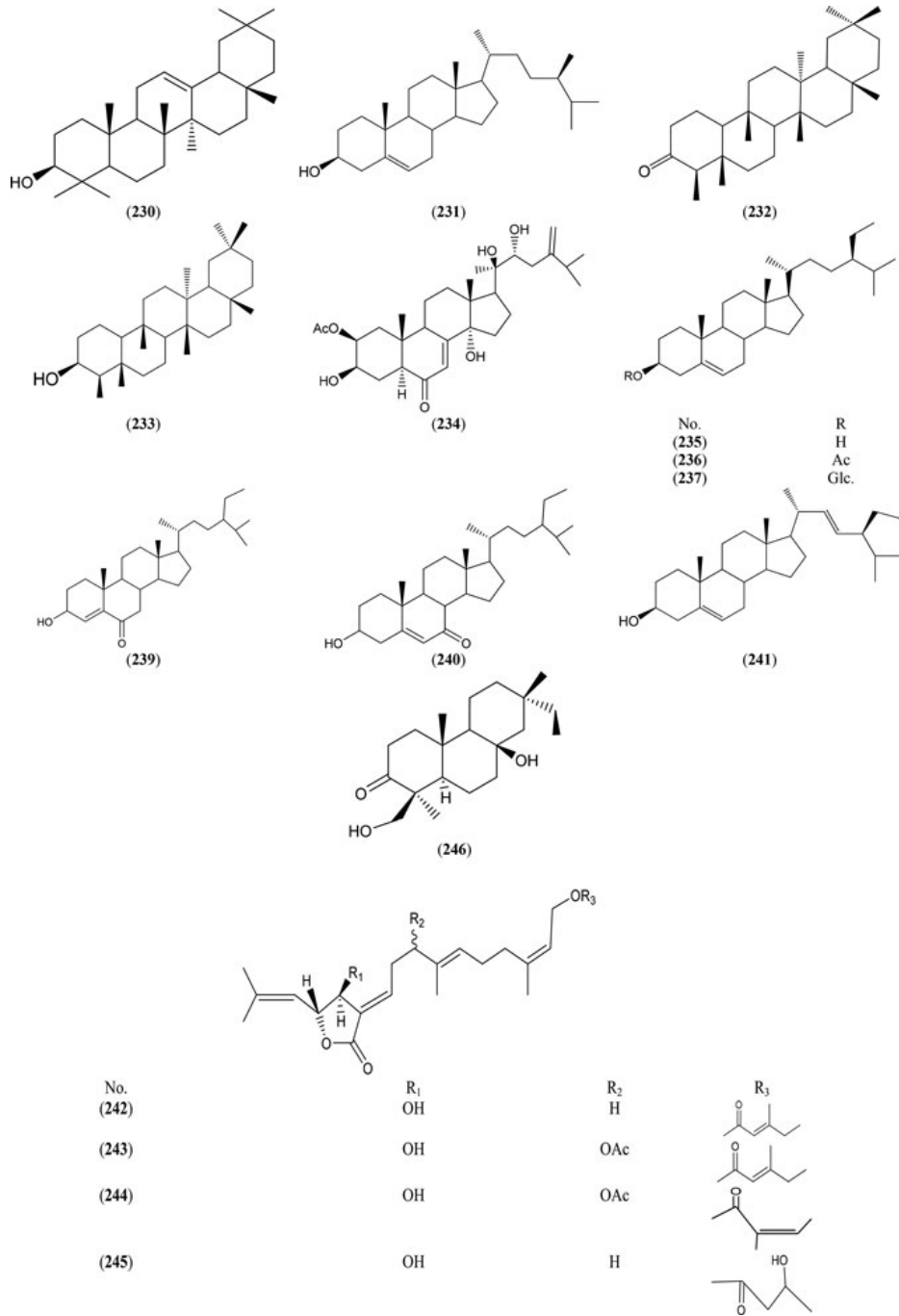


Рисунок 1.6. Структури ідентифікованих стеролів і терпенів з роду *Salix*.

1.2.7. Лігнани

З кори *S. alba* L. виділено сизимбрифолін (похідне лігнану 247). Нещодавно виявлено пінорезинол (248), ларісірезинол (249), секоізоларісірезинол (250), 7-гідроксималезинол (251), медірезинол (252), ларісірезинол -сесквілігнани (253) та ларизиресиномол - сесквілігнани [16].

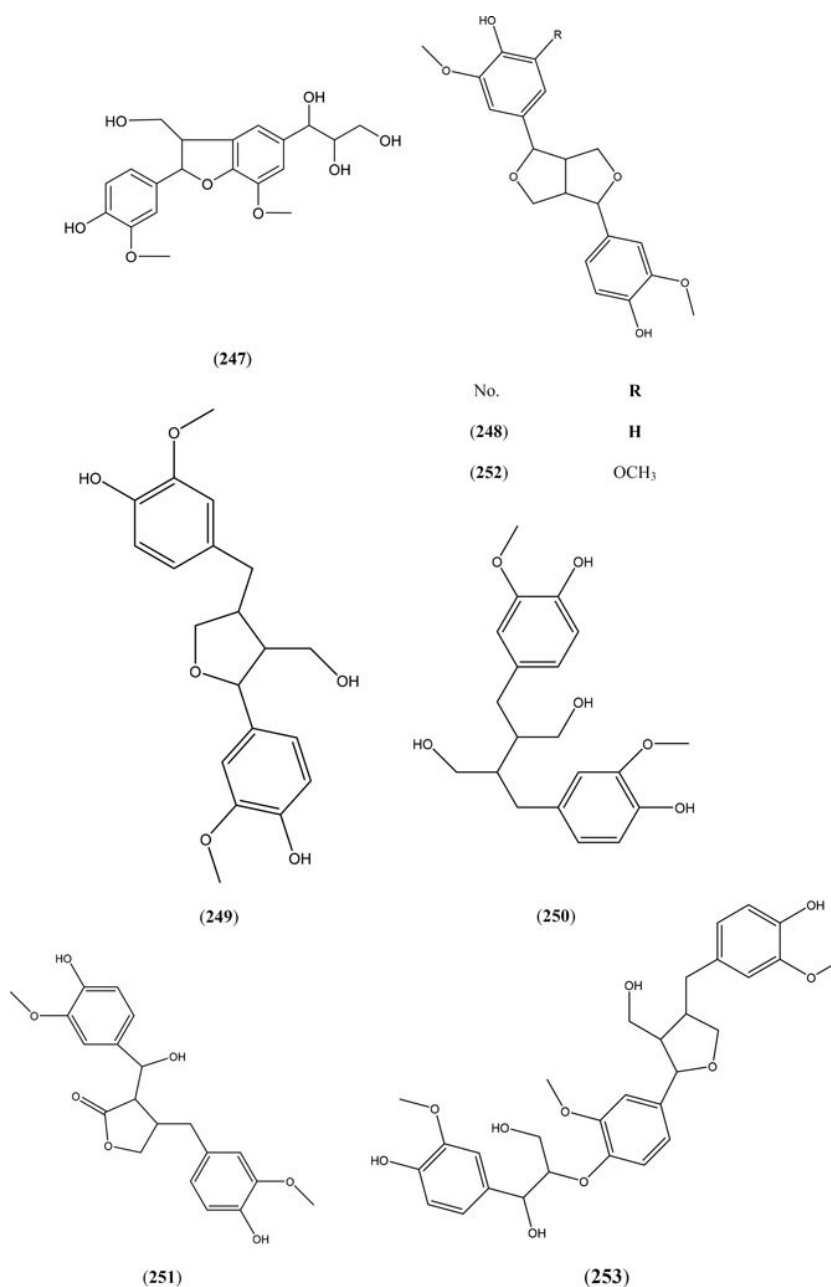


Рисунок 1.7. Структури лігнанів рослин роду *Salix*.

1.2.8. Леткі речовини

Терпени (напів-, моно- та сескві-терпени) та нетерпени (аліфатичні, ароматичні кислоти, їхні ефіри, карбонільні сполуки та вуглеводні) летючі речовини були ідентифіковані в роду *Salix*. Найвищий відсоток летких речовин і жирних кислот спостерігався в суцвіттях *S. caprea* L., а також у листках *S. egyptiaca* L., *S. babylonica* L. і *S. alba* L. (рисунок 1.8) [17].

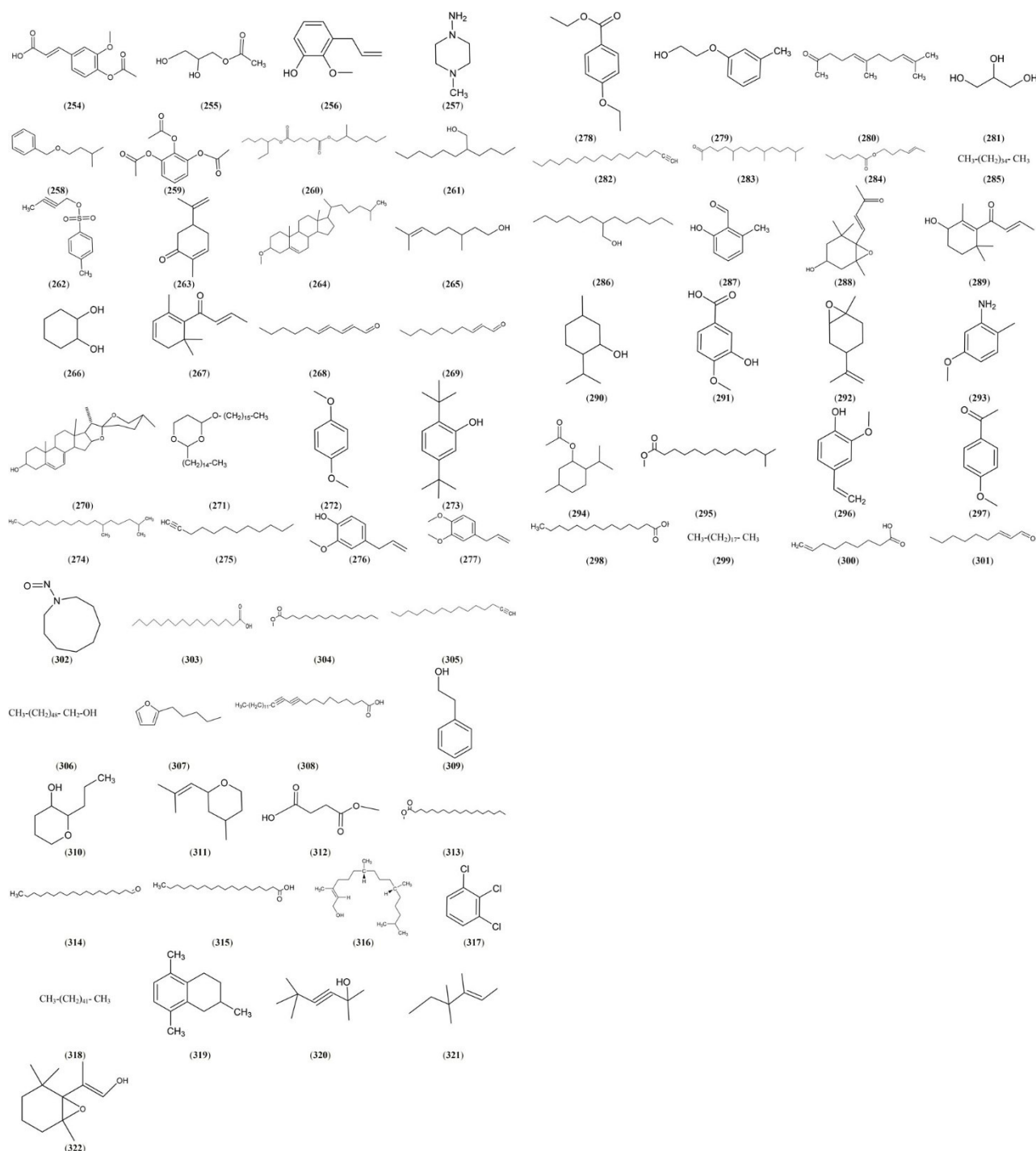


Рисунок 1.8. Структури ідентифікованих летких речовин і жирних кислот рослин роду *Salix*

Висновки до розділу 1

1. Дані літератури показали широке поширення рослин роду *Salix*.
2. Дані фітохімічних досліджень показали про вміст більше 250 біологічно активних сполук в рослинах роду *Salix*, що підтверджують широке застосування та перспективи створення лікарських засобів на основі рослин роду *Salix*.

РОЗДІЛ 2

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ РОДУ *SALIX*

2.1. Історія використання кори верби

Кора верби, також відома як *Salix*, історично використовувалася в медичних цілях понад 3500 років [18]. У стародавньому світі жителі Єгипту, Південної Америки, класичної Греції та Китаю використовували кору верби як лікарський засіб. Шумери та стародавні єгиптяни використовували її як болезаспокійливий та жарознижувальний засіб. Давньоримські та грецькі лікарі, в тому числі Гіппократ, визнавали лікувальні властивості вербової кори. У 4 столітті до нашої ери Гіппократ використовував кору верби для лікування запальних болів. З часом застосування вербової кори набуло широкого поширення: у 1763 році преподобний Едвард Стоун провів перше клінічне дослідження вербової кори і підтвердив її жарознижувальну дію; у 1827 році Йоганн Андреас Бюхнер виділив саліцилову кислоту, активний інгредієнт вербової кори; у 1853 році Чарльз Герхард виділив ацетилсаліцилову кислоту, активний інгредієнт вербової кори; у 1853 році Герхард отримав ацетилсаліцилову кислоту; у 1869 році було повідомлено про точну структуру ацетилсаліцилової кислоти; у 1897 році саліцин був успішно перероблений в аспірин; у 1987 році компанія Bayer Pharmaceuticals синтезувала стабільну ацетильовану саліцилову кислоту з саліцилової кислоти. Саліцилова кислота була названа аспірином шляхом поєднання двох слів "ацетил" і "спілсол" [19].

Різні види *Salix* і виділені сполуки, такі як саліцилова кислота та саліцин, використовувалися в народній медицині для лікування ревматичних захворювань, болю в спині, зубного болю, головного болю та менструальних спазмів. Вони виявляють болезаспокійливу, протизапальну, антиоксидантну, протипухлинну, цитотоксичну, протидіабетичну, антимікробну, проти

ожиріння, нейропротекторну та гепатопротекторну дії. Основними мішенями саліцилової кислоти є циклооксигенази (ЦОГ I, II), які є ключовими ферментами шляху до простагландинів, які контролюють запалення та біль [20].

2.2. Протизапальні властивості *Salix alba*

В останні десятиліття низка досліджень *in vivo* та *in vitro* оцінили протизапальну ефективність кори верби, а дослідницька група Bonaterra порівняла ліпополісахаридстимулюючу активність людських моноцитів і макрофагів у присутності аспірину, диклофенаку та екстракту кори верби. Вони дійшли висновку, що екстракт кори чинить свою дію шляхом пригнічення запальних цитокінів, TNF- α , ЦОГ-2 та NF- κ B шляхів. Цей результат був підтверджений іншими дослідженнями; команда Фрайшмітта зазначила, що спостережувані результати були обумовлені не тільки наявністю саліцину і похідних саліцилової кислоти, але також катехінів та інших флавоноїдів. Дослідження екстракту, що не містить саліцину, але містить інші саліцилати, показало активацію редокс-чутливого ядерного еритроцитарного фактора-2. Екстракти показали сильну антиоксидантну активність. Це підтверджує важливість інших сполук, присутніх у корі верби. Дослідницька група Shakibai провела дослідження, що характеризує протизапальні властивості декількох рослинних екстрактів. У випадку з корою верби, екстракт інгібував активацію NF- κ B інтерлейкіном-1 β , протидіючи деградації комплексу NF- κ B-I κ B та фосфорилуванню субодиниці p65. По-друге, експресія ЦОГ-2 та металопротеїназ (MMP-9 та MMP-13) була значно знижена [21].

2.3. Застосування кори верби білої: асортимент засобів та показання до застосування

У народній медицині використовують відвари, відвари і порошки з кори верби білої.

Salix alba найчастіше використовують як протизапальний і кровоспинний засіб при кровотечах у шлунку, кишечнику, легенях і матці, як болезаспокійливий засіб при підвищеній збудливості, невралгії, мігрені та безсонні, як в'язучий засіб при ревматизмі та пролежнях.

Ванни з відвару кори рекомендуються при варикозному розширенні вен.

Відваром кори верби і лопуха в рівних кількостях миють голову при лупі, шкірному свербінні, випаданні волосся, а також для промивання ран і виразок при підвищеній пітливості ніг.

Відвар кори часто використовують для полоскання при стоматиті, гінгівіті, пародонтозі, ангіні, запальних процесах порожнини рота і горла.

Застосовують дрібноподрібнену сировину у вигляді присипок для зупинки кровотечі.

При запальних процесах шкіри, виразках і нарівах застосовують мазі з порошку кори верби і вершкового масла.

Препарати верби є найбільш ефективними для зменшення болю в суглобах і запалення, пов'язаного з подагрою, поліартритом і ревматизмом.

Відвар кори має седативні властивості і успішно використовується для зняття головного болю, викликаного нервовим напруженням.

На фармацевтичному ринку в даний час використовуються такі засоби на основі кори верби білої.

«АССАЛІКС» (виробник - Bionorica, Німеччина): в 1 табл. містить не менше 60,0 мг саліцину.

Призначена для лікування пацієнтів з хронічним болем у спині / попереку та артралгією.

Дієтична добавка Гербасприн (виробник - Вітамер). Ця добавка містить в основі екстракти кори верби білої, кореневища родіоли рожевої, андрографісу, і плодів шипшини.

Рекомендовано пацієнтам із захворюваннями бронхолегеневого апарату. Значно підвищує ефективність медикаментозної терапії. Цей засіб добре переноситься пацієнтами і не має побічних ефектів.

"ALLEVIATE" (виробник - Neways, США). Лосьйон, що містить екстракт кори верби, ментол, цетиловий спирт, метилсульфанілметан, екстракт арніки, олію м'яти, гліцерин.

Застосовується при розтягненнях, болях у м'язах, хребті та суглобах, невритах, невралгіях.

МЕГАПРІН (виробник - Neways, США). Таблетки, основними речовинами яких є кора верби, індійський салат, індійський кардамон, кмін, мінерали, кальцій.

Застосовується при остеоартрозі, різних захворюваннях хребта, подагрі, мігрені, ішемічній хворобі серця, варикозному розширенні вен, профілактиці тромбоутворення.

"ІНСТІ" (виробник - Herbal Healthcare Private Limited, Пакистан). Трав'яні гранули, в формі саше. До складу входить кора верби білої, трава фіалки, кореневище солодки та корінь валеріани.

Застосовується при кашлі, грипі, застуді та головному болю.

"UROFLUX" (виробник - Rhone-Poulenc Rorer, Німеччина). Розчинний чай. Містить кору верби білої, листя берези, листя ведмежої трави, траву хвоща польового, хвощ польовий, корінь стальника і лікорол.

Рекомендується як засіб для лікування захворювань сечовидільної системи.

Дієтична добавка "Вітахелп" (виробник – Вітолайн, США). Продукт, що містить порошок кори верби.

Є допоміжним засобом при лікуванні пацієнтів із захворюваннями легенів та бронхів.

У народній медицині кору верби використовують при ревматизмі, артритих та гарячкових станах. Кора верби білої має в'яжучі, сечогінні, жовчогінні та протизапальні властивості [22].

Відповідно до Європейської та Фармакопеї США - - кора білої верби є офіційно визнаною сировиною. Проте в Державній Фармакопеї України не описані методи стандартизації кори, а також відсутній підхід до вивчення листків верби, незважаючи на достатні запаси сировини [23].

Висновки до розділу 2

1. Розглянуто історію використання кори верби білої в фармацевтичній та медичній галузі, що сягає більше 3 тис років.
2. Вивчено основні механізми дії лікарської рослинної сировини верби білої, що засновано на багатому вмісті біологічно активних речовин.
3. Проведено аналіз ринку лікарських засобів та дієтичних добавок, до складу яких входить кора верби білої та показання до їх застосування.

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ВЕРБИ БІЛОЇ КОРИ ЕКСТРАКТУ СУХОГО

На кафедрі аптечної технології ліків під керівництвом професора Л.І. Вишневської розроблено м'яку лікарську форму у вигляді гелю для лікування запальних захворювань суглобів, однією зі складових якого є рослинний компонент, а саме сухий екстракт кори верби білої.

Стандартизацію верби білої кори екстракту сухого проводили згідно загальної статті «Екстракти» Державної Фармакопеї України за такими показниками, як опис, ідентифікація, випробування на чистоту (за параметрами визначення важких металів та води) і кількісне визначення [24].

3.1 Ідентифікація біологічно активних сполук сухого екстракту кори верби білої

За зовнішнім виглядом досліджуваний екстракт – порошок жовтувато-коричневого кольору.

Для ідентифікації сухого екстракту верби кори використовували вимоги монографії ДФУ «Верби кора» [25] і хімічну реакцію, що підтверджує наявність речовин поліфенольної будови у досліджуваному екстракті.

Методика проведення реакції. 0,15 г сухого екстракту верби кори розчиняють у 10 мл води і додають 0,5 мл 3 % розчину заліза (III) хлориду; утворюється зелене забарвлення.

Для ідентифікації саліцину в екстракті використовували метод тонкошарової хроматографії у порівнянні зі СЗ саліцину. Випробування проводили на тонкошарових пластинках із шаром силікагелю GF₂₅₄ фірми «Merk». Попередньо проводили лужний гідроліз метанольного розчину сухого екстракту. Як рухому фазу використовували суміш розчинників вода

– метанол – етилацетат (8 : 15 : 77). Після висушування пластинки обробляли сумішшю сірчана кислота – метанол (5 : 95) і після нагрівання переглядали при денному світлі.

Випробовуваний розчин. 0,015 г сухого екстракту кори *Salix alba* L. розчиняють у 5,0 мл води, додають 5,0 мл метанолу і перемішують. До 5,0 мл отриманого розчину додають 1,0 мл розчину 50 г / л натрію карбонату безводного, нагрівають на водяній бані при температурі близько 60 °С протягом 10 хв і охолоджують.

Розчин порівняння: 2 мг саліцину і 2 мг хлорогенової кислоти розчиняють в 1,0 мл метанолу.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю F₂₅₄ (25 мкм).

Рухома фаза: вода R – метанол R – етилацетат R (8 : 15 : 77).

Об'єм проби, що наноситься – 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза – 15 см від лінії старту.

Висушування: у потоці теплого повітря.

Виявлення: обробляють сумішшю сірчана кислота – метанол (5 : 95), нагрівають при температурі 100-105 °С протягом 5 хв і переглядають при денному світлі.

На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися основна пляма на рівні плями на хроматограмі розчину порівняння, що відповідають одна одній за кольором (рис. 3.1).

На хроматограмі розчину порівняння виявляються зони (у порядку зростання R_f) хлорогенової кислоти і саліцину. На хроматограмі досліджуваного розчину екстракту *Salix alba* L. (випробовуваний розчин) наявна зона червонувато-фіолетового кольору, яка за величиною утримання (R_f близько 0,29) та кольором співпадає із зоною саліцину на хроматограмі розчину порівняння (рис. 3.1), що може свідчити про специфічність методики.

Верхня частина пластинки	
<i>саліцин:</i> червонувато-фіолетова	червонувато-фіолетова зона (саліцин) <i>хлорогенова кислота:</i>коричнювата
<i>Випробовуваний розчин</i>	<i>Розчин порівняння</i>



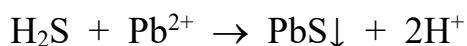
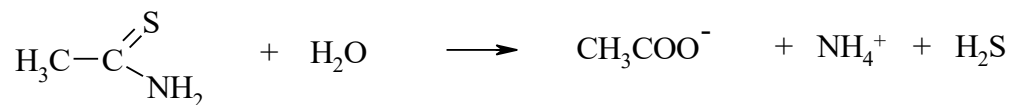
Рисунок 3.1. Тонкошарова хроматограма сухого екстракту кори верби

3.2 Випробування на чистоту сухого екстракту кори верби білої

При випробуванні на чистоту визначали вміст важких металів і залишкову кількість вологи.

Встановили, що вміст важких металів у випробовуваному розчині, отриманому з екстракту, не більше 0,001 % (коричнєве забарвлення

випробовуваного розчину не таке інтенсивне, як у розчині порівняння (еталону):



Випробування проводили як з реактивом тіоацетаміду, так і з розчином натрію сульфідіду.

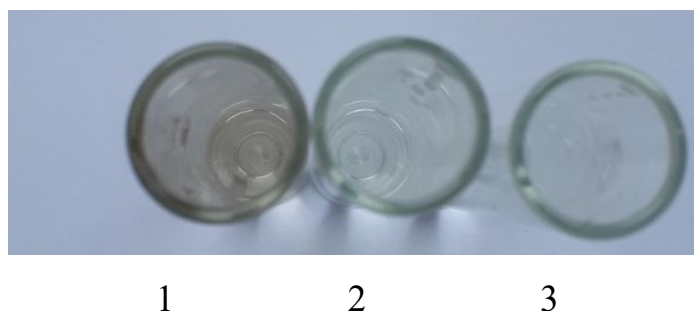
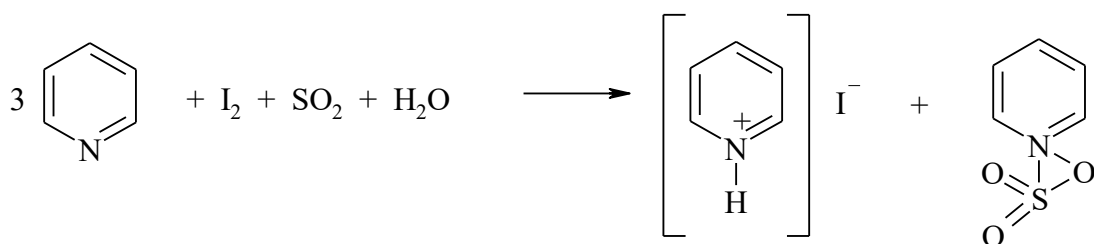
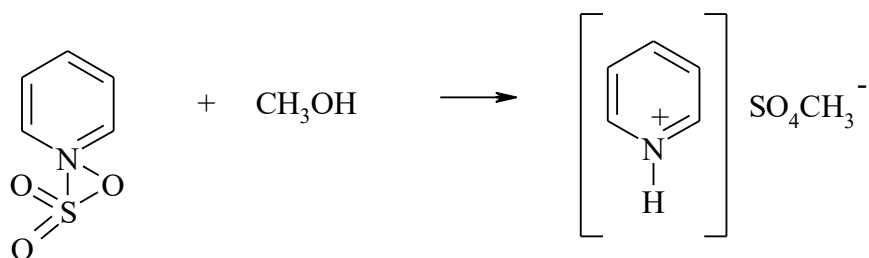


Рисунок 3.2. Спостереження при проведенні визначення важких металів: 1- еталонний зразок, 2- досліджуваний зразок, 3- контрольний дослід.

Згідно вимог загальної статті «Екстракти» Державної Фармакопеї України (ДФУ) [24] у сухих екстрактах вміст остаточної кількості води має бути на більше 5%.

Сумарний вміст води встановлювали напівмікрометодом (метод К. Фішера) – метод кількісного титриметричного визначення води. Реактив К. Фішера представляє собою розчин сульфору діоксиду, йоду та піридину в метиловому спирті. Взаємодія реактиву з водою проходить у два етапи:





Результати визначення остаточної кількості води в досліджуваному сухому екстракті верби білої наведені в таблицях 3.1 -3.3.

Таблиця 3.1

Стандартизація реактиву К. Фішера

№	m води, г	V реактиву, мл	Титр
1	0,02501	5,427	4,6084
2	0,02501	5,426	4,6093
3	0,02501	5,427	4,6084
Середнє значення			4,6087

Таблиця 3.2

Розрахунок невизначеності кількісного визначення вмісту води

Установка титру				
V/m	Середнє	RSD	t(95%, ν)	Δ Titr, %
216,9932	216,9799	0,0106	2,92	0,02
216,9532				
216,9932				
Титрування				
V/m	Середнє	RSD	t(95%, ν)	Δ Assay, %
12,9465	13,1518	1,455	2,92	2,45
13,3253				
13,1835				
Розрахунок невизначеності				
	Δ	Δ^2	Δ RS, %	
Установка титру	0,02	0,000	0,149	
Титрування	2,45	6,019		
Вимоги	Δ RS не более 0,5 %			виконуються

Таблиця 3.3

Результати визначення води в сухому екстракті

№ серії	Маса наважки досліджуваного сухого екстракту, г	Об'єм реактиву, мл	Вміст води, %
1	0,4648	5,2500	4,57
2	0,5532	6,4180	4,56
3	0,5225	5,9720	4,53
Середнє значення			4,55

При визначенні води встановили, що вміст води в сухому екстракті становить 4,55%.

3.3 Кількісне визначення суми саліцилових похідних у сухому екстракті кори верби білої

Для кількісного визначення суми саліцилових похідних, у перерахунку на саліцин, використовували методику монографії ДФУ «Вербна кора» [25]. Випробування проводили методом рідинної хроматографії на хроматографі Shimadzu Nexera X2 обладнаного: LC-30 AD BEX насосами з он-лайн дегазатором (Shimadzu, Japan); SIL-30AC автосамплером (Shimadzu, Japan); the CTO-20AC термостат (Shimadzu, Japan); the SPD-M20A diode array detector (DAD).

Випробування проводили у градієнтному режимі, використовуючи 0.1 % водний розчин концентрованої фосфорної кислоти (рухома фаза А) та ацетонітрил (рухома фаза Б) (Sigma-Aldrich GmbH, Switzerland). У якості нерухомої фази – колонка розміром 150×4,6 мм, заповнена силікагелем октадецилсилільним для хроматографії, з розміром часток 5 мкм, з передколону. Детектування проводили за допомогою УФ-детектора за довжини хвилі 270 нм [26, 27].

Воду для хроматографії отримували з системи очистки води Millipore (Bedford, MA, USA).

Методика проведення кількісного визначення суми саліцилових похідних. Рідинна хроматографія (2.2.29).

Випробовуваний розчин. До 0.300 г випробовуваного екстракту додають 40 мл метанолу *P* і 40.0 мл 0.1 *M* розчину натрію гідроксиду. Нагрівають у водяній бані за температури близько 60 °C зі зворотним холодильником, постійно струшуючи, протягом 1 год. Після охолодження додають 4.0 мл 1 *M* розчину хлористоводневої кислоти. Суспензію фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл, потім промивають і доводять об'єм розчину сумішшю рівних об'ємів метанолу *P* і води *P* до 100.0 мл. Фільтрують крізь мембранний фільтр (номінальний розмір пор —0.45 мкм).

Розчин порівняння. 5.0 мг піцеїну *P* розчиняють у 25.0 мл суміші вода *P* – метанол *P* (20:80) (розчин А). 15.0 мг ФСЗ саліцину розчиняють у 25 мл суміші вода *P* – метанол *P* (20:80). Додають 5.0 мл розчину А та доводять об'єм розчину водою *P* до 50.0 мл.

Колонка:

— розмір: 0.10 м × 4.6 мм;

— нерухома фаза: силікагель для хроматографії октадецилсилільний *P* (3 мкм).

Рухома фаза:

— рухома фаза А: тетрагідрофуран *P* – розчин 0.5 % (об/об) фосфорної кислоти *P* (1.8:98.2);

— рухома фаза В: тетрагідрофуран *P*;

Час, хв	Рухома фаза А, %	Рухома фаза Б, %
0:15	100	0
15:17	100→90	0→100
17:23	90	10
23:25	90→100	10→0
25:40	100	0

Швидкість рухомої фази: 1.0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 270 нм.

Інжекція: 10 мкл.

Час утримування: саліцину — близько 6.4 хв, піцеїну — близько 7.7 хв.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння:

— *ступінь розділення:* не менше 1.5 між піками саліцину та піцеїну.

Вміст саліцилових похідних, у перерахунку на саліцин, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$x, \% = \frac{S_1 \cdot m_2 \cdot P \cdot 2}{m_1}$$

де S_1 — площа піка саліцину на хроматограмі випробовуваного розчину;

S_2 — площа піка саліцину на хроматограмі розчину порівняння;

m_1 — маса наважки екстракту, використаного для приготування випробовуваного розчину, у грамах;

m_2 — маса наважки *ФСЗ саліцину*, використаного для приготування розчину порівняння, у грамах;

P — вміст саліцину у *ФСЗ саліцину*, у відсотках.

Нормування: не менше 5.0 % суми саліцилових похідних, у перерахунку на саліцин ($C_{13}H_{18}O_7$; *М.м.* 286.3) і сухий екстракт.

Поперемінно хроматографують розчин порівняння (в) та випробовуваний розчин не менше 5 разів (рис. 3.2 – 3.4).

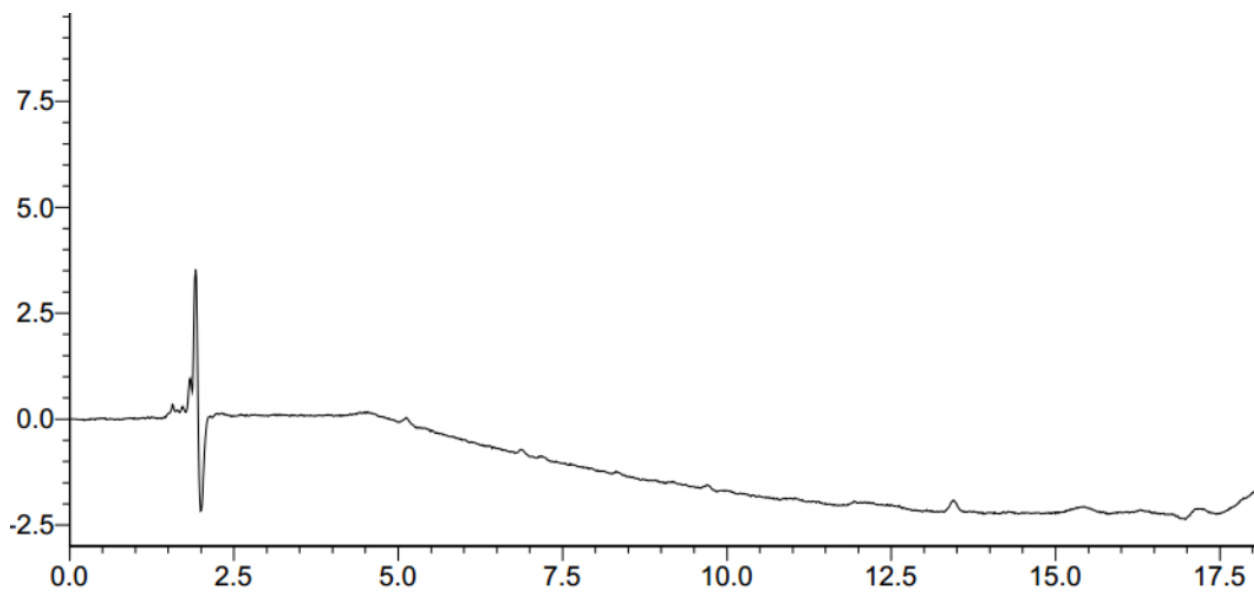


Рис. 3.2 Хроматограма бланк-розчину при кількісному визначенні саліцину

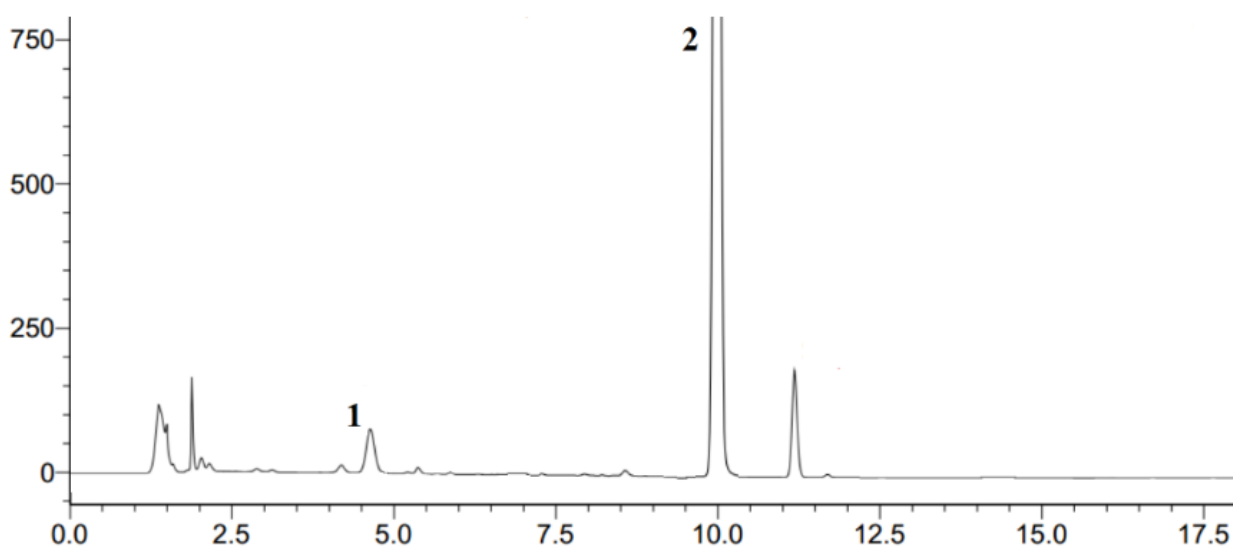


Рис. 3.3 Хроматограма випробовуваного розчину: 1 – саліцин; 2 – інші компоненти гелю

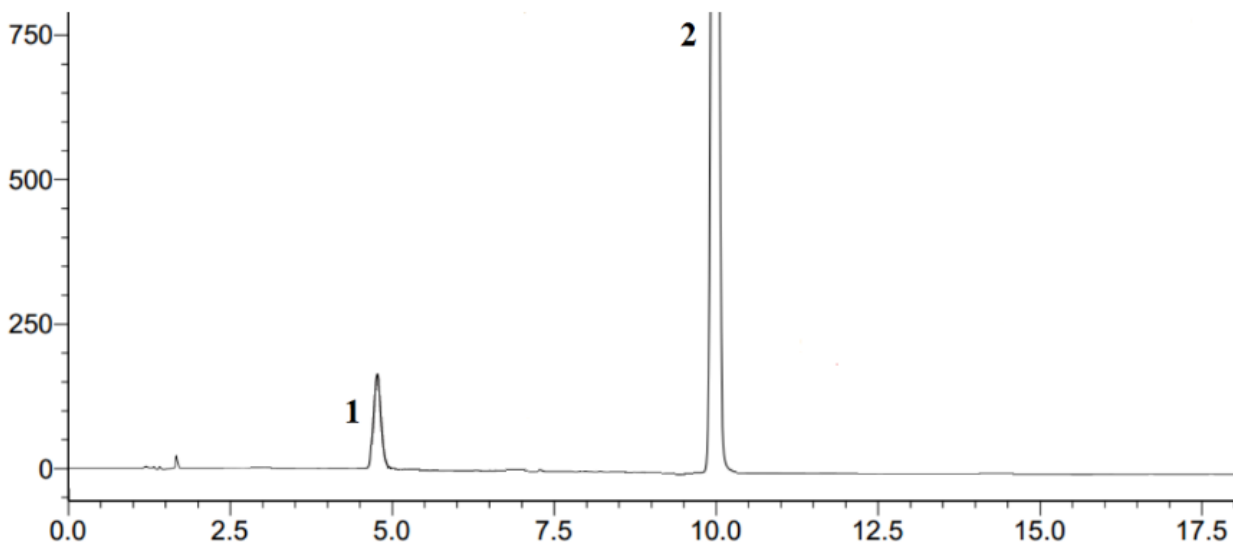


Рис. 3.4 Хроматограма розчину порівняння: 1 – саліцин; 2 – модельної суміші без саліцину

Для подальшого застосування методики в аналізі екстракту сухого кори верби проводили верифікацію методики з вивчення таких валідаційних характеристик, як специфічність, лінійність, правильність і прецизійність.

Специфічність методики підтверджували шляхом порівняння хроматограми порівняння, випробовуваного розчину та хроматограми бланк-розчину, для чого готували розчини розчинника, порівняння та випробовуваний розчин.

Час утримування саліцину з випробовуваного розчину відповідає часу утримування саліцину зі стандартного розчину.

На бланк-хроматограмі та розчину порівняння не було виявлено піків, які заважали визначенню досліджуваної речовини.

Визначення лінійності досліджували на 9 модельних розчинах, концентрації яких знаходились в діапазоні 80-120% від обраної концентрації за методикою (крок-5%) таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Розрахунок параметрів лінійності для саліцину сухого екстракту

№	C, %	C (mg/ml)	$C_{i/st}$ введено	Середнє значення площі піку	$C_{i/st}$ знайдено
1	80	0,080	80,0	606786	79,98
2	85	0,085	85,0	645253	85,05
3	90	0,090	90,0	680975	89,76
4	95	0,095	95,0	722076	95,18
5	100	0,100	100,0	757942	99,90
6	105	0,105	105,0	794934	104,78
7	110	0,110	110,0	832673	109,76
8	115	0,115	115,0	872528	115,01
9	120	0,120	120,0	912039	120,22
Стандарт	100	0,100	100,0	758663	100,00

За отриманими даними (табл. 3.4), будували графік лінійної залежності аналітичного сигналу від фактичної концентрації розчину, побудований в нормалізованих координатах (рис. 3.5).

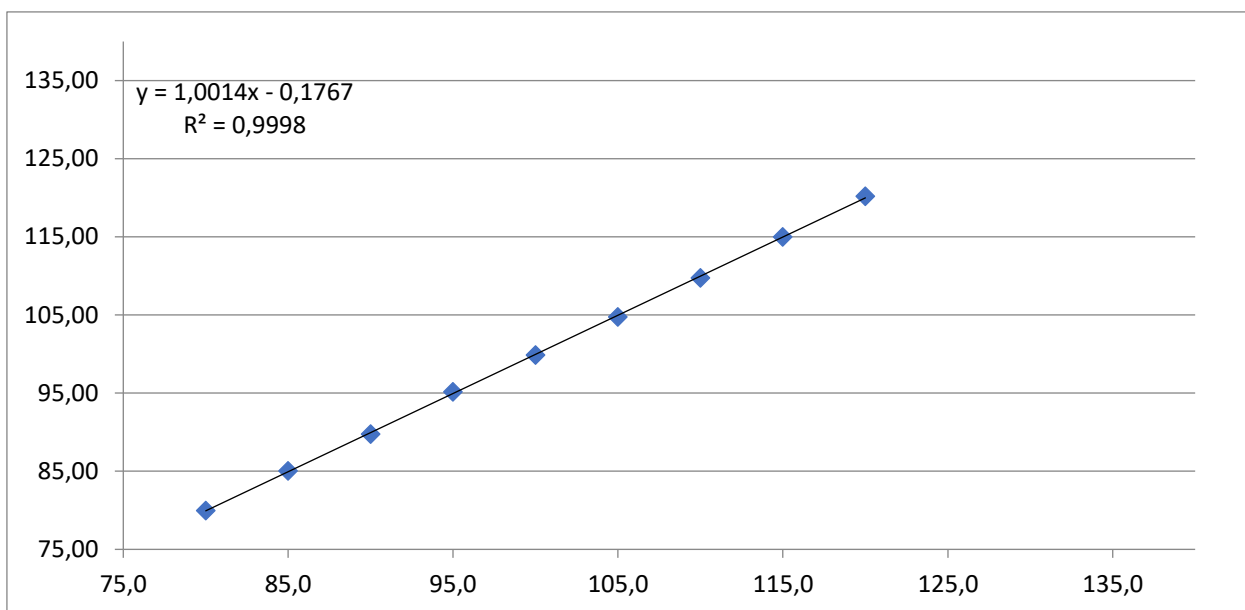


Рис. 3.5 Графік лінійної залежності аналітичного сигналу від фактичної концентрації саліцину

Дані перевірки лінійної залежності наведені в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

Дані перевірки лінійності методики кількісного визначення саліцину

з/п	Параметр	Вимоги	Отримане значення	Виконання критерію
1	$ a $	$\leq 5,10$	0,18	Виконується
2	S_0	$\leq 1,69$	0,21	Виконується
3	r	$> 0,9924$	0,9998	Виконується

Правильність і прецизійність методики визначали в межах діапазону використання методики на 9 модельних розчинах, які використовували для визначення лінійності. Результати оцінки правильності та прецизійності методики кількісного визначення саліцину, наведені в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

Результати оцінки правильності та прецизійності методики кількісного визначення саліцину

Параметри		Значення	Критерій 1	Критерій 2	Висновок
Правильність	$ \bar{Z} - 100 $	0,04	$\leq 0,10$	$\leq 2,048$	Виконується за двома критеріями
Прецизійність	Δ_{intra}	0,95	$\leq 3,20$		

Відтворюваність методики встановлювали на шести зразках сухого екстракту кори верби. Результати експериментальних досліджень шести серій вихідного сухого екстракту наведено в табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Метрологічні характеристики середнього результату кількісного визначення суми саліцилових похідних, у перерахунку на саліцин у сухому екстракті верби

№ серії	Вміст суми саліцилових похідних, у перерахунку на саліцин%	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$	$\varepsilon, \%$
1	5,71	0,0163	0,1279	0,0522	0,3287	0,1342	2,37	5,80
2	5,67							
3	5,82							
4	5,72							
5	5,44							
6	5,62							

3.4 Кількісне визначення суми речовин флавоноїдної будови

Літературні дані свідчать про наявність у корі *Salix alba* L. фенологлікозидів, антоціанів, лейкоантоціанів, дубильних речовин, катехінів, флавоноїдів, тощо [28]. За рахунок наявності великої кількості біоактивних

вторинних метаболітів поліфенольної будови, автори довели, що екстракти *Salix alba*, особливо екстракти з листя, є перспективними нетоксичними природними антиоксидантами [29]. Вміст в досліджуваному екстракті речовин флавоноїдного походження визначали методом абсорбційної спектрофотометрії, яка базується на утворенні комплексних сполук з розчином алюмінію хлориду в кислому середовищі. Екстракт кори верби розчиняли у воді, додавали метанольний розчин алюмінію хлориду у середовищі оцтової кислоти і записували електронний спектр поглинання усіх отриманого розчину в діапазоні довжин хвиль від 370 до 450 нм. Паралельно записували абсорбційний спектр поглинання забарвленого метанольного розчину СЗ лютеоліну, отриманого після реакції комплексоутворення (рис. 3.6).

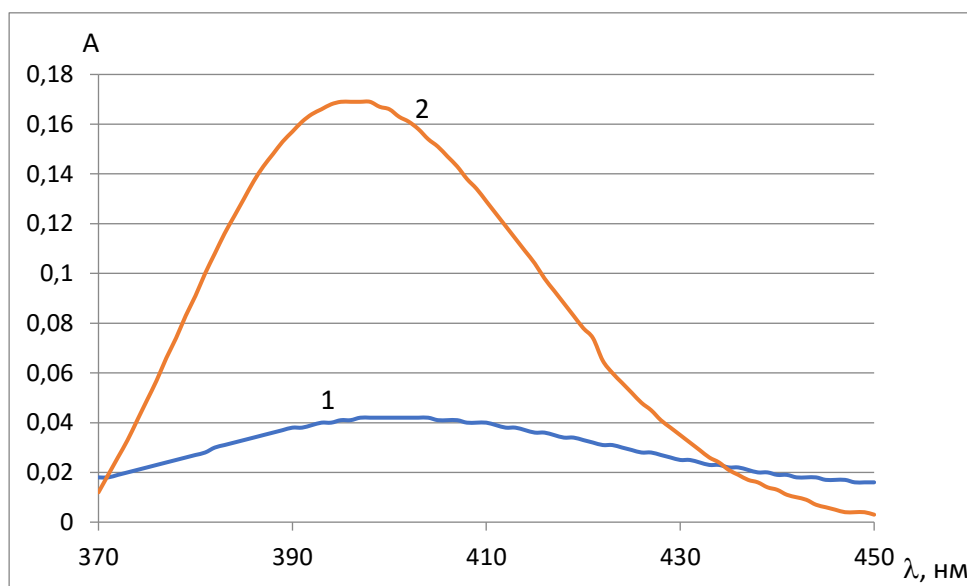


Рис. 3.6 Абсорбційні спектри поглинання після реакції з алюмінію хлоридом: 1 – сухого екстракту верби; 2 – СЗ лютеоліну

Встановлено (рис. 3.6), що абсорбційні спектри забарвлених розчинів екстракту *Salix alba* L. і лютеоліну характеризуються наявністю доволі пологих максимумів при довжинах хвиль 396 нм, який був обраний для кількісного визначення вмісту суми флавоноїдів у досліджуваному сухому екстракті верби.

Визначення суми речовин флавоноїдної будови у перерахунку на лютеолін проводили за наступною методикою.

Методика кількісного визначення флавоноїдів. Метод абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій і видимій ділянках (ДФУ, 2.2.25).

Випробовуваний розчин: 0,015 г (точна наважка) сухого екстракту поміщають в мірну колбу на 25,0 мл і розчиняють у воді Р (вихідний розчин).

5,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу ємністю 25,0 мл, додають 2 мл реактиву алюмінію хлориду Р, доводять 5 % (об/об) розчином льодяної оцтової кислоти в метанолі Р до мітки і перемішують.

Розчин порівняння: близько 0,02 г (точна наважка) ФСЗ лютеоліну вносять у мірну колбу ємністю 100,0 мл, розчиняють у метанолі Р, доводять об'єм розчину тим же розчинником до мітки і перемішують. 1,0 мл отриманого розчину вносять у мірну колбу ємністю 25,0 мл, додають 2,0 мл реактиву алюмінію хлориду і доводять об'єм розчину 5 % розчином оцтової кислоти льодяної у метанолі Р.

Компенсаційний розчин: 5,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводять 5 % (об/об) розчином льодяної оцтової кислоти в метанолі Р до мітки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння при довжині хвилі 396 нм відносно компенсаційного розчину.

Вміст суми флавоноїдів у відсотках (х) у перерахунку на лютеолін і безводний сухий екстракт обчислюють за формулою:

$$x = \frac{A \cdot m_0 \cdot V_2 \cdot V_4 \cdot V_6 \cdot 100 \cdot \%C3}{A_0 \cdot m \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot V_5 \cdot 100},$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

A₀ – оптична густина розчину СЗ лютеоліну;

m₀ – маса наважки СЗ лютеоліну, г;

m – маса наважки вихідного сухого екстракту;

V_1, V_2, V_3 – об'єми розведень для приготування розчину СЗ лютеоліну, мл;

V_4, V_5, V_6 – об'єми розведень для приготування досліджуваного розчину, мл.

Вміст суми флавоноїдів у відсотках у перерахунку на лютеолін у досліджуваному сухому екстракті має бути не менше 1,50 %.

Результати експериментальних досліджень 6-ти серій сухого екстракту наведено в таблиці 3.8.

Таблиця 3.8

Метрологічні характеристики середнього результату кількісного визначення суми флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін у сухому екстракті кори верби

№ серії	Вміст суми флавоноїдів, %	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$	$\varepsilon, \%$
1	1,83	0,0029	0,0534	0,0218	0,1374	0,0561	3,19	7,81
2	1,72							
3	1,69							
4	1,76							
5	1,81							
6	1,74							

Таким чином, вміст суми речовин флавоноїдної природи у перерахунку на лютеолін, має становити не менше 1,50%.

Висновки до розділу 3

1. Методом тонкошарової хроматографії у системі розчинників вода – метанол – етилацетат (8 : 15 : 77) і з подальшим детектуванням сумішшю сірчана кислота – метанол (5 : 95) встановлено, що досліджуваний екстракт верби білої кори містить саліцин.
2. При випробуванні на чистоту досліджуваного сухого екстракту визначали вміст важких металів і остаточну вологість, що становить 4,55%.
3. Для визначення кількісного вмісту суми саліцилових похідних, у перерахунку на саліцин, використали методику ДФУ, рекомендовану монографією «Верби кора». Визначені валідаційні характеристики специфічність, лінійність, правильність і прецизійність ($\Delta_Z = 0,95 \leq \max \Delta_Z = 3,20$, $\delta = 0,04 \leq \max \delta = 1,02$, $a = 0,18 \leq \max a = 5,10$, $r = 0,9998 \geq \min r = 0,9924$) свідчать про коректність методики.
4. Методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці після реакції комплексоутворення з розчином алюмінію хлориду визначили вміст суми речовин флавоноїдної структури у перерахунку на лютеолін, який має становити не менше 1,5%.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Дані літературних досліджень фіто-хімічного складу рослин роду *Salix* показали про вміст більше 250 біологічно активних сполук, що підтверджує перспективи створення лікарських засобів на основі рослин роду *Salix*.
2. Вивчено основні механізми дії лікарської рослинної сировини верби білої, що засновано на багатому вмісті біологічно активних речовин. Проведено аналіз ринку лікарських засобів та дієтичних добавок, до складу яких входить кора верби білої та показання їх до застосування.
3. Запропоновано ідентифікувати біологічно активні речовини сухий екстракт кори верби білої методом тонкошарової хроматографії у системі розчинників вода – метанол – етилацетат (8 : 15 : 77) і з подальшим детектуванням сумішшю сірчана кислота – метанол (5 : 95) з використанням маркера саліцину.
4. При випробуванні на чистоту досліджуваного сухого екстракту визначили вміст важких металів і остаточну вологість, що становить 4,55%.
5. Для визначення кількісного вмісту суми саліцилових похідних, у перерахунку на саліцин, використали методику ДФУ, рекомендовану монографією «Верби кора». Визначені валідаційні характеристики специфічність, лінійність, правильність і прецизійність ($\Delta_Z = 0,95 \leq \max \Delta_Z = 3,20$, $\delta = 0,04 \leq \max \delta = 1,02$, $a = 0,18 \leq \max a = 5,10$, $r = 0,9998 \geq \min r = 0,9924$) свідчать про коректність методики.
6. Методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці після реакції комплексоутворення з розчином алюмінію хлориду визначили вміст суми речовин флавоноїдної структури у перерахунку на лютеолін, який має становити не менше 1,5%.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Phytochemistry, Pharmacology and Medicinal Uses of Plants of the Genus *Salix*: An Updated Review / N. Tawfeek, M.F. Mahmoud, D.I. Hamdan et al. *Front. Pharmacol.* 2021. № 12. P. 593856.
2. Isebrands J. G., Richardson J. *Poplars and willows: trees for society and the environment*. Boston, USA: The Food and Agriculture Organization of the United Nations and CABI. 2016. 634 p.
3. Linkage mapping in apomictic and sexual Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) genotypes using a two-way pseudo-testcross strategy based on AFLP and SAMPL markers / A. Porceddu, E. Albertini, G. Barcaccia et al. *Theor Appl Genet.* 2002. № 104. P. 273–280.
4. Qu L., Hancock J. F. Detecting and mapping repulsion-phase linkage in polyploids with polysomic inheritance. *Theor Appl Genet.* 2001. № 103. P. 136–143.
5. Linkage mapping in tetraploid willows: segregation of molecular markers and estimation of linkage phases support an allotetraploid structure for *Salix alba* × *Salix fragilis* interspecific hybrids / G. Barcaccia, S. Meneghetti, E. Albertini et al. *Heredity.* 2003. № 90. P. 169–180.
6. Shelyuto V. L., Bondarenko V. G. Flavonoids of *Salix acutifolia*. *Chem. Nat. Compd.* 1989. № 21. P. 534.
7. Phenolic compounds from *Populus alba* L. and *Salix subserrata* Willd.(Salicaceae) counteract oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* / N. Tawfeek, M. Sobeh, D. I. Hamdan et al. *Molecules.* 2009. № 24. P. 1999.
8. Zhao L., Liu L., Li J. Qualitative and quantitative analysis of five bioactive flavonoids in *Salix bordensis* Turcz. by HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS. *Am. J. Anal. Chem.* 2014. № 5. P. 851.

9. Wu Y., Dobermann D., Beale M. H., Ward, J. L. Acutifoliside, a novel benzoic acid glycoside from *Salix acutifolia*. *Nat. Prod. Res.* 2016. № 30. P. 1731–1739.
10. Cytotoxic and anti-inflammatory salicin glycosides from leaves of *Salix acmophylla* / Z. A. Shah, A. Hameed, A. Ahmed et al. *Phytochem. Lett.* 2016. № 17. P. 107–113.
11. Phenolic glycosides from the twigs of *Salix glandulosa* / C. S. Kim, O. W. Kwon, S. Y. Kim et al. *J. Nat. Prod.* 2014. № 77. P. 1955–1961.
12. Phenylalkanoid glycosides (Non-Salicinoids) from wood chips of *Salix triandra* × *dasyclados* hybrid willow C. Noletto-Dias, Y. Wu, A. Bellisai et al. *Molecules.* 2019. № 24. P. 1152.
13. Polyphenols from *Salix tetrasperma* impair virulence and inhibit quorum sensing of *Pseudomonas aeruginosa* / I. Mostafa, H. A. Abbas, M. L. Ashour et al. *Molecules.* 2020. № 25. P. 1341.
14. Ahmed A., Akbar S., Shah W. A. Chemical composition and pharmacological potential of aromatic water from *Salix caprea* inflorescence. *Chin. J. Integr. Med.* 2019. P. 1–5.
15. Singh H., Raturi R., Badoni P. Isolation of secondary metabolites from the roots of *salix babylonica*. *Mater. Sci. Eng.* 2017. № 225. P. 012094.
16. Extractable phenolic yield variation in five cultivars of mature short rotation coppice willow from four plantations in Quebec / N. J. B. Brereton, N. Berthod, B. Lafleur et al. *Ind. Crop. Prod.* 2017. № 97. P. 525–535.
17. Zarger M. S. S., Khatoon F., Akhtar N. Phytochemical investigation and growth inhibiting effects of *Salix alba* leaves against some pathogenic fungal isolates. *World J. Pharm. Pharmacol.* 2014. № 3. P. 1320–1330.
18. Montinari M. R., Minelli S., De Caterina R. The First 3500 Years of Aspirin History from Its Roots—A Concise Summary. *Vascul. Pharmacol.* 2019. № 113. P. 1–8.
19. Sneader W. The Discovery of Aspirin: A Reappraisal. *BMJ.* 2000. № 321. P. 1591–1594.

20. Highfield E. S., Kemper K. J. Long wood herbal task force white willow bark (*Salix alba*). Available at: www.mcp.edu/herbal/default.htm
21. Baricevic D., Sosa S., Della Loggia R. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *J. Ethnopharmacol.* 2009. № 75. P. 125–132.
22. Постой В. В., Вишневська Л. І., Бавикіна М. Л. Щодо розробки екстемпорального гелю для терапії гострих запалень суглобів. Сучасні досягнення фарм. технології та біотехнології : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2018. Вип. 4. С. 195–198.
23. Тернинко І.І. Розробка параметрів стандартизації сировини верби білої / Тернинко І.І. / Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин : матеріали I Міжнародної науково-практичної internet-конференції (м. Харків, 20-21 березня 2014 р.). – 2014. – С. 260–261.
24. 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. 112
25. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 3. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 416 с.
26. HPLC-MS/MS analysis of willow bark extracts contained in pharmaceutical preparations / B. Kammerer, R. Kahlich, C. Biegert et al. *Phytochem. Anal.* 2005. № 16. P. 470–478
27. Shivatare R., Phopase M., Nagore D. Development and Validation of HPLC Analytical Protocol for Quantification of Salicin from *Salix alba* L. *Pharm Analysis and Quality Assurance*. 2015. Vol. 1. P. 1-6.
28. Shara M. , Stohs S. J. Efficacy and Safety of White Willow Bark (*Salix alba*) Extracts. *Phytother Res.* 2015. Vol. 29, № 8. P. 1112-1116.

29. Identification and Accumulation of Phenolic Compounds in the Leaves and Bark of *Salix alba* (L.) And Their Biological Potential / E. Piątczak, M. Dybowska, E. Płuciennik, et al. *Biomolecules*. 2020. №10(10). P. 1391.

30. Christenhusz M. J. M., Byng, J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*. 2016. № 261. P. 201–217.

31. Zarger M. S. S., Khatoon F., Akhtar N. Phytochemical investigation and growth inhibiting effects of *Salix alba* leaves against some pathogenic fungal isolates. *World J. Pharm. Pharmacol.* 2014. № 3. P. 1320–1330.

ДОДАТКИ



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет

ГРАМОТА

нагороджується

УЙВАН Ірина

у секційному засіданні студентського
наукового товариства кафедри
фармацевтичної хімії

IV Всеукраїнська науково-практична
конференція з міжнародною участю

YOUTH PHARMACY SCIENCE

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф



Алла КОТВИЦЬКА

6-7 грудня, 2023 р.,
м. Харків, Україна



Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
Кафедра фармацевтичної хімії
Ступінь вищої освіти магістр
Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація
Освітня програма Фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри
фармацевтичної хімії

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ
« 24 » серпня 2023 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Ірини УЙВАН

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування запальних захворювань суглобів»
керівник кваліфікаційної роботи: Людмила СИДОРЕНКО, д.фарм.н., професор
затверджений наказом НФаУ від «16» жовтня 2023 року № 229.
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: грудень 2023 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: розглянути та узагальнити дані наукової літератури щодо хіміко-фармакогностичних властивостей та застосування в офіцинальній та народній медицині рослин роду Salix. Ознайомитись з асортиментом лікарських засобів та дієтичних добавок, що містять рослинну сировину роду Salix. Розглянути сучасні методики визначення біологічно активних речовин лікарської рослинної сировини кори верби білої.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): підібрати умови та провести ідентифікацію і кількісне визначення сухого екстракту кори верби білої хімічними і фізико-хімічними методами для подальшого використання отриманих методик контролю якості в аналізі м'якої лікарської форми для лікування запальних процесів суглобів. Провести статистичну обробку отриманих результатів та зробити висновок щодо придатності запропонованих методик для завдань фармацевтичного аналізу.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): таблиць - 8, рисунків – 14.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
I	Людмила СИДОРЕНКО, професор закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	14.09.23 р.	14.09.23 р.
II	Людмила СИДОРЕНКО, професор закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	25.10.23 р.	25.10.23 р.
III	Людмила СИДОРЕНКО, професор закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	22.11.23 р.	22.11.23 р.

7. Дата видачі завдання: «24» серпня 2023 року.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Формулювання мети, задач, вибір об'єкту та предмету досліджень. Складання розширеного плану та опрацювання етапів виконання кваліфікаційної роботи.	вересень 2023 р	виконано
2	Аналіз літературних джерел та проведення загального літературного огляду за напрямком теми. Написання I-го розділу роботи (літературний огляд).	жовтень 2023 р.	виконано
3	Проведення аналізу об'єкту та предмету досліджень, аналіз ситуації на базі стажування. Написання II-го розділу роботи.	жовтень 2023 р.	виконано
4	Розробка прикладних пропозицій. Оформлення III-го розділу роботи з обґрунтуванням раціональності висунутих пропозицій.	листопад 2023 р.	виконано
5	Оформлення роботи та подання до Екзаменаційної комісії.	грудень 2023 р.	виконано

Здобувач вищої освіти

_____ Ірина УЙВАН

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ Людмила СИДОРЕНКО

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 229
по Національному фармацевтичному університету
від 16 жовтня 2023 року

Про затвердження тем кваліфікаційних робіт

Затвердити теми кваліфікаційних робіт, керівників-консультантів та рецензентів здобувачам вищої освіти 2 курсу, спеціальність – 226 Фармація, промислова фармація, освітня програма – Фармація, ступінь вищої освіти – магістр, термін навчання – 1 р. 6 міс., заочна форма здобуття освіти.

Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
Уйван Ірина Євгенівна	Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування запальних захворювань суглобів	Development of quality control methods for API of a gel for the treatment of inflammatory joint diseases	д.фарм.н., професор закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії Сидоренко Л.В.	д.фарм.н., професор закладу вищої освіти, завідувачка кафедри медичної хімії Перехода Л.О.

Ректор

Алла КОТВИЦЬКА

Вірно:

Декан факультету фармацевтичних технологій та менеджменту



Наталія ЖИВОРА

ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 124976 від « 28 » грудня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти заочної форми навчання Уйван Ірини Євгенівни, 2 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування запальних захворювань суглобів / Development of quality control methods for API of a gel for the treatment of inflammatory joint diseases», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копії).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

5%

23%

ВІДГУК

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти
магістр, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

Ірини УЙВАН

**на тему: «Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування
запальних захворювань суглобів».**

Актуальність теми. На сьогодні ревматичні захворювання - хронічне системне захворювання сполучної тканини з ураженням периферичних суглобів і характерними позасуглобовими проявами, поширені в Україні. Для полегшення симптомів та доповнення основного лікування, зокрема ревматичних артритів, все частіше використовують м'які лікарські форми з рослинними компонентами, що застосовують при запальних процесах. До лікарської рослинної сировини, що володіє протизапальною дією слід віднести рослини роду *Salix*.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. У роботі представлено розроблені методики стандартизації біологічно активних речовин сухого екстракту верби білої кори, які можуть бути запроваджені в фармацевтичний аналіз м'якої лікарської форми у вигляді гелю для лікування запальних захворювань суглобів.

Оцінка роботи. Робота виконана на високому теоретичному та експериментальному рівні із використанням сучасних методів досліджень. Відповідає вимогам, що висуваються до кваліфікаційних робіт.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота Ірини УЙВАН рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії.

Науковий керівник _____ Людмила СИДОРЕНКО

«06» грудня 2023 р.

РЕЦЕНЗІЯ

**на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр, спеціальності
226 Фармація, промислова фармація**

Ірини УЙВАН

**на тему: «Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування
запальних захворювань суглобів».**

Актуальність теми. Ревматичні захворювання є групою мультифакторних хвороб і представлені великою кількістю нозологічних форм, що відрізняються за походженням і об'єднані переважно за ознакою локалізації основного патологічного процесу у сполучній тканині та за таким клінічним проявом, як суглобовий синдром. Для лікування ревматичних захворювань все частіше як у вигляді монотерапії, так і у комбінаціях із синтетичними засобами використовують препарати на основі лікарської рослинної сировини. До переваг такої терапії відносять наступні фактори: набагато рідше викликають побічні ефекти, добре переносяться хворими, тому можуть застосовуватися довготривало.

Теоретичний рівень роботи. Кваліфікаційна робота виконана на високому теоретичному та практичному рівні із застосуванням сучасних методів дослідження. За сукупністю показників якості усі запропоновані методики визначення біологічно активних сполук сухого екстракту верби білої кори можуть бути використані для подальших досліджень.

Пропозиції автора з теми дослідження. Результати, які були отримані в результаті виконання роботи Іриною УЙВАН щодо якісного складу та кількісного вмісту біологічно активних речовин сухого екстракту кори верби білої можуть застосовуватися при розробці відповідних розділів МКЯ на м'яку лікарську форму у вигляді гелю.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. У роботі запропоновані хімічні реакції та фізико-хімічні методики

ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних сполук сухого екстракту кори верби білої. Метрологічні характеристики методик свідчать про їх відтворюваність, простоту і придатність для застосування у межах створення і виробництва фармацевтичних препаратів.

Недоліки роботи. Принципових зауважень до роботи немає.

Загальний висновок і оцінка роботи. Робота Ірини УЙВАН «Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування запальних захворювань суглобів» виконана на високому рівні, отримані результати не викликають сумнівів, оформлення роботи відповідає вимогам НФаУ до кваліфікаційних робіт та рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ.

Рецензент _____

проф. Ліна ПЕРЕХОДА

«13» грудня 2023 р.

ВИТЯГ

**з протоколу засідання кафедри фармацевтичної хімії
№ 6 від 21 грудня 2023 р.**

ПРИСУТНІ:

проф. Георгіянц В. А., проф. Власов С. В., проф. Сидоренко Л. В., проф. Северіна Г. І., доц. Абу Шарк А. І., доц. Бевз Н. Ю., доц. Головченко О. С., доц. Горохова О. В., доц. Гриненко В. В., доц. Гарна Н. В., доц. Колісник О. В., ас. Бевз О. В., ас. Смєлова Н. М., ас. Григорів Г. В., асп. Гуріна В.О.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту, Фм22(1,5з)-01 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Ірини УЙВАН на тему: «Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування запальних захворювань суглобів».

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту, Фм22(1,5з)-01 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Ірини УЙВАН на тему: «Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування запальних захворювань суглобів», керівник – професор кафедри фармацевтичної хімії, доктор фармацевтичних наук, професор Людмила СИДОРЕНКО.

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Ірини УЙВАН до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

Голова

Завідувачка кафедри
фармацевтичної хімії,
доктор фарм. наук, проф.

(підпис)

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

Секретар

канд. фарм. наук, доц.

(підпис)

Олена КОЛІСНИК

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувачка вищої освіти Ірина УЙВАН до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Розробка методів контролю якості АФІ гелю для лікування запальних захворювань суглобів».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Наталія ЖИВОРА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувачка вищої освіти Ірина УЙВАН виконала кваліфікаційну роботу на високому рівні, з логічним викладенням матеріалу та обговоренням. Оформлення роботи відповідає вимогам НФаУ до випускних кваліфікаційних робіт. Кваліфікаційна робота може бути рекомендована до захисту у ЕК НФаУ

Керівник кваліфікаційної роботи

Людмила СИДОРЕНКО

«06» грудня 2023 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувачка вищої освіти Ірина УЙВАН допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
фармацевтичної хімії

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

«21» грудня 2023 року

Кваліфікаційну роботу захищено

у Екзаменаційній комісії

«12» лютого 2024 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

кандидат фармацевтичних наук, доцент

_____ / Олександр СУРІКОВ /