

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Кисельова Катерина Євгенівна

УДК 615.014.2:615.32:615.451.1:615.454.1:616.5

Розробка складу і технології лікарського препарату у формі крему для
лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань

226 – Фармація, промислова 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

К.Є. Кисельова

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Наукова керівниця Вишневська Лілія Іванівна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Кисельова К. Є. Розробка складу і технології лікарського препарату у формі крему для лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2025.

Дисертаційна робота присвячена науковим дослідженням щодо визначення умов отримання і стандартизації леспедези екстрактів рідкого спиртового та олійного, а також фармацевтичній розробці на їх основі крему емульсійного для використання у фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань шкіри на підставі комплексу фізико-хімічних, фармакотехнологічних, реологічних, біофармацевтичних і біологічних досліджень.

У першому розділі проаналізовано і систематизовано наведені в літературі дані щодо етіопатогенезу та фармакотерапії інфекційних захворювань шкіри. Встановлено, що часте застосування антибактеріальних препаратів у дерматологічній практиці загострює проблему антибіотикорезистентності і демонструє перспективи використання препаратів на основі лікарської рослинної сировини (ЛРС) антибактеріальної, протизапальної, репаративної та антиоксидантної дії.

На основі бібліосемантичного аналізу наукових джерел літератури показано, що леспедеза двоколірна володіє широким спектром фармакологічної активності, яка обумовлена наявністю флавоноїдів, поліфенольних сполук, фенілпропаноїдів, стероїдів, лігнанів та фенілділактонів. Аналіз літературних джерел показав, що витяжки леспедези володіють антимікробною, протигрибковою, антиоксидантною, протизапальною, репаративною активністю, цитотоксичною, антидіабетичною, антитромботичною дією, що свідчить про перспективи використання екстрактів рослин роду *Lespedeza M.* як сировини для створення інноваційних дерматологічних лікарських засобів (ДЛЗ).

Проаналізовано та узагальнено дані літературних джерел та результати

власних попередніх наукових досліджень щодо антибактеріальної активності етерних олій відносно мікроорганізмів, які провокують розвиток дерматологічних захворювань. Узагальнення аналізу наукової літератури на результатів попередніх досліджень продемонструвало можливості використання етерних олій у терапії піодермій, акне, мікозів (трихофітії, мікроспорії, оніхомікозів різнобарвного лишая), себорейного дерматиту та інших інфекційних захворювань шкіри (ІЗШ).

У *другому розділі* описано методологію проведення наукових досліджень з розроблення складу емульсійного крему з екстрактами леспедези, яка включає проведення теоретичного етапу з метою побудови стратегії дослідження та здійснення його планування і практичного етапу – алгоритму проведення необхідних досліджень для отримання, стандартизації і дослідження фармакологічної активності екстрактів леспедези двоколірної і емульсійного крему на основі спиртового і олійного екстрактів леспедези. В розділі дано характеристику обраної лікарської рослинної сировини і допоміжних речовин, які були використані для отримання екстрактів і дерматологічного засобу, та детально описано методики, які були використані при проведенні досліджень.

У *третьому розділі* описано результати досліджень з обґрунтування умов отримання екстрактів леспедези двоколірної. Методом ВЕТШХ-досліджень на базі кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Литовського університету наук здоров'я, м. Каунас, Литва під керівництвом завідувача кафедри, д. біомед. н., проф Людаса Іванаускаса і д. фарм.н., доцента кафедри фармацевтичної хімії НФаУ Ольги Михайленко, встановлена наявність у надземній частині леспедези двоколірної хлорогенової і кофейної кислот, рутину й ізокверцитрину. Показано найбільший вміст у сировині хлорогенової кислоти (1,427 мг / г) та рутину (1,418 мг / г).

Досліджено фармакотехнологічні властивості надземної частини леспедези двоколірної. Хімічними реакціями у витяжках ідентифікована наявність речовин флавоноїдної будови, фенолів, дубильних речовин та вуглеводнів; методом ТШХ встановлена наявність танінів схожих за будовою до пірогалолу, по-

лісахаридів схожих за структурою до фруктози, флавоноїдів, більшість з яких схожі до рутину та гідроксикоричних кислот, більшість з яких схожа з хлорогеновою кислотою. Досліджено залежність виходу біологічно активних сполук (БАС) із сировини від природи екстрагенту, встановлено, що найбільша кількість речовин поліфенольної будови (0,83 %) і танінів (0,065 %) екстрагується 40 %, а флавоноїдів (0,155 %) – 70 % етанолом.

Визначено оптимальні умови отримання екстракту леспедези рідкого: екстрагент 40 % етиловий спирт, метод перколяції, із загальним значенням DER 1 : 4 з подальшим упарюванням до співвідношення сировина : готовий продукт 1 : 2. Опрацьовано технологічні параметри, розроблено технологічну схему отримання проміжного продукту – леспедези екстракту рідкого спиртового (ЛЕРС) та технологічну інструкцію (ТІ) на виробництво ЛЕРС .

Експериментальними дослідженнями показана можливість використання шроту після отримання ЛЕРС, як сировини для отримання олійного екстракту леспедези. Екстрагування шроту рослинною олією впродовж 4 год за температури екстракції 45 °С забезпечує вихід близько 90 % пігментів порівняно з екстрагуванням ЛРС, і незважаючи на більш низький вихід БАС, комплексна переробка сировини може стати пріоритетною для раціонального використання ресурсів.

Опрацьовано технологічні параметри, розроблено технологічну схему отримання проміжного продукту – леспедези екстракту олійного (ЛЕО) та ТІ на виробництво ЛЕО.

У четвертому розділі наведено результати дослідження фізико-хімічних властивостей проміжного продукту – ЛЕРС; розроблено методики ідентифікації та визначення кількісного вмісту маркерних БАС. Розроблено проєкт методів контролю якості (МКЯ) та складено специфікацію на ЛЕРС, яка включає: опис, ідентифікація (речовини поліфенольної та флавоноїдної природи (кофейна, хлорогенова кислоти, рутин, гіперозид), полісахариди (глюкоза), дубильні речовини (пірогалол)), важкі метали, екстрактивні речовини (не менше 8 %), вміст етанолу, метанолу і 2–пропанолу, відносна густина, кількісне визначення

(флавоноїди у перерахунку на рутин, не менше 1,2 мг / 1,0 г, речовини поліфенольної будови у перерахунку на пірогалол, не менше 3,0 мг / 1,0 г екстракту).

Проведено дослідження фізико-хімічних властивостей проміжного продукту – ЛЕО; розроблено методики ідентифікації та кількісного вмісту БАС. Розроблено проєкт МКЯ та складено специфікацію на ЛЕО, яка включає: опис, ідентифікація (пігментів: каротиноїдів та хлорофілів), кислотне число, перекисне число, відносна густина, кількісне визначення (пігменти: каротиноїди у перерахунку на β -каротин, не менше 0,06 мг / 1,0 г і хлорофіли у перерахунку на α - хлорофіл, не менше 0,13 мг / 1,0 г екстракту).

Мікробіологічними дослідженнями, які проводили на базі Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України під керівництвом канд. біол. наук, ст. наук. співроб., завідувачки лабораторії біохімії та біотехнології Тетяни Осолодченко, встановлена наявність вираженої антимікробної дії ЛЕРС і ЛЕО відносно тест-штаму *S. aureus* ATCC 25923 та слабкої антибактеріальної дії до тест-штамів *S. aureus* ATCC 6538-P і *C. albicans* ATCC 885-653 та до клінічних ізолятів *S. aureus* 16, *S. epidermidis* 14, *S. pneumoniae* 14, *S. pyogenes* 2432 і *S. aureus* 124. Наявність вираженої чутливості тест-штамів мікроорганізмів *Staphylococcus* підтвердили актуальність розробки дерматологічного крему з екстрактами леспедези двоколірної.

Результати дослідження протизапальної активності, які проводили на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації (ННПФ) НФаУ під керівництвом заст. директора з наукової роботи Т.К. Юдкевич, показали, що під впливом досліджуваних спиртового та олійного екстрактів леспедези двоколірної на моделі опікової рани спостерігається зменшення ознак запалення порівняно з тваринами контрольної групи і відсутність візуальних ознак приєднання інфекційного процесу.

У *п'ятому розділі* наведено результати експериментальних досліджень з обґрунтування складу емульсійної основи крему з використанням сучасних емульгуювальних сумішей ксильанс, проліпід 141 та ламекрем. За результатами дослідження органолептичних, фізико-хімічних, структурно-механічних влас-

тивостей та мікроскопії дослідних зразків емульсійних основ, що містять різні за складом комплексні емульгатори, обґрунтовано склад емульсійної основи 1 роду, що містить олію кукурудзяну 15 %, ксил'янс – 7 %, пропіленгліколь – 5% та воду очищену – до 100,0. Встановлено, що розроблена основа стабільна, має задовільні органолептичні властивості, володіє необхідними структурно-механічними властивостями, має псевдопластичний тип плинності з характерною межею плинності і певні тиксотропні властивості, а відновлення структури відбувається поступово в часі, що сприятиме проведенню технологічного процесу і задовільним споживчим характеристикам. Мікроскопічний аналіз основи продемонстрував рівномірний розподіл часток олійної дисперсної фази в дисперсійному середовищі з більшістю часток фази розміром від 0,03 до 0,15 мкм.

Теоретично та експериментально за результатами мікробіологічних досліджень обґрунтовано введення до складу крему 10 % ЛЕРС і 5 % ЛЕО та 0,1 % іланг-ілангу олії етерної які, завдяки комплексу БАС, забезпечують виражену антимікробну дію крему відносно тест-штамів мікроорганізмів, що можуть спровокувати, або ускладнити інфекційно-запальні процеси шкіри (*S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 885-653).

Мікробіологічними дослідженнями обґрунтовано використання консерванту натрію бензоату в концентрації 0,3 %.

Розроблено технологію виробництва дерматологічного крему під умовною назвою «Леспедин», визначено критичні параметри технологічного процесу отримання препарату, складено технологічну схему виробництва, проєкт ТР і ТІ; підтверджено відтворення процесу виготовлення крему в умовах виробничої аптеки.

У шостому розділі наведено результати дослідження органолептичних, фізико-хімічних і фармакотехнологічних показників якості розробленого крему. Методом ТШХ та рідинної хроматографії досліджено якісний склад БАС у кремі, доведено наявність хлорогенової та кофейної кислот, рутину і каротиноїдів. Розроблено та провалідовано методики кількісного визначення БАС у розробленому ЛЗ з використанням методу рідинної хроматографії. Розроблено

специфікацію на крем «Леспедин» відповідно до вимог нормативної документації: опис, рН, однорідність, ідентифікація (пігменти, сума речовин поліфенольної і флавоноїдної природи), мікробіологічна чистота, кількісне визначення (сума поліфенолів, у перерахунку на пірогалол – не менше 16,0 мг / 100,0 г, вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин – не менше 7,0 мг / 100,0 г), маса вмісту контейнера.

Досліджено стабільність крему «Леспедин» у процесі зберігання, експериментально підтверджено термін зберігання – 24 місяці у пластикових контейнерах за температури не вище 25 °С.

Наведено результати дослідження протизапальної активності розробленого крему на моделі опікової рани, які показали зменшення ознак запалення при застосуванні крему «Леспедин», більш швидкий перебіг загоєння та відсутність ознак приєднання інфекційного процесу у дослідних тварин. Встановлено, що розроблений крем за протизапальною активністю перевищує препарати порівняння мазь «Пантенол» та «Мазь календули».

Лабораторну технологію проміжних продуктів леспедези екстракту рідкого спиртового, леспедези екстракту олійного та крему «Леспедин» апробовано в аптеках з екстемпоральним виготовленням ЛП (аптека № 5 ПП «Гармонія-2000», м. Чернівці, аптека № 80, м. Слов'янськ, аптека № 8 «Леда», Харків). Розроблено та апробовано в умовах аптек № 5 ПП «Гармонія-2000» і аптеки № 80 м. Слов'янськ технологічні інструкції «Екстемпоральне виготовлення і контроль якості леспедези екстракту водно-спиртового рідкого», «Екстемпоральне виготовлення і контроль якості леспедези екстракту олійного» та «Екстемпоральне виготовлення і контроль якості крему «Леспедин»». Результати роботи упроваджено у виробничу діяльність низки виробничих аптек України і освітньо-науковий процес низки кафедр фармацевтичного профілю медичних закладів вищої освіти України.

Ключові слова: лікарська рослинна сировина, леспедеза двоколірна, леспедези екстракт рідкий спиртовий, леспедези екстракт олійний, екстракція, м'які лікарські форми, емульсійні основи, крем, склад, технологія, фізико-хімічні,

фармакотехнологічні дослідження, інфекційно-запальні захворювання шкіри.

Список публікацій здобувача

1. Development of the composition of a dermatological product in the form of a cream with extracts of the aerial part of *lespedeza bicolor* / K. Kiselyova, T. Yudkevych, L. Bodnar, M. Skybitska, L. Vyshnevskaya, T. Yudkevych, L. Ivanauskas, O. Mykhailenko, O. Kukhtenko, V. Georgiyants. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2025. № 1 (53). 3. 26–40. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.322855> (Scopus). (Особистий внесок здобувача – аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, формування висновків, підготовка статті до друку; Вишневіська Л. І. – участь у формуванні цілей та плануванні експерименту; Скибітська М. І. – заготовлення і ідентифікація лікарської рослинної сировини; Юдчевич Т. К. – участь у плануванні, проведенні та обговоренні результатів фармакологічних досліджень; Іванаускас Л. – допомога в організації експериментальних досліджень; Боднар Л. А. – участь у плануванні та статистичній обробці даних; Михайленко О. О. – участь у плануванні, проведенні та обговоренні результатів фіто-хімічних досліджень; Кухтенко О. С. – участь у плануванні та проведенні реологічних досліджень; Георгіянц В. А. – участь у плануванні експерименту, обговоренні результатів).

2. Кисельова К. Є., Боднар Л. А., Олійник С. В. Обґрунтування технології крему з екстрактами леспедези. *Вісник фармації*. 2025. № 1 (109). С. 48–54. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.174> (Особистий внесок здобувача – аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, формування висновків, підготовка статті до друку; Боднар Л. А. – участь у плануванні та статистичній обробці даних; Олійник С. В. – участь в аналізі літературних джерел та обговоренні результатів дослідження).

3. Обґрунтування вибору екстрагенту для отримання вилучень назем-

ної частини леспедеці двоколірної / К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. *Вісник фармації*. 2024. № 1 (105). С. 58–65. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.126> (Особистий внесок здобувача – аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, формування висновків, підготовка статті до друку; Бевз Н. Ю. – участь у плануванні, проведенні та обговоренні результатів фізико-хімічних досліджень; Михайленко О. О. – участь у плануванні, проведенні та обговоренні результатів фіто-хімічних досліджень; Яромій М. В. – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експерименту та обговоренні результатів дослідження; Вишневська Л. І. – участь у формуванні цілей, плануванні експерименту та обговоренні результатів).

4. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Дослідження антибактеріальної дії витяжок з леспедеці двоколірної та крему на їх основі. *Annals of Mechnikov Institute*. 2024. № 2. С. 69–73 <https://doi.org/10.5281/zenodo.11638092> (Особистий внесок здобувача – аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, формування висновків, підготовка статті до друку; Осолодченко Т. П. – участь у плануванні, проведенні та обговоренні результатів мікробіологічних досліджень; Вишневська Л. І. – участь у формуванні цілей та плануванні експерименту).

5. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 1. С. 54–61. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7721539> (Особистий внесок здобувача – аналіз, узагальнення літературних джерел, формування висновків, підготовка статті до друку; Вишневська Л. І. – участь у формуванні цілей та висновків).

6. Вишневська Л. І., Кисельова К. Є., Ковальова Т. М. Спосіб одержання засобу для лікування інфекційно-запальних уражень шкіри у формі емульсійного крему. Пат. на корисну модель № 157621 Україна, МПК (2024.01)

A61K 47/44; заявл. 18.04.204; опубл. 06.11.2024, Бюл. № 45. 4 с. (Особистий внесок здобувача – аналіз, узагальнення літературних джерел, підготовка патенту; Вишневська Л. І. – участь у підготовці патенту; Ковальова Т. М. – участь у оформленні патенту).

7. Кисельова К. Є., Сілаєва Л. Ф., Вишневська Л. І. Антимікробні властивості етерних олій. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 139–143.

8. Використання етерних олій в екстемпоральних прописах / Н. П. Половко, Є. І. Світлична, К. Є. Кисельова, А. А. Куцанян. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2017. С. 168–171.

9. Загальний огляд захворювань, при лікуванні яких широко застосовують препарати з ефірними оліями / Є. І. Бисага, Л. І. Вишневська, В. О. Онищук, К. Є. Кисельова. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2018. Вип. 4. С. 34–39.

10. Вишневська Л. І., Кисельова К. Є. Обґрунтування вибору етерних олій до складу гелю для лікування вугрової хвороби. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2019. Вип. 3. С. 49.

11. Мікробіологічні дослідження ефірної олії низки лікарських рослин щодо рівня їх антимікробної дії / Л. Ф. Сілаєва, О. О. Шмалько, Л. І. Вишневська, К. Є. Кисельова. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків: НФаУ, 2019. Вип. 6. С. 416–419.

12. Половко Н. П., Краслянська А. Л., Кисельова К. Є. Препарати, що використовуються в терапії себореїного дерматиту. *Підготовка спеціалістів фармації в рамках концепції «Навчання протягом життя (Life Long Learning)»: наука, освіта, практика* : матеріали II наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21–22 жовт. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 134–137.

13. Кисельова К. Є. Вишневська Л. І. Дослідження щодо доцільності

використання ефірної олії в розробці лікарських препаратів комплексної дії. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. дистанц. конф., м. Харків, 20 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 87.

14. Кисельова К. Є., Шмалько О. О, Вишневська Л. І. Етерна олія як активний фармацевтичний інгредієнт у фармацевтичній розробці. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 247.

15. Кисельова, К. Є., Вишневська Л. І. Біосурфактанти – перспективні субстанції для використання в дерматологічних м'яких лікарських засобів. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : матеріали III міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 24 берез. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 199–200.

16. Кисельова К. Е., Яромій М. В. Використання леспедези в народній і традиційній медицині. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція* : матеріали VI наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16 листоп. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С.232.

17. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедези двоколірної / К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, Л. І. Вишневська. *Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С. 336–342.*

18. Кисельова К. Є. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. *Youth Pharmacy Science*: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. м. Харків, 6–7 груд. 2023 р. Харків: НФаУ, 2023. С.119.

19. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології*: зб. наук. матеріалів III Міжн. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, м. Харків, 24 листоп. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 305–306.

20. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Дослідження протизапальної активності екстрактів леспедези двоколірної. *Індустрія 4.0 : сучасні напрями розвитку фармацевтичної галузі*: зб. наук. матеріалів І Міжнар. наук.-практ. конф. з нагоди 95-річчя І. М. Перцева, м. Харків, 16 трав. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 51–53.

21. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Вивчення антибактеріальної активності емульсійного крему з екстрактами леспедези двоколірної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VI Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 12 квіт. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 106–107.

22. Кисельова К., Вишневська Л. Обґрунтування умов отримання емульсійного крему з екстрактами леспедеці. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали X наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т.А. Грошового. м. Тернопіль, 17–18 жовтня 2024 р. Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 203.

23. Кисельова К., Боднар Л., Вишневська Л. Дослідження властивостей основи крему при введення активних фармацевтичних інгредієнтів. *Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень* : зб. матеріалів І наук.-практ. конф., м. Вінниця, ВНМУ, 03–04 груд. 2024 р. Вінниця : Твори, 2024. С. 18–20.

24. А.с. 126126 Україна. Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів / К.Кисельова, Л. Вишневська № 126126; опубл. 01.05. 2024. (Особистий внесок здобувача – аналіз, узагальнення літературних джерел, формування висновків, участь у написанні наукового твору та оформлення авторського права на твір; Вишневська Л. І. – участь у формуванні цілей та висновків до твору та участь у оформленні авторського права на твір).

ANNOTATION

Kyselova K. E. Development of the composition and technology of a medicinal product in the form of a cream for the treatment of infectious and inflammatory dermatological diseases. – Qualifying scientific work on the rights of a manuscript.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 «Pharmacy, industrial pharmacy» (22 – Health care). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2025.

The dissertation is devoted to scientific research on determining the conditions of obtaining and standardizing liquid alcohol and oil extracts of *Lespedeza*, as well as pharmaceutical development of an emulsion cream based on these extracts for use in pharmacotherapy of infectious and inflammatory skin diseases based on a complex of physicochemical, pharmacotechnological, rheological, biopharmaceutical and biological studies.

The first section analyzes and systematizes the data presented in the literature on the etiopathogenesis and pharmacotherapy of infectious skin diseases. It has been established that the frequent use of antibacterial drugs in dermatological practice exacerbates the problem of antibiotic resistance and demonstrates the prospects for the use of drugs based on medicinal plant raw materials (MPRM) with antibacterial, anti-inflammatory, reparative and antioxidant effects.

Based on the bibliosemantic analysis of scientific literature resources, it is shown that *Lespedeza bicolor* has a wide range of pharmacological activity, which is due to the presence of flavonoids, polyphenolic compounds, phenylpropanoids, steroids, lignans and phenyldilactones. Analysis of literary sources showed that *Lespedeza* extracts have antimicrobial, antifungal, antioxidant, anti-inflammatory, reparative activity, cytotoxic, antidiabetic, antithrombotic effects, which indicates the prospects for using extracts of plants of the genus *Lespedeza M.* as raw materials for the creation of innovative dermatological medicinal products (DMP).

The data from literary sources and the results of our own previous scientific research on the antibacterial activity of essential oils against microorganisms that

provoke the development of dermatological diseases were analyzed and summarized. The generalization of the analysis of scientific literature on the results of previous studies demonstrated the possibility of using essential oils in the treatment of pyoderma, acne, mycoses (trichophytosis, microsporia, onychomycosis, tinea versicolor), seborrheic dermatitis and other infectious skin diseases (ISD).

The second section describes the methodology for conducting scientific research on the development of the composition of an emulsion cream with Lespedeza extracts, which includes a theoretical stage to build a research strategy and implement its planning, and a practical stage – an algorithm for conducting the necessary research to obtain, standardize and study the pharmacological activity of lespedeza bicolor extracts and emulsion cream based on alcohol and oil extracts of Lespedeza. The section provides a description of the selected medicinal plant raw materials and excipients that were used to obtain the extracts and the dermatological product, and describes in detail the methods that were used in conducting the research.

The third section describes the results of substantiation of the conditions for obtaining extracts of Lespedeza bicolor. On the basis of the Department of Analytical and Toxicological Chemistry of the Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania under the leadership of the Head of the Department, Dr. Biomed. S., Prof. Ludas Ivanauskas and Dr. Pharm. S., Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry of the National University of Pharmacy Olga Mykhailenko, the presence of chlorogenic and caffeic acids, rutin and isoquercitrin was established in the aerial part of Lespedeza bicolor by the method of HPLC-analysis. The highest content of chlorogenic acid (1.427 mg / g) and rutin (1.418 mg / g) in the raw material was shown. The pharmacotechnological properties of the aerial part of *Lespedeza bicolor* were studied. The presence of substances of flavonoid structure, phenols, tannins and hydrocarbons was identified by chemical reactions in the extracts; the TLC method established the presence of tannins similar in structure to pyrogallol, polysaccharides similar in structure to fructose, flavonoids, most of which are similar to rutin, and hydroxycinnamic acids, most of which are similar to

chlorogenic acid. The dependence of the yield of biologically active compounds (BAC) from the raw material on the nature of the extractant was studied, it was found that the largest amount of substances of polyphenolic structure (0.83 %) and tannins (0.065 %) is extracted by 40 %, and flavonoids (0.155 %) – by 70 % ethanol.

The optimal conditions for obtaining a liquid extract of lespedeza were determined: extractant – 40% ethyl alcohol, percolation method, with a total DER value of 1:4 with subsequent evaporation to a ratio of raw material: finished product 1:2.

Technological parameters were worked out, a technological scheme for obtaining an intermediate product – lespedeza liquid alcohol extract (LLAE) and a technological instruction (TI) for the production of LLAE were developed.

Experimental studies have shown the possibility of using the meal after obtaining the liquid extract as a raw material for obtaining an oil extract of lespedeza. Extraction of the meal with vegetable oil for 4 hours at an extraction temperature of 45 °C provides a yield of about 90 % of pigments compared to extraction of MPRM. And, despite the lower yield of BAC, complex processing of raw materials can become a priority for the rational use of resources. Technological parameters were worked out, a technological scheme for obtaining an intermediate product – lespedeza oil extract (LOE) and TI for the production of LLOE was developed.

The fourth section presents the results of the study of the physicochemical properties of the intermediate product – LLAE; methods for identification and determination of the quantitative content of marker BAC have been developed. A draft quality control method (QC) has been developed and a specification for LLAO has been drawn up, which includes: description, identification (substances of polyphenolic and flavonoid nature (caffeic, chlorogenic acid, rutin, hyperoside), polysaccharides (glucose), tannins (pyrogallol)), heavy metals, extractive substances (not less than 8%), ethanol, methanol and 2-propanol content, relative density, quantitative determination (flavonoids in terms of rutin, not less than 1.2 mg / 1.0 g, substances of polyphenolic structure in terms of pyrogallol, not less than 3.0 mg / 1.0 g of extract).

A study of the physicochemical properties of the intermediate product – LOE was conducted; methods for identification and quantitative content of BAC were developed. A project of quality control methods was developed and a specification for LOE was drawn up, which includes: description, identification (pigments: carotenoids and chlorophylls), acid number, peroxide number, relative density, quantitative determination (pigments: carotenoids in terms of β -carotene, not less than 0.06 mg / 1.0 g and chlorophylls in terms of α chlorophyll, not less than 0.13 mg / 1.0 g of extract).

Microbiological studies conducted at the I. I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Sciences of Ukraine under the leadership of Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Head of the laboratory of biochemistry and biotechnology Tetyana Osolodchenko, established the presence of significant antimicrobial activity of LLAE and LOE against the test strain *S. aureus* ATCC 25923 and weak activity against the test strains *S. aureus* ATCC 6538-P and *C. albicans* ATCC 885-653 and against clinical isolates *S. aureus* 16, *S. epidermidis* 14, *S. pneumoniae* 14, *S. pyogenes* 2432 and *S. aureus* 124. The presence of pronounced sensitivity of the test strains of *Staphylococcus* microorganisms confirmed the relevance of developing a dermatological cream with extracts of *Lespedeza bicolor*.

The results of the study of anti-inflammatory activity, which were conducted on the basis of the Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy of the National University of Pharmacy under the leadership of Deputy Director for Scientific Work T.K. Yudkevych, showed that under the influence of the studied alcohol and oil extracts of *Lespedeza bicolor* on the burn wound model, there is a decrease in signs of inflammation compared to animals in the control group and the absence of visual signs of the joining of the infectious process.

The fifth section presents the results of experimental studies on substantiation of the composition of the emulsion base of the cream using modern emulsifying mixtures xylanse, prolipid 141 and lamecream. Based on the results of the study of organoleptic, physicochemical, structural and mechanical properties and microscopy

of experimental samples of emulsion bases containing complex emulsifiers of different composition, the composition of the emulsion base of the 1st type was substantiated, containing corn oil 15 %, xylanse – 7 %, propylene glycol – 5 % and purified water – up to 100.0. It was established that the developed base is stable, has satisfactory organoleptic properties, has the necessary structural and mechanical properties, has a pseudoplastic type of flow with a typical yield point and certain thixotropic properties, and the restoration of the structure occurs gradually over time, which will facilitate the implementation of the technological process and satisfactory consumer characteristics. Microscopic analysis of the base demonstrated a uniform distribution of oil dispersed phase particles in the dispersion medium with the majority of phase particles ranging in size from 0.03 to 0.15 μm .

Based on the results of microbiological studies, the introduction of 10 % LLAE and 5 % LOE and 0.1 % ylang-ylang essential oil into the cream composition was justified theoretically and experimentally, which, due to the BAC complex, provide a pronounced antimicrobial effect of the cream against test strains of microorganisms that can provoke or complicate infectious and inflammatory processes of the skin (*S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 885-653). Microbiological studies justified the use of sodium benzoate preservative at a concentration of 0.3 %. A technology of the production of dermatological cream under the conditional name «Lespedin» was developed, critical parameters of the technological process for obtaining the medication were determined, a technological scheme of production, a draft of TR and TI were drawn up; the reproduction of the cream manufacturing process in the conditions of a compounding pharmacy was confirmed.

The sixth section presents the results of the study of organoleptic, physicochemical and pharmacotechnological quality indicators of the developed cream. The qualitative composition of BAC in the cream was investigated by TLC and liquid chromatography, the presence of chlorogenic and caffeic acids, rutin and carotenoids was proven. Methods for the quantitative determination of BAC in the developed drug using the liquid chromatography method were developed and

validated. A specification for the cream «Lespedin» was developed in accordance with the requirements of regulatory documentation: description, pH, homogeneity, identification (pigments, the sum of substances of polyphenolic and flavonoid nature), microbiological purity, quantitative determination (the sum of polyphenols, in terms of pyrogallol – not less than 16.0 mg / 100.0 g, the content of the sum of flavonoids in terms of rutin – not less than 7.0 mg / 100.0 g), the mass of the container contents. The stability of the cream «Lespedin» during storage was studied, the shelf life was experimentally confirmed – 24 months in plastic containers at a temperature not exceeding 25 ° C.

The results of the study of the anti-inflammatory activity of the developed cream on a burn wound model are presented, which showed a decrease in signs of inflammation when using the cream «Lespedin», a faster healing process and the absence of signs of the joining of the infectious process in experimental animals. It was established that the developed cream exceeds the comparison preparations «Panthenol» ointment and «Calendula ointment» in terms of anti-inflammatory activity.

The laboratory technology of intermediate products of lespedeza liquid alcohol extract, lespedeza oil extract and cream «Lespedin» was tested in pharmacies with extemporaneous production of drugs (pharmacy No. 5 PE «Harmony-2000», Chernivtsi, pharmacy No. 80, Slavyansk, pharmacy No. 8 «Leda», Kharkiv). The technological instructions «Extemporaneous production and quality control of lespedeza liquid water-alcohol extract», «Extemporaneous production and quality control of lespedeza oil extract» and «Extemporaneous production and quality control of cream «Lespedin»» were developed and tested in the conditions of pharmacies No. 5 PE «Harmony-2000» and pharmacy No. 80, Slavyansk. The results of the work have been implemented in the compounding activities of a number of compounding pharmacies in Ukraine and the educational and scientific process of a number of pharmaceutical departments of higher education institutions in Ukraine.

Keywords: medicinal plant raw materials, *Lespedeza bicolor*, Lespedeza liquid alcoholic extract, Lespedeza oil extract, extraction, soft dosage forms, emulsion

bases, cream, composition, technology, physicochemical, pharmacotechnological studies, infectious and inflammatory skin diseases.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	23
ВСТУП.....	25
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН ТЕРАПІЇ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ШКІРИ.....	33
1.1 Сучасний стан терапії інфекційних захворювань шкіри.....	33
1.2 Аналіз світового досвіду використання витяжок з леспедези в народній і традиційній медицині	37
1.3 Аналіз використання етерних олій в дерматології.....	41
Висновки до розділу 1.....	49
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ МЕТОДОЛОГІЇ ДОСЛІДЖЕННЯ. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	53
2.1 Загальна концепція розроблення дерматологічного лікарського засобу у формі крему.....	53
2.2 Характеристика лікарської рослинної сировини, допоміжних речовин та проміжних продуктів.....	56
2.3 Методи дослідження.....	62
2.3.1 Фіто-хімічні, фармакогностичні та фармакотехнологічні методи досліджень при отриманні та стандартизації екстрактів леспедези двоколірної.....	62
2.3.2 Фізико-хімічні та фармакотехнологічні методи досліджень при розкобці та стандартизації крему з екстрактами леспедези двоколірної...	75
2.3.3 Біологічні дослідження.....	82
2.3.4 Статистичний аналіз.....	89
Висновки до розділу 2.....	90
РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ З ОБҐРУНТУВАННЯ УМОВ ОТРИМАННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЕКСТРАКТІВ ЛЕСПЕДЕЗИ ДВОКОЛІРНОЇ.....	91
3.1 Дослідження хімічного складу сировини леспедези двоколірної.....	91
3.2 Дослідження технологічних властивостей сировини.....	94

3.3 Обґрунтування вибору екстрагенту для отримання витяжок леспедези двоколірної.....	96
3.3.1 Дослідження складу витяжок леспедези двоколірної залежно від вмісту етанолу в екстрагенті	96
3.3.2 Оптимізація умов отримання леспедези двоколірної екстракту спиртового рідкого.....	104
3.4 Отримання олійного екстракту леспедези двоколірної.....	111
Висновки до розділу 3.....	118
РОЗДІЛ 4 СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЕКСТРАКТІВ ЛЕСПЕДЕЗИ ДВОКОЛІРНОЇ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	120
4.1 Розроблення методик ідентифікації, кількісного визначення біологічно активних сполук і стандартизація екстрактів леспедези.....	120
4.1.1 Розроблення методик ідентифікації леспедези екстракту рідкого.....	120
4.1.2 Розроблення методики кількісного визначення біологічно активних сполук леспедези екстракту рідкого.....	122
4.1.3 Стандартизація леспедези екстракту рідкого.....	126
4.2 Розроблення методик ідентифікації і кількісного визначення біологічно активних сполук та стандартизація леспедези екстракту олійного.....	128
4.2.1 Розроблення методик ідентифікації і кількісного визначення біологічно активних сполук леспедези екстракту олійного.....	129
4.2.2 Стандартизація леспедези екстракту олійного.....	133
4.3 Обговорення результатів біологічної активності екстрактів леспедези двоколірної.....	137
4.3.1 Дослідження антибактеріальної активності екстрактів леспедези двоколірної.....	137
4.3.2 Дослідження протизапальної активності екстрактів леспедези двоколірної.....	140
Висновки до розділу 4.....	143

РОЗДІЛ 5. РОЗРОБЛЕННЯ СКЛАДУ І ТЕХНОЛОГІЇ КРЕМУ З ЕКС-

ТРАКТАМИ ЛЕСПЕДЕЗИ ДВОКОЛІРНОЇ.....	146
5.1 Розроблення складу крему з екстрактами леспедези.....	146
5.1.1 Обґрунтування вибору складу основи крему.....	146
5.1.2 Обґрунтування концентрації діючих речовин у складі крему...	157
5.1.3 Обґрунтування вибору консерванта до складу крему.....	161
5.2 Обґрунтування технології крему.....	166
Висновки до розділу 5.....	175
РОЗДІЛ 6 ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРЕМУ І ОБГОВО-	
РЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	179
6.1 Розроблення методів контролю якості крему і його стандартизація..	179
6.1.1 Розроблення методик ідентифікації і кількісного визначення	
основних біологічно активних сполук у кремі.....	179
6.1.2 Стандартизація крему «Леспедин».....	186
6.2 Обговорення результатів дослідження протизапальної активності	
крему.....	189
Висновки до розділу 6.....	193
ВИСНОВКИ.....	195
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	198
ДОДАТКИ.....	214

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

БАР – біологічно активна речовина

БАС – біологічно активна сполука

ВЕТШХ – високоефективна тонкошарова хроматографія

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ДР – допоміжна речовина

ДЕЦ МОЗ – Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я

ДЗ – дерматологічні захворювання

ДЛЗ – дерматологічний лікарський засіб

ДМЛЗ – дерматологічний м'який лікарський засіб

ДХ – дерматологічні хвороби

ДСТУ – Державний стандарт України

ДУ – Державна установа

ДФУ – Державна фармакопея України

ІДЗ – інфекційні дерматологічні захворювання

ІЗЗШ – інфекційно-запальні захворювання шкіри

ІЗШ – інфекційні захворювання шкіри

ЕЛД – екстракти леспедези двоколірної

ЕО – етерна олія

ЄФ – Європейська фармакопея

КМУ – Кабінет Міністрів України

КУО – колонієутворювальні одиниці

КЧ – кислотне число

ЛВ – ліпофільна витяжка

ЛЕО – леспедези екстракту олійного

ЛЕРС – леспедези екстракту рідкого спиртового

ЛЗ – лікарський засіб

ЛП — лікарський препарат

ЛР – лікарська речовина

ЛРС – лікарська рослинна сировина
ЛФ – лікарська форма
МКЯ – методи контролю якості
МЛЗ – м'який лікарський засіб
МЛФ – м'яка лікарська форма
МОЗ – Міністерство охорони здоров'я
МПА – м'ясо-пептонний агар
НД – нормативна документація
ННПФ – Навчально-науковий інститут прикладної фармації
НЧЛД – надземна частина леспедези двоколірної
НФаУ – Національний фармацевтичний університет
ОЕ – олійний екстракт
ПАТ – приватне акціонерне товариство
ПГ – пропіленгліколь
ПП – препарат порівняння
ПЧ – перекисне число
ТІ – технологічна інструкція
ТОВ – товариство з обмеженою відповідальністю
ТР – технологічний регламент
ТУУ – технічні умови України
ТШХ – тонкошарова хроматографія
ВР – Британська фармакопея
FDA – Управління з продовольства і медикаментів США
INCI – Міжнародна номенклатура косметичних інгредієнтів
PhEur – Європейська фармакопея
USP – Фармакопея США
JP – Фармакопея Японії

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Проблема терапії дерматологічних захворювань (ДЗ) є однією з найбільш пріоритетних серед усіх проблем здоров'я суспільства. Це зумовлено значним впливом захворювань шкіри на психологічний стан пацієнтів та погіршенням якості їх життя, а також значною поширеністю хвороб шкіри в усьому світі. Інфекційні захворювання шкіри (ІЗШ) залишаються однією з п'яти найчастіших причин звернення до лікаря і вважаються найбільш поширеними з усіх інфекційних захворювань. Підходи до лікування дерматологічних хвороб (ДХ) залежать від етіології, патогенезу, ступеню тяжкості, характеру перебігу захворювання і характеризуються використанням засобів місцевої та системної терапії.

Асортимент місцевих лікарських засобів для лікування ІЗШ є досить широким та містить препарати різноманітних фармакотерапевтичних груп, серед яких: антибактеріальні препарати, і в першу чергу антибіотики, антисептики, протигрибкові засоби, глюкокортикостероїди, протисвербіжні засоби та ін. Переважна більшість препаратів є засобами синтетичного походження, що мають низку недоліків (виникнення антибіотикорезистентності, високий ризик виникнення алергічних реакцій, порушення мікробіому шкіри та ін.).

Актуальною проблемою не тільки дерматології, а й сучасної науки в цілому, є прогресування резистентності мікроорганізмів до протимікробних засобів. Часте застосування антибактеріальних препаратів у дерматологічній практиці для лікування піодермій або інших ДХ ускладнених бактеріальною інфекцією, загострює проблему антибіотикорезистентності, можливих небажаних реакцій, призводить до виникнення стійкості бактерій, наслідком чого може бути відсутність бажаного результату від терапії та хронізація патологічного процесу.

Перспективним є пошук нових джерел БАС та створення на їх основі АФІ рослинного походження для дерматологічних лікарських засобів (ДЛЗ) завдяки таким перевагам як комплексна дія, менша кількість побічних реакцій у порівнянні з синтетичними лікарськими речовинами. Лікування фітопрепаратами

може бути дієвим підходом у боротьбі з проблемою антибіотикорезистентності та альтернативою нерационального застосування антибіотиків при лікуванні ДЗ спричинених, або ускладнених мікроорганізмами.

З огляду на вищезазначене, важливим напрямом досліджень є розширення асортименту діючих речовин природного походження з широким спектром фармакологічної активності, і в першу чергу такої, як антибактеріальна, протигрибкова, противірусна, протизапальна, репаративна, антиоксидантна, завдяки яким вони можуть ефективно використовуватися під час лікування ДХ, а також розроблення інноваційних, ефективних та безпечних препаратів вітчизняного виробництва.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт НФаУ «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (№ державної реєстрації НДР 0114U000945) і «Розробка і удосконалення складу та технології екстемпоральних лікарських засобів» (№ державної реєстрації НДР: 0114U000947) і проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – розроблення науково обґрунтованого складу, технології і дослідження емульсійного крему для профілактики і терапії інфекційно-запальних захворювань шкіри з екстрактами *Lespedeza* двоколірної.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані літературних джерел щодо розповсюдженості і сучасних підходів до фармакотерапії інфекційно-запальних дерматологічних захворювань;
- проаналізувати стан наукових досліджень щодо отримання екстрактів і підтвердження фармакологічної активності витяжок з рослин роду *Lespedeza M.*, а також досвіду їх використання у фармації і медицині;
- узагальнити сучасний стан використання етерних олій з антимікробною дією в дерматології та інших галузях медицини;

- теоретично та експериментально обґрунтувати умови екстрагування надземної частини леспедези двоколірної;
- теоретично та експериментально обґрунтувати склад і технологію виготовлення емульсійного крему з екстрактами леспедези двоколірної;
- провести фізико-хімічні, фармакотехнологічні, мікробіологічні дослідження леспедези екстракту рідкого і леспедези екстракту олійного та емульсійного крему з отриманими екстрактами під умовною назвою «Леспедин»; розробити проєкти МКЯ та встановити умови зберігання і терміни їх придатності;
- здійснити апробацію опрацьованої технології отримання екстрактів і крему емульсійного на підставі розроблених нормативних документів: технологічних інструкцій, проєктів технологічних регламентів та МКЯ;
- проаналізувати та узагальнити результати біологічних досліджень екстрактів леспедези двоколірної і розробленого крему з екстрактами леспедези двоколірної.

Об'єкти дослідження: технологія рослинних екстрактів й фармацевтична розробка на їх основі лікарського препарату у формі емульсійного крему антибактеріальної та протизапальної дії.

Предмет дослідження: теоретичне та експериментальне обґрунтування складу, технології, методик контролю якості ЛЕРС і ЛЕО та крему емульсійного на їх основі; дослідження їх фізико-хімічних, мікроскопічних, структурно-механічних і фармакологічних властивостей; обґрунтування терміну придатності; розроблення проєктів технологічних регламентів та МКЯ; розроблення технологічних інструкцій на проміжні продукти і лікарський препарат.

Методи дослідження. Для вирішення поставлених у роботі завдань були застосовані аналітичний, логічний методи, метод порівняння та системного аналізу, узагальнення даних (використано матеріали наукових баз даних (Scopus, PubMed, Web of Science, Google Scholar), методи маркетингового аналізу, загальноприйняті органолептичні (зовнішній вигляд, колір, запах, однорідність тощо), фізичні і фізико-хімічні (потенціометричне визначення рН експе-

риментальних зразків, ТШХ, ВЕТШХ, спектрофотометрія, рідинна хроматографія), реологічні (структурна в'язкість, напруга і швидкість зсуву, тиксотропні властивості), біофармацевтичні (вивільнення діючих речовин *in vitro*), фармакотехнологічні (технологічні властивості ЛРС, термо- і колоїдна стабільність, мікроскопія, маса вмісту контейнера), мікробіологічні (визначення концентрації АФІ, ефективності антимікробних консервантів, мікробіологічної чистоти), фармакологічні (визначення протизапальної активності) і математичні (планування та статистичне оброблення результатів з використанням програм Statistica (StatSoft, USA) та Excel (Microsoft, USA)) методи дослідження, які дозволяють здійснювати об'єктивну оцінку якісних характеристик проміжних продуктів і ЛЗ на підставі експериментально отриманих та статистично оброблених результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше досліджено та обґрунтовано умови одержання екстрактів надземної частини леспедези двоколірної. Вивчено залежність екстрагування основних груп БАС від природи екстрагенту і умов екстракції. Уперше показано можливість комплексної переробки сировини та отримання олійного екстракту зі шроту леспедези двоколірної після екстрагування 40 % етанолом. Уперше обґрунтовано склад емульсійної основи з сучасними емульгаторами ксильянс, ламекрем та використано олійний і спиртовий екстракти леспедези двоколірної, що стало інноваційним підходом до розробки м'якого лікарського засобу на емульсійній основі й надало можливість максимально використати потенціал ЛРС, яка містить різні класи БАС, і відповідно володіє необхідними фармакологічними ефектами.

Уперше з використанням сучасних методів досліджень всебічно вивчено фізико-хімічні, фармакотехнологічні, біофармацевтичні, фармакологічні й мікробіологічні властивості отриманих екстрактів та розробленого крему та запропоновано методики їх стандартизації. Означені положення наукової новизни підтверджені патентом на корисну модель 157621 «Спосіб одержання засобу для лікування інфекційно-запальних уражень шкіри у формі емульсійного крему» та свідоцтвом про авторське право на твір: свідоцтво про реєстрацію автор-

ського права на науковий твір АС 126126 «Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів» (додаток Б).

Практичне значення отриманих результатів. На підставі проведених досліджень розроблено та запропоновано для практичної фармації активні фармацевтичні інгредієнти – ЛЕРС і ЛЕО із надземної частини леспедези двоколірної з протизапальною та антимікробною активністю; розроблено ЛЗ у формі крему на емульсійній основі з розробленими і стандартизованими екстрактами та олією іланг-ілангу з підтвердженою протимікробною та протизапальною дією для профілактики і терапії інфекційно-запальних захворювань шкіри. Розроблено проекти МКЯ, технологічних регламентів і ТІ на виробництво ЛЕРС і ЛЕО та крему «Леспедин» (додаток В), які апробовано в умовах низки виробничих аптек: аптеки № 80 (м. Слов'янськ), аптеки № 5 «Гармонія-2000» (м. Чернівці) і аптеки Леда (м. Харків) (акти впровадження у додатку Г).

Окремі фрагменти роботи упроваджені в освітньо-науковий процес: кафедр аптечної технології ліків, промислової технології ліків та косметичних засобів НФаУ (м. Харків); кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (м. Київ), кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри фармації, фармакології, медичної, біоорганічної та біологічної хімії Чорноморського національного університету імені Петра Могили (додаток Д).

Особистий внесок здобувача. Безпосередньо здобувачкою проведено узагальнення даних наукових джерел літератури щодо сучасного стану фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань а шкіри. Проведено бібліосемантичний аналіз наукових досліджень щодо хімічного складу, фармакологічної активності та використання в медицині рослин роду *Lespedeza M.*, фармакологічних ефектів і використання етерних олій, а також асортименту ЛЗ, що містять вилучення з леспедези і етерні олії. Здобувачкою особисто проведено експери-

ментальні дослідження з визначення технологічних властивостей сировини, вивчення фізико-хімічних і фармакотехнологічних властивостей ЛЕРС і ЛЕО та крему з ними. Узагальнено результати експериментальних досліджень з вивчення специфічної активності отриманих проміжних продуктів ЛЕРС і ЛЕО і розробленого крему. Відпрацьовано методики якісного та кількісного аналізу БАС в екстрактах і МЛЗ, та методики, що включено до проєктів МКЯ. Розроблено проєкти технологічних регламентів і ТІ на виробництво ЛЕРС і ЛЕО і крему «Леспедин».

Сировину леспедези двоколірної заготовляли в Ботанічному саду ЛНУ ім. Івана Франка (Львів, Україна), зразки ідентифіковані ст.н.сп. М. І. Скібіцькою. Ідентифікацію та кількісне визначення компонентів сировини проведено на базі кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Литовського університету наук здоров'я, Каунас, Литва під керівництвом д. фарм. наук, доцентки кафедри фармацевтичної хімії НФаУ, О. О. Михайленко та д. біомедичних наук, професора, завідувача кафедри Людаса Іванаускаса. Дослідження фармакологічної активності екстрактів леспедези і крему виконано на базі ННІПФ НФаУ під керівництвом заст. директора з наукової роботи Т. К. Юдкевич. Мікробіологічні дослідження виконано на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України» під керівництвом канд. біол. наук, ст. наук. співроб., завідувачки лабораторії біохімії та біотехнології Т. П. Осолодченко.

Результати проведених досліджень статистично оброблені, систематизовані та опрацьовані. Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантці належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Постанова мети, завдань та шляхів їх реалізації, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

У всіх наукових працях, що були опубліковані у фахових наукових виданнях у співавторстві з Вишневською Л. І., Бевз Н. Ю., Михайленко О. О., Осолодченко Т. П., Юдкевич Т. К., Боднар Л. А., Георгіянц В. А., Скибітською М. І., Іванаускас Л., Кухтенко О. С., Яромій М. В., Ковальовою Т. М., Олійник

С.В.) дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Усі наукові узагальнення, положення, результати, висновки, рекомендації, які викладені у дисертації, виконані автором особисто.

Апробація матеріалів дисертації. Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на конференціях різного рівня: II, III і IV Міжнародних науково-практичних інтернет-конференціях «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (м. Харків, 2017, 2018, 2019); III, IV Міжнародній науково-практичній дистанційній конференції «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (м. Харків, 2019, 2020); II науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Підготовка спеціалістів фармації в рамках концепції «Навчання протягом життя (Life Long Learning)»: наука, освіта, практика» (м. Харків, 2020 р.); XII науково-практичній internet-конференції, «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (м. Харків, 2020 р.); III міжнародній науково-практичній internet-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (м. Харків, 2023 р.); VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, 2023 р.); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Youth Pharmacy Science», (м. Харків, 2023 р.); III Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології», (м. Харків, 2023 р.); I Міжнародній науково-практичній конференції з нагоди 95-річчя І.М. Перцева Індустрія 4.0 : сучасні напрями розвитку фармацевтичної галузі: збірник наукових матеріалів, (м. Харків, 2024 р.); VI Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження», (м. Харків, 2024 р.); X науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра

фарм. наук, проф. Т. А. Грошового «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів», (2024 р. Тернопіль); І науково-практичній конференції «Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень» (м. Вінниця, 2024 р.).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 237 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 47 таблицями, 49 рисунками. Список використаної літератури містить 156 джерел, з них 73 кирилицею та 83 латиницею.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ТЕРАПІЇ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

ШКІРИ

(Огляд літератури)

1.1 Сучасний стан терапія інфекційних захворювань шкіри

Інфекційні хвороби шкіри є найбільш поширеними з усіх інфекційних захворювань [13, 80, 90, 136, 139]. Деякими прикладами захворювань інфекційної етіології є карбункули, фурункули, імпетиго (*S. aureus*), фолікуліт (*S. aureus*, *P. aeruginosa*), дерматомікози (*Microsporum spp.*, *Epidermophyton spp.*, *Trichophyton spp.*), акне (*P. acne*, *S. epidermidis*), герпетичні ураження (*H. simplex*), кандидози, ангулярний хейліт, баланіт (*C. albicans*), себореїчний дерматит, різнобарвний лишай (*M. furfur*), сикоз, стрептостафілодермія та ін. [13]. Дерматози неінфекційної природи (алергодерматози, розацеа, екзема, псоріаз) можуть ускладнюватися бактеріальною або грибковою інфекцією, що вимагає додаткової етіотропної терапії [13, 93, 132, 139].

Згідно Міжнародної класифікації хвороб (МКХ-10) дерматологічні захворювання відносяться до класу XII. Хвороби шкіри та підшкірної клітковини (L00-L99), які класифікуються на (L00-L08) інфекційні хвороби шкіри та підшкірної клітковини; (L10-L14) бульозні порушення; (L20-L30) дерматит та екзема; (L40-L45) папулосквамозні порушення; (L50-L54) кропивниця та еритема; (L55-L59) ураження шкіри та підшкірної клітковини, пов'язані з опромінюванням, (L60-L75) ураження придатків шкіри; (L80-L99) інші хвороби шкіри та підшкірної клітковини [37].

Для дослідження нами обрано групу (L00-L08) Інфекційні хвороби шкіри та підшкірної клітковини, яка включає:

(L00) Синдром стафілококового опіку шкіри

(L02) Абсцес шкіри, фурункул та карбункул

(L08) Інші локальні інфекційні ураження шкіри та підшкірної клітковини

(L08.0) Піодермія

Піодермія – одне з найпоширеніших захворювань шкіри. Піодермія не є конкретною хворобою, цей термін поєднує гнійничкові ураження шкіри, які спричинені різними чинниками, що порушують мікрофлору епідермісу [13].

Головні причини піодермії пов'язані з інфікуванням поверхні шкіри бактеріями коків (стафілококи та стрептококи) [13, 90, 92].

Серед основних причин потрапляння, накопичення та розростання цих видів бактерій на шкірі є травми шкіри; спосіб життя та ігнорування правил гігієни тіла; порушення з боку травної системи; реакція на лікарські засоби; гормональні захворювання, і насамперед цукровий діабет; зниження імунітету; наявність хронічних захворювань [13].

Залежно від збудника, причин інфікування та характеру проявів, ділянки ураження тіла, піодермія ділиться на декілька груп [13]:

- стафілодермія: сікоз, фолікуліт, остіофолікуліт, везикулопустульоз, фурункул, карбункул, псевдофурункульоз, піококовий пемфігус, стафілококовий гідраденіт, тощо;
- стрептодермія: паронхія, целюліт, інтертригінозна, дифузна, папуло-ерозивна, імпетиго, бешиха, ектима;
- стрепто-стафілодермія: стрепто-стафілококове імпетиго.

Перше місце серед усіх захворювань шкіри посідають стафілококові ураження [90, 136]. У розвинених країнах це близько 20–25 %, а в регіонах, що розвиваються, частота стафілококових піодермій становить близько 70 % від загальної кількості дерматозів. У дітей найчастіше піодермія проявляється у вигляді масових абсцесів із бульбашками, схожими на дрібні опіки. Під час важких форм спостерігається лихоманка та підвищення температури. Не вчасне лікування піодермія може спричинити запалення лімфовузлів, сепсис, менінгіт. Піодермія у дорослих виникає рідше, але також може викликати ускладнення.

Більшість дерматитів, спровокованих стафілококом зазвичай проявляються у вигляді гнійно-запального процесу шкіри [13, 88, 90, 136, 139]. Патологічний процес найчастіше виникає на місцях незначних подразнень шкіри (тертя,

мацерації через підвищену пітливість), мікротравм (мікротравми від гоління, укуси комах, розчоси, уколи). До поширених чинників, що провокують стафілодермії, також відносяться: переохолодження та перегрів організму; забруднення пилом (цемент, вугілля) і нафтопродуктами (паливо, мастила та інші технічні рідини) [13].

Симптоматика захворювання залежить від локалізації ураження та реакції організму на патогенні мікроорганізми й вироблені ними токсини. У практиці дерматолога частіше зустрічаються такі форми стафілококових уражень, як фурункул, карбункул, фолікуліт, остіофолікуліт, гідраденіт, стафілококовий сикоз [13, 88, 139, 147].

Піодермія може бути викликана різними бактеріями на різних ділянках тіла, тому й симптоми можуть проявлятися по-різному: бульбашки на тілі дітей при епідемічній пухирчатці; висипання на бороді, вусах та в зоні статевих органів у чоловіків при сикозі; біль у місці гнійного висипання при фолікуліті; піодермія на голові та кінцівках у вигляді дрібних висипань, які висихають і згодом відлущуються у вигляді скоринки; запалення та нагноєння в волосяних фолікулах при фурункулі та карбункулі [13, 88, 139, 147].

До загальних симптомів відносяться підвищення температури, свербіж уражених ділянок і лущення, запалення лімфовузлів та погіршення загального стану пацієнта.

Незважаючи на те, що ці захворювання викликані одним мікроорганізмом, клінічна картина різних стафілодермій має певні відмінності.

Розрізняють наступні клініко-морфологічні форми – поверхневу, глибоку і дитячу. Поверхнева форма включає різновиди фолікуліту (глибокий і поверхневий), остіофолікуліт, вульгарний сикоз (який зустрічається виключно у чоловіків). Глибока форма включає карбункули, фурункули, стафілококовий гідраденіт. Найпоширенішою формою піодермії серед дітей є епідемічна пухирчатка новонароджених [137].

Діагноз ставиться на підставі комплексної діагностики, яка включає опитування (збір анамнезу), візуального огляду (у тому числі і з використанням де-

рматоскопом) та мікробіологічного дослідження вмісту гнійного матеріалу. За необхідності додатково призначається загальний аналіз крові [13, 88].

За результатами діагностики, визначення типу мікрофлори та її чутливості призначається терапія. При гострих, поверхневих та обмежених формах піодермій (остіофолікуліти, фолікуліти, імпетиги) пацієнтам рекомендовано застосовування антибактеріальних засобів топічної дії [13, 90, 139, 147]. А саме антибактеріальних препаратів, які містять, наприклад, антибіотик мупіроцин (препарати «Бактробан», «Бактопик», «Бактіаліс», «Бонтерм») або фузидієву кислоту (препарати «Фузікутан», «Фузідерм») та ін. [13, 38]. При резистенції мікроорганізмів, як альтернативу антибіотикам призначають ЛЗ, що містять антисептики, такі як повідон йод або хлоргексидин й інші [13, 26, 55, 89, 90, 92, 99, 139, 147]. Також призначаються засоби та комплекс заходів, спрямованих на підвищення імунітету, а також на лікування супутніх захворювань, що спровокували виникнення піодермії. В деяких випадках застосовують фізіотерапевтичні процедури [13, 58].

Під час легких форм піодермій системні антибактеріальні засоби не призначають. Системні антибактеріальні препарати призначають лише у випадку поширеного характеру з проявами інтоксикації та за відсутності терапевтичного ефекту від застосування антибактеріальних засобів місцевої дії. Системну антибактеріальну терапію призначають також під час глибоких та хронічних форм піодермій (фурункульоз, фурункул, гідраденіт, ектима, хронічна виразкова піодермія та ін.): під час гострих форм – антибактеріальні препарати широкого спектру дії, а хронічній – згідно результатів антибіотикограми, виділених із пустульозної висипки штамів піококів [13, 139, 147].

Альтернативою антибіотикам і антибактеріальним ЛЗ є препарати, що містять витяжки з ЛРС [59, 76, 105]. Перспектива використання засобів рослинного походження в складі дерматологічних засобів обумовлена їх комплексною дією, відсутністю резистентності, меншою кількістю побічних реакцій у порівнянні з препаратами, що містять синтетичні АФІ. Лікування інфекційних захворювань шкіри фітозасобами може бути ефективним підходом через антибіоти-

корезистентність а також як альтернатива нерационального застосування антибіотиків [59, 76, 105].

1.2 Аналіз світового досвіду використання витяжок з леспедези в народній і традиційній медицині

Одним із джерел отримання АФІ для використання в дерматології є рослини роду леспедеза *Lespedeza Michx.* Витяжки леспедези володіють низкою фармакологічних ефектів необхідних для ефективного лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань, а саме антибактеріальним [79, 80, 130], протигрибковим [79], протизапальним [84], антиоксидантним [80, 85, 86, 118, 138].

Леспедеза (*Lespedeza Michx.*) – це рід рослин сімейства бобових (*Fabaceae*), який включає близько 60 видів. Багаторічні трав'янисті рослини розповсюджені у різних регіонах світу. Більшість видів леспедези зустрічаються в Східній та Південній Азії, де представлені у дикій природі, а також культивуються. Певні види леспедези зустрічаються у Південній Європі, Північній та Південній Америці та Австралії. Наприклад, леспедеза повзуча розповсюджена в Азія, Європі та Північній Африці; леспедеза даїшна – в Південній Європі та Північно-Західній Африці; леспедеза персиколісна – в Центральній Азії; леспедеза американська – в Північній Америці [40].

Леспедеза поширена в різних екологічних системах: луках, узліссях лісів і доріг. Оптимальний клімат для леспедези це субтропічний і помірний, але рослина здатна рости і в холодних регіонах.

За фіто-хімічним складом леспедеза є багатим джерелом різних хімічних сполук, таких як флавоноїди (до 2,6 %) – кверцетин, кемпферол, рутин, орієнтин, вітексин, гомоорієнтин, сапонаретин, леспедин, біокверцетин, фенольні сполуки, фенілпропаноїди, стероїди, лігнани, фенілділактони, фенолкарбонові кислоти, мікроелементи тощо [40, 94, 121, 124, 135, 154].

В якості сировини для отримання екстрактів та дослідження фармакологічної активності використовується уся наземна частина, стебла, кора кореня, квіти з яких отримують етанольні, метанольні та водні витяжки [40, 101, 118, 121, 130, 138].

Аналіз літературних джерел показав зацікавленість науковців у дослідженні хімічного складу та фармакологічної активності леспедези двоколірної (*Lespedeza bicolor Turcz.*). Леспедеза двоколірна є одним з 58 видів леспедези і володіє різноманітним хімічним складом і відповідно широким спектром фармакологічної активності. Встановлено, що леспедеза двоколірна володіє протипухлинною, антиоксидантною, протизапальною і протимікробною активністю, обумовленою наявністю флавоноїдів і речовин поліфенольної будови [40, 84, 87, 98, 119, 120, 135, 150]. Поліфенольні сполуки, що виділені з кори рослини *L. bicolor*, вибірково інгібують стійкий до ліків рак простати людини в пробірці [138].

Рослина часто використовується в народній медицині для виведення токсинів, поповнення запасів енергії та регулювання різних симптомів діабету, що побудило дослідників встановити, що *L. bicolor* відновлює метаболічну дисфункцію та глюкотоксичність при діабетичній нефропатії, зменшуючи окислювальний стрес, запалення та пошкодження нирок [98, 119, 150].

Фармакологічні дослідження свідчать, що метанольний екстракт *L. bicolor* володіє протизапальною, антиоксидантною активністю та має інгібіторну дію на тирозиназу, і його можна використовувати для лікування постзапальної пігментації шляхом інгібування патогенного процесу, пов'язаного з гіперпігментацією [120].

Оскільки до складу *L. bicolor* входить сума БАС, які різняться за хімічною будовою та можуть діяти як синергічно, так і антагоністично, необхідно визначити потенційні складові екстрактів, отриманих з використанням різних екстрагентів, у тому числі і рослинних олій.

Окрім леспедези двоколірної досліджувалися такі види, як леспедеза багаторічна (*L. cuneata*) [77, 79, 80, 94, 118, 125], леспедези головчастої (*L.*

capitata) [40], леспедеза гомобола (*L.homoloba*) [85, 86], леспедеза копієчникова (*L.juncea*) та деякі інші [40].

Екстракт стебла і листя леспедези головчастої містить флавоноїди, у т.ч. флавоноли — рутин; флавони, катехіни та інші БАС. Комплекс БАС збільшує діурез, зменшує азотемію, підвищує виділення натрію і меншою мірою калію; сприяє збільшенню ниркової фільтрації, прискорює виведення азотистих шлаків із сечею. На основі витяжок з цих видів рослин на фармацевтичному ринку України є низка лікарських засобів, які зареєстровані як гіпоазотемічний і діуретичний засіб для симптоматичної терапії при хронічній нирковій недостатності і відносяться до групи G04BX Інші засоби, що застосовуються в урології згідно АТС класифікації [11, 12, 38]. А саме, препарати «Леспенефрил-Лубнифарм», виробництва АТ «Лубнифарм» та «Леспенефрил», виробництва АТ «Лубнифарм» за замовленням «Сумифітофармація» — засіб, що застосовуються в урології. Розчин для перорального застосування, спиртовий по 100 мл у флаконах (1 мл розчину містить екстракту пагонів леспедези двоколірної (*Lespedeza bicolor*) (1 : 4–5) — 0,9 мл (екстрагент — етанол 70 % (об/об), анісову олію та воду очищену [11, 12, 38]. Препарат рекомендується застосовувати дорослим як гіпоазотемічний і діуретичний засіб для симптоматичної терапії при хронічній нирковій недостатності.

Протипоказаннями є захворювання печінки, епілепсія, черепно-мозкові травми, захворювання головного мозку, алкоголізм, вагітність, період годування груддю, вік до 18 років, підвищена індивідуальна чутливість до компонентів лікарського засобу [38].

Низка препаратів, які містять вилучення з леспедези відносяться до дієтичних добавок, які сприяють нормалізації функціонального стану нирок. А саме: Дієтичні добавки. 10.1. Дієтичні добавки, що покращують функцію сечовивідної системи і з сечогінним ефектом. «Леспенефрон», капсули № 30, виробник, ТОВ «Органік Хелс», Україна. 1 капсула 400 мг містить леспедези головчастої стебла та листя екстракт (*L. capitata*) — 350 мг, допоміжні речовини: мікрокристалічна целюлоза, стеарат кальцію, оболонка капсули: желатин. Групи 10.5. Ді-

єтичні добавки, що сприяють розчиненню і уповільнюють утворення каменів в сечовивідній системі: «Леспефлофит», капсули № 30, виробник ТОВ «Аптека 283», Україна. 1 капсула 250,0 мг: екстракт леспедези головчатої – 200,0 мг; допоміжні речовини: лактоза, стеарат кальцію, оксид кремнію, оболонка капсули: желатин [38].

Низка засобів відносяться до групи 10.3. Дієтичні добавки для підтримки функції і зниження ризику загострень запальних захворювань сечостатевої системи: «Лібера», капсули № 30, виробник «Біхелс, ALG Pharma», Україна, Польща. Склад: 1 капсула 400 мг містить екстракт стебла і листя Леспедези головчатої (*L. capitata*), порошкоподібний — 300 мг. Допоміжні речовини: наповнювач: мальтодекстрин; оболонка капсули: желатин.

Низка препаратів містить суміш витяжок з різних видів ЛРС. Наприклад: «Нефродез», екстракт-концентрат (суміш екстрактів-концентратів леспедези, кропиви, журавлини, нагідок), краплі 50 мл, виробник «Медагропром ТОВ», Україна. «Леспераза», капсули, виробник ТОВ «Бовіос Фарм», Україна, 1 капсула 450 мг містить: екстракт леспедези головчатої (*Lespedeza L.*) 300 мг, екстракт ортосифону тичинкового (*Orthosiphon L.*) – 100 мг; допоміжні речовини: діоксид кремнію аморфний, мікрокристалічна целюлоза, кальцію стеарат, кальцію карбонат, натрію кроскармелоза; оболонка капсули: желатин [38].

Завдяки різноманітному складу та лікувальним властивостям, леспедеза широко застосовується в офіційній, народній і нетрадиційній медицині. В народній медицині леспедеза застосовується як протизапальний, противірусний, гіпоазотемічний, імуномодулювальний, діуретичний, гіпотензивну, антистресовий, знеболювальний та протипухлинний засіб. Для нашкірного застосування вилучення леспедези використовуються при оперізуючому та простому пухирчастому лишаї, проявах герпетичної інфекції, а також під час лікування дерматитів.

Існує противірусний препарат «Холепін», що містить сухий очищений екстракт (сумарний продукт флавоноїдної природи) на основі сухого екстракту трави леспедези копіїчкової. Препарат випускається у формі таблеток та 1 та

5 % мазі, яка застосовується зовнішньо при лікуванні отитів, ринітів, аденовірусних кон'юнктивітів, епідемічних кератокон'юнктивітів, оперізувального лишая та герпесу. Препарат володіє противірусною активністю відносно ДНК-вірусів групи герпесу, антимікробною і імуностимулювальною активністю [38].

Отже, аналіз літературних джерел продемонстрував широкий спектр терапевтичної дії витяжок леспедези, обумовленої різноманітним хімічним складом. Підтверджена науковими дослідженнями антиоксидантна, протизапальна, антибактеріальна, репаративна дії леспедези свідчить про перспективи подальшого дослідження витяжок леспедези для використання як АФІ у дерматологічних ЛЗ.

1.3 Аналіз використання етерних олій в дерматології

Одним з важливих компонентів лікарських рослин є етерні олії (ЕО), які виявляють різноманітні фармакологічні ефекти, завдяки багатому вмісту БАС. У літературі згадується велика кількість ЕО для дерматологічного застосування, більшість з яких рекомендована при хворобах інфекційної та грибкової етіології, для лікування запальних захворювань шкіри, таких як мікози, піодермії, акне, а також для догляду за шкірою (зморшки, шрами та ін.) [4, 24, 34, 35, 76, 73, 94, 102, 107, 127, 141].

На даному етапі роботи з метою теоретичного обґрунтування складу засобу, що розробляється, нами проаналізовано використання етерних олій у складі лікарських препаратів для терапії дерматологічних захворювань [127].

Аналіз наукових джерел показав, що клінічно досліджені етерні олії можуть бути рекомендовані у терапії дерматологічних захворювань [127]. Наприклад, у 2012 р. G. Matiz, M. R. Osorio та ін. досліджували етерні олії апельсину солодкого (*C. sinenses*) та базиліку звичайного (*O. basilicum*) на пацієнтах з акне у складі гелю в комбінації з оцтовою кислотою. Поєднання етерних олій та кератолітичного агента призвело до прискорення швидкості зникнення уражень у 75 % пацієнтів [101].

Відомою і підтвердженою низкою досліджень є фармакологічна дія ЕО чайного дерева. Згідно даних ЕМА (Європейське агентство лікарських засобів) від 2017 р., олію чайного дерева можна використовувати в складі засобів для лікування невеликих поверхневих ран, укусів комах та дрібних фурункулів, для полегшення свербіння та подразнення при мікозах стоп. Оцінку етерній олії було дано з урахуванням даних клінічних досліджень, в яких брали участь пацієнти з акне, мікозом стоп та поверхневими ранами. Крім того, у традиційній медицині етерна олія чайного дерева безпечно використовувалася протягом щонайменше 30 років [103].

Етерні олії чебрецю звичайного, чайного дерева, полину гіркого, корици цейлонського, базиліку звичайного, розмарину лікарського, материнки звичайної, гвоздичного дерева, фенхелю звичайного показали активність щодо *M. furfur* у дослідженнях *in vitro* (Donato та ін., 2020) [81]. Е. Carmo та ін. (2013 р.) застосовували шампунь та крем з етерною олією лимонної трави (лемонграсу) у клінічних дослідженнях для успішного лікування різнобарвного лишая [152]. Результати досліджень свідчать про перспективи для клінічного застосування вищезазначених ЕО у терапії себореального дерматиту, та інших захворювань, що викликає або погіршує *M. furfur* [152].

Дослідженнями *in vitro* доведено активність ЕО корици цейлонського, розмарину лікарського, грейпфруту, материнки звичайної, чебрецю звичайного щодо збудників дерматомікозів (*Trichophyton spp.*, *Mycrosporum spp.*), що дає підставу для подальшого вивчення офірних олій у дослідженнях *in vivo* з прогнозуванням їх практичного використання для лікування трихофітії, мікроспорії, оніхомікозів [75].

Олії корици цейлонського (*Cinnamomum zeylanicum*), гвоздичного дерева (*Syzygium aromaticum*) та евкаліпту кулястого (*Eucalyptus globulus*) мають антибактеріальну активність щодо *S. epidermidis* [73]. Олія апельсину гіркого (*Citrus aurantium*) рекомендується для лікування акне у ароматерапевтичній літературі і потребує подальших досліджень [73]. У наукових джерелах є дані щодо ефективності етерних олій лаванди вузьколистої (*Lavandula angustifolia*)

та базилику звичайного (*Ocimum basilicum*) по відношенню до мікроорганізмів, що зумовлюють виникнення вугрової хвороби [73, 74]. Крім вище перелічених етерних олій, у лікуванні акне можуть застосовуватися олії: сосни сибірської, кедра китайського, бергамоту, герані рожевої, ромашки лікарської, ладанного дерева, грейпфрута, кипариса вічнозеленого, лайма, розмарину лікарського, санталового дерева, лимона [83, 91]. Низка етерних олій вже використовуються у складі лікарських і лікувально-косметичних засобів українського та іноземного виробництва: олії чайного дерева, шавлії лікарської, евкаліпту кулястого, герані рожевої, санталового дерева, базилику звичайного, кипариса вічнозеленого, лаванди вузьколистої [23, 38]. В якості прикладів можна навести гель-бальзам «Від вугрів» (ПТФ ТОВ «Фармаком», Україна), який містить комплекс БАС (екстракти календули, аЛЕО і звіробою, пантенол, саліцилову кислоту, етерну олії чайного дерева, сосни і герані); лосьйон для глибокого очищення обличчя для чутливої шкіри «Clean & Clear» («Johnson and Johnson Sante Beaute», Франція), який містить етерні олії евкаліпту і м'яти; крем-гель «Стопугрін» (ФФ «Вертекс», Україна), який містить олію етерну чайного дерева та ін. [38].

Використання ЕО не обмежується вугровою хворобою. Вони входять до складу лікарських і лікувально-косметичних засобів для терапії себореї, оніхомікозу, целюліту тощо.

Попередніми дослідженнями нами підтверджена наявність протимікробної дії низки етерних олій [34, 49]. Встановлена антимікробна активність етерних олій пачулі, лемонграсу, грейпфруту, бергамоту, шавлії, мандарину, ялиці, евкаліпту, померанчу, іланг-ілангу, сосни, кедру, м'яти перцевої, ялини, ялиці, гвоздики, розмарину, чайного дерева, сандалового дерева, лимону, анісу, ялівцю, рожевого дерева лаванди, герані, кориці, ялиці по відношенню до еталонних штамів із американської типової колекції культур мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *B. subtilis* ATCC 6633 і *C. albicans* ATCC 885-653. Отримані дані показали широкий спектр антимікробної дії, рівень якої залежав від виду та тест-штаму мікроорганізму. Більш високу чутливість до етерних олій проявили культури *S. aureus*, *B. subtilis*

і гриба *C. albicans*. Майже усі етерні олії мають антимікробну дію відносно *S. aureus*. Найбільш високий рівень антистафілокової активності продемонстрували етерні олії іланг-іланг (39,4 мм), рожевого дерева (38,0 мм), м'яти перцевої (36,1 мм), чайного дерева (32,1 мм), кориці (30,3 мм) і гвоздики (30,1 мм). Найменший рівень антистафілокової активності виявлено для ефірної олії анісу (10 мм), бергамоту (12,2 мм). Встановлено наявність активності майже всіх етерних олій відносно гриба *C. albicans*, на рівні 11–12 мм для етерних олій кедру і сандалового дерева до 24–35 мм для всіх інших олій [34, 49].

Аналіз наукових літературних джерел та власних мікробіологічних досліджень дав можливість узагальнити відомості щодо можливості застосування етерних олій у терапії дерматологічних захворювань. Результати наведено у табл. 1.1 [25]. За результатами аналізу літературних джерел узагальнено склад етерних олій, які, відповідно за результатами попередніх досліджень, проявляють антибактеріальну активність відносно бактерій *Staphylococcaceae*, що провокують розвиток піодермій (табл. 1.2) [25].

Таблиця 1.1

Етерні олії та їх застосування при дерматологічних захворюваннях

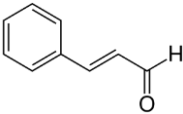
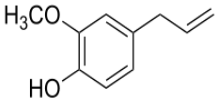
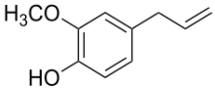
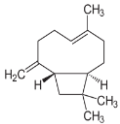
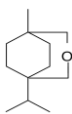
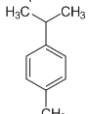
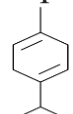
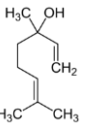
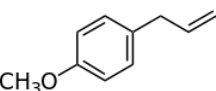
Дерматологічні захворювання	Етерна олія	Фармако-терапевтичні ефекти
1	2	3
Акне	Олії коричнику цейлонського, чайного дерева, бергамоту, апельсину гіркого, гвоздичного дерева, лаванди вузь-колистий, базиліку звичайного, апельсину солодкого, ялівцю звичайного, фіалки запашної, сосни сибірської, кедр китайського, бергамоту, герані рожевої, ромашки лікарської, ладану, грейпфрута, кипарису вічнозеленого, лайму, розмарину лікарського, санталового дерева, лимону, евкаліпту кулястого, шавлії лікарської	Антимікробна дія на мікроорганізми, що зумовлюють розвиток хвороби
Дерматомікози, оніхомікози	Гвоздики, коричнику цейлонського, герані рожевої, чайного дерева, розмарину лікарського, грейпфрута, материнки звичайної, чебрецю звичайного, перцю стручкового	Протигрибкова активність щодо збудників мікозів: <i>Trichophyton spp.</i> , <i>Mycrosporium spp.</i>

Продовж. табл.1.1

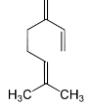
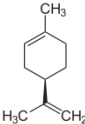
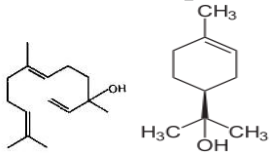
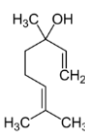
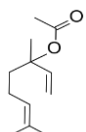
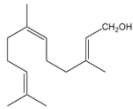
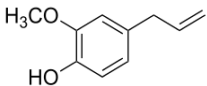
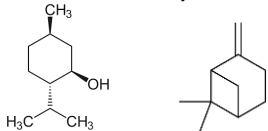
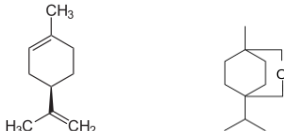
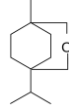
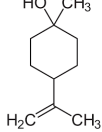
1	2	3
Кандидози, ангулярний хейліт	Бергамоту, меліси лікарської, корици цейлонського, материнки звичайної, шавлії лікарської, лаванди вузьколистий, апельсину гіркого, базилику, сосни сибірської, м'яти перцевої, ялини європейської, гвоздичного дерева, чайного дерева, герані рожевої, ялиці сибірської, анісу звичайного	Протигрибкова активність щодо <i>C. albicans</i>
Себорейний дерматит, себорейний псоріаз, <i>Malassezia</i> - фолікуліт	Чебрецю звичайного, чайного дерева, полину гіркого, корици цейлонського, базилику звичайного, розмарину лікарського, материнки звичайної, гвоздичного дерева, фенхелю звичайного	Активність щодо мікроорганізму <i>Malassezia furfur</i>
Піодермії; дерматологічні хвороби, ускладнені бактеріальною інфекцією; інфіковані рани	Лемонграсу, евкаліпту кулястого, ялівцю звичайного, рожевого дерева, шавлії лікарської, лаванди вузьколистий, іланг-ілангу, сосни сибірської, кедру китайського, м'яти перцевої, гвоздичного дерева, чайного дерева, герані рожевої, корици цейлонського, лимону	Антибактеріальна дія щодо <i>Staphylococcus spp.</i>

Таблиця 1.2

**Приклади етерних олій, що виявляють протимікробну дію відносно
*Staphylococcaceae***

Етерна олія	Основні БАС, що зумовлюють протимікробну дію		
1	2		
Корици цейлонського олія (<i>Oleum Cinnamoni zeilanicum</i>)	Коричний альдегід 	Евгенол 	
Гвоздичного дерева олія (<i>Oleum Caryophylli</i>)	Евгенол 	Каріофілен 	
Евкаліпту кулястого олія (<i>Oleum Eucalypti</i>)	1,8-цинеол 	Цимол 	γ-терпінен 
Базилику звичайного олія (<i>Oleum Basilici</i>)	Ліналоол 	Метилхавікол 	

Продовж. табл.1.2

1	2	
Ялівцю звичайного олія (<i>Oleum Juniperi</i>)	α -пінен 	β -мірцен 
Апельсину гіркокого (померанцю) олія (<i>Oleum Citri Aurantii Amari</i>)	Лімонен 	Неролідол α -терпінеол 
Лаванди вузьколистої олія (<i>Oleum Lavandulae</i>)	Ліналоол 	Ліналілацетат 
Іланг-ілангу олія (<i>Oleum Anonae</i>)	Фарнезол 	Евгенол 
М'яти перцевої олія (<i>Oleum Mentha piperita</i>)	Ментол β -пінен 	Лімонен Цинеол 
Чайного дерева олія (<i>Oleum Melaleuca alternifolia</i>)	1,8-цинеол 	β -терпінеол 

Отже, завдяки наявності антибактеріальних і протигрибкових властивостей етерні олії можуть бути рекомендованими як АФІ в ЛЗ для лікування захворювань шкіри, викликаних чутливими до них мікроорганізмами; при ускладненні неінфекційних дерматологічних хвороб бактеріальною або грибовою інфекцією, а також для лікування інфікованих ран та прискорення їх загоєння.

Можливість використання етерних олій як АФІ не обмежена лише дерматологією. Вони традиційно використовуються для лікування гінекологічних, андрологічних, ендокринних та серцево-судинних захворювань, хвороб диха-

льних шляхів, травної, гепатобіліарної та нервової системи [106, 109, 115]. Деякі з них показали цитотоксичну дію щодо ракових клітин [77].

Дослідження «Гепатопротекторний ефект попереднього лікування етерною олією тимуса звичайного в експериментальній моделі травми, спричиненої ацетамінофеном», R. Grespan та ін. (2014) показали гепатопротекторну дію ефірної олії *Thymus vulgaris* на індуковане ацетамінофеном пошкодження печінки у мишей [112].

У статті під назвою «Дослідження комплексної активності етерних олій проти *Burkholderia cepacia*: попередній аналіз» I. Maida et al. (2014) перевірили здатність етерних олій, отриманих із шести різних ароматичних рослин, пригнічувати ріст 18 відомих видів комплексу *Burkholderia cepacia* (Bcc), умовно-патогенного мікроорганізму людини, який може спричиняти важку інфекцію у пацієнтів з ослабленим імунітетом, особливо у хворих на кістозний фіброз і які часто стійкі до кількох антибіотиків. Етерні олії *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare* і *Thymus vulgaris* були особливо активними проти штамів Bcc, включаючи ті, що виявляють високий ступінь або стійкість до ципрофлоксацину, активні як щодо екологічних, так і клінічних штамів, виділених від пацієнтів з кістозним фіброзом [107].

У статті «Етерні олії для додаткового лікування хірургічних пацієнтів: сучасний стан» S. Stea et al. (2014) наведено результати щодо визначення ефективності ароматерапії у хірургічних пацієнтів (для лікування тривоги та безсоння, болю та нудоти або для перев'язки ран). Дослідження ефективності етерних олій лаванди, апельсина та м'яти для лікування тривоги та нудоти показали позитивні результати. Автори приходять до висновку щодо можливості лікування інфекцій, особливо олією чайного дерева та важливо, щоб терапевтичне використання етерних олій проводилося відповідно до клінічних стандартів безпеки [102].

Нами також було проаналізовано дані довідника Компендіум онлайн та Державного реєстру лікарських засобів України, які надали можливість узагальнити інформацію про етерні олії, що використовуються в складі лікарських

препаратів та моноолії, доступні на фармацевтичному ринку України [11, 12, 25, 38, 47].

Як свідчать результати аналізу, станом на 09.2023 р. етерні олії досить широко використовуються у виробництві лікарських препаратів. На даний час в складі ЛП використовується етерна олія: анісу звичайного, евкаліпту кулястого, фенхелю звичайного, чебрецю звичайного, розмарину лікарського, шавлії лікарської, сосни високогірної, ялиці сибірської, апельсину солодкого, м'яти перцевої, цитронели (лемонграсу), лаванди вузьколистої, гвоздичного дерева, лимону. Етерні олії входять до складу лікарських препаратів переважно як допоміжні речовини (запашки), рідше – в якості діючих речовин. Результати аналізу ЛП з етерними оліями на фармацевтичному ринку України наведено на рис. 1.1.

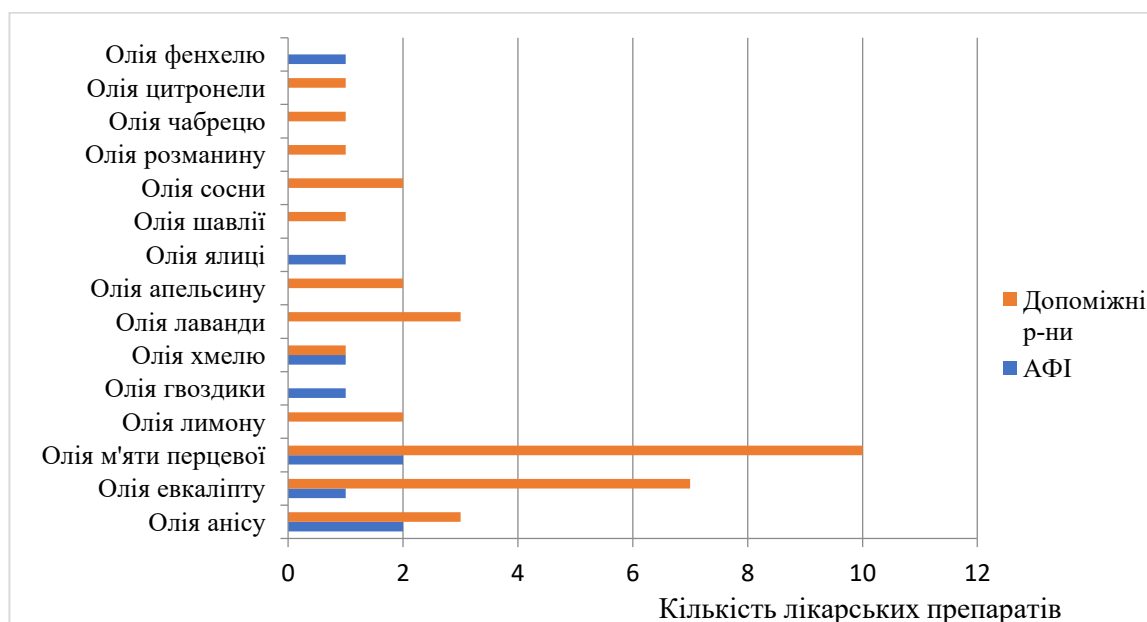


Рис. 1.1 Етерні олії в складі лікарських препаратів на фармацевтичному ринку України

Дані рис. 1.1 показують, що в якості АФІ найчастіше використовуються олії м'яти перцевої та анісу звичайного, як допоміжні речовини – олії евкаліпту кулястого та м'яти перцевої.

Як діючі речовини етерні олії використовуються у лікарських препаратах наступних фармакотерапевтичних груп:

- ✓ R. Засоби, що діють на респіраторну систему, а саме R05, засоби, що застосовують при кашлі та застудних захворюваннях (R05CA10. Відхаркувальні засоби, «Грудний еліксир», рідина, ТОВ «Тернофарм», Україна; «Нашатирно-анісові краплі», краплі оральні, ТОВ «Тернофарм», Україна) – анісова олія;
- ✓ G. Засоби, що впливають на сечостатеву систему та статеві гормони, а саме G04 засоби, що застосовуються в урології (G04BX, «Уролесан», краплі оральні, сироп, капсули, ПрАТ «Галичфарм», Україна) – олії м'яти перцевої та ялиці сибірської;
- ✓ M. Засоби, що впливають на опорно-руховий апарат, M02, засоби, що застосовуються місцево при суглобовому та м'язовому болю (M02A X10, «Гевкамен», мазь, ПрАТ ФФ «Віола», ПрАТ «Фітофарм», ТОВ «Тернофарм», ТОВ «Юніфарма», ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика»», Україна) – олії гвоздичного дерева та евкаліпту кулястого;
- ✓ N. Засоби, що діють на нервову систему, N05 Психолептичні засоби, а саме N05C снодійні та седативні препарати (N05CB02, «Корвалдин», краплі оральні, ПАТ «Фармак», Україна) – олії хмелю звичайного та м'яти перцевої.

А також дієтичні добавки 8.1. Дієтичні добавки, що покращують процеси травлення і функціональний стан ШКТ («Плантекс Сандоз», гранули, «Сандоз Фармасьютикалз, Словенія) – олія фенхелю звичайного.

Як свідчать результати аналізу, на ринку представлена велика кількість етерних олій різних виробників (ТОВ «Адверсо», ТОВ «Ароматика», ТОВ «Flora secret», ТОВ «Green Pharm Cosmetics» та ін). Згідно даних довідника Компендіум, вони класифікуються як косметичні засоби і відносяться до категорії 09 Аромакосметика [11, 12, 25, 38, 47]. Вони застосовуються в косметичних засобах, для масажів, ван, саун та ароматизації приміщень.

Отже, етерні олії є перспективними АФІ у фармацевтичній розробці лікарських засобів для терапії інфекційно-запальних захворювань шкіри.

Висновки до розділу 1

1. Проаналізовано етіопатогенез та фармакотерапію інфекційних захворювань шкіри. Встановлено, що часте застосування антибактеріальних препаратів у дерматологічній практиці загострює проблему антибіотикорезистентності і демонструє перспективи створення фітопрепаратів з ЛРС з антибактеріальною дією.

2. На основі бібліосемантичного аналізу наукових джерел літератури показано, що леспедеза двоколірна володіє широким спектром фармакологічної активності, яка обумовлена наявністю флавоноїдів, поліфенольних сполук, фенілпропаноїдів, стероїдів, лігнанів та фенілділактонів. Менанольні і етанольні вилучення леспедези володіють антиоксидантною, протизапальною, репаративною, антимікробною, протигрибковою активністю, антидіабетичною, цитотоксичною, антитромботичною дією.

3. Проаналізовано та узагальнено результати літературних джерел і попередніх власних наукових досліджень щодо антибактеріальної активності етерних олій відносно мікроорганізмів, які провокують розвиток дерматологічних захворювань. Узагальнення аналізу наукових досліджень продемонструвало доцільність використання етерних олій у терапії піодермій, акне, мікозів (трихофітії, мікроспорії, оніхомікозів, різнобарвного лишая), себорейного дерматиту та інших інфекційних захворювань шкіри.

Результати експериментальних досліджень розділу наведено в таких публікаціях:

1. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 1. С. 54–61. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7721539>

2. Кисельова К. Є., Сілаєва Л. Ф., Вишневська Л. І. Антимікробні властивості етерних олій. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 139–143.

3. Використання етерних олій в екстемпоральних прописах / Н. П. По-

ловко, Є. І. Світлична, К. Є. Кисельова, А. А. Куцанян. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2017. С. 168–171.

4. Загальний огляд захворювань, при лікуванні яких широко застосовують препарати з ефірними оліями. Бисага Є. І., Вишневська Л. І., Онищук В. О., Кисельова К. Є. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2018. Вип. 4. С. 34–39.

5. Вишневська Л. І., Кисельова К. Є. Обґрунтування вибору етерних олій до складу гелю для лікування вугрової хвороби. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2019. Вип. 3. С. 49.

6. Мікробіологічні дослідження ефірної олії низки лікарських рослин щодо рівня їх антимікробної дії / Л. Ф. Сілаєва, О. О. Шмалько, Л. І. Вишневська, К. Є. Кисельова. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків: НФаУ, 2019. Вип. 6. С. 416–419.

7. Половко Н. П., Краслянська А. Л., Кисельова К. Є. Препарати, що використовуються в терапії себореїного дерматиту. *Підготовка спеціалістів фармації в рамках концепції «Навчання протягом життя (Life Long Learning)»*: наука, освіта, практика : матеріали II наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21–22 жовт. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 134–137.

8. Кисельова К. Є. Вишневська Л. І. Дослідження щодо доцільності використання ефірної олії в розробці лікарських препаратів комплексної дії. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. дистанц. конф., м. Харків, 20 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 87.

9. Кисельова К. Є., Шмалько О. О., Вишневська Л. І. Етерна олія як активний фармацевтичний інгредієнт у фармацевтичній розробці. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 247.

10. Кисельова, К. Є., Вишневська Л. І. Біосурфактанти – перспективні субстанції для використання в дерматологічних м'яких лікарських засобів. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : матеріали III міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 24 берез. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 199–200.

11. Кисельова К. Е., Яромій М. В. Використання леспедези в народній і традиційній медицині. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція* : матеріали VI наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16 листоп. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С.232.

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ МЕТОДОЛОГІЇ ДОСЛІДЖЕННЯ. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Загальна концепція розробки дерматологічного лікарського засобу у формі крему

Фармацевтичній розробці передуює складання алгоритму досліджень зі створення ЛЗ, який повинен забезпечити необхідну терапевтичну дію, мати зручну для застосування лікарську форму, що відповідатиме медико-біологічному призначенню ЛЗ і сприятиме швидкому і повному вивільненню АФІ з основи. Для реалізації поставленої мети, ЛЗ, що розробляється повинен володіти антимікробною, протизапальною та репаративною дією.

Фармацевтична розробка включає поетапне проведення інформаційно-пошукових та експериментальних (фізико-хімічних, фармакотехнологічних, мікробіологічних та фармакологічних) досліджень, які мають бути використані в процесі створення ЛЗ у формі крему [45]. Під час розроблення складу ЛЗ акцент був сфокусований на пошуку перспективних джерел БАС, які сприятимуть забезпеченню антимікробної, протизапальної і репаративної дії [48]. А також створенню основи і відповідно добору сучасних ДР, які посилюватимуть специфічну фармакологічну активність АФІ та забезпечувати необхідні властивості лікарського препарату, який буде безпечним при застосуванні [2, 15, 16, 65, 71]. Розроблений ЛЗ має відповідати медико-біологічному призначенню і володіти необхідними фармакотехнологічними (термостабільність, колоїдна стабільність, структурно-механічними (в'язкість, тиксотропія) та фізико-хімічними і, що не менш важливо, споживчими властивостями: зручність застосування (легкість нанесення, відчуття комфорту після застосування) і органолептичними показниками (опис, зовнішній вигляд, колір, запах, однорідність тощо) [2, 18, 45, 71]. Обрані ДР повинні бути сумісними з АФІ, технологічним обладнанням, таропакувальним матеріалом, як у процесі виготовлення так і при зберіганні ЛЗ

[15, 16]. Враховуючи поставлені завдання, цільовий профіль ЛЗ, що розробляється і сучасні аспекти створення м'яких дерматологічних лікарських засобів (МДЛЗ) та спираючись на вимоги Настанови СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 Фармацевтична розробка, нами запропоновано дизайн експериментальних досліджень з отримання і стандартизації екстрактів леспедези і обґрунтування можливості їх використання в дерматологічних ЛЗ; розроблення складу, технології та стандартизації дерматологічного лікарського засобу у формі крему на емульсійній основі [45]. Алгоритм фармацевтичного розроблення та стандартизації ЛЗ включає інформаційно-пошуковий, аналітично-дослідницький, дослідницькі (технологічний, аналітичний та біологічний) блоки (рис. 2.1).



Рис. 2.1 Алгоритм фармацевтичного розроблення дерматологічного крему

З огляду на технологічний процес створення субстанцій із ЛРС, нами складено алгоритм досліджень з обґрунтування умов отримання екстрактів леспедези двоколірної (рис. 2.2).



Рис. 2.2 Алгоритм фармацевтичного розроблення екстрактів леспедези двоколірної

На підставі запропонованого алгоритму складено наступний план експериментальних досліджень з розроблення ДЛЗ з екстрактами леспедези двоколірної та ЕО антимікробної та протизапальної дії:

- вивчення етіопатогенезу і фармакотерапії інфекційних захворювань шкіри;

- дослідження асортименту ЛЗ для лікування інфекційно-запальних захворювань шкіри, насамперед піодермій, на фармацевтичному ринку України;
- виявлення перспективної ЛРС та обґрунтування її використання для розроблення ДЛЗ;
- обґрунтування використання ОЕ в складі дерматологічних МЛЗ;
- вивчення сучасних підходів до створення дерматологічних МЛЗ у формі кремів;
- обґрунтування умов екстракції, розробка технології екстрактів надземної частини леспедези двоколірної;
- розроблення методик аналізу екстрактів надземної частини леспедези двоколірної, дослідження стабільності в процесі зберігання, визначення терміну придатності та розроблення проекту МКЯ на екстракти леспедези двоколірної;
- розроблення основи МЛЗ; обґрунтування використання сучасних емульгаторів; вибір ДР за результатами органолептичних, фізико-хімічних і фармако-технологічних досліджень;
- розроблення технології ДЛЗ;
- розроблення методик аналізу, дослідження терміну придатності та умов зберігання МДЛЗ з метою його стандартизації;
- узагальнення результатів мікробіологічних та фармакологічних досліджень ЛЗ;
- складання проєктів технологічної і аналітичної нормативної документації (НД).

2.2 Характеристика лікарської рослинної сировини, допоміжних речовин та проміжних продуктів

Леспедеза двоколірна (L. bicolor). У дослідженнях використовували подрібнену надземну частину ЛРС, що складалася з суміші листя, стебел, бутонів і квітів леспедези двоколірної. Це шматочки різної форми сірувато-зеленого кольору, трав'яного запаху, без специфічного смаку. Сировина містить високий

відсоток флавоноїдів (кверцетин, рутин, кемпферол, ізокверцитрин, гомоорієнтин, орієнтин, ериодиктіол), ізофлавоноїдів (дайдзеїн), халькони (ізолікіритигенін), гідроксибензойні кислоти (кофейна та протокатехова), стероїди, фенілпропаноїди, лігнани та фенілділактони [40, 94, 121, 124, 135, 154].

Іланг-ілангу олія етерна (Oleum Anonae) – олію з квіток іланг-ілангову або канангову етерну олію отримують методом парової дистиляції з великих жовтих квіток вічнозеленого тропічного дерева кананги запашної або іланг-ілангу (*Cananga odorata (Lam.) Hook.*), родина аннонових (*Annonaceae*). Рухома жовта або світло-жовта рідина з сильним характерним квітковим запахом. Виробник ТОВ «Green Pharm Cosmetic», Україна [15,16].

Допоміжні речовини, використані для отримання напівпродуктів і крему з екстрактами леспедези

В фармацевтичній розробці використовували допоміжні речовини, дозволені для використання в фармацевтичній практиці [15, 16]. У розробці екстрактів використовували олію соняшникову (Україна) та воду очищену. В розробці емульсійного крему використовували олію кукурудзяну (Україна), пропіленгліколь (Німеччина), воду очищену, емульгатори: ксильянс (Франція), проліпід 141 (США) і ламекрем (Франція), консерванти феноксиетанол, ніпагін і натрію бензоат.

Олія кукурудзяна (Oleum Zea Maydis) (Ph. Eur. 9.0) [104].

Прозора в'язка рідина, світло-жовтого або жовтого кольору. Розчинність: практично не розчинна у воді *P* і в етанолі (96 %) *P*, показник заломлення (за 20 °C) – 1,471–1,473, густина при 10 °C – 924 кг / м³, температура застигання – від –10 до –15 °C, кінематична в'язкість (при 20 °C) – 60,6·10⁻⁶ м² / с, йодне число – 117–123. Жирно-кислотний склад: сумарно – 85–86 % ненасичених кислот, 10–14 %, – насичених кислот [15, 16, 105].

Використання: фармацевтична та парфумерно-косметична промисловість як розчинник, формоутворювач, компонент олійної фази [15, 16].

Олія соняшникова (Oleum Helianthi) (USP, CAS № 8001-21-6) [153].

Прозора в'язка олієподібна рідина від світло-жовтого до жовтого кольо-

ру, зі слабким своєрідним запахом та приємним смаком. Розчинність: практично не розчинна у воді *P* і в етанолі (96 %) *P*, температура кипіння $T_{\text{кип}}$ 40–60 °С; $T_{\text{пл}}$ 18 °С; щільність – 0,915–0,919 г/см³; гідроксильне число – 14–16; йодне число – 125–140; кислотне число $\leq 0,5$; перекисне число $\leq 10,0$; число омилення – 188 – 194; показник заломлення $n_D^{40}=1,472\text{--}1,474$, $n_D^{40}=1,466\text{--}1,468$. Жирнокислотний склад: сумарно – 87–89 % ненасичених кислот, 10–12 %, – насичених кислот [15, 16, 153].

Використання: фармацевтична та парфумерно-косметична промисловість як розчинник, пом'якшувач, формоутворювач, компонент олійної фази [16].

Ксильянс – цетеарилові глікозиди соломи пшениці та цетеариловий спирт (Xyliance, INCI: Cetearyl wheat straw glycosides (and) Cetearyl alcohol), Франція. Емульгатор рослинного походження, який отримують зі стебел пшениці, та з пальмової олії, полівалентний неіонний ПАР, який може емульгувати широкий спектр масляних фаз без співемульгаторів. Зовнішній вигляд – пластівці кремової консистенції світлого відтінку, температура плавлення: 64,8 °С, ГЛБ. 8. Має високу стабільність у засобах з високим вмістом олійної фази; діє у діапазоні рН – від 2 до 12. Ксильянс не токсичний, біорозкладається, має сертифікат Есосерт (зелений емульгатор). За допомогою цього емульгатора можна створити емульсійні засоби з ламелярною структурою, схожою за будовою з ліпідним шаром шкіри. Надає засобам задовільні сенсорні властивості. Сумісний із багатьма іншими компонентами рецептур, простий та економічний у застосуванні.

Використання: косметичні засоби (креми, лосьйони, маски для волосся, шампуні, бальзами, сонцезахисні КЗ, дитячі засоби). Рекомендоване введення: 1–20% [16].

Проліпід 141 – пальмітинова кислота, стеаринова кислота, лецитин, миристиловий та цетиловий спирти, бегеніловий спирт та гліцерил стеарат, (Prolipid 141, INCI: Glyceryl stearate, Behenyl alcohol, Palmitic acid, Stearic acid, Lecithin, Lauryl alcohol, Myristyl alcohol, Cetyl alcohol), Нідерланди.

Зовнішній вигляд – пластівці біло-кремового кольору, температура плавлення: 65,4 °С, ГЛБ. 7,8. Здатний стабілізувати велику кількість олійної фази,

може бути використаний у діапазоні рН від 3,0 до 8,0 [16].

Проліпід 141 – комплексний, так званий, «зелений» емульгатор. Усі компоненти мають рослинне походження, добре переносяться шкірою, не сушать та не викликають алергічних реакцій. Дозволяє створювати ламелярні емульсії, які мають спорідненість з роговим шаром шкіри. Ламелярна структура емульсійних основ має більш високу доступність АФІ, а також зволожують шкіру за рахунок зниження втрати трансепідермальної вологи, пом'якшують та усувають жирний блиск. Не токсичний, біорозкладається, має сертифікат Ecocert (зелений емульгатор).

Застосування: креми та гелі, лосьйони та маски для волосся; зволожуючі та сонцезахисні засоби. Спосіб застосування Проліпиду 141: може використовуватися як моно-емульгатор, підвищити в'язкість основ можна за допомогою ВМС. Рекомендоване введення: 3–5 % [16].

Ламекрем – гліцерил стеарат, гліцерил стеарат цитрат (Lamecrem, INCI: Glyceryl stearate, Glyceryl stearate citrate), Франція.

Гранули біло-кремового кольору, температура плавлення: 65,8 °С, ГЛБ. 7,4. Здатний стабілізувати велику кількість олійної фази, може бути використаний у діапазоні рН від 5,0 до 7,5.

Ламекрем – комплексний емульгатор рослинного походження для створення ламелярних емульсій, які надають відчуття гладкості після нанесення, можуть надавати як захисну, так і зволожувальну дію. Має сертифікат Ecocert (зелений емульгатор).

Використання. На основі Lamecreme можна розробити стабільні емульсії типу «вода у олії» та «олія у воді», може бути використаний до створення ламелярних емульсій. Застосовується у складі «легких» денних і жирних нічних кремів, у дитячих КЗ.

Для емульсій типу «вода в маслі» частка водної фази повинна бути менше 50 %. При більшому вмісті отримують емульсію «масло у воді». Рекомендоване введення: як моноемульгатор – 5–10 %; як співемульгатор – 1–5 % [14, 15].

Метилпарабен (Methylparaben), *ніпагін* (Nipaginum), *Methylis*

parahydroxybenzoas (Ph Eur), *Methyl hydroxybenzoate* (BP), (*Methylparaben*) (USP NF), (ДФУ) [9, 104, 153]

Безбарвні кристали або кристалічний порошок білого кольору, без запаху, з легким пекучим смаком. Дуже мало розчиняється у воді, легко розчиняється у 96 % етанолі та метанолі. Активний за рН 4,0–8,0. Ткип – 125–128 °С. Розчиняється у рослинних оліях, ізопропілміристаті, ланоліні, етанолі, етері, гліцерині (1 : 60), пропіленгліколі (1 : 5), практично не розчиняється у воді очищеній, мінеральній олії. Використовується як консервант у лікарських засобах, косметичних та харчових продуктах. Рекомендований усіма фармакопеями світу.

Феноксіетанол (*Phenoxyethanol*) (PhEur, USP NF), *2-Phenoxyethanol* (CAS 122-99-6) [104, 153].

Безбарвна, ледь в'язка рідина зі слабким приємним запахом і пекучим смаком; рН 1% водного розчину – 6,0; Ткип. = 245,2 °С Тсамозайм. = 135 °С; константа дисоціації рКа – 15,1; Тспал. = 121 °С (у відкритому посуді); Тпл. = 14 °С; показник заломлення – 1,537–1,539; питома вага – 1,11 за температури 20 °С; змішується з ацетоном, етанолом (95%), гліцерином, розчинний в ізопропілпальмітаті 1:26, мінеральній 1:143, оливковій 1:50, арахісовій 1:50 оліях, воді 1:43.

Використання: фармацевтична та парфумерно-косметична промисловість. Використовується як антимікробний консервант (у концентрації 0,05–1,0 %), ефективний у широкому діапазоні рН проти штамів *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Натрію бензоат (*Natrii benzoatis*) (ДФУ) [9].

Білі гігроскопічні кристали або гранули без запаху або з ледь відчутним запахом, солодкувато-солоного смаку. рН 10 % р-ну близько 8. Легко розчиняється за 24 °С у воді, гліцерині (1 : 9), мало – у 96 % етанолі, не розчиняється в органічних розчинниках. Густина – 1,497–1,527 г/см³ за 24 °С, Тпл. – від 122 °С.

Пропіленгліколь (*Propylenglycolum*), *1,2 пропандіол* (ДФУ, Ph Eur, USP, BP, JP), C₃H₆(OH)₂, мол. м. 76,10 [9].

Безбарвна з солодким смаком густа рідина (густина 1,035–1,037 г/см³), добре змішується з водою, етиловим, бензиловим спиртами, змішується з більшістю органічних розчинників (ацетон, хлороформ та ін.), погано розчиняється в етері (1:6), петролейному етері, бензолі, не змішується з жирними оліями.

Використовується у фармації як допоміжна речовина: розчинник багатьох нерозчинних у воді АФІ; запобігає висиханню водної фази в МЛФ о/в; пом'якшує консистенцію полімерних плівок, підвищує проникненню АФІ. Прополінгліколь має стабілізувальні та осмотичні властивості; має антиокиснювальну і консервувальну дію [15, 16, 64].

Етанол 96 % (Ethanolum 96 %) (ДФУ, Ph Eur, USP, BP, CAS № 64-17-5) [9, 104, 153].

Безбарвна, прозора, летка, легкозаймиста, гігроскопічна рідина з характерним спиртовим запахом та пекучим смаком. Змішується у різних співвідношеннях з водою, хлороформом, ацетоном, етером і гліцерином. Густина 0,812–0,808, що відповідає вмісту етанолу 95–96 % (об'ємних) [19].

Вода очищена (Aqua purificata) (ДФУ, PhEur, BP; JP; USP) – безбарвна прозора рідина без запаху і смаку, рН – 5,0–7,0. Т_{пл.} – 0 °С, показник заломлення – 1,3330, поверхневий натяг – 71,97 мН / м (25 °С), динамічна в'язкість – 0,89 МПа·с, питома вага – 0,9971 (25 °С). Змішується з усіма полярними розчинниками [9, 104, 149, 153].

Об'єктами досліджень також були експериментальні зразки спиртових, водних та олійних екстрактів, емульсійні основи та емульсійної креми.

Проміжний продукт – леспедези екстракт рідкий спиртовий – однорідна прозора рідина брунатного кольору з характерним специфічним запахом.

Проміжний продукт – леспедези екстракт олійний – прозора, в'язка рідина зеленого кольору з характерним специфічним запахом.

Емульсійні основи – однорідні кремоподібні зразки різної консистенції білого кольору без запаху.

Дослідні креми – однорідні кремоподібні зразки зеленуватого кольору з характерним квітково-трав'яним запахом.

Реактиви, які використовувалися під час досліджень, відповідали вимогам ДФУ [10, 11].

2.3 Методи дослідження

2.3.1 Фіто-хімічні, фармакогностичні та фармакотехнологічні методи досліджень при отриманні та стандартизації екстрактів леспедези двоколірної

Фіто-хімічні дослідження ЛРС

Дослідження якісного та кількісного складу надземної частини леспедези двоколірної проводили на базі кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Литовського університету наук здоров'я, м. Каунас, Литва під керівництвом завідувача кафедри, доктора біомедичних наук, професора Людаса Іванаускаса і доктора фармацевтичних наук, доцента кафедри фармацевтичної хімії НФаУ Ольги Михайленко.

Для якісного аналізу проводили високоефективну тонкошарову хроматографію (ВЕТШХ) на приладі CAMAG, використовуючи пробовідбірник Linomat 5, камеру автоматичного проявлення ADC2, нагрівач TLC та візуалізатор, як програмне забезпечення використовували visionCATS 2.1. 0,50 г порошкоподібного рослинного матеріалу екстрагували метанолом на ультразвуковій водяній бані протягом 20 хв за температури 30 °С. Екстракти фільтрували через фільтр Millex 0,45 мкм. Еталонні зразки (хлорогенова кислота, кофейна кислота, ізокверцетрин) наносили разом з дослідними зразками на хроматографічні пластини ВЕТШХ (Si 60 F₂₅₄, 20x10 см, Merck) та поміщали у розчинник: етилацетат – мурашина кислота – вода (68 : 8 : 8). Після проходження пластини послідовно обробляли реагентом натурального продукту А та PEG400 і нагрівали за температури 100 °С протягом 5 хв. Візуалізацію проводили під білим світлом та УФ (254 і 366 нм) з подальшим аналізом у visionCATS.

Кількісне визначення компонентів проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на хроматографі Waters e2695 Alliance HPLC з детектором 2998 PDA. Для хроматографічних досліджень наважку з подрібне-

ної рослинної сировини (0,2 г) екстрагували з 10 мл 50 % метанолу на ультразвуковій бані за температури 45 ± 2 °C протягом 20 хв. Отримані екстракти фільтрували через шприцеві фільтри 0,45 мкм (Carl Roth GmbH) та використовували для хроматографічного розділення на колонці ACE Super C18 (250 мм × 4,6 мм, 3 мкм). Рухома фаза складалася з 0,1 % розчину трифтороцтової кислоти (фаза А) та ацетонітрилу (фаза В). Градієнт елюювання: від 5 до 95 % фази В за 70 хв: 0 хв, 5 % В; 8–30 хв, 20 % В; 30–48 хв, 40 % В; 48–58 хв, 50 % В; 58–65 хв, 50 % В; 65–66 хв, 95 % В; 66–70 хв, 95 % В; 70–81 хв, 5 % В. Швидкість потоку – 1 мл/хв, інжекційний об'єм – 10 мкл. Детекцію проводили шляхом порівняння УФ-спектрів з еталонними речовинами, а кількісне визначення проводили за градувальними графіками, аналізуючи кожен зразок двічі. Методика валідована [129].

Фармакогностичні та фармакотехнологічні методи досліджень ЛРС

Ситовий аналіз ЛРС проводили за методикою ДФУ 2.0, (п. 2.9.12) [9].

Пробу сировини (100,0 г) розділяли на фракції шляхом просіювання крізь набір сит. Визначали вміст кожної фракції у відсотках і середній діаметр кожної фракції. Фракційний склад ЛРС відповідав розмірами сит. Середньозважений розмір часток визначали за формулою Козені:

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

де Δg_i – кількість шматочків матеріалу діаметром d_i , %.

Визначення вологості (втрата в масі під час висушування) сировини фітокомпозиції проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.2.32 [9].

Визначення втрати в масі при висушуванні проводили за методикою ДФУ 2.0 (п. 2.2.329) [9].

Зразки сировини масою по 3,0 г (з точністю до 0,01 г) поміщали у бюкси, попередньо висушені і зважені разом із кришкою. Висушували у сушильній шафі при температурі 100–105 °C. Зважували через 2 год. І далі висушували до постійної маси, за які приймали ту, коли різниця між двома послідовними зважуваннями не перевищувала 0,01 г після 30 хв висушування і 30 хв охолодження в ексікаторі.

Вологість ЛРС (X), у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = (m - m_1) \times 100 / m_1, \quad (2.2)$$

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 %.

Коефіцієнт поглинання екстрагенту (K_p) визначали шляхом екстрагування сировини водою очищеною та 40 % етанолом протягом 8 год.

Коефіцієнт поглинання екстрагенту (K_p) [1] розраховували як відношення маси сировини після набухання і відтискання шроту до маси сировини, взятої для визначення показника. Дослідження проводили за настопною методикою: 1,0 г подрібненої ЛРС поміщали у градуйований скляний циліндр місткістю 25 мл, висотою (125 ± 5) мм та ціною позначки 0,5 мл, з притертою пробкою. До випробовуваного зразка додавали 25 мл *води Р*, етанолу 70 % і етанолу 40 % закривали циліндр і залишали на 8 год. Через 8 год зливали екстрагент і заміряли об'єм зливої витяжки. Коефіцієнт поглинання визначали як різницю між об'ємом використаного екстрагенту й об'ємом отриманої витяжки [72].

Розрахунок проводили за формулою:

$$K_p = P_2 - P_1, \quad (2.3)$$

де P_1 – маса сировини до набухання, г;

P_2 – маса сировини після набухання, г.

Показник набухання, який розраховували за методикою ДФУ 2.0 (п. 2.8.4, с. 377) [10] це об'єм, у мілілітрах, що займає 1 г ЛРС після його набухання у водному середовищі протягом 4 год.

Визначення показника набухання (K_n) проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.8.4 [9] і обчислювали за формулою:

$$K_n = (V_1 - V_2) : a, \quad (2.4)$$

де V_1 – об'єм водної витяжки, який необхідно отримати, мл;

V_2 – об'єм водної витяжки, отриманий в експерименті, мл;

а – наважка фітокомпозиції, г.

Проводили три випробування. Середнє значення коефіцієнта набухання фітокомпозиції після 8 год настоювання становить 3,31.

Плинність 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.) 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 витоку зразка з лійки. Вимірювання проводять у трьох повторностях [9].

Визначення питомої маси (dп).

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°C і доводили об'єм до мітки водою очищеною. Визначали масу пікнометра з сировиною і водою очищеною.

Розрахунок питомої маси проводили за формулою:

$$d_{\text{п}} = \frac{P \times d_{\text{р}}}{P + G - F}, \quad (2.5)$$

де P – маса абсолютно сухої подрібненої сировини, г;

G – маса пікнометра з водою, г;

F – маса пікнометра з водою та сировиною, г;

d_р – питома маса води, г/см³ (d_р = 0,9982 г/см³).

Визначення насипної маси (d). 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:

$$d = P_{\text{н}} / V_{\text{н}}, \quad (2.6)$$

де P_H – маса подрібненої сировини при заданій чи природній вологості, г;
 V_H – об'єм, який займає сировина, см^3 .

Визначення об'ємної маси (густини) (d_o). 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_o) сировини проводили за формулою:

$$d_o = P_o / V_o, \quad (2.7)$$

де P_o – маса подрібненої сировини при заданій або природній вологості, г;
 V_o – об'єм, який займає сировина, мл.

Пористість (Пс) [68, 110] сировини вказує на величину внутрішнього вільного простору часток сировини і визначається як відношення різниці між питомою та об'ємною масою до питомої маси. Чим вищий її показник, тим більше утворюється внутрішнього соку при набуханні сировини.

Пористість сировини розраховували за формулою:

$$Пс = d_n - d_o / d_n, \quad (2.8)$$

де d_n – питома маса сировини, г/см^3 ;
 d_o – об'ємна густина сировини, г/см^3 .

Порізність (Псл) 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 (Псл)* сировини розраховували за формулою:

$$Псл = d_o - d_n / d_o, \quad (2.9)$$

де d_o – об'ємна густина сировини, г/см^3 ;
 d_n – насипна густина сировини, г/см^3 .

Вільний об'єм шару (V) 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:

$$V = d_n - d_{\pi} / d_n, \quad (2.10)$$

де d_n – питома маса сировини, г/см³;

d_{π} – 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.

Визначення здрібненості ЛРС (фракційний склад) проводили аналітичним просіюванням за методикою ДФУ [9].

Показник загальної золи сировини визначали за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.4.16 [9].

Екстрактивні речовини сировини визначали за ДФУ [9].

Ідентифікація та кількісне визначення БАС в екстрактах леспедези двоколірної [155].

Реакції ідентифікації витяжок леспедези двоколірної. Перед проведенням реакцій дослідні зразки розводили. До 1,0 мл екстракту у мірній колбі на 10,0 мл додавали до мітки 70 % етанолом.

Реакції на флавоноїди

Ціанідінова проба в модифікації за Бріантом: до 1 мл отриманого розчину вилучення (екстракту) додають 2–3 краплі кислоти хлоридної концентрованої та металічний магній, у результаті повинен утворитися забарвлений у рожевий колір розчин.

Реакція з 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду: до 1 мл отриманого розчину додають 1 мл 2 % спиртового розчину алюмінію хлориду; повинно утворитися яскраве зеленувато-жовте забарвлення.

Реакція з 10 % спиртовим розчином луку: до 1 мл отриманого розчину екстракту додають 10 % спиртовий розчин калію гідроксиду; повинен утворитися розчин жовтого кольору.

Реакція з мінеральними кислотами: до 1 мл отриманого розчину екстракту додають розчин сульфатної кислоти (1:4); повинен утворитися розчин малинового забарвлення.

Реакції на феноли і дубильні речовини

До 1 мл отриманого розчину екстракту додають 2 мл 2 % розчину FeCl_3 , утворюється синьо-зелене забарвлення.

Реакції на вуглеводи

Рівний об'єм реагентів мідно-тарtratний 1 і мідно-тарtratний 2 змішують разом і до 2 мл цього розчину додають 1 мл розчину екстракту і обережно кип'ятять. Цегляно-червоний осад з'являється в нижній частині пробірки, що вказує на присутність відновлюючих цукрів.

Методика визначення дубильних речовин (танінів) методом тонкошарової хроматографії (ТШХ)

Випробовуваний розчин. 0,1 мл екстракту доводять до 5,0 мл етанолу 40 % або 70 % (залежно від розчинника, що використовувався).

Розчин порівняння. 2,5 мг пірогалолу *P*, 2,5 мг фруктози *P* розчиняють у 2,5 мл метанолу *P*.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю *P*.

Рухома фаза: вода *P* – мурашина кислота безводна *P* – етилацетат *P* (5:10:85).

Об'єм проби: на лінію старту хроматографічної пластинки наносять 10 мкл випробуваного розчину (на відстані 1,5 см від краю), 5 мкл розчину порівняння, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі, до зникнення запаху розчинника (сушать у витяжний шафі).

Виявлення: обробляють анісового альдегіду розчином *P*, нагрівають за температури (100–105) °С протягом 5 хв до проявлення плям. Переглядають при денному світлі.

Методика визначення сполук поліфенольної будови методом ТШХ

Випробовуваний розчин. 0,1 мл спиртового екстракту леспедези двоколірної вміщують в мірну колбу місткістю 5,0 мл і доводять до об'єму 40 або 70 % спиртом (залежно від екстрагенту, що використовувався).

Розчин порівняння. 1 мг рутину, 5 мг кверцетину, 5 мг хлорогенової кислоти і 5 мг кофейної кислоти розчиняють у 10 мл метанолу.

Пластика: ТШХ-пластика із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: бутанол Р – оцтова кислота безводна Р – вода Р (4:1:2).

Об'єм проби: на лінію старту хроматографічної пластинки наносять 10 мкл випробовуваного розчину, 5 мкл розчину порівняння, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі, до зникнення запаху розчинника 30 хв.

Виявлення: обробляють 5 % розчином алюмінію хлориду в метанолі, висушують у потоці теплого повітря і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Методика кількісного визначення поліфенольних сполук

Випробовуваний розчин. 0,1 мл відповідного зразку вміщують в мірну колбу місткістю 25,0 мл, доводять об'єм етиловим спиртом відповідної концентрації або водою до мітки та перемішують.

Розчин порівняння. 0,0398 г кислоти галової вміщують у мірну колбу місткістю 25,0 мл, розчиняють у 10 мл 70 % спирту етилового та доводять розчин тим же розчинником до мітки. 1,0 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять тим же розчинником до мітки та перемішують.

Компенсаційний розчин. Спирт етиловий відповідної концентрації або вода.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння на спектрофотометрі при довжині хвилі 278 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми поліфенольних сполук (X, %) у перерахунку на кислоту галову обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 25,0 \cdot 1 \cdot 100}{A_0 \cdot V \cdot 25,0 \cdot 100,0} = \frac{A \cdot m_0}{A_0 \cdot V}, \quad (2.11)$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину стандартного зразка галової кислоти;

m_0 – маса наважки стандартного зразка галової кислоти, г;

V – об'єм препарату, взятий для аналізу, мл.

Методика кількісного визначення танінів

Випробовуваний розчин. 0,1 мл відповідного екстракту вміщують в мірну колбу місткістю 20,0 мл, додають 0,1 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу, 2 мл насиченого розчину натрію карбонату, доводять об'єм водою до мітки та перемішують.

Розчин порівняння. 0,020 г пірогалолу вміщують у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 25 мл води та доводять розчин тим же розчинником до мітки. 0,1 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу місткістю 20 мл, додають 0,1 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу, 2 мл насиченого розчину натрію карбонату, доводять об'єм водою до мітки та перемішують.

Компенсаційний розчин. Вода.

Вимірюють оптичну густина випробуваного розчину та розчину порівняння на спектрофотометрі при довжині хвилі 710 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми поліфенольних сполук (X , %) у перерахунку на пірогалол обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 20,0 \cdot 0,1 \cdot 100}{A_0 \cdot V \cdot 20,0 \cdot 50,0} = \frac{A \cdot m_0 \cdot 2}{A_0 \cdot V}, \quad (2.12)$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину стандартного зразка пірогалолу;

m_0 – маса наважки пірогалолу, г;

V – об'єм екстракту, взятий для аналізу, мл.

Методика визначення кількісного вмісту флавоноїдів у дослідних зразках

Випробовуваний розчин. 0,1 мл відповідного екстракту вміщують в мірну колбу місткістю 5 мл, додають 1 мл розчину 20 г/л алюмінію хлориду у метанолі, доводять об'єм 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної у метанолі до мітки та перемішують.

Розчин порівняння. 0,020 г рутину вміщують у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 25 мл метанолу та доводять розчин тим же розчинником до мітки. 1 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 1 мл розчину 20 г / л алюмінію хлориду у метанолі, об'єм 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної у метанолі до мітки та перемішують.

Компенсаційний розчин. 0,1 мл відповідного екстракту доводять розчином 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної у метанолі до об'єму 5,0 мл.

Оптичну густину випробовуваного розчину вимірюють через 30 хвилин після приготування за довжини хвилі 407 нм відносно компенсаційного розчину.

Вміст суми флавоноїдів (X, %) у перерахунку на рутин обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 5,0 \cdot 1,0 \cdot 100}{A_0 \cdot V \cdot 50,0 \cdot 25,0} = \frac{A \cdot m_0}{A_0 \cdot V \cdot 2,5}, \quad (2.13)$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину стандартного зразка рутину;

m_0 – маса наважки рутину, г;

V – об'єм екстракту, взятий для аналізу, мл.

Методика визначення пігментів (каротиноїдів і хлорофілів) методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) (ДФУ 2.0, 2.2.27) [10].

Випробовуваний розчин. 0,5 г олійного екстракту розчиняють у 5 мл ацетону.

Пластинка. Використовують ТШХ-пластинку з шаром силікагелю Р та флуоресцентним індикатором (F_{254}) або ідентичну.

Рухома фаза: петролейний ефір-діетиловий ефір (10 : 3,5).

Об'єм проби: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі протягом 20 хв.

Виявлення: обробляють 10 % розчином фосфорномолібденової кислоти, нагрівають у сушильній шафі при температурі 60 °С не менше 10 хвилин і переглядають при денному світлі – спостерігають сині плями на зелено-жовтому фоні, які свідчать про наявність каротиноїдів та їх похідних і хлорофілів.

Кількісне визначення БАС у олійних екстрактах проводили за рослинними пігментами (каротиноїди і хлорофіли).

Абсорбційні спектри гексанових розчинів одержаних екстрактів досліджували на спектрофотометрі в інтервалі довжини хвиль 200–800 нм, використовуючи як компенсаційний розчин – гексан [68].

Методика кількісного визначення пігментів.

Випробовуваний розчин. 2,000 г олійного екстракту поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, розчиняють у гексані та доводять об'єм тим же розчинником до мітки.

Компенсаційний розчин. Гексан.

Вимірюють оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі за довжин хвилі 449 нм і 667 нм.

Кількісний вміст суми каротиноїдів (X , мг) у перерахунку на β -каротин розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 25,0 \cdot 1000 \cdot 100}{m \cdot 2773 \cdot 100}, \quad (2.14)$$

де A – оптична густина гексанового екстракту за довжині хвилі 449 нм;

m – маса наважки олійного екстракту, г;

2773 – питомий показник поглинання β -каротину у гексані при 450 ± 5 нм.

Кількісний вміст суми хлорофілів, в мг/100 г, розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 25,0 \cdot 1000 \cdot 100}{m \cdot 944,5 \cdot 100}, \quad (2.15)$$

де A – оптична густина розчину в максимумі поглинання 667 нм;

m – наважка олійного екстракту, г;

944,5 – питомий показник поглинання хлорофілу *a* при 667 ± 3 нм.

Стандартизація рідкого спиртового екстракту леспедези

Вміст важких металів досліджували за методикою ДФУ 2.0, доп. 1 [9].

Відносну густину досліджували за методикою ДФУ 2.0, доп. 1 (2.2.5) [9].

Вміст етанолу визначали за методикою ДФУ 2.0, доп. 1 (2.9.10) [9].

Вміст метанолу досліджували за методикою ДФУ 2.0, доп. 1 (2.9.11) [9].

Кількісний вміст сухого залишку визначали за методикою ДФУ 2.0, доп. 1 (2.8.16) [9].

Стандартизація леспедези екстракту олійного

Розчинність. Здатність ЛЕО розчинятись у різних розчинниках досліджували за методикою ДФУ 2.0, Т. 1 [9].

Кислотне число (КЧ) ЛЕО визначали за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.5.1 [9]. 10,0 г екстракту розчиняють у 50 мл суміші *етанол (96 %) Р – петролейний ефір Р3* (1:1), попередньо нейтралізованої *0,1 М розчином калію гідроксиду* або *0,1 М розчином натрію гідроксиду*, використовуючи як індикатор *0,5 мл фенолфталеїну розчину Р1*. В разі необхідності суміш нагрівають до температури $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ для розчинення випробовуваної субстанції. Після розчинення випробовуваної субстанції розчин титрують *0,1 М розчином калію гідроксиду* або *0,1 М розчином натрію гідроксиду* до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 15 с. Якщо для розчинення субстанції суміш заздалегідь нагрівали до $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, то і в процесі титрування витримують розчин, що титрується, при такій самій температурі.

Кислотне число (I_A) обчислюють за формулою:

$$I_A = \frac{5,611 \cdot n \cdot K}{m}; \quad (2.16)$$

де *n* – об'єм *0,1 М розчину калію гідроксиду* або *0,1 М розчином натрію гідроксиду*, витрачений на титрування, мл;

K – коефіцієнт поправки *0,1 М розчину калію гідроксиду Р*;

5,611 – кількість калію гідроксиду, що відповідає 1 мл *0,1 М розчину калію гідроксиду Р*, мг;

m – маса наважки екстракту, г.

Перекисне число ЛЕО визначали за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.5.5, метод А [9].

Близько 5,00 г (точна наважка) субстанції поміщають у конічну колбу з притертою скляною пробкою місткістю 250 мл, додають 30 мл суміші *хлороформ Р – оцтова кислота льодяна Р* (2:3). Колбу струшують до розчинення речовини, додають 0,5 мл *калію йодиду насиченого розчину Р*, перемішують протягом 1 хв і додають 30 мл *води Р*. Одержаний розчин титрують *0,01 М розчином натрію тіосульфату*, повільно додаючи титрант при безперервному перемішуванні майже до повного зникнення жовтого забарвлення. Потім додають 5 мл *розчину крохмалю Р* і продовжують титрувати, інтенсивно перемішуючи до знебарвлення розчину.

Паралельно проводять контрольний дослід.

Об'єм *0,01 М розчину натрію тіосульфату Р*, витрачений на титрування у контрольному досліді, не має перевищувати 0,1 мл.

Перекисне число розраховують за формулою:

$$I_p = \frac{10 \cdot (n_1 - n_2)}{m}; \quad (2.17)$$

де n_1 – об'єм *0,01 М розчину натрію тіосульфату*, витрачений на титрування речовини, у мл;

n_2 – об'єм *0,01 М розчину натрію тіосульфату*, витрачений на титрування у контрольному досліді, мл;

m – маса наважки субстанції, г.

Відносну густину ЛЕО визначали з використанням ареометра відповідно до методики ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.2.5 [9].

2.3.2 Фізико-хімічні та фармакотехнологічні методи досліджень при розробці та стандартизації крему з екстрактами леспедези двоколірної

Контроль органолептичних властивостей експериментальних зразків емульсійних основ і крему (опис: колір, запах, однорідність) проводили за ме-

тодами ДФУ (2.0, п. 2.2.2) [9].

Визначення однорідності експериментальних зразків емульсійних основ і крему з екстрактами леспедези проводили за методикою ДФУ (2.0, Т. 1, п. 2.9.40) [9].

Визначення значення рН (ДФУ 2.0, п. 2.2.3). рН експериментальних зразків емульсійних основ і крему з екстрактами леспедези визначали потенціометрично на рН-метрі рН-150 МИ (Хімтест, Україна) за методикою, викладеною в ДФУ [9].

Визначення термостабільності експериментальних зразків емульсійних основ і крему проводили за відомою методикою [20]. Спостереження за досліджуваними зразками емульсійних основ і крему проводили за двох температурних режимів – 5 ± 3 °С (в умовах холодильника) та 40 ± 2 °С (в умовах термостату) протягом 7 діб. У результаті дослідження не має бути ознак розшарування (відсутність розділення на фази, коагуляції, скаламучення, ущільнення, розрідження) [20].

Визначення колоїдної стабільності експериментальних зразків емульсійних основ і крему проводили за відомою методикою. В центрифужні пробірки завантажували 9,0 г (приблизно 2 / 3 об'єму) експериментальних зразків (маса пробірок зі зразками не повинні відрізнятись більше ніж на 0,02 г), зважували з точністю до 0,01 г, поміщали на водяну баню при температурі $(42,5 \pm 2,5)$ °С на 20 хв, насухо витирали із зовнішнього боку і поміщали в центрифугу. Після чого центрифугували зі швидкістю 6000 об / хв протягом 5 хв [20]. Стабільність експериментальних зразків визначали за відсутністю ознак розшарування (відсутність ущільнення, розрідження, коагуляції, виділення фаз).

Мікроскопічні дослідження та визначення лінійних розмірів дисперсної фази в дисперсійному середовищі проводили методом мікроскопії за допомогою лабораторного мікроскопа Granum R-40 (Китай) з вбудованою цифровою відеокамерою DCM 310 та ахроматичним об'єктивом 40x/0,65 (при збільшенні у 400 разів), що дало змогу виміряти лінійні розміри в режимі реального часу і

на статичному зображенні. Для візуалізації зображень зроблені знімки виводили на екран та обробляли за допомогою програми Tour View 3,7 [9].

Дослідження реологічних (структурно-механічних) властивостей експериментальних зразків емульсійних основ проводили реовіскозиметром Rheolab QC (Anton Paar, Австрія) з використанням системи коаксіальних циліндрів С-С27/SS відповідно до вимог ДФУ 2.0 [9]. Прилад відповідає вимогам стандарту ISO 3219. Реометр Rheolab QC оснащений програмним забезпеченням RheoPlus, яке дозволяє встановлювати необхідні умови виконання експерименту (діапазон швидкості зсуву, кількість точок виміру і тривалість виміру однієї точки, температуру). Вимірювання реологічної кривої проводили в три етапи: а) лінійне збільшення градієнта швидкості зсуву від 1 s^{-1} до 350 s^{-1} з 106 точками виміру і тривалістю виміру точки 1 s; б) постійний зсув при швидкості зсуву 350 s^{-1} , одна точка виміру тривалістю 1 s; в) лінійний спад градієнта швидкості зсуву від 350 s^{-1} до 1 s^{-1} з 106 точками виміру і тривалістю виміру точки 1 s. Діапазон градієнта швидкості зсуву $1\text{-}350 \text{ s}^{-1}$ відповідає діапазону швидкості 0,78–271 об/хв. Температура дослідження реологічних властивостей зразків становила $25 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, кожен зразок термостатували упродовж 20 хв.

Стандартизація крему з екстрактами леспедези

Для ідентифікації речовин поліфенольної (хлорогенова і кофейна кислоти) та флавоноїдної (рутин і гіперозид) будови, які містяться в леспедези екстракті спиртовому, використовували метод тонкошарової хроматографії в системі розчинників мурашина кислота безводна – вода – етилацетат (5:10:85) з послідовним детектуванням розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру у метанолі, потім розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р. Хроматограми переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Методика проведення випробування

Випробовуваний розчин. 1,0 г досліджуваного крему збовтують з метанолом 10 хвилин на ультразвуковій бані і доводять об'єм метанолом Р до 5,0 мл. Фільтрують.

Розчин порівняння. 1 мг рутину, 5 мг гіперозиду, 5 мг хлорогенової кислоти і 5 мг кофейної кислоти розчиняють у 10 мл метанолу.

Пластика: ТШХ-пластика із шаром силікагелю F_{254} R.

Рухома фаза: мурашина кислота безводна R – вода R – етилацетат R (5:10:85).

Об'єм проби: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: при температурі (100–105) °C.

Виявлення: теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру R у метанолі R, потім розчином 50 г/л макрогону 400 R у метанолі R, сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися: у нижній частині – жовтаво-коричнева флуоресціююча зона (рутин), у середній частині – блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота) та жовтаво-коричнева флуоресціююча зона (гіперозид); у верхній частині – блакитна флуоресціююча зона (кофейна кислота).

Методика ідентифікація олійного екстракту у кремі методом тонкошарової хроматографії (ДФУ 2.0, 2.2.27) [9].

Випробовуваний розчин. 1,0 г досліджуваного крему збовтують з метанолом 10 хвилин на ультразвуковій бані і доводять об'єм метанолом R до 5,0 мл. Розчин фільтрують крізь паперовий фільтр.

Пластика. ТШХ-пластину з шаром силікагелю R та флуоресцентним індикатором (F_{254}) або ідентичну.

Рухома фаза: петролейний етер-діетиловий етер (10 : 3,5).

Об'єм проби: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Виявлення: обробляють 10 % розчином фосфорно-молібденової кислоти, нагрівають у сушильній шафі за температури 60 °C не менше 10 хвилин і перег-

лядають при денному світлі – спостерігають сині плями на зелено-жовтому фоні (каротиноїди та їх похідні, хлорофіли).

Для ідентифікації і кількісного визначення біологічно активних сполук спиртового екстракту в кремі використовували метод рідинної хроматографії. Випробування проводили на рідинному хроматографі «KNAUER» (Advanced Scientific Instruments). У роботі використані ваги аналітичні фірми «AXIS» ANC120G (Польща), мірний посуд класу А і реактиви, що відповідають вимогам ЄФ/ДФУ [9].

Випробування проводили на рідинному хроматографі в ізократичному режимі за допомогою колонки заповненою силікагелем *октадецилсилільним* для хроматографії *P* розміром 150×4,6 мм з передколонкою, з розміром часток 5 мкм, для якої виконуються умови придатності хроматографічної системи. Використовували рухому фазу – суміш ацетонітрил : вода (27 : 83) з додаванням 0,1 % трифтороцтової кислоти. Детектування проводили за допомогою УФ-детектора, використовуючи для кількісного визначення довжину хвилі 270 нм.

На хроматограмі випробовуваного розчину час утримування основних піків має співпадати з часом утримування основних піків на хроматограмі розчину порівняння, приготованого з використанням кофейної, хлорогенової, галлової кислот і рутину (рис. 2.3–2.6).

Кількісний вміст біологічно активних сполук екстрактів леспедези в кремі визначали методом рідинної хроматографії у перерахунку на рутин за наступною методикою:

Методика кількісного визначення. Випробування проводять методом рідинної хроматографії відповідно до вимог ДФУ 2.2.29 [9].

Випробовуваний розчин. 5,000 г крему поміщають в мірну колбу місткістю 50,0 мл, додають 50 мл *метанолу P* та обробляють ультразвуком протягом 10 хвилин при 60 °С, охолоджують, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки та перемішують.

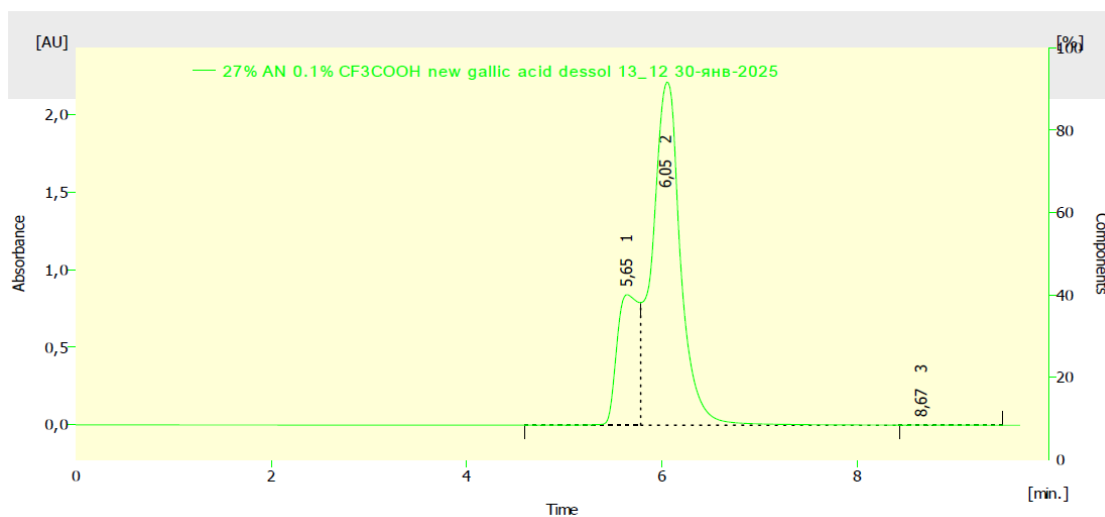


Рис. 2.3 Хроматограма 0,008 % розчину галлової кислоти

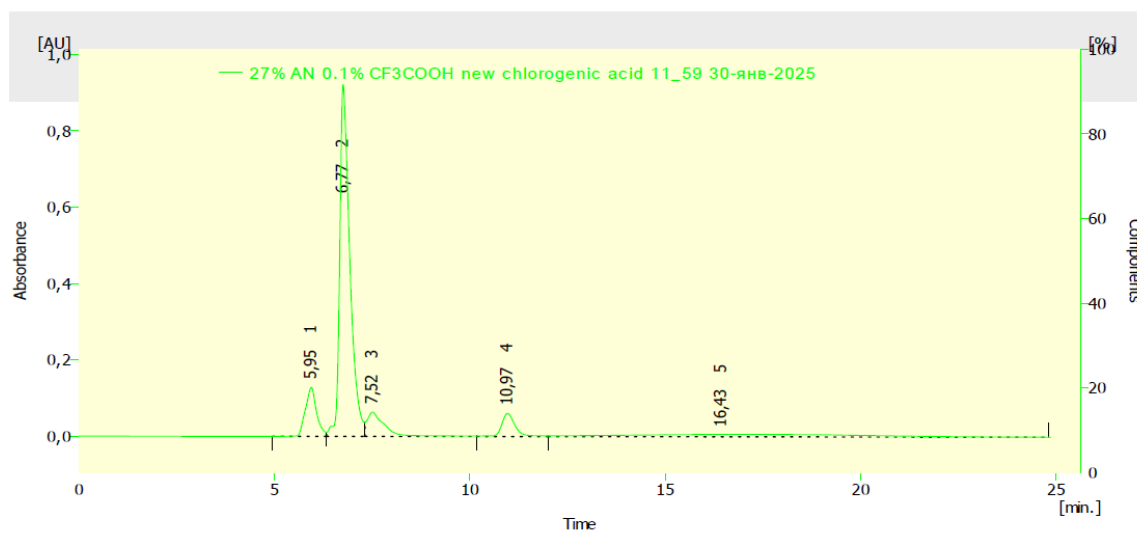


Рис. 2.4 Хроматограма 0,008 % розчину хлорогенової кислоти

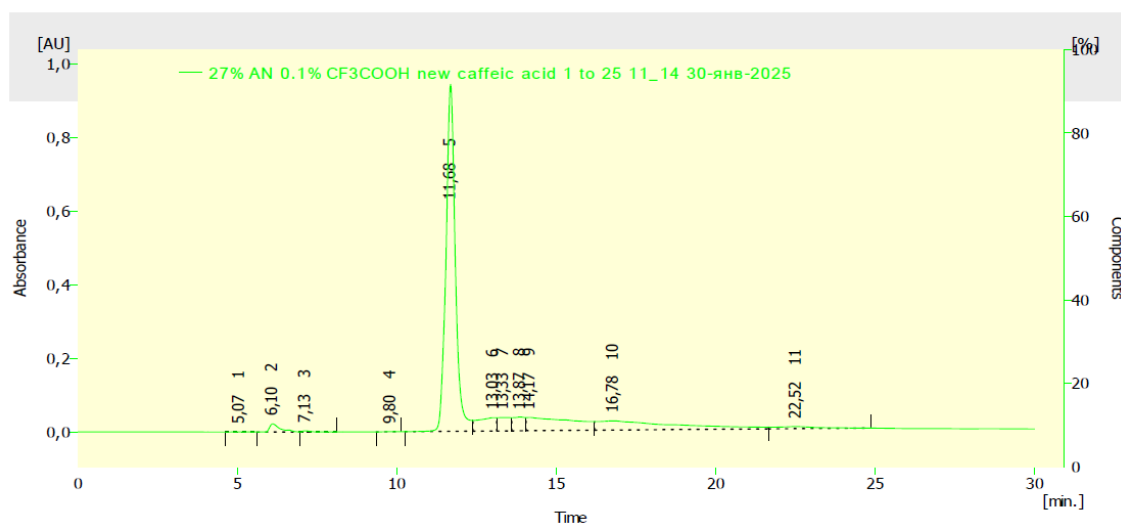


Рис. 2.5 Хроматограма 0,008 % розчину кофейної кислоти

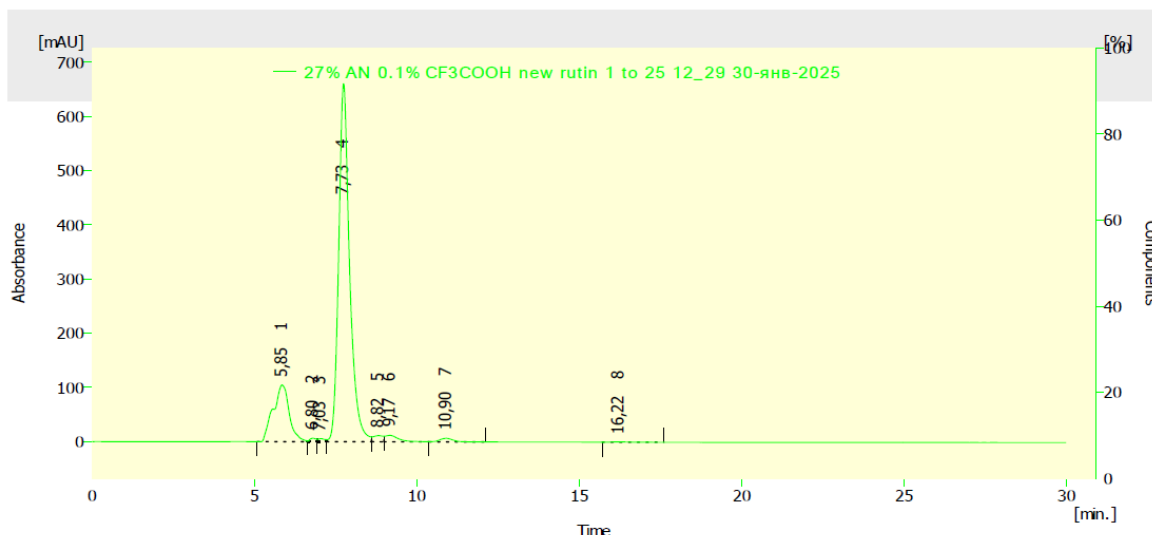


Рис. 2.6 Хроматограма 0,008 % розчину рутину

Розчин порівняння. 50 мг кофейної кислоти, 50 мг хлорогенової кислоти, 50 мг галлової кислоти і 50 мг рутину розчиняють у метанолі і доводять об'єм розчину до 25,0 мл. 0,5 мл отриманого розчину доводять метанолом до 25,0 мл.

Перед хроматографуванням розчини фільтрують крізь мембранний фільтр з розміром пор не більше 0,45 мкм.

Поперемінно хроматографують по 10 мкл випробовуваного розчину і розчину порівняння на рідинному хроматографі з УФ-детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного розчину за таких умов:

- колонка розміром 250 x 4,6 мм, заповнена *силікагелем октадецилсилільним для хроматографії P*, з розміром часток 5 мкм, з передколонкою, для якої виконуються умови придатності хроматографічної системи;

- рухома фаза: *ацетонітрил P* : *вода P* (27:73), дегазована зручним способом з додаванням 0,10 % трифлуороцтової кислоти;

- швидкість рухомої фази: до 10 хв – 0,5 мл/хв, з 10 хв – 1,0 мл/хв;

- температура колонки: 25 °С;

- детектування за довжини хвилі: 270 нм;

- об'єм інжекції: 10 мкл.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо для розчину порівняння виконуються наступні умови:

-ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком рутину, має бути не менше 6000 теоретичних тарілок;

- коефіцієнт симетрії піка рутину становить від 0,8 до 1,2;

- відносне стандартне відхилення для площ піків рутину, не має перевищувати 1,0%, розраховане за результатами 5 інжекцій.

Вміст рутину в міліграмах (X), в 100 г крему, розраховують за формулою:

$$x = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 50.0 \cdot 0.5 \cdot 100 \cdot P \cdot 1000}{S_0 \cdot m \cdot 25.0 \cdot 25.0 \cdot 100}$$

де S_1 – середнє значення площ піків рутину, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ рутину, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки рутину у розчині порівняння, в грамах;

m_i – маса наважки препарату, в грамах;

P – вміст рутину у СЗ рутину, у відсотках.

Вміст рутину у 100,0 г крему має бути не менше 7,0 мг.

Кількісний вміст суми речовин поліфенольної будови визначали після реакції з фосфорно-молібденово-вольфрамовим реактивом в середовищі насиченого розчину натрію карбонату за методикою ДФУ [10].

Методика проведення випробування.

Проведення операцій виділення з крему та розведення здійснюють у захищеному від світла місці.

Випробовуваний розчин. Наважку 2,000 г крему поміщають у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додають 150 мл *води Р*. Нагрівають протягом 30 хв на водяній бані, охолоджують під проточною водою та кількісно переносять у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскують *водою Р*, промивні води переносять в мірну колбу і доводять об'єм розчину *водою Р* до 250.0 мл. Дають осаді осісти та рідину фільтрують крізь мембранний фільтр з розміром пор не більше 0,45 мкм.

Сума поліфенолів. Суміш 5,0 мл фільтрату, 1.0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву і 10,0 мл води очищеної доводять розчином 290 г/л

натрію карбонату до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину розчину за довжини хвилі 760 нм (A_1), як компенсаційний розчин використовували воду P .

Стандартний розчин. Безпосередньо перед випробуванням 50,0 мг *пірогалолу* P розчиняють у воді очищеній і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять водою очищеною до об'єму 100,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву і 10,0 мл води очищеної доводять розчином 290 г/л натрію карбонату до об'єму 25,0 мл.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм (A_2), використовуючи як компенсаційний розчин воду.

Вміст суми поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, у міліграмах на 100 г крему, обчислюють за формулою:

$$X, \text{ мг} = \frac{A_1 \cdot m_2 \cdot 250,0 \cdot 25,0 \cdot 5,0 \cdot 2,0 \cdot 100}{A_2 \cdot m_1 \cdot 5,0 \cdot 100,0 \cdot 100,0 \cdot 25,0} = \frac{5 \cdot A_1 \cdot m_2}{A_2 \cdot m_1}$$

де: m_1 – маса наважки крему, у грамах;

m_2 – маса пірогалолу, у грамах.

Вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол у 100,0 г крему має бути не менше 16,0 мг.

2.3.3 Біологічні дослідження

Мікробіологічні дослідження проводили з метою визначення антимікробної активності дослідних зразків спиртового та олійного екстрактів леспедези двоколірної і крему з екстрактами та олією іланг-ілангу, обґрунтування вибору консерванта до складу крему та мікробіологічної чистоти екстрактів і крему. Дослідження проводили на базі Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України під керівництвом канд. біол. наук, ст. наук. співроб., завідувачки лабораторії біохімії та біотехнології Тетяни Осолодченко.

Випробування ефективності антимікробних консервантів крему з екстрактами леспедези поводити за методикою ДФУ 2.3 (п. 5.1.3) [9].

На початку дослідження здійснювали перевірку ростових властивостей живильних середовищ, стерильності живильних середовищ та перевірку придатності методики визначення. Живильні середовища відповідали за ростовими властивостями та витримували випробування на стерильність згідно вимог ДФУ 2.0, п. 2.6.12 [9]. Тест-мікроорганізми відповідали таксономічній характеристиці – морфологія клітин при мікроскопуванні та морфологія колоній на середовищах були типовими для відповідного штаму. Метод поверхневого висівання з розведенням зразків і використанням типового нейтралізуючого розчинника відповідає критерію прийнятності та може використовуватись при випробуванні ефективності ЛЗ з антимікробними властивостями.

Під час дослідження у зразки кремів з ЕЛ у первинному пакуванні з досліджуваними консервантами з різними концентраціями вводили тест-мікроорганізми і закладали зразки на зберігання при температурі 20–25 °С. Відразу після інокуляції мікроорганізмами і через 2, 7, 14 і 28 діб зберігання зі зразків відбирали проби в масі близько 1 г і визначали число життєздатних мікроорганізмів.

Згідно з вимогами ДФУ для інокуляції зразків як тест-мікроорганізми використовували *S.aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *C. albicans* ATCC 885-653, *A. brasiliensis* ATCC 16404 [9].

Статистичне оброблення отриманих результатів трьох досліджень проводили з використанням програми Microsoft Excel 2010; аналіз достовірності – за критерієм Ст'юдента.

Мікробіологічну чистоту дослідних зразків екстрактів і крему з ЕЛ визначали за вимогами ст. ДФУ 2.0. Т. 1 «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: визначення числа мікроорганізмів» (п. 2.6.12) [9].

Аналіз мікробіологічної чистоти проводили методом поверхневого висівання за ДФУ; визначали загальну кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС), загальну кількість дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) і бактерії родини *S.aureus* і *P. aeruginosa* [3].

Для визначення придатності методик встановлювали загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів і грибів з використанням мікроорганізмів американської колекції культур (АТСС); тест-мікроорганізмів готували за вимогами ДФУ.

Відповідно до ДФУ використовували густі та рідкі живильні середовища:

- для визначення загальної кількості життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – соєво-казеїновий агар;
- для визначення загальної кількості дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) – сабуро-декстрозний агар;
- для попереднього інкубування при визначенні окремих видів мікроорганізмів – соєво-казеїновий бульйон;
- для ідентифікації *S. aureus* – манітно-сольовий агар;
- для ідентифікації *P. aeruginosa* – цетримідний агар.

Живильні середовища витримували випробування на стерильність і за ростовими, інгібіторними та індикативними властивостями відповідали вимогам ДФУ [9].

Антимікробну активність дослідних зразків *in vitro* вивчали методом дифузії в агар (метод «колодязів») на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі. В дослідженні використовували еталонні тест-культури грампозитивних і грамнегативних бактерій, які належать до різних таксономічних груп: *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538-P, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. vulgaris* ATCC 4636, *B. subtilis* ATCC 6633. Протигрибкову дію досліджували на референтному штамі *C. albicans* ATCC 885-653, а також клінічних ізолятах *S. aureus* 16, *S. epidermidis* 14, *S. pneumoniae* 14, *S. pyogenes* 2432, *S. aureus* 124, *E. faecalis* 42, *K. pneumoniae* 18, *E. cloacae* 17, *A. baumannii* 150, *P. aeruginosa* 18, *C. albicans* 69. Приготування мікробної суспензії штамів (мікроорганізмів) проводили з використанням приладу Densi-La-Meter (виробництво PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Мікробну суспензію штамів готували згідно інструкції, яка додається до приладу, та інформаційного листа про нововведення в системі

охорони здоров'я № 163-2006 «Стандартизація приготування мікробних суспензій», м. Київ. Синхронізацію культур штамів проводили з використанням низької температури (4 °C) [3].

Мікробне навантаження складало 10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за стандартом McFarland. У дослідях використовували 18–24 годинну культуру штамів мікроорганізмів. Для культивування використовували агар Мюллера-Хинтона (виробництво – Індія «Himedia Laboratorles Pvt. Ltd India», термін придатності середовища до XI.2025 р.). Для культивування *C. albicans* використовували агар Сабуро (Виробництво – Індія, «Himedia Laboratorles Pvt. Ltd India» термін придатності середовища до XI.2025 р.).

Визначення антибактеріальних активності досліджуваних зразків проводили методом дифузії в агар (метод «колодязів») на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі [3]. Визначення протимікробної активності досліджуваних зразків проводили на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі (діаметром 100 мм і висотою 15 мм). У нижньому шарі використовували «голодне» незасіяне середовище (агар-агар, вода, солі). Цей шар являє собою підкладку з середовища об'ємом ($10,0 \pm 0,3$) мл, на яку строго горизонтально встановлюють 6 тонкостінних циліндрів з нержавіючої сталі діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливають верхній шар, що складається з поживного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до температури ($40,0 \pm 0,5$) °C, в яке вносили відповідний стандарт добової тест-культури мікроорганізму. Попередньо верхній шар добре перемішувався до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри стерильним пінцетом витягували і в лунки, що утворилися, поміщали досліджувану речовину в об'ємі 0,3 мл. Обсяг середовища для верхнього шару складав ($15,0 \pm 0,5$) мл. Чашки підсушували 30–40 хв за кімнатної температури і ставили в термостат на 18–24 год. Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів заміряли за допомогою мірної лінійки з точністю вимірювання 1,0 мм.

У дослідженнях також використовували метод дисків. На засіяну відповідним мікроорганізмом поверхню агару накладали диски діаметром 3 мм попе-

редньо змоченим у розчині витяжок з ЛРС або накладали невелику кількість МЛЗ.

Під час оцінки антибактеріальної активності досліджуваних зразків застосовували критерії, наведені в табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Критерії антибактеріальної активності досліджуваних зразків

Спостереження	Наявність активності
Методом дифузії в агар (метод «колодязів»)	
Відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки; зона затримки до 10 мм	Мікроорганізм не чутливий до лікарського засобу або концентрації АФІ
Зони затримки росту діаметром 10–15 мм	Мала чутливість культури до лікарського засобу або концентрації АФІ
Зони затримки росту діаметром 15–25 мм	Чутливість мікроорганізму лікарського засобу або концентрації АФІ
Зони затримки росту, діаметром понад 25 мм	Висока чутливість мікроорганізмів до лікарського засобу або концентрації АФІ
Метод дисків	
Відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки	Мікроорганізм не чутливий до лікарського засобу або концентрації АФІ
Зони затримки росту діаметром 5–8 мм	Мала чутливість культури до лікарського засобу або концентрації АФІ
Зони затримки росту діаметром 9–14 мм	Чутливість мікроорганізму лікарського засобу або концентрації АФІ
Зони затримки росту, діаметром понад 15 мм	Висока чутливість мікроорганізмів до лікарського засобу або концентрації АФІ

В якості контрольного препарату при обґрунтуванні введення до складу кремів витяжок з леспедези двоколірної в складі крему використовували рефе-

рентний препарат «Календули мазь», виробництва ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика», м. Житомир, серія 10623.

Фармакологічні дослідження

Вивчення специфічної фармакологічної активності екстрактів леспедези і крему з екстрактами проводили у Центральній науково-дослідній лабораторії НФаУ під керівництвом заст. директора з наукової роботи ННПФ Т.К. Юдкєвич

Дослідження були проведені на щурах самцях. Тварини утримувалися в віварії ННПФ НФаУ. Утримання тварин відповідало діючим правилам по пристроях, обладнанню та утриманню віваріїв. Тварини отримували стандартне харчування відповідно до діючих норм [14, 50, 98]. З тваринами поводитись згідно з правилами «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986 р) [98]. Проект плану з доклінічного вивчення фармакологічних властивостей тест-зразків був схвалений комітетом з біоетики НФаУ (протокол №10 від 03.10.2023 р.).

Дослідження проведені відповідно до методичних рекомендацій (Стефанов, 2001) і Наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та № 95 від 16.02.2009 р., з дотриманням вимог Належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice (GLP) [43, 97].

Дослідження виконано на безпородних статевозрілих щурах самцях. Тварин утримували в окремій кімнаті з контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря 18–22 °С, відносна вологість повітря 50–65 %, світловий режим «12 год день/ніч», у пластикових клітках із індивідуальною вентиляцією [14, 50]. Стерилізацію приміщення за допомогою УФ-лампи здійснювали щоденно. Тварини мали вільний доступ до води (попередньо відстояна водопровідна вода з напувалок). Для годування тварин використовували гранульовані збалансовані комбікорми (ТУ.У15.7-2123600159-001:2007). Догляд за тваринами проводили відповідно до стандартних операційних процедур ННТЦМБД НФаУ. Всі етапи дослідження проведені згідно Директиви Євро-

пейського Парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. «Про захист тварин, що використовуються в наукових цілях» [97].

Перед проведенням експерименту тварини пройшли акліматизацію протягом 7 діб. Протягом періоду акліматизації проводили щоденний огляд кожної тварини (оцінювали поведінку та загальний фізичний стан), спостерігали за тваринами для виявлення можливих випадків захворюваності або смертності.

Протизапальну активність тест-зразків вивчали на моделі опікової рани [61]. Дослідження проведено на 42 щурах самцях масою 240–262 г, віком 4–4,5 місяці [14, 21]. Всіх тварин розподілили на 7 груп по 6 у кожній. Рандомізацію тварин по групах та поміж групами здійснювали за масою, що не перевищувала $\pm 10\%$. Дизайн дослідження наведено у табл. 2.2. Опікові рани виконували під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) на попередньо депільованій ділянці шкіри розміром 4 x 4 см. Опік ініціювали за допомогою приладу з встановленою температурною шкалою та електропаяльником з контактною пластиною діаметром 2,5 см, що дозволяє отримати стандартні опіки за розміром 490,0 мм². Час експозиції контактної пластини склав 4 сек при температурі 200 °C. За цих умов опік шкіри за клінічною класифікацією відповідає II ступеню [60].

Таблиця 2.2

Дизайн фармакологічних досліджень

Зразок	Експериментальна група	Кількість тварин у групі
1	Контроль	6
2	Спиртовий екстракт леспедези двоколірної	6
3	Олійний екстракт леспедези двоколірної	6
4	Основа крему	6
5	Крем з екстрактами леспедези двоколірної	6
6	Пантенол, мазь	6
7	Календула, мазь	6

Досліджувані засоби та препарати порівняння (ПП) наносили на шкіру тварин щодня один раз на добу тонким шаром у достатній кількості без втирання (групи 4–7) або крапельно у об'ємі 100 мкл безпосередньо на ранову поверхню (групи 2, 3).

Для препаратів порівняння було використано лікарські засоби мазь Пантенол (за фармакологічною дією) та мазь Календули (за рослинним походженням). Щоб виключити можливість впливу основи крему на результати дослідження, її вивчали на окремій групі тварин (група 4). Тварин контрольної групи не лікували (група 1). Лікування розпочинали одразу після термічної дії і продовжували до повного загоєння ран.

Основними показниками верифікації виразності протизапальної дії досліджуваних засобів та ПП були зміна площі опікових ран (S , мм^2), коефіцієнт швидкості загоєння і відсоток щурів із загоєними ранами у порівнянні з контрольною групою.

Ефективність досліджуваних засобів та ПП вивчали у динаміці – на 2, 6, 9, 13, 16, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 і 30 добу лікування до повного загоєння. Площу ран вимірювали у мм^2 (метод Л.Н. Попової [60]), прикладаючи до рани прозорий міліметровий папір. Розраховували кількісний відсоток тварин з повною епіталізацією рани на поточну добу вимірювання.

Отримані результати виражали у вигляді середнього арифметичного значення (M) та стандартної помилки середнього (SEM). Порівняння між досліджуваними групами проводили за допомогою непараметричних методів аналізу (U-тест Манна-Уїтні) та альтернативних методів (кутове перетворення за Фішером ϕ). Вірогідність відмінностей визначали за рівнем значущості $P < 0,05$. Статистична обробка проведена із використанням базового пакету програм MS Excel 2007 та IBM SPSS Statistics 22 [115].

2.3.4 Статистичний аналіз

Статистична обробка результатів експериментальних даних проводилася відповідно до вимог статей ДФУ 5.3. «Статистичний аналіз біологічних ви-

пробувань та кількісних визначень», 5.3.N. «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» [10].

Висновки до розділу 2

1. Обґрунтовано методологію досліджень із розроблення дерматологічного засобу у формі емульсійного крему зі спиртовим і олійним екстрактами леспедези для терапії інфекційно-запальних захворювань шкіри.

2. Наведено опис об'єктів досліджень: ЛРС леспедези двоколірної, ефірної олії іланг-ілангу; допоміжних речовин, які використовували для отримання екстрактів леспедези двоколірної і розроблення дерматологічного крему.

3. Опрацьовано методики фізико-хімічних, фармакотехнологічних, біофармацевтичних, мікробіологічних, фармакологічних і статистичних досліджень, які використовували під час розроблення і стандартизації екстрактів леспедези двоколірної і дерматологічного крему для терапії інфекційно-запальних захворювань шкіри.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ З ОБҐРУНТУВАННЯ УМОВ ОТРИМАННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЕКСТРАКТІВ ЛЕСПЕДЕЗИ ДВОКОЛІРНОЇ

3.1 Дослідження хімічного складу сировини леспедези двоколірної

У дослідженнях використовували подрібнену надземну частину ЛРС, що складалася із суміші листя, стебл, пуп'янків і квітів (далі – сировина) леспедези двоколірної (*Lespedeza bicolor Turcz.*, родина Бобові), яка була заготовлена в колекції «Лікарські рослини» ботанічного саду ЛНУ ім. Івана Франка (Львів, Україна) у I декаді серпня 2022 р., у фенофазу масового цвітіння. Зразки, ідентифіковані ст. н. сп. М. І. Скібіцькою, було збережено в гербарії (LW) Львівського національного університету імені Івана Франка (LW0056630), Україна. Сировину сушили за температури навколишнього середовища 20–24 °С.

Дослідження якісного та кількісного складу сировини проводили на базі кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Литовського університету наук здоров'я, м. Каунас, Литва під керівництвом зав. кафедри, д. біомед. н., проф. Людаса Іванаускаса і д. фарм.н., доц. кафедри фармацевтичної хімії НФаУ Ольги Михайленко. У результаті виконання ВЕТШХ-досліджень в сировині леспедези двоколірної встановлена наявність фенольних сполук (рис. 3.1).

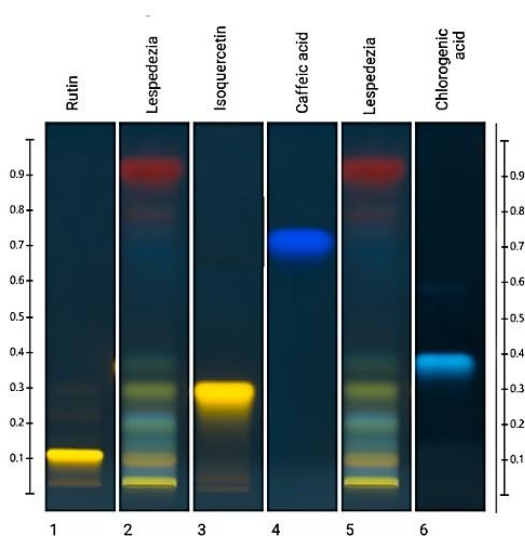


Рис. 3.1 Профіль ВЕТШХ зразку леспедези і визначених стандартів під УФ 366 нм після дериватизації

При проведенні експерименту було ідентифіковано хлорогенову кислоту, кофейну кислоту, рутин та ізокверцитрин у порівнянні з стандартними речовинами. Ідентифіковані сполуки мали однакову флуоресценцію та згід Rf із стандартними речовинами: хлорогенова кислота – 0,41; кофейна кислота – 0,77; рутин – 0,12; ізокверцитрин – 0,30.

Хроматографування проводили з використанням пластинок «Merck Silica gel F₂₅₄». В якості рухомої фази використовували: етилацетат – мурашину кислоту – воду очищену 68:8:8, виявлення хроматографічних зон проводили, використовуючи специфічний реагент – аміноетиловий ефір дифенілборної кислоти Р та макрогол.

Хроматограми переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм, 365 нм а при денному світлі до та після дериватизації (рис. 3.2).

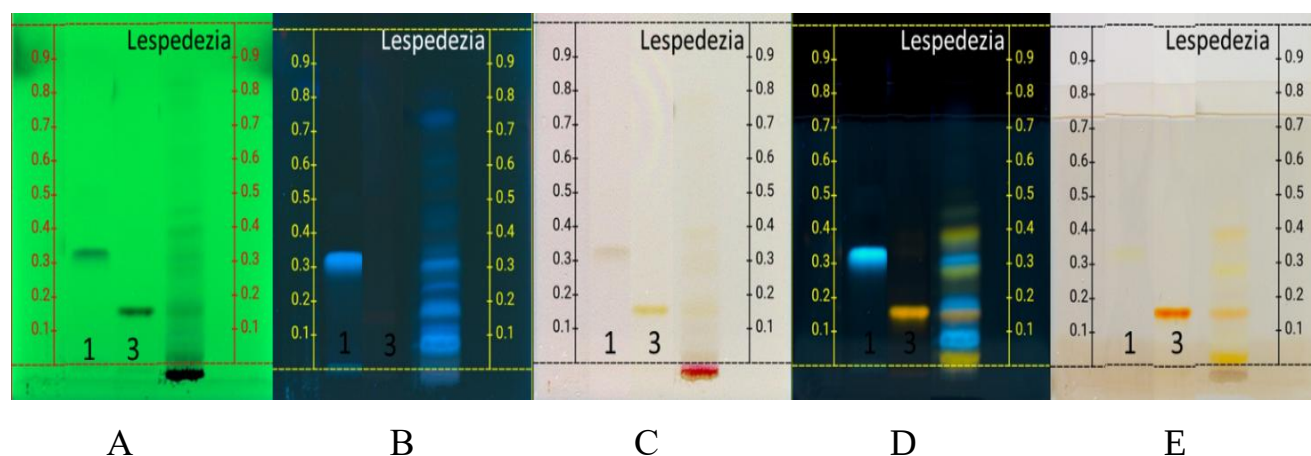


Рис. 3.2 Загальний ВЕТШХ профіль екстракту леспедези та двох стандартів (хлорогенова кислота (1) та рутин (3)) під УФ 254 нм (А), УФ 366 нм (В) і білим світлом (С) до дериватизації та під УФ 366 нм після дериватизації (D) і білим світлом після дериватизації (E)

Методом ВЕРХ в НЧЛД було визначено кількісний вміст рутину, ізокверцитрину, кофейної і хлорогенової кислоти (рис. 3.3).

Результати ВЕРХ-дослідження сировини леспедези двоколірної наведено в табл. 3.1.

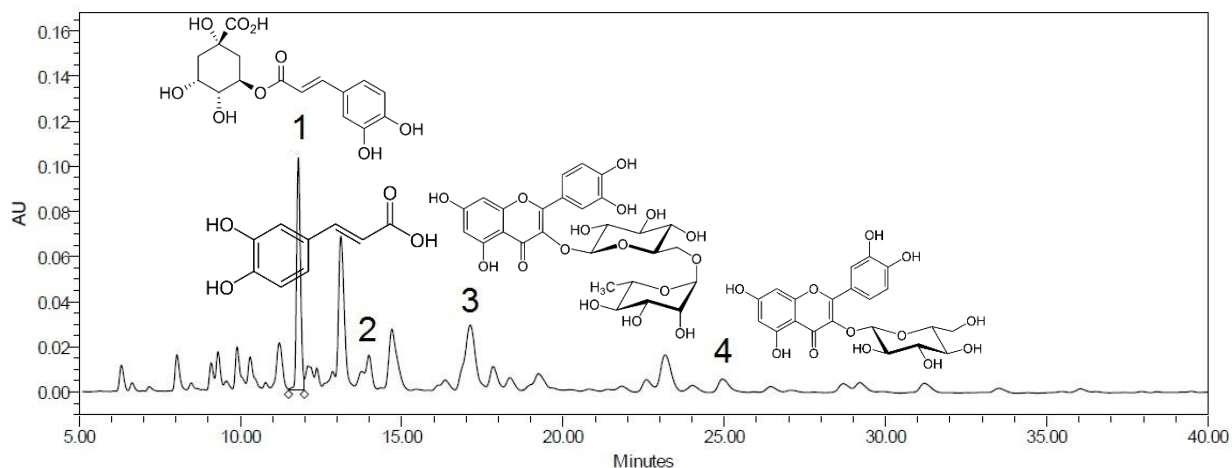


Рис. 3.3 Типова ВЕРХ-хроматограма метанольного екстракту з надземної частини леспедези двоколірної при дослідженні фенольних сполук за довжини хвилі 324 нм. Позначення: 1 – хлорогенова кислота, 2 – кофейна кислота, 3 – рутин, 4 – ізокверцитрин. Позначення речовин на рис. та у табл. 3.1 однакові

Таблиця 3.1

**Кількісний вміст основних ідентифікованих речовин
у сировині леспедези, мг/г**

Позначення речовин	Речовина	Час утримування, хв	Вміст, мг/г
1	Хлорогенова кислота	11,794	$1,427 \pm 0.025$
2	Кофейна кислота	13,985	$0,125 \pm 0.002$
3	Рутин	23,158	$1,418 \pm 0.025$
4	Ізокверцитин	24,942	$0,413 \pm 0.007$

Найбільший вміст в лікарській сировині встановлено для хлорогенової кислоти (1,427 мг/г) та рутину (1,418 мг/г), що узгоджується з даними якісного аналізу, де на ВЕРХ-хроматограмах інтенсивність зон даних речовин найінтенсивніша. Отримані результати складу та вмісту фенольних сполук у надземній частині леспедези двоколірної схожі з результатами авторів [99], які вивчали вміст фенольних сполук у етанольних екстрактах (70%) із надземної частини леспедези з північної Кореї. Методом ВЕРХ автори також ідентифікували та

визначили кількісний вміст рутину ($43,69 \pm 0,02 \text{ } \mu\text{g}/10 \text{ mg}$). Крім рутину, вони ідентифікували лютеолін, даїдзеїн, катехін, нагінгенін, тоді як український зразок сировини, не містив цих сполук.

3.2 Дослідження технологічних властивостей сировини

Враховуючи значний вплив технологічних властивостей сировини на процес екстракції, необхідно було провести дослідження з їх визначення.

За зовнішніми ознаками НЧЛД являє собою шматочки листя зі шматочками квіток, окремими квітками або без них, зі шматочками стебел, або без них. Колір від зеленого до сіро-зеленого. Запах приємний, трав'яний.

Результати дослідження фракційного складу подрібненої надземної частини леспедези двоколірної наведені у табл. 3.2.

Як свідчать результати дослідження, ЛРС має досить однорідний дисперсний склад, який сприятиме більш повному і прогнозованому процесу екстрагуванню БАС із ЛРС. Близько 85 % подрібненої сировини включає фракції від 2,0 до 7,0 мм.

Таблиця 3.2

Результати ситового аналізу надземної частини леспедези двоколірної

Розмір частинок фракцій, мм	Фракційний склад подрібненої ЛРС, %
7,0–5,0	26,43
5,0–3,5	32,22
3,5–2,0	20,86
2,0–1,0	8,94
1,0–0,6	5,39
0,6–0,16	3,60
Менше 0,16	2,56

Результати визначення технологічних властивостей (вологість, коефіцієнт набухання та поглинання екстрагента, вміст екстрактивних речовин, загальна зола, плинність, кут природного укусу сировини насипний об'єм та насипна густина до усадки та після усадки, питома маса, об'ємна густина, пористість сировини, нарізність, вільний об'єм шару), які визначали відповідно до загальноприйнятих методик і методик ДФУ (розділ 2), наведено в табл. 3.3.

За результатами табл. 3.3, насипний об'єм надземної частини леспедези після усадки зменшився на 23,0 % (зі 115 до 92,1 мл), насипна густина після усадки зросла з 0,236 до 0,252 г / мл.

Таблиця 3.3

**Результати визначення технологічних властивостей сировини леспедези
двоколірної, (n = 5, P = 95 %)**

Параметри досліджень	Одиниці вимірювання	Результати досліджень
1	2	3
Вологість	%	$7,20 \pm 0,15$
Плинність	с / 100 г	$50,05 \pm 0,70$
Кут природного укусу	—	$41,5 \pm 0,5$
Насипний об'єм до усадки, V_0	мл	$115,00 \pm 1,65$
Насипний об'єм після усадки, V_{10}	мл	$100,10 \pm 1,50$
Насипний об'єм після усадки, V_{500}	мл	$95,30 \pm 1,70$
Насипний об'єм після усадки, V_{1250}	мл	$93,00 \pm 1,90$
Насипний об'єм після усадки, V_{2500}	мл	$92,10 \pm 1,30$
Здатність до усадки, $V_0 - V_{1250}$	мл	23,00
Насипна густина до усадки, m / V_0	г / мл	$0,236 \pm 0,006$
Насипна густина після усадки, m / V_{1250}	г / мл	$0,252 \pm 0,008$
Питома маса	г / мл	$1,246 \pm 0,012$
Об'ємна густина	г / мл	$0,382 \pm 0,006$
Пористість сировини	—	$0,7094 \pm 0,018$
Нарізність	-	$0,3926 \pm 0,0022$
Вільний об'єм шару	-	$0,8108 \pm 0,0024$
Зола загальна	%	$6,00 \pm 0,08$

Продовж. табл.3.3

1	2	3
Коефіцієнт набухання (Кн) у воді очищеній	—	$3,42 \pm 0,06$
Коефіцієнт поглинання (Кп) у воді очищеній	-	$2,28 \pm 0,06$
Коефіцієнт набухання (Кн) в 40 % етанолі Р	—	$3,15 \pm 0,08$
Коефіцієнт поглинання (Кп) в 40 % етанолі Р	-	$2,18 \pm 0,05$
Коефіцієнт набухання (Кн) в 70 % етанолі Р	—	$3,08 \pm 0,05$
Коефіцієнт поглинання (Кп) в 70 % етанолі Р	-	$2,04 \pm 0,08$
Екстрактивні речовини (при екстрагуванні водою очищеною)	%	$20,08 \pm 0,16$
Екстрактивні речовини (при екстрагуванні 40% етанолом)	%	$21,15 \pm 0,10$
Екстрактивні речовини (при екстрагуванні 70% етанолом)	%	$18,60 \pm 0,08$

Отримані результати дослідження технологічних властивостей використовували для розрахунку об'єму, який буде займати сировина у лабораторному перколяторі після набухання та об'єм екстрагенту, що залишається в шроті після зливання екстракту і необхідний для отримання витяжки у необхідному до визначеного співвідношення сировина : готовий продукт.

3.3 Обґрунтування вибору екстрагенту для отримання витяжок леспедези двоколірної

3.3.1 Дослідження складу витяжок леспедези двоколірної залежно від вмісту етанолу в екстрагенті

Аналіз літературних даних показав різноманіття хімічного складу та фармакологічної активності леспедези двоколірної. За фітохімічним складом леспедеза є джерелом різних хімічних сполук, таких як флавоноїди, фенольні сполуки, фенілпропаноїди, стероїди, лігнани та фенілділактони [40, 94, 121, 124, 135, 154]. Власні дослідження продемонстрували наявність в леспедезі двоколірної, вирощеної в Україні хлорогенової і кофейної кислот, рутину й ізокверцитрину.

Сировину подрібнювали і просіювали, для екстрагування ЛРС обирали фракцію з розміром часток 2–5 мм. Для екстрагування БАС з ЛРС використовували воду очищену та 40 й 70 % водно-спиртовий розчин. На етапі попереднього аналізу складу витяжок ЛРС екстрагували методом класичної мацерації інтенсифікованої періодичним перемішуванням і УЗ-екстракції з використанням лабораторного ультразвукового приладу Ultrasonic Cleaner (потужність ультразвукового випромінювання 120 Вт і частота 40 кГц), у який поміщали ємність з сировиною та відповідним екстрагентом. За використання як екстрагента 40 % етанолу екстрагували методом мацерації у співвідношенні 1 : 7,5 (зразок 1) і 1 : 10 (зразок 2) та із застосуванням приладу для УЗ-екстракції у співвідношенні 1 : 7,5 (зразок 3). За використання як екстрагента 70 % етанолу екстрагували як методом мацерації у співвідношенні 1 : 7,5 (зразок 4) і 1 : 10 (зразок 5), так і УЗ-екстракцією у співвідношенні 1:7,5 (зразок 6). Водну витяжку отримували за загальними правилами отримання настоїв настоюванням сировини на водяній бані за співвідношення 1 : 10 впродовж 15 хв з подальшим настоюванням при охолодженні 45 хв (зразок 7) [1].

Аналітичні дослідження проводили методом ТШХ на хроматографічних пластинках Silica gel 60 фірми Merk, спектрофотометричні випробування здійснювали на спектрофотометрі Evolution 60s з використанням реактивів, що відповідають вимогам ДФУ [9] за методикою наведеною у розділі 2.

Оскільки до складу *L. bicolor* входить сума БАС, які різняться за хімічною будовою, необхідно було визначити потенційні складові витяжок, отриманих з використанням різних екстрагентів.

За зовнішнім виглядом досліджувані зразки – рідини жовтувато-коричневого, коричневого, зеленувато-коричнюватого забарвлення з характерним специфічним запахом.

Для встановлення складу витяжок проводили реакції ідентифікації на БАР леспедези двоколірної: флавоноїди, феноли і дубильні речовини. Реакції проводили за методиками, описаними в літературі і наведеними в розділі 2 [155]. Результати дослідження наведені в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

**Результати ідентифікації біологічно активних речовин
в отриманих витяжках леспедези двоколірної**

Реакції ідентифікації	Спостереження
Флаваноїди	
Реакція з 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду	Утворився розчин яскраво зеленувато-жовтого забарвлення
Ціанідова проба в модифікації за Бріантом	Утворився розчин рожевого кольору
Реакція з 10 % спиртовим розчином луку	Утворився розчин жовтого кольору
Реакція з мінеральними кислотами	Утворився розчин малинового забарвлення
Феноли і дубильні речовини	
Реакція з 2 % розчину FeCl_3	Утворився розчин синьо-зеленого забарвлення
Вуглеводи	
Реакція з мідно-тарtratним реагентом прикип'ятінні	В нижній частині пробірки з'явився цегляно-червоний осад

Хімічні реакції ідентифікації свідчать про наявність у досліджуваних витяжках речовин флавоноїдної будови, фенолів, дубильних речовин та вуглеводнів. Під час дослідження спостерігалася різна інтенсивність забарвлення зразків, що може свідчити про різний кількісний вміст сполук залежно від обраного екстрагенту.

Визначення дубильних речовин (танінів) і сполук поліфенольної будови.

Для ідентифікації танінів і речовин полісахаридної будови методом тонкошарової хроматографії досліджувані зразки розчиняли у спирті етиловому підхожій концентрації або водою, наносили на тонкошарові пластинки, вміщували в рухому фазу вода – мурашина кислота – етилацетат (5 : 10 : 85). Маркерами обрані фруктоза і пірогалол. Коли фронт розчинників пройшов 10 см, хроматограми сушили на повітрі, обробляли розчином анісового альдегіду, нагрівали за температури 100–105 °С 15 хв і переглядали при денному світлі.

Послідовність зон на хроматограмах випробуваних розчинів та розчину порівняння наведені на рис. 3.4.

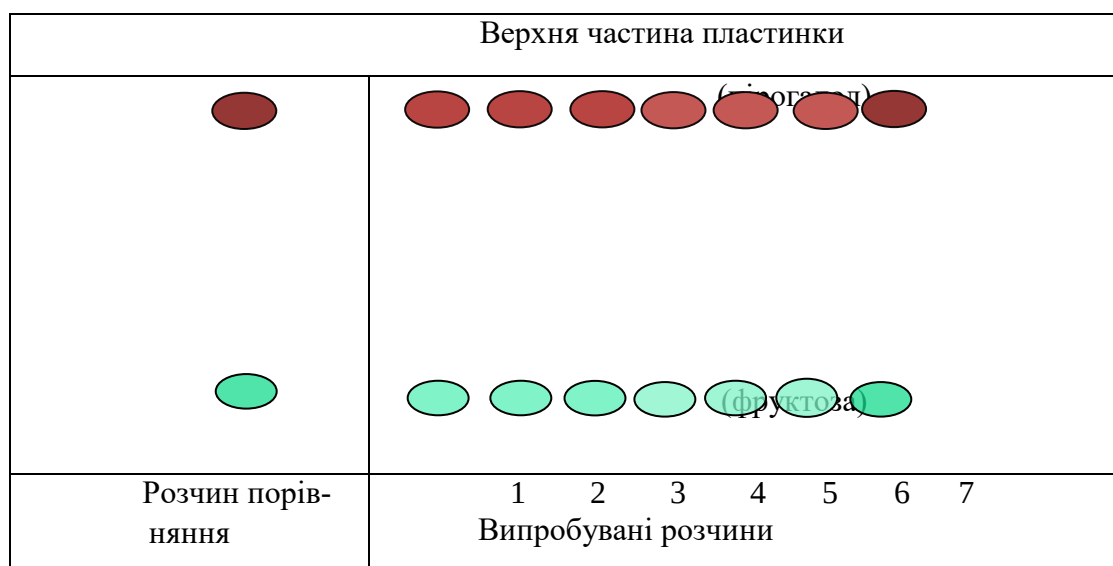


Рис. 3.4 Схема хроматограми, отримана при ідентифікації танінів і речовин полісахаридної будови у дослідних зразках витяжок леспедези: 1 – розчин порівняння (суміш розчинів пірогалолу і фруктози); 2 – випробувані розчини

Отримані результати свідчать про наявність у всіх досліджуваних екстрактах танінів і речовин полісахаридної будови. На хроматограмі випробуваного розчину можуть виявлятися й інші зони.

Визначення сполук поліфенольної будови (флавоноїдів і гідроксикоричних кислот) проводили методом ТПХ в системі розчинників бутанол – кислота оцтова льодяна – вода (4:1:2) з використанням для проявлення 5 % розчину алюмінію хлориду в метанолі. Хроматограми переглядали в УФ-світлі до і піс-

ля проявлення реактивом. На хроматограмі випробуваного розчину наведено послідовність зон, окрім того виявлятися й інші зони (рис. 3.5).

На хроматограмах досліджуваних зразків у всіх зразках проявляються наступні зони – блакитна зона на рівні зони кофейної кислоти, жовта флуоресціююча зона на рівні зони кверцетину жовтаво-зеленкувата флуоресціююча зона на рівні зони розташування рутину та блакитна флуоресційна зона на рівні зони розташування хлорогенової кислоти. У всіх досліджуваних зразках проявляються додаткові зони вище і нижче рівня зон розчину порівняння (рис. 3.5).

Верхня частина пластинки								
Яскраво-блакитна зона (кофейна кислота)		кофейна кислота						
Жовта флуоресціююча зона (кверцетин)								
Жовтаво-зеленкувата флуоресціююча зона (рутин)								
Блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота)								
Розчин порівняння		Випробуваний розчин						
		1	2	3	4	5	6	7
1		2						

Рис. 3.5 Схема хроматограми, отримана при ідентифікації речовин поліфенольної і флавоноїдної природи у дослідних зразках витяжок леспедези:

1 – розчин порівняння; 2 – випробувані зразки

Отримані результати методом ТШХ свідчать про наявність у всіх досліджуваних зразках флавоноїдів, речовин поліфенольної будови і дубильних речовин.

Кількісне визначення поліфенольних сполук і флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом за методикою, наведеною в розділі 2.

Для визначення кількості БАС, що переходить у воду та етанол різної концентрації, вивчали характер абсорбційних спектрів у ділянці довжин хвиль від 220 нм до 450 нм (рис. 3.6).

Наявність максимумів поглинання за довжин хвилі 274 нм, що співпадають з максимумом поглинання спиртового розчину галової кислоти (278 нм), може свідчити про наявність у досліджуваних зразках речовин поліфенольної структури. Максимуми поглинання в області від 321 нм до 327 нм можуть свідчити про наявність гідроксикоричних кислот.

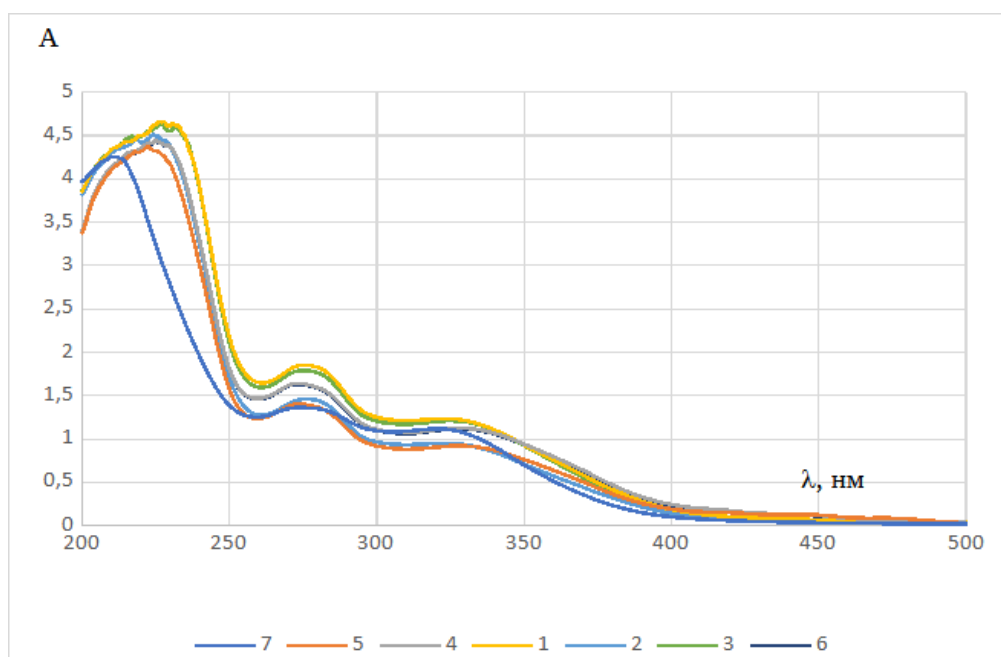


Рис. 3.6 Абсорбційні спектри розчинів екстрактів у відповідних розчинниках

Таким чином, доцільно було вміст БАР в екстрактах залежно від розчинника визначати у перерахунку на поліфенольні сполуки, використовуючи як стандарт спиртовий розчин галової кислоти, УФ-спектр 0,0016 % спиртового розчину якого наведений на рис. 3.7.

Результати кількісного визначення вмісту поліфенольних сполук в екстрагент у перерахунку на галову кислоту наведені в табл. 3.5. Встановлено, що найбільша кількість речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту, екстрагується 40 % етиловим спиртом у співвідношенні 1 : 7,5 як ме-

тодом мацерації (зразок 1), так із застосуванням приладу для УЗ екстракції (зразок 3).

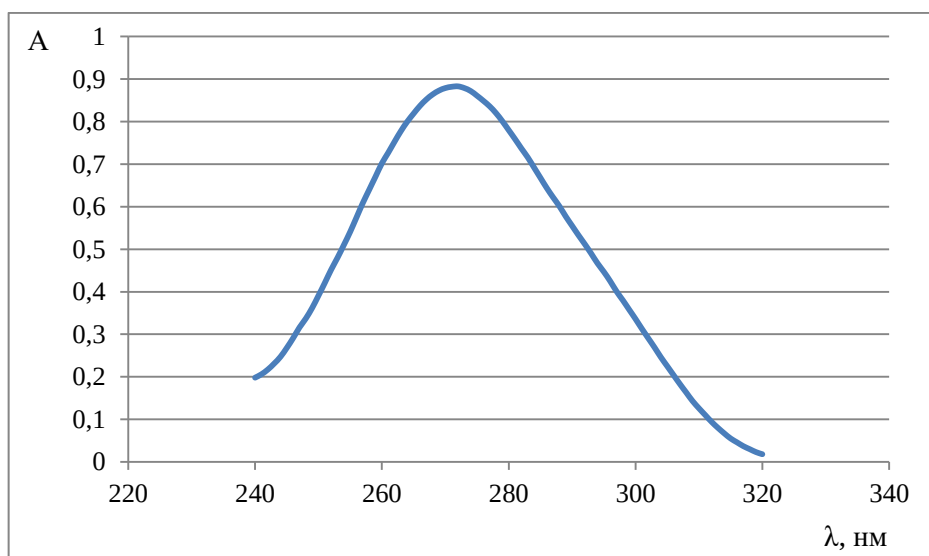


Рис. 3.7 УФ-спектр 0,0016 % спиртового розчину галової кислоти

Загальний вміст танінів визначали за допомогою реакції взаємодії з реактивом Фоліна-Чокальтеу. Реакцію проводили в присутності насиченого розчину натрію карбонату за довжини хвилі 710 нм, що відповідає максимуму поглинання 0,002 % розчину пірогалолу в цих умовах (рис. 3.8).

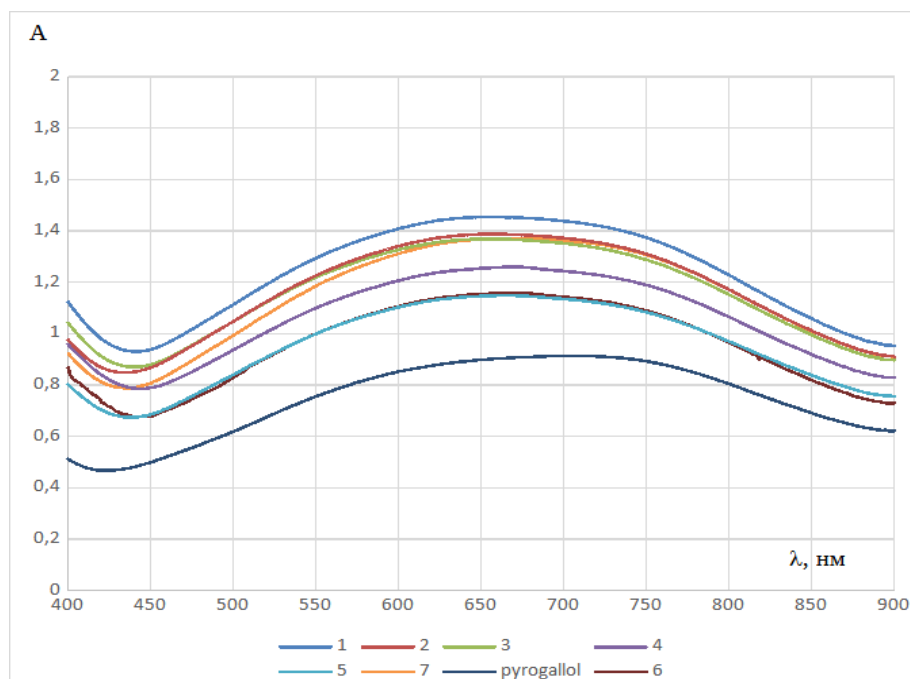


Рис. 3.8 Абсорбційні спектри розчинів екстрактів і 0,0002 % розчину пірогалолу після реакції з реактивом Фоліна-Чокальтеу

Результати кількісного визначення вмісту танінів в дослідних зразках наведені в табл.3.5, показали що, при застосуванні в якості екстрагенту 40 % етанолу і води (зразки 1, 2, 3 і 7) екстрагується приблизно однакова кількість танінів.

У результаті проведених досліджень встановлено, що абсорбційні спектри поглинання отриманих забарвлених розчинів леспедези двоколірної після взаємодії з розчином алюмінію (III) хлоридом в оцтовокислому середовищі характеризуються наявністю максимумів поглинання за довжин хвилі 402 нм (зразки 2, 6 і 7), 405 нм (зразок 2, 4 і 5), 406 нм (зразок 1), що знаходиться в межах положення максимуму рутину в цих умовах 407 нм (рис. 3.9). Результати кількісного визначення вмісту флавоноїдів в зразках наведені в табл.3.5.

Отже, при застосуванні в якості екстрагенту 40 % і 70 % водно-спиртового розчину (зразки 3, 4, 5 і 6) в екстрагент переходить найбільша кількість флавоноїдів, схожих за будовою до рутину.

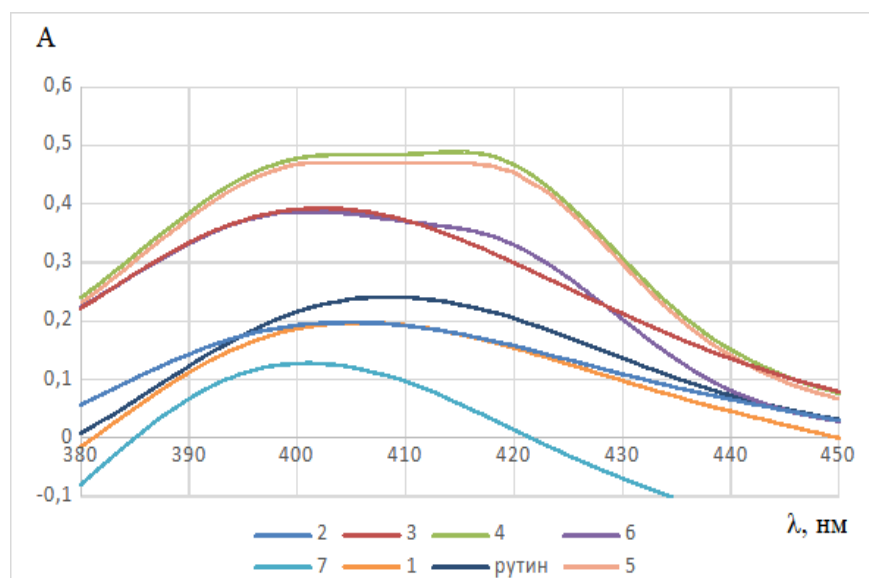


Рис. 3.9 Абсорбційні спектри розчинів дослідних зразків після реакції з розчином алюмінію хлориду в оцтовокислому середовищі

Кількісний вміст БАС у витяжках, отриманих під час екстрагування різними екстрагентами при різних співвідношеннях, отриманих методом мацерації і з використанням приладу для УЗ екстракції, наведені в табл. 3.5. З огляду на хімічний склад для подальших досліджень обрано етанольні витяжки, в які, за

обраних умов, екстрагується більша кількість поліфенольних сполук і флавоноїдів порівняно з водним вилученням і така ж кількість танінів (табл. 3.5) [53].

Таблиця 3.5

Результати визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук у об'єктах дослідження

Зразки/ Біологічно активні сполуки	1	2	3	4	5	6	7
Кількість поліфенольних сполук, %	0,830 ± 0,018	0,656 ± 0,016	0,804 ± 0,018	0,737 ± 0,015	0,648 ± 0,018	0,630 ± 0,018	0,612 ± 0,016
Кількість танінів, %	0,065 ± 0,014	0,062 ± 0,016	0,061 ± 0,015	0,056 ± 0,016	0,053 ± 0,015	0,051 ± 0,017	0,062 ± 0,016
Кількість флавоноїдів, %	0,063 ± 0,011	0,063 ± 0,012	0,123 ± 0,012	0,155 ± 0,013	0,152 ± 0,014	0,125 ± 0,012	0,041 ± 0,013

З огляду на умови подальшого використання екстракту з сировини леспедези в складі м'якого дерматологічного лікарського засобу, а також на результати дослідження впливу природи екстрагенту на вихід основних груп БАС із ЛРС, нами як екстрагент обрано 40 % етанол.

3.3.2 Оптимізація умов отримання леспедези двоколірної екстракту спиртового рідкого

Наші подальші дослідження полягали в обґрунтуванні технології і визначенні основних параметрів екстракції ЛРС для оптимізації процесу вилучення комплексу БАР з сировини леспедези.

На даному етапі дослідження необхідно було визначити умови отримання екстракту леспедези двоколірної.

Обраний метод екстрагування має максимально виснажувати сировину, бути простим і легко відтворюваним. Вибір методу екстракції, в першу чергу залежить від виду та властивостей ЛРС, природи (хімічна структура, розчинність тощо), природи та кількості БАС, які необхідно вилучити [2, 57, 63]. Та-

ким вимогам відповідають динамічні методи, серед яких найбільш дослідженим і прийнятним для трансферу лабораторної технології в промислове виробництво, є метод перколяції.

На даному етапі дослідження необхідно було визначити кількість екстрагенту яке забезпечить максимальне вилучення БАС з ЛРС. Екстракцію сировини проводили методом перколяції в лабораторному перколяторі за такою технологією: у перколятор завантажували 50,0 г подрібненої і просіяної сировини, подавали екстрагент (етанол 40 %) до «дзеркала» та настоювали упродовж 24 год. Після настоювання перколяцію проводили зі швидкістю 3–4 мл / хв з постійною подачею свіжого екстрагента. Екстракцію здійснювали до одержання сумарного екстракту DER 1 : 10. Для визначення впливу такого фармацевтичного чинника, як оптимальне співвідношення сировина:готовий продукт, для кожного зразка рідкого екстракту визначали вміст сухого залишку за допомогою аналізатора вологи Sartorius MA150C (Germany) (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Ефективність екстракції залежно від співвідношення
сировина : готовий продукт**

Номер зразка	DER	Вміст сухого залишку, %	Вміст сухого залишку, Сп, %	Вихід екстрактивних речовин, Дп, %
1	1 : 1	6,20	5,24	5,24
2	1 : 2	5,18	4,32	9,26
3	1 : 3	4,06	4,38	13,24
4	1 : 4	3,34	3,96	16,16
5	1 : 5	2,46	3,68	18,22
6	1 : 6	1,82	3,19	19,82
7	1 : 7	1,05	2,68	21,17
8	1 : 8	0,80	2,42	21,92
9	1 : 9	0,68	2,31	22,44
10	1 : 10	0,21	2,18	22,63

З метою визначення оптимальних умов екстрагування сировини для кожної витяжки розраховували залежність основних критеріїв ефективності процесу екстрагування від зміни співвідношення «сировина : готовий продукт».

Характер зміни критеріїв оцінки процесу при зміні співвідношення «сировина : екстракт» залежно від використаного екстрагенту наведено в табл. 3.6 та рис. 3.10 та 3.11.

Встановлено що, вихід екстрактивних речовин зменшується при збільшенні співвідношення сировина : готовий продукт. При збільшенні DER понад 1 : 7 вихід екстрактивних речовин практично не підвищується. Про це свідчить вміст сухого залишку у витяжках – його кількість при співвідношенні від 1 : 7 до 1 : 10 підвищується лише на 1,46 %.

Динаміка виходу флавоноїдів у перерахунку на рутин і танінів у перерахунку на пірогалол, які досліджували в кожній виділеній порції витяжки наведена на рис. 3.10–3.11.

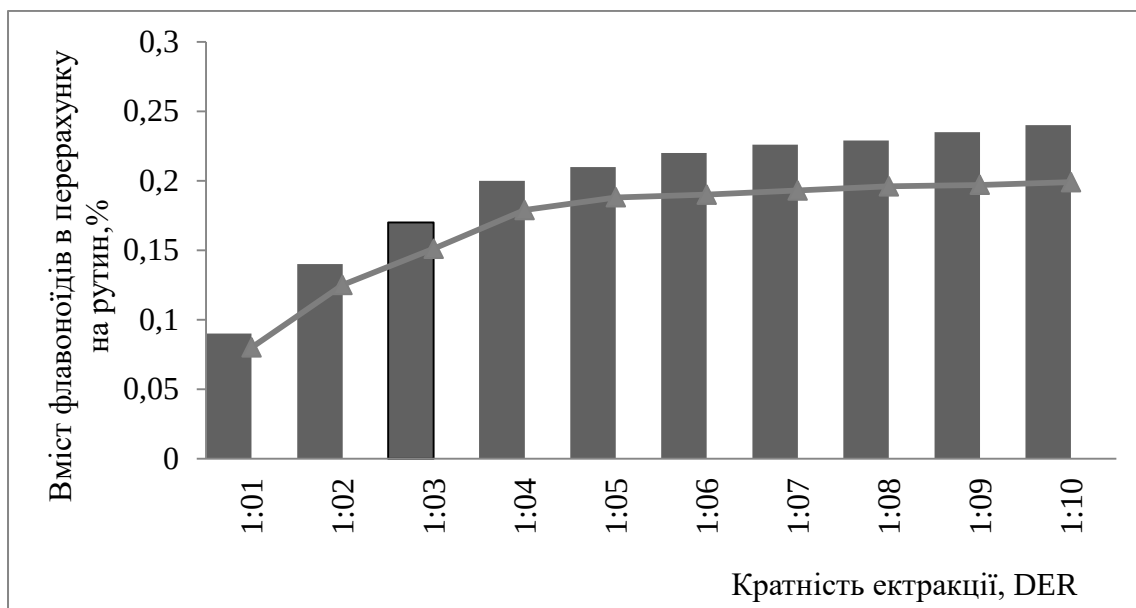


Рис. 3.10 Залежність виходу флавоноїдів у перерахунку на рутин від кратності процесу екстракції, DER

Отримані результати свідчать, що перші порції витяжок містять максимальний вміст флавоноїдів і танінів, який поступово знижується при збільшенні DER. Динаміка виходу флавоноїдів (рис. 3.10) характеризується поступовим

зростанням концентрації фенольних сполук в інтервалі DER 1 : 1 до 1 : 9, однак після DER 1 : 4 зростання уповільнюється і графік має вигляд практично прямої лінії. Сумарна концентрація флавоноїдів у витяжці при екстракції від DER 1 : 4 до 1 : 10 підвищується на 0,02 %.

Як видно з даних досліджень (рис. 3.11), кількісний вміст танінів у перерахунку на пірогалол в витяжках збільшується при DER від 1 : 1 до 1 : 6, а при DER 1 : 7–1 : 10 їх концентрація в наступних порціях витяжки майже не змінюється. Вміст танінів при DER 1 : 4–1 : 10 збільшення на 0,1 %.

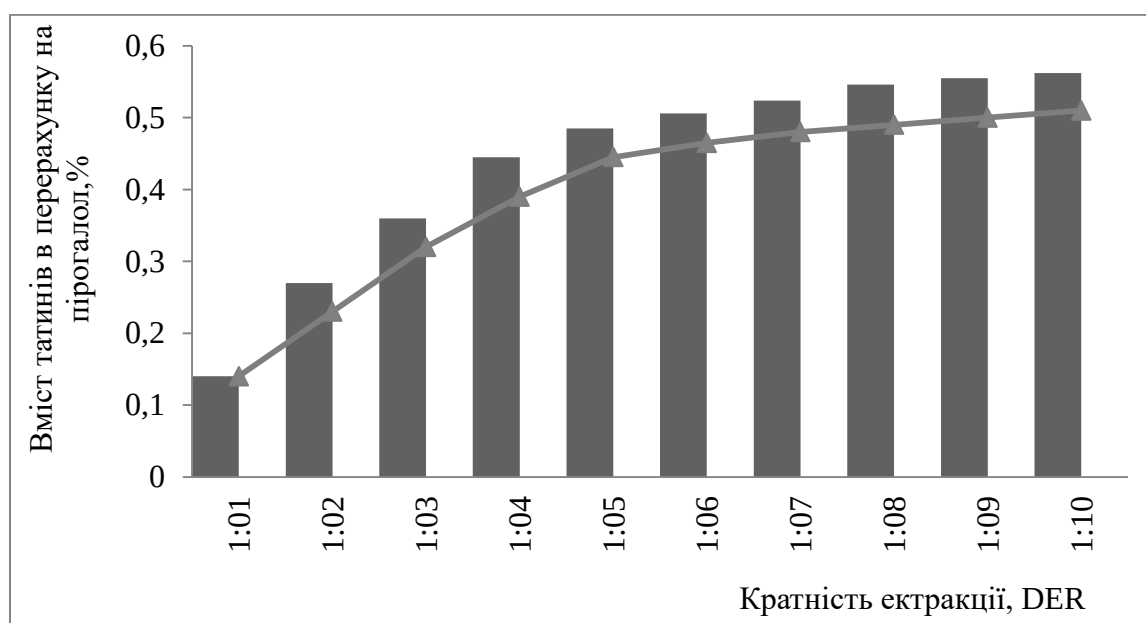


Рис. 3.11 Залежність виходу танінів в перерахунку на пірогалол від кратності процесу екстракції, DER

Отримані результати визначення вмісту екстрактивних речовин та БАС демонструють залежність цих показників від співвідношення сировина : екстракт. При збільшенні співвідношення з 1 : 1 до 1 : 10 відбувається зменшення відсоткового вмісту сухого залишку та окремих групах БАС (танінів і флавоноїдів) в кожній окремій порції витяжки. Також спостерігається динаміка зниження концентрації БАС, яка корелюється зі змінами вмісту екстрактивних речовин.

З огляду на отримані результати, екстрагування леспедези двоколірної 40 % етанолом при співвідношенні DER 1 : 4 забезпечує раціональне і досить ефективне проведення екстракції з огляду на вміст основних груп БАС.

На основі проведених досліджень розроблено технологічний процес отримання екстракту леспедези рідкого та складено технологічну схему (рис. 3.12).

Технологія отримання проміжного продукту – леспедези екстракту рідкого складається з наступних стадій:

Стадія 1. Підготовка рослинної сировини.

Стадія 2. Підготовка екстрагента.

Стадія 3. Екстрагування сировини.

Стадія 4. Упарювання витяжки.

Стадія 5. Відстоювання і фільтрація екстракту.

Стадія 6. Фасування, упакування та маркування екстракту.

Підготовка виробництва складається з процедур підготовки виробничих приміщень та обладнання відповідно до затверджених стандартних робочих методик (СРМ). Технологічний процес отримання леспедези екстракту рідкого здійснюється за затвердженою Рецептурою і Технологічною інструкцією.

Стадія 1. Підготовка рослинної сировини

Для виробництва екстракту використовують рослинну сировину, що відповідає вимогам специфікації, пройшла попередній вхідний контроль і має необхідні протоколи. ЛРС зі складу рослинної сировини у мішках або ящиках, за допомогою транспортних візків доправляють на ділянку. Сировину переглядають на відсутність органічних (рослинних домішок, шматочків мішківини тощо) та мінеральних (каміння, землі, скла) домішок і цвілі; подрібнюють на траворізці та знепилюють шляхом просіювання на віброситі з розміром отворів 0,16 мм. Подрібнену та просіяну рослинну сировину передають на стадію 3.

Стадія 2. Приготування екстрагенту

Для виробництва рідкого екстракту використовують 40 % етанол, який готують із 96 % етанолу і води очищеної. Розрахунок кількості 96 % етанолу і

води очищеної проводять по алкоголеметричним таблицям.

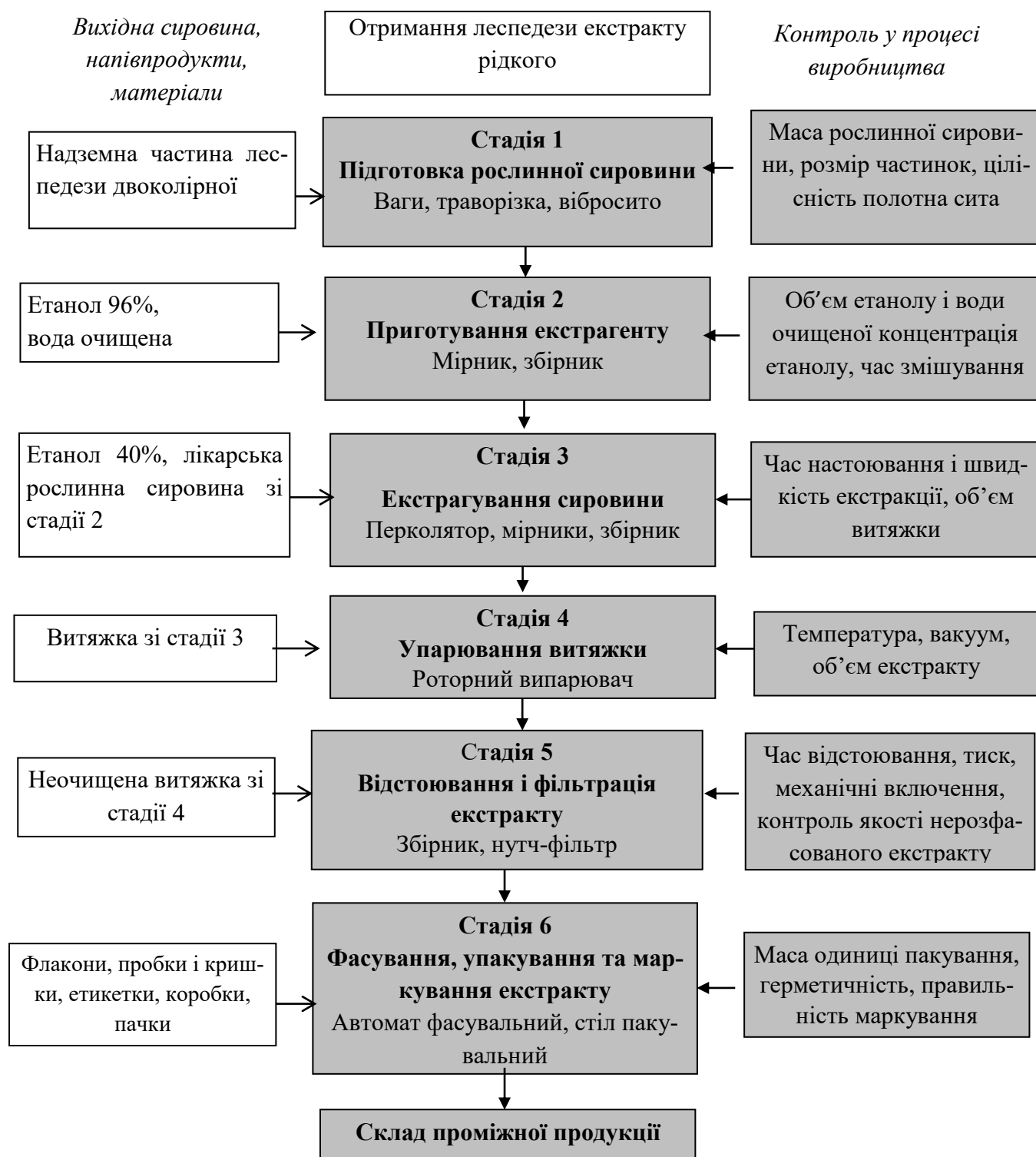


Рис. 3.12 Схема технологічного процесу отримання проміжного продукту – леспедези екстракту рідкого спиртового

Стадія 3. Екстрагування сировини

У перколятор завантажують сировину, додають екстрагент до дзеркала, після перемішування сировину залишають на 24 год для набухання. 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 отримання витяжки у співвідношенні до сировини 1 : 1,75. Витяжку зливають у відстійник і продовжують перколяцію до повного використання екстрагенту, другу частину витяжки передають на стадію 4. Шрот вивантажують і передають в екстрактор для отримання олійного екстракту.

Стадія 4. Упарювання витяжки

Випарювання другої частини витяжки зі стадії 3 проводять у роторному вакуум-випарному апараті за температури 75 ± 5 °С при розрідженні 0,8–0,7 МПа. Ступінь упарювання контролюють візуально за об'ємом витяжки. Упарювання витяжки ведуть до 25 % відносно маси сировини та змішують у відстійнику з першою порцією витяжки і передають на стадію 5.

Стадія 5. Відстоювання та фільтрація екстракту

Витяжку зі стадії 4 витримують при температурі 10 ± 2 °С протягом 8–10 год. для осадження баластних речовин. Після відстоювання фільтрують крізь нутч-фільтр патронного типу на основі поліпропілену.

З профільтрованого екстракту відбирають пробу та передають на контроль до лабораторії ВТК згідно з проєктом МКЯ на проміжну продукцію «Леспедези екстракт рідкий нерозфасований». Після отримання позитивних результатів аналізу екстракт передають на стадію 6 для фасування, упакування та маркування проміжного продукту.

Стадія 6. Фасування, упакування та маркування екстракту

Нерозфасований екстракт зі стадії 5 самопливом зі збірника подають на автоматичну фасувальну лінію. Наповнені флакони подаються по конвеєру на закупорювальний автомат, де їх закупорюють полімерними корками, загвинчують ковпачками і передають до етикетувальної машини.

Упакований і промаркований екстракт передають на склад проміжної

продукції.

Критичні параметри виробництва леспедези екстракту рідкого спиртового наведені в табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Критичні параметри виробництва леспедези екстракту рідкого

Технологічна стадія	Технологічний параметр	Показники технологічного параметру
Підготовка рослинної сировини	Маса та розмір часток ЛРС	Відповідно до виробничих рецептур
Підготовка екстрагента	Об'єм етанолу 96%, об'єм води очищеної, концентрація етанолу, час змішування	Відповідно до виробничих рецептур
Екстрагування сировини	Час настоювання	24 год
	Швидкість екстракції	3–4 мл/хв
	Об'єм витяжки	співвідношення 1:4
Упарювання витяжки	Температура	75 ± 5 °C
	Вакуум	0,8–0,7 МПа
	Об'єм екстракту	співвідношення 1:2
Відстоювання та фільтрація екстракту	Температура відстоювання	(10 ± 2) °C
	Час відстоювання	9 ± 1 год
	Відсутність механічних домішок	Візуально
Фасування, упакування та маркування екстракту	Маса вмісту пакування	100,0 мл
	Герметичність	Візуально
	Правильність маркування	Візуально

3.4 Отримання олійного екстракту леспедези двоколірної

L. bicolor містить різні БАС, які різняться за хімічною будовою, які можуть діяти синергічно, тому необхідно визначити потенційні складові екстрактів, отриманих з використанням різних екстрагентів, в тому числі і тих, що забезпечують вихід жиророзчинних речовин. До таких витяжок відносяться олійні екстракти.

Метою наступного етапу роботи було визначення умов отримання олійного екстракту леспедези двоколірної та встановлення у ньому кількісного вмісту БАС.

Олійні екстракти (ОЕ) отримують різними технологічними методами: мацерація, ремацерація, екстрагування циркуляційне та ін. [39, 51, 62]. Технологія ОЕ є досить тривалою та малоефективною і ускладнюється низькою інтенсивністю масо-обмінних процесів між ліпофільними компонентами клітин рослини і екстрагентом. Для інтенсифікації процесу, забезпечення повного вилучення БАС із ЛРС екстракцію проводять за підвищеної температури, сировину попередньо змочують етанолом різної концентрації, використовують суміш екстрагентів, застосовують ступеневу екстракцію тощо [39, 51, 62]. На процес екстрагування БАС із ЛРС впливають такі чинники, як властивості сировини, природа екстрагенту, метод та умови екстракції тощо [39, 51, 62].

Встановлено, що підвищення ефективності екстракції ліпофільних речовин та збагачення вилучення гідрофільними компонентами відбувається за умови попереднього зволоження ЛРС водно-спиртовою сумішшю з різною концентрацією етанолу [39, 51, 62]. Ефективність екстракції збільшується у разі використання етанолу в концентрації від 40 до 70 % і знижується у разі підвищення вмісту етанолу в суміші до 90 % [39, 51, 62].

Ефективність екстракції контролювали за виходом пігментних сполук, а саме каротиноїдів та хлорофілу, які зазвичай переходять у олійні екстракти. Кількісний вміст зазначених пігментів визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі UV-2600 SHIMADZU, за методикою, наведеною в розділі 2. Досліджували абсорбційні спектри гексанових розчинів одержаних екстрактів на спектрофотометрі в інтервалі довжини хвиль 200-800 нм, використовуючи як компенсаційний розчин гексан [66].

На першому етапі досліджень з отримання олійного екстракту сировини леспедези використовували метод настоювання (мацерації) з олією соняшниковою у співвідношенні 1 : 10 без зволоження сировини етанолом (зразок 1), з по-

переднім зволоженням 70 % етанолом (1:2) (зразок 2) та із застосуванням приладу для УЗ екстракції зі зволоженням 70 % етанолом (1 : 2) (зразок 3).

Як було зазначено, для дослідження ефективності екстракції надземної частини леспедези сировину попередньо змочували 70 % етанолом у співвідношенні 1 : 2. Зволожену сировину заливали у співвідношенні 1:10 рафінованою соняшниковою олією та екстрагували на водяній бані протягом $(4 \pm 0,5)$ год за температури екстракції (45 ± 5) °С при періодичному перемішуванні. Зразок № 1 отримували за аналогічною технологією, однак без попереднього змочування сировини етанолом. Зразок № 3 отримували з використанням приладу для УЗ екстракції Ultrasonic Cleaner (потужність ультразвукового випромінювання 120 Вт і частота 40 кГц), у який поміщали ємність з сировиною та екстрагентом. Екстракцію проводили впродовж 15 хв за температури 40–50 °С.

Отримані екстракти відрізнялися за інтенсивністю забарвлення і мали колір від зеленувато-жовтого для екстракту, отриманого без попереднього зволоження, до інтенсивного темно-зеленого кольору для екстракту, отриманого після зволоження 70 % етанолом. Збільшення виходу БАР після обробки сировини етанолом продемонстровано на рис. 3.13, на якому наведено спектри поглинання розчинів зразків екстрактів в гексані.

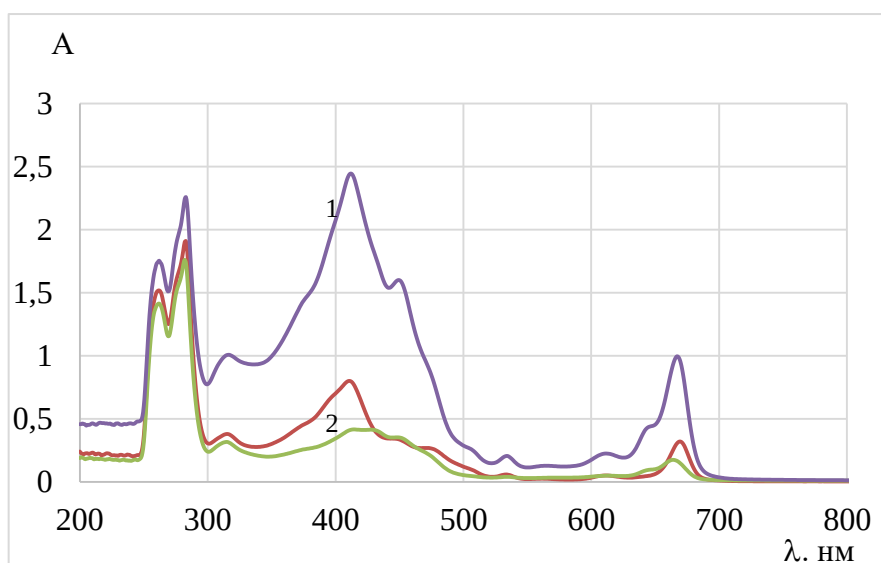


Рисунок 3.13 Абсорбційні спектри поглинання гексанових розчинів олійних екстрактів, де 1 – зразок 1; 2 – зразок 2; 3 – зразок 3

У спектрах поглинання розчинів зразків екстрактів № 1–3 (рис.3.13) у гексані можна виділити основні максимуми поглинання характерні для хлорофілу та його похідних: при λ – 412 нм, другий – при 534 нм, третій – при 611 нм і четвертий при – 667 нм. Наявність максимуму при 449 нм і плечей при 478-480 нм свідчить про наявність суми речовин каротиноїдної будови.

Результати визначення кількісного вмісту каротиноїдів та хлорофілу залежно від умов екстрагування наведені в табл. 3.8. Як свідчать результати дослідження, наведені в табл. 3.8, при отриманні екстракту шляхом мацерації з попереднім зволоженням 70 % етанолом (1 : 2) призводить до підвищення виходу як хлорофілів, так і каротиноїдів порівняно з олійною екстракцією без зволоження в 4,7 і 3,1 рази відповідно.

Як показали попередні дослідження використання приладу для ультразвукової екстракції за даних умов екстракції не є виправданим, так як не забезпечує ефективного вилучення БАС і потребує подальшого вибору параметрів екстрагування.

Таблиця 3.8

**Визначення кількісного вмісту каротиноїдів та хлорофілу
залежно від умов екстрагування, n=3**

Екстрагент/умови екстрагування	Кількісний вміст каротиноїдів у перерахунку на β -каротин, в мг/100 г	Вміст суми хлорофілу, в мг/100 г
Мацерація олією соняшниковою 1:10	$1,68 \pm 0,02$	$4,62 \pm 0,04$
Мацерація олією соняшниковою 1 : 10 з попереднім зволоженням 70 % етанолом (1 : 2)	$7,84 \pm 0,08$	$14,33 \pm 0,10$
Екстрагування за допомогою приладу для УЗ екстракції 1 : 10 із попереднім зволоженням 70 % етанолом (1 : 2)	$1,73 \pm 0,03$	$2,42 \pm 0,04$

З огляду на дані літератури і результати проведених нами досліджень більш повне екстрагування сировини відбувається після попереднього зволоження впродовж 2 годин 70% етанолом з подальшим настоюванням 4 год за температури екстракції 45 °C [39, 51, 54, 62].

Для максимально ефективного виснаження сировини і мінімізації її витрат на екстракцію на наступному етапі дослідження нами було визначено вміст пігментів при екстракції олією шроту, після отримання спиртового екстракту. Шрот після екстрагування заливали рафінованою соняшниковою олією у співвідношенні 1 : 10 та екстрагували на водяній бані за тих же умов при періодичному перемішуванні. Кількісний вміст пігментів наведено в табл. 3.9.

Таблиця 3.9

**Кількісний вміст каротиноїдів та хлорофілу при екстрагуванні шроту
леспедези двоколірної, n=3**

Кількісний вміст каротиноїдів у пере- рахунку на β -каротин, в мг/100 г	Вміст суми хлорофілу, в мг/100 г
7,22 $\pm$ 0,03	13,56 $\pm$ 0,06

Отримані результати продемонстрували можливість використання шроту для отримання олійного екстракту. Навіть незважаючи на більш низький вихід БАС, комплексна переробка сировини є пріоритетною з точки зору раціонального використання ресурсів.

За результатами досліджень із визначення умов екстрагування ЛРС нами опрацьовано технологію виготовлення ЛЕО [54], яку наведено на рис. 3.14 у вигляді технологічної схеми виробництва. Технологічний процес виробництва ЕЛО містить наступні стадії: підготовка виробництва, технологічний процес, фасування, пакування та маркування екстракту.

Підготовка виробництва.

Підготовку приміщень та обладнання проводять відповідно до вимог санітарного режиму та експлуатації обладнання, що затверджені стандартними операційними процедурами такого типу підприємства.

Основний технологічний процес має такі стадії: підготовка сировини та екстрагенту, екстрагування шроту, відстоювання та фільтрування витяжки.

Стадія 1. Підготовка сировини. Необхідну кількість шроту леспедези двоколірної після отримання рідкого екстракту зважують на електронних терезах і передають на стадію 2 «Екстрагування шроту». Необхідну кількість олії соняшникової зважують на терезах у збірник та передають на стадію 2 «Екстрагування шроту».



Рис. 3.14 Технологічна схема виробництва проміжного продукту – леспедези екстракту олійного

Стадія 2. Екстрагування шроту

До екстрактора зі шротом ЛРС за допомогою вакууму подають соняшникову олію. До оболонки екстрактора подають гарячу воду і нагрівають вміст до температури (45 ± 5) °С. У процесі нагрівання перемішують сировину та екстрагенту за допомогою рамної мішалки. Після нагрівання до заданої температури екстракцію проводять протягом 4 год, періодично перемішуючи. Після завершення екстрагування вміст екстрактора охолоджують до кімнатної температури. Після охолодження витяжку зливають у збірник. Відпрацьовану сировину вивантажують та відтискають за допомогою фільтр-преса у збірник, отримані витяжки об'єднують та передають на стадію 4 «Відстоювання та фільтрування витяжки».

Стадія 3. Відстоювання та фільтрування витяжки. Неочищену витяжку зі стадії 2 переносять зі збірника у відстійник та відстоюють впродовж 24 год за температури (25 ± 2) °С. Після цього ОЕ зливають у збірник без скаламучування. Освітлений ОЕ фільтрують за допомогою вакуумного фільтра (нутч-фільтр). Залишок ОЕ з відстійника очищають від механічних домішок за допомогою фільтр-преса. Дві порції очищеного екстракту об'єднують і збірник передають на стадію фасування, пакування і маркування продукції.

Стадія 4. Фасування, маркування і пакування екстракту. Фасування ОЕ у флакони та їх закупорювання проводять на автоматичній фасувальній лінії, наклеювання етикеток – на напівавтоматі. За допомогою вакууму олійний екстракт зі збірника переносять до бункера фасувального автомата. Фасують ОЕ по 100,0 г у широкогорлі флакони темного скла, закупорюють полімерними пробками та кришками з гвинтовою горловиною. На закупорені флакони з ОЕ за допомогою етикетувального автомата, наклеюють самоклеючі етикетки, на якій вказують назва екстракту, номер серії, дату виготовлення та умови зберігання. Упакований і промаркований екстракт передають на склад проміжної продукції.

Необхідною умовою отримання якісної продукції є визначення та постійний контроль дотримання критичних параметрів виробництва екстрактів [4, 31,

42]. З метою контролю якості технологічного процесу отримання препарату були визначені контрольовані параметри та критерії прийнятності. У табл. 3.10 наведено критичні параметри і стадії, які контролюються [54, 56, 61, 62].

До критичних параметрів технологічного процесу виробництва олійного екстракту, які контролюють відносяться: маса екстрагенту (олії соняшникової), маса шроту сировини, температура і час екстракції сировини; температура і час відстоювання, якість фільтрування і пакування.

Таблиця 3.10

**Основні критичні параметри виробництва леспедези екстракту
олійного**

Технологічна стадія	Технологічний параметр	Показники технологічного параметру
Підготовка сировини	Маса екстрагенту, маса шроту ЛРС	Відповідно до виробничих рецептур
Екстрагування шроту	Температура екстракції	$(45 \pm 5) ^\circ\text{C}$
	Час екстракції	4 год
Відстоювання та фільтрування витяжки	Температура відстоювання	$(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$
	Час відстоювання	24 год
	Відсутність механічних домішок	Візуально
Фасування, маркування і пакування екстракту	Маса одиниці пакування	100,0 г
	Герметичність	Візуально
	Правильність маркування флакону	Візуально

Висновки до розділу 3

1. Методом ВЕТШХ-досліджень сировини леспедези двоколірної встановлена наявність хлорогенової і кофейної кислот, рутину та ізокверцитрини. Показано, що сировина найбільше містить хлорогенової кислоти (1,427 мг/г) та рутину (1,418 мг/г).

2. Досліджено фармакотехнологічні властивості сировини леспедези двоколірної. Хімічними реакціями у витяжках ідентифікована наявність речовин флавоноїдної будови, фенолів, дубильних речовин та вуглеводнів; методом

ТШХ встановлена наявність танінів схожих за будовою до пірогалолу, полісахаридів схожих за структурою до фруктози, флавоноїдів, більшість з яких схожих до рутину та гідроксикоричних кислот, більшість з яких схожа з хлорогеновою кислотою. Досліджено залежність виходу БАС із сировини від природи екстрагенту, встановлено, що найбільша кількість речовин поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту, і танінів у перерахунку на пірогалол екстрагується 40 % етиловим спиртом, а флавоноїдів, схожих за будовою до рутину – 70 % етанолом.

3. Визначено оптимальні умови отримання рідкого екстракту леспедези: екстрагент 40 % етиловий спирт, метод перколяції; із загальним значенням DER 1 : 4 з подальшим упарюванням до співвідношення сировина: готовий продукт 1 : 2. Опрацьовано технологічні параметри та розроблено технологічну схему отримання проміжного продукту – леспедези екстракту рідкого спиртового.

4. Експериментальними дослідженнями доведена можливість використання шроту після отримання спиртового екстракту, як сировини для отримання олійного екстракту леспедези. Екстрагування шроту рослинною олією впродовж 4 год за температури екстракції 45 °С забезпечує вихід близько 90 % пігментів порівняно з екстракцією сировини леспедези. Опрацьовано технологічні параметри виробництва та розроблено технологічну схему отримання проміжного продукту – леспедези екстракту олійного.

5. Розроблено проекти технологічних регламентів і технологічні інструкції на виробництво ЛЕРС і ЛЕО (додаток В), які апробовано в умовах низки виробничих аптек (додаток Г).

Результати експериментальних досліджень розділу наведено в таких публікаціях:

1. Обґрунтування вибору екстрагента для отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної / К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. *Вісник фармації*. 2024. № 1 (105). С. 58–

65. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.126>

2. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедези дво-
колірної / К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, Л. І. Вишневська.
Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by
general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С. 336–
342.

РОЗДІЛ 4

СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЕКСТРАКТІВ ЛЕСПЕДЕЗИ ДВОКОЛІРНОЇ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Згідно вимог загальної монографії «Лікарської рослинної сировини екстракти» стандартизацію екстрактів проводять за ідентифікацією підходящими методами, вміст кількісно визначених компонентів, у випробуваннях визначають вміст важких металів із застосуванням тих самих меж вмісту важких металів, які зазначені в загальній монографії «Лікарська рослинна сировина». При проведенні випробувань рідких екстрактів необхідно визначати відносну густину, для спиртових екстрактів вміст етанолу, сухий залишок та інші показники, залежно від екстрагенту, який використовували [9].

4.1 Розробка методик ідентифікації, кількісного визначення біологічно активних сполук і стандартизація леспедези екстрактів

4.1.1 Розробка методик ідентифікації леспедези екстракту рідкого

Ідентифікацію БАР в ЛЕР проводили якісними реакціями на флавоноїди, феноли і дубильні речовини за методиками, описаними в літературі та розділі 2. [157]. Для ідентифікації речовин флавоноїдної будови також використовували метод тонкошарової хроматографії в системі розчинників мурашина кислота безводна – вода – етилацетат (5:10:85) з послідуочим детектуванням розчином 10 г/л *дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру у метанолі*, потім розчином 50 г/л *макроголу 400 Р у метанолі Р*. Хроматограми переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

На хроматограмі розчину порівняння виявилися: у нижній частині — жовтаво-коричнева флуоресціююча зона (рутин), у середній частині — блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота) та жовтаво-коричнева флуоресціююча зона (гіперозид); у верхній частині — блакитна флуоресціююча зона (ко-

фейна кислота). На хроматограмі випробовуваного розчину (рис. 4.1) виявилися жовтаво-коричнева флуоресціююча зона на рівні зони рутину на хроматограмі розчину порівняння (R_f 0,29); безпосередньо вище неї має бути блакитна флуоресціююча зона, що відповідає зоні хлорогенової кислоти на хроматограмі розчину порівняння (R_f 0,43); вище неї жовтаво-коричнева флуоресціююча зона, що відповідає зоні гіперозиду (R_f 0,49); дещо нижче зони, що відповідає хлорогенової кислоти, спостерігаються червона та синя зони, нижче зони, що відповідає рутину можуть спостерігатися зони блакитного та синього кольору; у верхній частині пластинки – блакитна флуоресціююча зона, що відповідає кофейній кислоті на хроматограмі розчину порівняння (R_f 0,84). На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші зони.

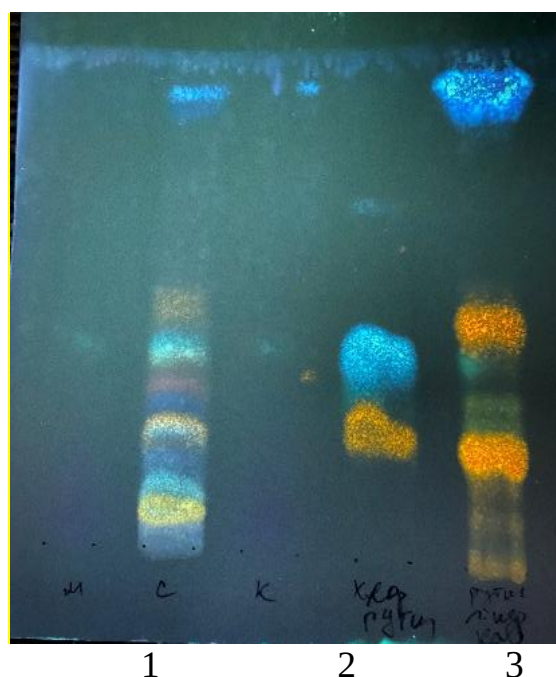


Рис. 4.1 Хроматограми, отримані при ідентифікації речовин флавоноїдної природи в екстракті: 1 – екстракт; 2 – розчин порівняння хлорогенової кислоти і рутину; 3 – розчин порівняння кофейної кислоти, рутину і кверцетину

Метод ТШХ використовували й для ідентифікації дубильних речовин та вуглеводнів. Досліджуваний екстракт розводили 70 % етанолом, наносили на тонкошарові пластинки, вміщували в рухому фазу вода – мурашина кислота – етилацетат (5:10:85). Маркерами обрані фруктоза і пірогалол. Коли фронт розчинників пройшов 10 см, хроматограми сушили на повітрі, обробляли розчи-

ном анісового альдегіду, нагрівали при температурі 100–105 °С 15 хвилин і переглядали при денному світлі. На хроматограмі випробуваного розчину наведено послідовність зон на хроматограмах випробуваного розчину та розчину порівняння, на хроматограмі можуть виявлятися й інші зони.

Піраголол: коричнева зона 	Коричнева зона (піраголол) 
Фруктоза: зеленувато-синя зона 	Зеленувато-синя зона (фруктоза) 
1	2

Рис. 4.2 Схема хроматограми, отриманої при ідентифікації дубильних речовин та вуглеводнів в екстракті: 1 – розчин порівняння; 1 – випробовуваний екстракт

Отримані результати свідчать про наявність у досліджуваному екстракті речовин полісахаридної будови.

Отже, метод ТШХ дозволяє ідентифікувати у складі леспедези екстракту рідкого флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, дубильні речовини і полісахарид.

4.1.2 Розробка методики кількісного визначення біологічно активних сполук леспедези екстракту рідкого

Кількісне визначення БАР в екстракті проводили за вмістом суми речовини поліфенольної будови у перерахунку на піраголол і суми флавоноїдів у перерахунку на рутин.

Кількісне визначення танінів

Суму речовин поліфенольної будови визначали методом абсорбційної спектрофотометрії після реакції з фосфорно-молібденово-вольфрамівим реак-

тивом в середовищі насиченого розчину натрію карбонату за методикою ДФУ [9]. Продукт реакції синього кольору характеризується наявністю доволі пологого максимуму поглинання за довжини хвилі 760 нм, що відповідає доволі пологому максимуму поглинання розчину пірогалолу в цих умовах (рис. 4.3).

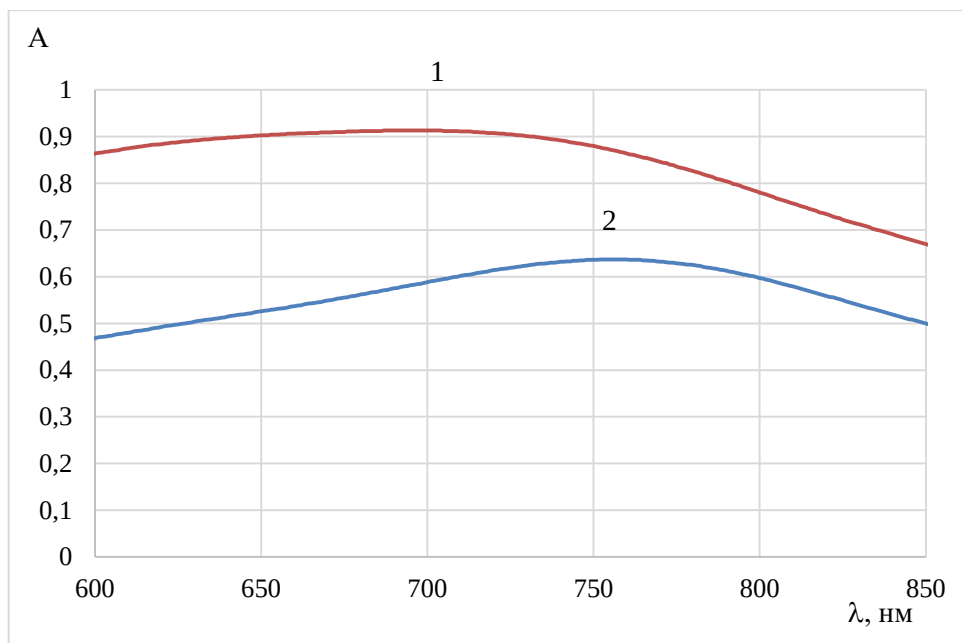


Рис. 4.3 Абсорбційні спектри розчинів 1 – пірогалолу; 2 – досліджуваного спиртового екстракту леспедези після реакції з фосфорно-молібденово-вольфрамовим реактивом

Вміст суми поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, у міліграмах, обчислюють за формулою:

$$x, \text{мг} = \frac{625 \cdot A_1 \cdot m_2}{A_2 \cdot m_1} \quad (4.1)$$

де m_1 – маса наважки спиртового екстракту, г;

m_2 – маса пірогалолу, г.

Для оцінки запропонованої методики для визначення кількісного вмісту суми поліфенолів проведена низка досліджень та отримані результати метрологічно атестовані (табл. 4.1).

Відносна невизначеність середнього результату із довірчою вірогідністю 0,95 складає 3,76 %. Проведені дослідження свідчать про відсутність систематич-

ної похибки запропонованої методики і доведена її відтворюваність.

Таблиця 4.1

Метрологічна характеристика спектрофотометричного методу визначення у видимій ділянці суми поліфенолів у рідкому екстракті леспедези

Вміст суми поліфенолів, мг	ν	Середнє значення ($\bar{x}$ сер.)	Дисперсія, S^2	Стандартне відхилення середнього результату S_x	Відносна величина статистичної похибки окремого визначення Δx	Відносна невизначеність середнього результату, $\bar{\varepsilon}$, %
3,34	5	3,51	0,0158	0,0513	0,1319	3,76
3,49						
3,65						
3,57						
3,62						
3,39						

Вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол у 1,0 г спиртового екстракту має бути не менше 3,0 мг.

Кількісне визначення вмісту суми флавоноїдів

Методом ТШХ у досліджуваному рідкому екстракті встановлена наявність флавоноїдів, схожих за будовою з рутином. Для кількісної оцінки вмісту речовин флавоноїдної будови використовували метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці після отримання забарвленого розчину водного екстракту леспедези двоколірної після взаємодії з розчином алюмінію (III) хлоридом в оцтовокислому середовищі. Встановили, що електронний спектр поглинання продукту реакції характеризується наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 406 нм, що знаходиться в межах ± 5 нм положення максимуму рутину в цих умовах 408 нм (рис. 4.2).

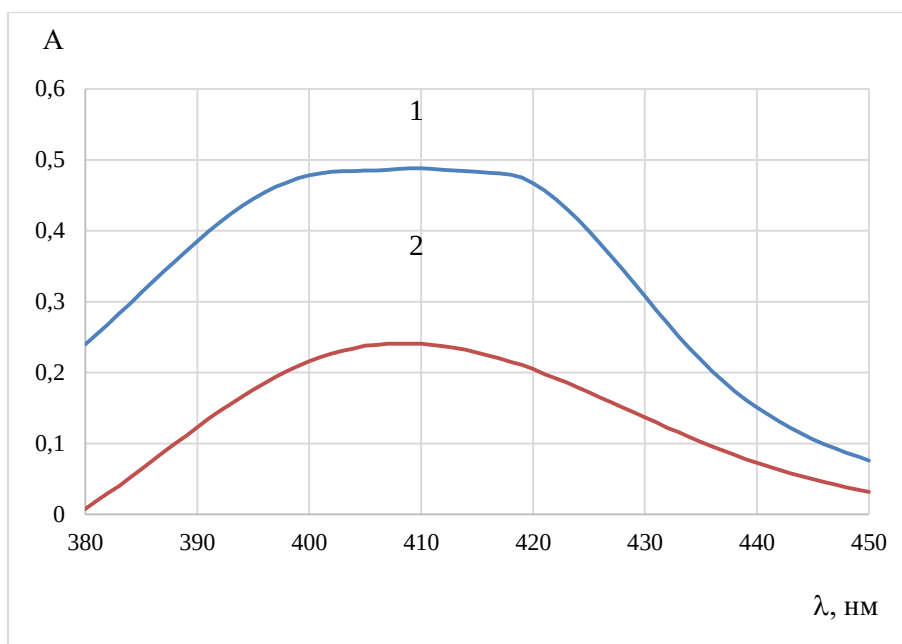


Рис. 4.2 Абсорбційні спектри поглинання після реакції з розчином алюмінію хлориду в оцтовокислому середовищі 1 – рутину, 2 – спиртового екстракту леспедези

Вміст суми флавоноїдів (X , мг) у перерахунку на рутин обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 25,0 \cdot 1,0 \cdot 1000}{A_0 \cdot V \cdot 50,0 \cdot 25,0} = \frac{A \cdot m_0 \cdot 20}{A_0 \cdot V}, \quad (4.2)$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину стандартного зразка рутину;

m_0 – маса наважки рутину, мг;

V – об'єм екстракту, взятий для аналізу, мл.

Для оцінки запропонованої методики для визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів проведена низка досліджень та для отриманих результатів проведена статистична обробка даних (табл. 4.2).

Відносна невизначеність середнього результату із довірчою вірогідністю 0,95 складає 4,36 % при відсутності систематичної похибки запропонованої методики та її відтворюваності

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у 1,0 г спиртового екстракту леспедези має бути не менше 1,20 мг.

Таблиця 4.2

**Метрологічна характеристика спектрофотометричного у видимій ділянці
методу визначення суми флавоноїдів у леспедези екстракті
рідкому спиртовому**

Вміст суми флавоноїдів, мг	ν	Середнє значення ($\bar{x}$ сер.)	Дисперсія, S^2	Стандартне відхилення середнього результату S_x	Відносна величина статистичної похибки окремого визначення Δx	Відносна невизначеність середнього результату, $\bar{\varepsilon}$, %
1,53	5	1,53	0,0041	0,0260	0,1637	4,36
1,62						
1,59						
1,52						
1,46						
1,47						

4.1.3 Стандартизація леспедези екстракту рідкого спиртового

Розроблення специфікації на проміжний продукт – леспедези екстракт рідкий спиртовий складала на основі результатів експериментальних досліджень, відповідно до вимог ДФУ та ЕФ [9, 104]. До проєкту специфікації на отриманий екстракт були внесені показники: опис, ідентифікація, кількісне визначення, важкі метали, сухий залишок (2.8.16), відносна густина (2.2.5), вміст етанолу (2.9.10) та метанол (2.9.11) та сухий залишок (табл. 4. 3). Результати досліджень показників якості леспедези екстракту рідкого згідно вимог загальної монографії «Лікарської рослинної сировини екстракти» ДФУ [9] та норми, які включено в специфікацію на проміжний продукт –ЛЕРС наведено у табл. 4.3.

Отже, у результаті проведених досліджень, отримано проміжний продукт – леспедези екстракт рідкий спиртовий і проведено його стандартизацію за основними показниками якості відповідно до вимог ДФУ [9]. Під час дослідження властивостей зразків у процесі зберігання відповідно до вимог [41], встановлено, що впродовж спостереження зразки ЛЕРС не змінювалися за описом, в них ідентифікуються БАС, які включено до проєкту МКЯ.

Таблиця 4 З

Специфікація на леспедези екстракт рідкий спиртовий(проміжний продукт)

Показник	Результат дослідження	Допустимі межі за проектом МКЯ
Опис	Однорідна прозора рідина брунатного кольору з характерним специфічним запахом	Однорідна прозора рідина брунатного кольору з характерним специфічним запахом
Ідентифікація	ТШХ На хроматограмі досліджуваного розчину мають проявитися плями, що відповідають за значенням Rf та кольором плямам РСЗ кислот хлорогенової та кофейної, рутину та гіперозиду.	ТШХ Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчинів порівняння відповідають за значенням Rf та кольором зонам хлорогенової та кофейної кислот, рутину та гіперозиду.
Флавоноїди	На хроматограмі досліджуваного розчину мають проявитися плями, що відповідають за значенням Rf та кольором плямам РСЗ пірогалолу та глюкози. Можуть бути присутні й інші, менш помітні плями	Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчинів порівняння відповідають за значенням Rf та кольором зонам пірогалолу та глюкози.
Поліфеноли		На хроматограмах присутні й інші, менш помітні плями
Дубильні речовини і полісахарид		
Важкі метали, %	0,0007 ± 0,0001	Не більше 0,001
Відносна густина, г/см ³	0,990 ± 0,010	Не менше 0,800
Вміст етанолу, %	37 ± 1	Не менше 35
Метанол і 2–пропанол, % (об/об)	0,02 ± 0,01 0,01 ± 0,01	Не більше 0,1 Не більше 0,1
Сухий залишок, %	9,1 ± 0,2	Не менше 8
Мікробіологічна чистота загальне число 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	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
Кількісне визначення Вміст речовин поліфенольної будови у перерахунку на пірогалол, мг/г Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин, мг/г	3,510 ± 0,051 1,530±0,026	метод абсорбційної спектрофотометрії не менше 3,0 мг у 1,0 г екстракту не менше 1,2 мг у 1,0 г екстракту
Маса вмісту пакування, мл	98,5±0,3	97,0–103,0

Зміни кількісних показників і вмісту БАР знаходяться в допустимих межах (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Результати вивчення стабільності леспедези екстракту рідкого спиртового в процесі зберігання

Показник	Вимоги проєкту МКЯ	Термін зберігання, міс.					
		0	3	6	9	12	15
1	2	3	4	5	6	7	8
Температура зберігання (25 ± 2) °C							
Опис	Однорідна прозора рідина брунатного кольору з характерним специфічним запахом						
Ідентифікація	ТШХ Флавоноїди Поліфеноли Дубильні речовини і полісахариди	Відповідає					
Важкі метали, %	Не більше 0,001	0,0007 ± 0,0001	Відповідає				
Відносна густина, г/см ³	Не менше 0,800	0,990 ± 0,010	0,992 ± 0,008	0,995 ± 0,009	0,994 ± 0,010	0,996 ± 0,006	0,998 ± 0,010
Вміст етанолу, %	Не менше 35	37 ± 1	0,37 ± 0,06	0,36 ± 0,03	0,37 ± 0,06	0,37 ± 0,03	0,36 ± 0,06
Метанол і 2-пропанол, % (об/об)	Не більше 0,1	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
	Не більше 0,1	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Сухий залишок, %	Не менше 8	9,1 ± 0,2	9,1 ± 0,1	9,2 ± 0,2	9,2 ± 0,2	9,2 ± 0,1	9,2 ± 0,2
Мікробіологічна чистота	Мікробіологічна чистота загальне число толерантних до жовчі грамнегативних бактерій: не більше 10 ² КУО/г Escherichia coli в 1,0 г – відсутність Salmonella в 25,0 г – відсутність ТАМС: не більше 10 ⁴ КУО/г	Відповідає					

Продовж. табл.4.4

1	2	3	4	5	6	7	8
	ТУМС: не більше 10 ² КУО/г						
Кількісне ви- значення <i>Вміст речовин поліфенольної будови у пере- рахунку на пі- рогалол, мг/г</i>	Вміст суми поліфенольних сполук не ме- нше 3,0 мг у 1,0 г екстракту	3,510 ± 0,051	3,5005 ± 0,030	3,500 ± 0,046	3,503 ± 0,036	3,484 ± 0,042	3,482 ± 0,050
<i>Вміст флаво- ноїдів у перерахунку на рутин, мг/1,0 г</i>	Вміст суми флавоноїдів не менше 1,2 мг у 1,0 г екстракту	1,530± 0,026	1,528± 0,020	1,526± 0,022	1,526± 0,020	1,524± 0,024	1,520± 0,022

Отже, результати експериментальних досліджень довели стабільність ЛЕР впродовж 15 місяців зберігання у флаконах темного (помаранчевого) скла за кімнатної температури, що дає можливість рекомендувати термін придатності – 12 місяців за температури не вище 25° С.

4.1 Розробка методик ідентифікації і кількісного визначення біологічно активних сполук та стандартизація леспедези екстракту олійного

4.2.1 Розробка методик ідентифікації і кількісного визначення біологічно активних сполук леспедези екстракту олійного

Для ідентифікації пігментів (каротиноїдів і хлорофілів), які переходять у масляний екстракт, використовували метод ТШХ (ДФУ 2.0, 2.2.27) [9]. Дослідження проводили з використанням ТШХ-пластинки з шаром силікагелю Р та флуоресцентним індикатором (F₂₅₄) в системі розчинників: петролейний етер-діетиловий етер (10 : 3,5) з послідуочим детектуванням 10 % розчином фосфомолібденової кислоти і нагріванням у сушильній шафі за температури 60 °С не менше 10 хв. При перегляді при денному світлі спостерігалися сині плями на зелено-жовтому фоні з R_f= 0,27; R_f=0,36; R_f=0,67; R_f=0,80 (каротиноїди та їх

похідні) (рис. 4.3). Також на хроматограмі спостерігаються інші зони.

	
Розчин порівняння каротиноїди	Випробовуваний розчин
1	2

Рис. 4.3 Схема хроматограми олійного екстракту леспедези: 1 – розчин порівняння; 2 – випробовуваний екстракт

Для кількісного визначення пігментів використовували метод абсорбційної спектрофотометрії. Абсорбційний спектр гексанового розчину олійного екстракту досліджували на спектрофотометрі UV-2600 SHIMADZU в інтервалі довжин хвиль 200–800 нм, використовуючи як компенсаційний розчин гексан. У спектрі поглинання розчину масляного екстракту в гексані спостерігаються максимуми поглинання характерні для хлорофілу та його похідних: при довжинах хвиль 412 нм, 534 нм, 611 нм і 667 нм. Наявність максимуму при 449 нм і плечей при 478–480 нм свідчить про наявність суми речовин каротиноїдної будови (рис. 4.3).

Характеристичні смуги поглинання за довжин 449 нм і 667 нм обумовили визначати суму каротиноїдів і хлорофілів у олійному екстракті леспедези спектрофотометричним методом (рис. 4.4) [66].

Кількісний вміст суми каротиноїдів розраховували, використовуючи оптичну густину гексанового розчину олійного екстракту за довжини хвилі 449 нм і суми хлорофілів при – 667 нм методом питомого показника поглинання, що складала 2773 і 944,5 відповідно. Дослідження проодили за методикою наведеною в розділі 2.

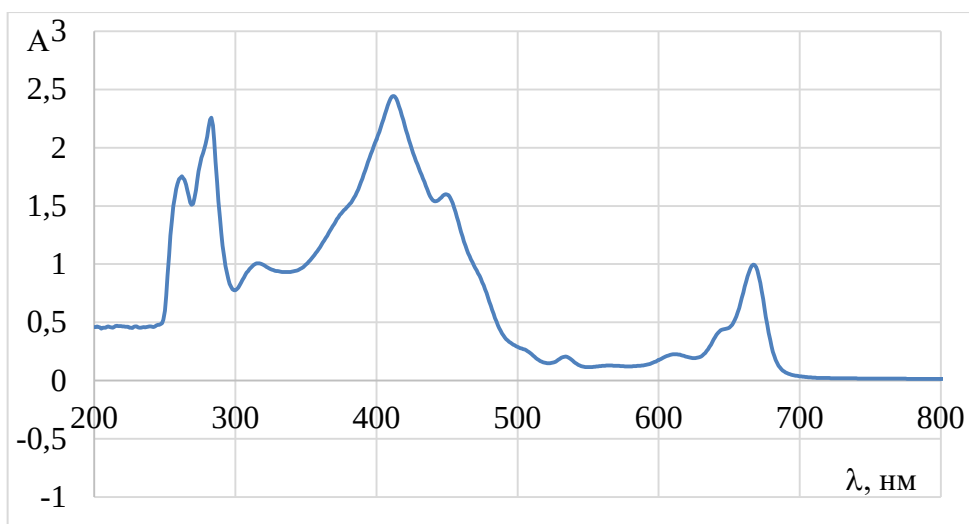


Рис. 4.4 Абсорбційний спектр поглинання гексанового розчину олійного екстракту

Кількісний вміст суми каротиноїдів (X , мг) у перерахунку на β -каротин розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 25,0 \cdot 1000}{m \cdot 2773 \cdot 100}, \quad (4.3)$$

де A – оптична густина гексанового екстракту за довжині хвилі 449 нм;

m – маса наважки олійного екстракту, г;

2773 – питомий показник поглинання β -каротину у гексані при 450 ± 5 нм.

Вміст суми каротиноїдів у перерахунку на β -каротин у 1,0 г олійного екстракту має бути не менше 0,06 мг.

Кількісний вміст суми хлорофілів, в мг/1,0 г масляного екстракту, розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 25,0 \cdot 1000}{m \cdot 944,5 \cdot 100}, \quad (4.4)$$

де A – оптична густина розчину в максимумі поглинання 667 нм;

m – наважка олійного екстракту, г;

944,5 – питомий показник поглинання хлорофілу a при 667 ± 3 нм.

Вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл a у 1,0 г олійного екстракту має бути не менше 0,13 мг.

Відносні невизначеності середнього результату із довірчою вірогідністю 0,95 складають 4,11 і 5,13 %. Проведені дослідження свідчать про відсутність систематичної похибки запропонованої методики і доведена її відтворюваність.

4.2.2 Стандартизації леспедези екстракту олійного

Для контролю якості проміжного продукту олійного екстракту леспедези згідно з вимогами ДФУ 2.0 обрано такі показники: опис, ідентифікація АФІ, розчинність, густина, кислотне число, перекисне число, мікробіологічна чистота, кількісне визначення АФІ, зберігання, термін придатності, для яких були встановлені критерії прийнятності [9].

Для екстрактів, отриманих з використанням в якості екстрагенту жирних олій, необхідно визначати кислотне і перекисне числа. Значення кислотного і перекисного числа визначали за методиками ДФУ [9], яку наведено в розділі 2. Отримані результати порівнювали з вимогами монографії «Соняшникова олія рафінована» [10].

За результатами аналізу органолептичних показників (прозорість, колір, запах) екстракту, які визначали відповідно до вимог ДФУ 2.0 [9] різних серій екстракту встановлено, що ЛЕО – це в'язка рідина зеленого кольору з характерним специфічним запахом. Експериментально встановлено, що ЛЕО легко розчиняється у хлороформі, практично не розчиняється у воді очищеній та 96 % етанолі.

За результатами визначення густини за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.2.5, [9], визначено, що відносна густина екстракту має значення $0,9140 \pm 0,0030$ г/см³, тому у специфікації проєкту МКЯ встановлено межі значень густини – від 0,9080 до 0,9200 г/см³.

Кислотне число, яке визначали за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.5.1, складало $0,32 \pm 0,01$ [9], що дозволило до проєкту МКЯ закласти норму значення КЧ, яке має бути не більше 0,5.

Перекисне число визначали за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.5.5, метод А [9]. Значення показника перекисного числа становило $8,1 \pm 0,2$, тому до проєкту МКЯ закладено значення ПЧ, яке має бути не більше 10.

Проєкт специфікації до МКЯ з допустимими нормами та результати дослідження ЛЕО, наведені в табл. 4.7.

Таблиця 4.7

**Показники якості леспедези екстракту олійного, внесені до
проєкту МКЯ**

Показник	Допустимі межі за проєктом МКЯ	Результати аналізу
1	2	3
Опис	Прозора, в'язка рідина зеленого кольору з характерним специфічним запахом.	Прозора, в'язка рідина зеленого кольору з характерним специфічним запахом
Ідентифікація <i>Каротиноїди</i> <i>Хлорофіли</i>	А. Послідовність зон на хроматограмі випробовуваного розчину і розчинів порівняння мають відповідати зонам СЗ каротиноїдів В. Абсорбційний спектр розчину, приготованого, як зазначено у розділі «Кількісне визначення суми каротиноїдів та хлорофілів», у діапазоні від 350 до 550 нм повинен мати максимум за довжини хвилі 449 нм, що відповідає максимумам поглинання спектру β -каротину та максимуму поглинання у червоній ділянці спектра за довжини хвилі 667 нм, що відповідає максимуму поглинання спектра хлорофілу	Відповідає Відповідає
Розчинність	Практично не розчинний у воді очищений та 96 % етанолі, легко розчинний у хлороформі	Практично не розчинний у воді очищений та 96 % етанолі, легко розчинний у хлороформі
Відносна густина, г/см ³	0,9080 до 0,9200	$0,9140 \pm 0,0030$
Кислотне число, мгКОН/г	Не більше 0,5	$0,32 \pm 0,01$
Перекисне число, мгКОН/г	Не більше 10	$8,1 \pm 0,2$
Маса вмісту упакування, г	97,0–103,0	Відповідає

Продовж. табл.4.7

1	2	3
Мікробіологічна чистота	Критерій прийнятності: ТАМС: не більше 10^2 КУО/г ТУМС: не більше 10^1 КУО/г відсутність <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	Відповідає
Кількісне визначення Сума пігментів: каротиноїдів у перерахунку на β -каротин, мг/г хлорофілів у перерахунку на хлорофіл а, мг/г	Вміст суми каротиноїдів має становити не менше 0,06 мг/г Вміст суми хлорофілів має становити не менше 0,13 мг/г	$0,0772 \pm 0,0037$ $0,1356 \pm 0,0025$

Експериментально встановлено, що впродовж спостереження впродовж 15 місяців зразки ЛЕО не зазнали змін за описом, розчинністю (табл. 4.8) [41]. В них ідентифікуються БАР, які включено до проєкту МКЯ. Зміни значення густини і кількісного вмісту маркерних груп БАС знаходяться в межах нормованих, й не відрізняються від початкових показників більш ніж на 10 %.

Таблиця 4.8

Результати вивчення стабільності леспедези екстракту олійного в процесі зберігання (n = 5, P = 95 %)

Показник	Вимоги МКЯ	Термін зберігання, міс.					
		0	3	6	9	12	15
1	2	3	4	5	6	7	8
Температура зберігання (5 ± 3) °C							
Опис	Прозора, в'язка рідина зеленого кольору з характерним специфічним запахом						
Ідентифікація	Каротиноїди - ТШХ каротиноїди - спектро- фотометрія каротиноїди, хлорофіли	Відповідає					
Розчинність	Практично не розчинний в 96% етанолі та воді очищеній, легко розчинний у хлороформі						
Відносна густина, г/см ³	0,9080 до 0,9200	0,914 ± 0,0030	0,916± 0,0012	0,917± 0,008	0,916± 0,005	0,916± 0,003	0,915± 0,002
Кислотне число	Не більше 0,5	0,32 ± 0,01	0,35± 0,03	0,36± 0,04	0,38± 0,04	0,40± 0,05	0,45± 0,04

Продовж. табл.4.8

1	2	3	4	5	6	7	8
Перекисне число, мгКОН/г	Не більше 10	8,1 ± 0,2	8,2 ± 0,1	8,2 ± 0,3	8,4 ± 0,2	8,5 ± 0,2	8,7 ± 0,3
Мікробіологічна чистота	Критерій прийнятності: ТАМС: не більше 10 ² КУО/г ТҮМС: не більше 10 ¹ КУО/г відсутність <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	Відповідає					
Кількісне визначення суми пігментів: <i>каротиноїдів у перерахунку на β-каротин, хлорофілів у перерахунку на хлорофіл а</i>	Вміст суми каротиноїдів має становити не менше 0,06 мг/1 г	0,0772± 0,0037	0,0770± 0,0035	0,0770± 0,0040	0,0768± 0,0042	0,0765± 0,0030	0,0762± 0,0043
	Вміст суми хлорофілів має становити не менше 0,13 мг/1 г	0,1356± 0,0025	0,1353± 0,0040	0,1355± 0,0048	0,1350± 0,0035	0,1352± 0,0042	0,1346± 0,0038
Температура зберігання (25 ± 2) °C							
Опис	Прозора, в'язка рідина зеленого кольору з характерним специфічним запахом						
Ідентифікація	Каротиноїди - ТІХ каротиноїди - спектрофотометрія каротиноїди, хлорофіли	Відповідає					
Розчинність	Практично не розчинний в 96% етанолі та воді очищеній, легко розчинний у хлороформі						
Кислотне число	Не більше 0,5	0,32 ± 0,01	0,37± 0,05	0,38± 0,03	0,40± 0,04	0,44± 0,03	0,45± 0,05
Відносна густина, г/см ³	0,9080 до 0,9200	0,914 ± 0,0030	0,915± 0,0014	0,916± 0,005	0,917± 0,004	0,917± 0,004	0,9165± 0,003
Перекисне число, мгКОН/г	Не більше 10	8,1 ± 0,2	8,4 ± 0,1	8,5 ± 0,3	8,6 ± 0,2	8,7 ± 0,4	8,9 ± 0,5
Мікробіологічна чистота	Критерій прийнятності: ТАМС: не більше 10 ² КУО/г ТҮМС: не більше 10 ¹ КУО/г відсутність <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	Відповідає					

Продовження табл. 4.8

1	2	3	4	5	6	7	8
Кількісне визначення суми пігментів: каротиноїдів у перерахунку на β -каротин, мг/г	Вміст суми каротиноїдів має становити не менше 6,0 мг/1 г	0,0772 $\pm$ 0,0037	0,0771 $\pm$ 0,0054	0,0768 $\pm$ 0,0036	0,0765 $\pm$ 0,0045	0,0755 $\pm$ 0,0040	0,0752 $\pm$ 0,0032
хлорофілів у перерахунку на α хлорофіл, мг/г	Вміст суми хлорофілів має становити не менше 13,0 мг/г	0,1356 $\pm$ 0,0025	0,1350 $\pm$ 0,0032	0,1342 $\pm$ 0,0042	0,1338 $\pm$ 0,0026	0,1336 $\pm$ 0,0032	0,1330 $\pm$ 0,0028

Отже, результати експериментальних досліджень показали стабільність ЛЕО впродовж 15 місяців зберіганні що дало змогу встановити термін придатності і умови зберігання – 12 місяців у флаконах темного (помаранчевого) скла за температури, що не перевищує 25° С.

4.3 Обговорення результатів біологічної активності екстрактів леспедези двоколірної

4.3.1 Дослідження антибактеріальної активності екстрактів леспедези двоколірної

З огляду на хімічний склад і потенційні фармакологічні ефекти наступним етапом наших досліджень було фармакологічне обґрунтування доцільності використання в лікарських засобах для лікування інфекційних та гнійно-запальних захворювань шкіри отриманих нами екстрактів надземної частини леспедези двоколірної.

Протимікробну активність визначали для наступних експериментальних зразків:

- зразок 1 – спиртовий екстракт (40 % етанол) леспедези двоколірної;
- зразок 2 – спиртовий екстракт (70 % етанол) леспедези двоколірної;
- зразок 3 – олійний екстракт леспедези двоколірної.

Визначення антибактеріальної активності досліджуваних зразків проводили методом дифузії в агар (метод «колодязів») та методом дисків за методикою, наведеною в розділі 2. У дослідженні використовували еталонні тест-культури грампозитивних і грамнегативних бактерій, які належать до різних таксономічних груп: *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538-P, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. vulgaris* ATCC 4636, *B. subtilis* ATCC 6633. Протигрибкову дію речовин досліджували на референтному штамі *C. albicans* ATCC 885-653, а також клінічних ізолятах *S. aureus* 16, *S. epidermidis* 14, *S. pneumoniae* 14, *S. pyogenes* 2432, *S. aureus* 124, *E. faecalis* 42, *K. pneumoniae* 18, *E. cloacae* 17, *A. baumannii* 150, *P. aeruginosa* 18, *C. albicans* 69. Результати дослідження антимікробних властивостей витяжок си-ровини-леспедези двоколірної наведені в табл. 4.9.

Таблиця 4.9

Протимікробна активність витяжок леспедези (n = 3, P = 95 %)

Мікроорганізми	Метод	Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм		
		Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3
1	2	3	4	5
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Колодязь	16,0±1,0	17,0±1,0	15,0±1,0
	Диски	12,0±1,0	14,0±1,0	14,0±1,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538-P	Колодязь	15,0±1,0	15,0±1,0	16,0±1,0
	Диски	13,0±1,0	13,0±1,0	11,0±1,0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Колодязь	14,0±1,0	15,0±1,0	ріст
	Диски	11,0±1,0	12,0±1,0	10,0±1,0
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Колодязь	12,0±1,0	13,0±1,0	ріст
	Диски	10,0±1,0	11,0±1,0	6,0±1,0
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	Колодязь	12,0±1,0	13,0±1,0	ріст
	Диски	9,0±1,0	11,0±1,0	9,0±1,0
<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	Колодязь	Ріст	11,0±1,0	ріст
	Диски	9,0±1,0	10,0±1,0	ріст
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	Колодязь	15,0±1,0	16,0±1,0	13,0±1,0
	Диски	12,0±1,0	13,0±1,0	12,0±1,0
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	Колодязь	Ріст	11,0±1,0	ріст
	Диски	11,0±1,0	11,0±1,0	10,0±1,0
<i>S. aureus</i> 16	Колодязь	13,0±1,0	13,0±1,0	ріст
	Диски	9,0±1,0	10,0±1,0	9,0±1,0

Продовження табл. 4.9

1	2	3	4	5
<i>S. epidermidis</i> 14	Колодязь	14,0±1,0	16,0±1,0	ріст
	Диски	11,0±1,0	12,0±1,0	9,0±1,0
<i>S. pneumoniae</i> 14	Колодязь	ріст	10,0±1,0	ріст
	Диски	10,0±1,0	12,0±1,0	8,0±1,0
<i>S. pyogenes</i> 2432	Колодязь	ріст	10,0±1,0	ріст
	Диски	9,0±1,0	10,0±1,0	9,0±1,0
<i>S. aureus</i> 124	Колодязь	ріст	11,0±1,0	ріст
	Диски	8,0±1,0	10,0±1,0	7,0±1,0
<i>E. faecalis</i> 42	Колодязь	ріст	15,0±1,0	ріст
	Диски	10,0±1,0	11,0±1,0	7,0±1,0
<i>K. pneumoniae</i> 18	Колодязь	ріст	11,0±1,0	ріст
	Диски	9,0±1,0	11,0±1,0	7,0±1,0
<i>E. cloacae</i> 17	Колодязь	ріст	12,0±1,0	ріст
	Диски	8,0±1,0	10,0±1,0	8,0±1,0
<i>A.baunani</i> 150	Колодязь	ріст	Ріст	ріст
	Диски	ріст	8,0±1,0	ріст
<i>P. aeruginosa</i> 18	Колодязь	ріст	Ріст	ріст
	Диски	ріст	Ріст	ріст

Результати мікробіологічних досліджень показали помірну чутливість ви-
тяжок надземної частини леспедези двоколірної до тест-штамів *S. aureus*
ATCC6538-Р та *S. aureus* ATCC 6538-Р (діаметри зон затримки росту в серед-
ньому 16,0, 17 та 15,0 мм для етанольних та олійного відповідно). До клінічних
ізолятів екстракти виявляють дещо нижчу чутливість.

Встановлено, що більш низькою активністю володіє олійний екстракт, що
обумовлено його низькою дифузією в гідрофільне живильне середовище. Од-
нак при дослідженні методом дисків спостерігається незначна чутливість (діа-
метр зон затримки росту був в діапазоні від 6 до 10 мм) для тих зразків, які не
показали чутливість при дослідженні методом колодязів. Це еталонні тест-
культури *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* ATCC
9027, *C. albicans* ATCC 885-653 та клінічні ізоляти *S. aureus* 16, *S.epidermidis* 14,
S. pneumoniae 14, *S. pyogenes* 2432, *S. aureus* 124, *E. faecalis* 42, *K. pneumoniae*
18, *E. cloacae* 17. Експериментально визначено, що олійний екстракт не вияв-
ляє антимікробної активності до клінічних ізолятів *P. vulgaris* ATCC 4636, *A.*
baunani 150, *P. aeruginosa* 18 і *C. albicans* 69 при дослідженні обома методами.

Клінічний ізолят *A. baunani* 150 виявився нечутливими до олійного і етанольного екстрактів, а *P. aeruginosa* 18 взагалі до усіх експериментальних зразків [33].

З огляду на отримані результати і наявність чутливості щодо тест-штамів мікроорганізмів *Staphylococcus* до складу дерматологічного засобу, що розробляється як АФІ нами обрано етанольний (екстрагент 40 % етанол) і олійний екстракт леспедези двоколірної. Перспективи їх використання в дерматології підтверджують дані щодо наявності антиоксидантної, репаративної і протизапальної активності вилучення різних видів леспедези [33, 79, 80, 84–86, 130].

4.3.2 Дослідження протизапальної активності екстрактів леспедези

Аналіз літературних джерел показав, що метанольний екстракт *L. bicolor* має антиоксидантну, протизапальну та інгібіторну дію на тирозиназу, і може використовувати для лікування постзапальної пігментації шляхом інгібування патогенного процесу, пов'язаного з гіперпігментацією. Нами було досліджено протизапальну активність дослідних зразків на моделі опікової рани за методикою, наведеною в розділі 2 [14]. Дизайн дослідження наведено у табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Дизайн дослідження

Зразок	Експериментальна група	Кількість тварин у групі
1	Контроль	6
2	Спиртовий екстракт леспедези двоколірної	6
3	Олійний екстракт леспедези двоколірної	6

Досліджувані зразки наносили на шкіру тварин щодня один раз на добу крапельно у об'ємі 100 мкл безпосередньо на ранову поверхню. Тварин контрольної групи не лікували (група 1). Лікування розпочинали одразу після термічної дії і продовжували до повного загоєння ран [14, 60].

Основними показниками верифікації виразності протизапальної дії досліджуваних засобів та ПП були зміна площі опікових ран (S , мм²), коефіцієнт

швидкості загоєння і відсоток щурів із загоєними ранами у порівнянні з контрольною групою. Наступного дня, після відтворення опікової травми II ступеня, розмір ранового дефекту збільшився на 3–7 % від заявленої площі 490,0 мм² (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Динаміка планіметричних показників у щурів з опіковими ранами під час лікування досліджуваними екстрактами леспедези двоколірної, n=6, (M±m)

Доба експерименту	Показники	Контроль	Леспедези екстракт спиртовий	Леспедези екстракт олійний
1	2	3	5	6
Вихідні дані	S _{вихід} , мм ²	490,00±0,00	490,00±0,00	490,00±0,00
2 доба	S _{вихід} , мм ²	497,83±26,45	515,83±15,52	469,17±16,99
	V, ум.од.	-0,02	-0,05	0,04
6 доба	S, мм ²	442,83±32,50	376,16±15,59	395,33±18,40
	V, ум.од.	0,10	0,22	0,19
9 доба	S, мм ²	397,33±33,43	283,00±20,17* ¹	327,00±8,13* ¹
	V, ум.од.	0,19	0,42	0,33
13 доба	S, мм ²	307,17±37,28	179,50±28,43* ¹	210,00±20,77
	V, ум.од.	0,37	0,63	0,57
16 доба	S, мм ²	200,33±33,68	112,17±24,64T ¹	141,33±23,38
	V, ум.од.	0,59	0,77	0,71
20 доба	S, мм ²	142,00±34,81	67,67±16,21T ¹	98,00±19,10
	V, ум.од.	0,71	0,86	0,80
	% тварин з рубцями	–	–	–
21 доба	S, мм ²	129,17±33,82	67,40±11,84	80,50±17,80
	V, ум.од.	0,74	0,86	0,84
	% тварин з рубцями	–	16,7 % (1 тварина)	–
22 доба	S, мм ²	116,33±32,03	51,20±10,93	61,67±14,56
	V, ум.од.	0,76	0,90	0,87
	% тварин з рубцями	–	16,7 % (1 тварина)	–
23 доба	S, мм ²	104,33±32,69	36,60±8,41T ¹	48,67±13,11
	V, ум.од.	0,79	0,93	0,90
	% тварин з рубцями	–	16,7 % (1 тварина)	–
24 доба	S, мм ²	92,83±33,32	25,80±7,91 T ¹	46,00±11,84
	V, ум.од.	0,81	0,95	0,91
	% тварин з рубцями	–	16,7 % (1 тварина)	16,7 % (1 тварина)
25 доба	S, мм ²	81,50±32,67	21,25±7,17	36,40±11,98
	V, ум.од.	0,83	0,96	0,93
	% тварин з рубцями	–	33 % (2 тварина)	16,7 % (1 тварина)

Продовження табл. 4.11

	2	3	5	6
26 доба	S, мм ²	71,17±32,37	14,67±1,45	33,50±11,68
	V, ум.од.	0,85	0,97	0,93
	% тварин з рубцями	–	50,0 % (3 тварина)	33 % (2 тварина)
27 доба	S, мм ²	71,00±35,91	7,00±2,52* ¹	32,33±9,87
	V, ум.од.	0,86	0,99	0,93
	% тварин з рубцями	16,7 % (1 тварина)	50 % (3 тварини)	50 % (3 тварини)
28 доба	S, мм ²	78,50±40,42	3,00	24,00±9,10* ²
	V, ум.од.	0,84	0,99	0,95
	% тварин з рубцями	33,3 % (2 тварини)	83 % (5 тварини)	50 % (3 тварини)
29 доба	S, мм ²	65,00±38,52	0,00* ¹	16,67±8,09* ²
	V, ум.од.	0,87	1,00	0,97
	% тварин з рубцями	33,3 % (2 тварини)	100 % (6 тварин)	67 % (4 тварини)
30 доба	S, мм ²	59,00±44,40	0,00 * ¹	16,50±4,50 * ²
	V, ум.од.	0,88	1,00	0,97
	% тварин з рубцями	33,3 % (2 тварини)	100 % (6 тварин)	83,3 % (5 тварини)

Примітки: *¹ – значення достовірні відносно групи контролю (критерій Манна-Уїтні); *² – значення достовірні відносно групи екстракт спиртовий (критерій Манна-Уїтні); S (мм²) – площа ран; V – коефіцієнт швидкості загоєння ран, (ум. од.); n – кількість тварин у кожній групі.

У тварин, яких лікували дослідними екстрактами, виразність клінічних ознак істотно зменшувалася проти контрольної групи, площа зменшувалася, а коефіцієнт швидкості загоєння ран паралельно збільшувався. Початок епітелізації у групі, якій наносили олійний екстракт припадає на 24-у добу. На 30 добу дослідження у 5 з 6 тварини, яким наносили олійний екстракт мали загоєні рани. Часу необхідного для повного загоєння опікових ран недостатньо. Лікування спиртовим екстрактом мало більш прогнозований результат. Початок епітелізації опікових ран та повне загоєння спостерігали на 21-у та 29-у добу, відповідно. Отже, термін загоєння, площа загоєння і коефіцієнт швидкості загоєння ран був у групи тварин, яких лікували спиртовим екстрактом. Застосування досліджуваних зразків в різних групах призводило до зменшення площі опіку у різні проміжки часу. Але в кожній з дослідних груп коефіцієнт швидкості загоєння

ення ран чисельно перевищував цей показник у контрольній групі. Відмічалось зменшення гіперемії та набряку порівняно з контрольною групою.

Усі дослідні тварини вони були активними, мали задовільний апетит і позитивний приріст у масі (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

Вплив дослідних екстрактів на динаміку маси тіла (г) щурів самців, $M \pm m$

Термін дослідження	Контроль	Спиртовий екстракт леспедези двоколірної	Олійний екстракт леспедези двоколірної
Вихідні дані	253,17 $\pm$ 3,47	253,17 $\pm$ 2,68	253,50 $\pm$ 2,59
1 тиждень	246,33 $\pm$ 3,81	247,00 $\pm$ 2,50	248,00 $\pm$ 2,19
2 тиждень	254,00 $\pm$ 3,55	253,83 $\pm$ 3,19	254,17 $\pm$ 2,09
3 тиждень	258,17 $\pm$ 4,16	261,00 $\pm$ 3,31	260,67 $\pm$ 2,56
4 тиждень	263,33 $\pm$ 3,76	267,67 $\pm$ 2,75	266,50 $\pm$ 2,57

Відмічено відсутність візуальних ознак приєднання інфекційного процесу в усіх дослідних тваринах [27].

Висновки до розділу 4

1. Проведено дослідження фізико-хімічних властивостей проміжного продукту – леспедези екстракту рідкого; розроблено методики ідентифікації та кількісного вмісту маркерних БАР. Розроблено проєкт МКЯ та складено специфікацію на леспедези екстракт рідкий спиртовий, яка включає: опис, ідентифікація (речовини поліфенольної та флавоноїдної природи (кофейна, хлорогенова кислоти, рутин, гіперозид), полісахариди (глюкоза), дубильні речовини (пірогалол)), важкі метали, екстрактивні речовини (не менше 8 %), вміст етанолу, метанолу і 2–пропанолу, відносна густина, кількісне визначення (флавоноїди у перерахунку на рутин, не менше 1,2 мг/г, речовини поліфенольної будови у перерахунку на галову кислоту, не менше 3,0 мг /г екстракту.

2. Проведено дослідження фізико-хімічних властивостей проміжного

продукту – леспедези екстракту олійного; розроблено методики ідентифікації та кількісного вмісту БАР. Розроблено проєкт МКЯ та складено специфікацію на леспедези екстракт олійний, яка включає: опис, ідентифікація (пігментів: каротиноїдів та хлорофілів), кислотне число, перекисне число, відносна густина, кількісне визначення (пігменти: каротиноїди у перерахунку на β -каротин, не менше 0,06 мг/г і хлорофіли у перерахунку на *a* хлорофіл, не менше 0,13 мг/г екстракту).

3. Встановлено, що спиртовий і олійний екстракти леспедези двоколірної проявляють антимікробний ефект переважно на грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми. Наявність вираженої чутливості тест-штамів мікроорганізмів *Staphylococcus* до отриманих екстрактів підтверджує актуальність розробки лікарських препаратів зі спиртовим і олійним екстрактами леспедези двоколірної.

4. Результати дослідження протизапальної активності показали, що під впливом досліджуваних спиртового та олійного екстрактів леспедези двоколірної на моделі опікової рани спостерігається зменшення ознак запалення порівняно з тваринами контрольної групи і відсутність візуальних ознак приєднання інфекційного процесу.

Результати експериментальних досліджень розділу наведено в таких публікаціях:

1. Обґрунтування вибору екстрагента для отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної / К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. *Вісник фармації*. 2024. № 1 (105). С. 58–65. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.126>

2. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедези двоколірної / К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, Л. І. Вишневська. *Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets*. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С. 336–342.

3. Development of the composition of a dermatological product in the form

of a cream with extracts of the aerial part of lespedeza bicolor / K. Kiselyova, T. Yudkevych, L. Bodnar, M. Skybitska, L. Vyshnevskaya, T. Yudkevych, L. Ivanauskas, O. Mykhailenko, O. Kukhtenko, V. Georgiyants. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2025. № 1 (53). 3. 26–40. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.322855> (Scopus).

4. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Дослідження антибактеріальної дії витяжок з леспедеці двоколірної та крему на їх основі. *Annals of Mechnikov Institute*. 2024. № 2. С. 69–73 <https://doi.org/10.5281/zenodo.11638092>

5. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Дослідження протизапальної активності екстрактів леспедези двоколірної. *Індустрія 4.0 : сучасні напрями розвитку фармацевтичної галузі*: зб. наук. матеріалів І Міжнар. наук.-практ. конф. з нагоди 95-річчя І. М. Перцева, м. Харків, 16 трав. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 51–53.

РОЗДІЛ 5

РОЗРОБЛЕННЯ СКЛАДУ І ТЕХНОЛОГІЇ КРЕМУ З ЕКСТРАКТАМИ ЛЕСПЕДЕЗИ ДВОКОЛІРНОЇ

5.1 Розроблення складу крему з екстрактами леспедези

5.1.1 Обґрунтування вибору складу основи крему

М'які лікарські форми для лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань повинні відповідати певним вимогам, серед яких це наявність протизапальної та антимікробної дії, безпечність (можливість тривалого застосування та відсутність алергічних реакцій), легке нанесення та змивання (зручність та безболісне нанесення, легке видалення зі шкіри), біосумісність (спорідненість до рогового шару шкіри) [133,134].

Обов'язковою умовою системного і раціонального підходу до розробки топічних лікарських засобів є розуміння механізму проникнення АФІ в шкіру, в тому числі і впливу на цей процес основи засобу [133, 134]. Підхід до створення основи, заснований на її відповідності фізико-хімічним властивостям АФІ, допомагає забезпечити якість ЛЗ, оптимізувати процес вивільнення АФІ, високі споживчі властивості та додаткові косметичні ефекти, які сприяють нормалізації стану шкіри. З огляду на це оптимальним є використання кремів на емульсійній основі, які за рахунок введення АФІ, забезпечують необхідну фармако-терапевтичну дію, і одночасно володіють низкою переваг: вони субстантивні до ліпідної мантії шкіри, дозволяють вводити різні за властивостями (і в першу чергу розчинністю) речовини, для яких можна регулювати швидкість вивільнення [2, 19, 68–70, 106]. Введення АФІ до дисперсійного середовища дозволяє досягти високої біологічної доступності у порівнянні з м'якими лікарськими засобами з гідрофобними основами. АФІ, що розчиняються в дисперсійній фазі емульсійної основи дають можливість досягти пролонгування дії ЛЗ [96, 109, 131].

Методологія дослідження базувалася на основних етапах розробки м'яких лікарських форм – експериментально-технологічних та біологічних дослідженнях [45].

У розробці емульсійної основи використовували сучасні комплексні емульгатори: ксильянс, який є сумішшю цетеарилового глікозиду та цетеарилового спирту, проліпід 141 (суміш гліцерил стеарату, бегенілового спирту, пальмітинової кислоти, стеаринової кислоти, лецитину, лаурилового спирту, мистилового спирту, цетилового спирту) і ламекрем (суміш гліцерил стеарату з гліцерилстеарат цитратом). В модельних зразках варіювали вмістом олійної фази (олії кукурудзяної) від 8 до 20 % та емульгаторів в діапазоні рекомендованих концентрацій, які зазначені в специфікації на допоміжні речовини: від 4 до 8 % для ксильянс і проліпід 141 та від 5 до 9 % для ламекрему. Олію кукурудзяну як компонент олійної фази обирали з огляду на природу екстрагенту і, відповідно, хімічну сумісність з екстрагентом, який використовували при отриманні олійного екстракту леспедези.

Дослідні зразки емульсійних основ і крему емульгували з використанням змішувача МІ-2 для рідких та м'яких лікарських форм впродовж 15 хв зі швидкістю 2000 об/хв.

Відповідно до плану досліджень при обґрунтуванні складу емульсійної основи, незмінними вхідними даними є наявність олійної і водної фази, як компонентів емульсійної основи. Тому рослинна олія, вода очищена, а також пропіленгліколь і його концентрація у складі емульсійної основи були незмінними, змінними – концентрація олії, природа емульгатора та його кількісний вміст.

Гідрофільні неводні розчинники, такі як гліцерин, пропіленгліколь, ПЕО-400 сприяють penetraції діючих речовин крізь шкіру та слизові оболонки, підвищують осмотичні властивості і знижують здатність до висихання МЛФ. До складу засобу що розробляється нами обрано пропіленгліколь в концентрації 5%, при якій він сприяє вивільненню із МЛФ і транспорту БАС через шкіру людини [126].

Вибір емульсійної основи ґрунтувався на вивченні органолептичних властивостей (опис: зовнішній вигляд, однорідність, стабільність, консистенція), фізико-хімічних і фармакотехнологічних властивостей (значення рН, термостабільність і колоїдна стабільність, розмір часток дисперсної фази та структурно-механічні властивості) експериментальних зразків емульсійних основ [29, 31, 95, 143].

Склад експериментальних основ наведено у табл. 5.1. Змінні дані визначено факторами впливу на вихідні параметри, які характеризують об'єкт.

Таблиця 5.1

Склад зразків емульсійних основ

Найменування інгредієнтів	Номери зразків /Кількісний вміст, %											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Олія кукурудзяна	8	8	10	10	15	15	15	15	15	20	20	20
Ксильянс	4	5	4	5	4	5	6	7	8	6	7	8
Пропіленгліколь	5											
Вода очищена	до 100											
Найменування інгредієнтів	Номери зразків /Кількісний вміст, %											
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Олія кукурудзяна	8	8	10	10	15	15	15	15	15	20	20	20
Проліпід 141	4	5	4	5	4	5	6	7	8	6	7	8
Пропіленгліколь	5											
Вода очищена	до 100											
Найменування інгредієнтів	Номери зразків /Кількісний вміст, %											
	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Олія кукурудзяна	8	8	10	10	15	15	15	15	15	20	20	20
Ламекрем	5	6	5	6	5	6	7	8	9	7	8	9
Пропіленгліколь	5											
Вода очищена	до 100											

Для побудови моделі експерименту об'єктом планування було визначено зразки емульсійних основ, а вихідними параметрами – її основні властивості (рис. 5.1).



Рис. 5.1 Модель запланованого експерименту

Основними чинниками, які можуть мати вплив на вихідні параметри, було встановлено кількісний вміст олії та емульгатора у складі емульсійної основи з урахуванням цих змінних для кожного з емульгаторів. Проаналізувавши характер кожного з вихідних факторів, визначили функціями відгуку органолептичні властивості (візуальну стабільність і консистенцію), стабільність (колоїдну і термостабільність), показники в'язкості (Па·с, при 20 об/хв. і 20 °С). Для зручності статистичної обробки даних нечислові показники були переведені у бали, де стабільність зразків позначається 1, відсутність стабільності – 0, а візуальна консистенція характеризується як рідка (1), кремоподібна (2), в'язка (3).

Для вивчення логіки взаємодії вхідних і вихідних даних, зокрема впливу факторів на функції відгуку, запропоновано план двофакторного експерименту, який відображає поєднання вказаних факторів (рис. 5.2), також доцільно дослідити їх самостійний вплив.

		Фактор А				
		Рівень 1	Рівень 2	Рівень 3	Рівень 4	Рівень 5
Фактор Б	Рівень 1	A ₁ B ₁	A ₂ B ₁	-	-	-
	Рівень 2	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂	-	-	-
	Рівень 3	A ₃ B ₁	A ₃ B ₂	A ₃ B ₃	A ₃ B ₄	A ₃ B ₅
	Рівень 4	-	-	A ₄ B ₃	A ₄ B ₄	A ₄ B ₅
		Середнє значення фактора А				
		Середнє значення фактора Б				

Рис. 5.2 План факторного експерименту

Таким чином було використано двофакторний план з 4–5 рівнями для кількісних змінних, де кількісний вміст емульгатора є фактором А, кількісний вміст олії – Б. Отже, на один емульгатор для кожної з функцій відгуку необхідно провести 12 окремих дослідів, які складаються з 3 паралельних дослідів.

Отримані результати визначення основних властивостей емульсійних основ (табл. 5.2) дозволили візуалізувати вплив встановлених факторів, що призвело до звуження кола вихідних параметрів.

Таблиця 5.2

Властивості зразків емульсійних основ, n=3

Властивості зразків	Номери зразків					
	1	2	3	4	5	6
1	2	3	4	5	6	8
Основи з емульгатором ксил'янс						
Візуальна консис-тенція	1	1	1	1	1	1
Візуальна стабіль-ність	1	1	1	1	1	1
Термостабільність	1	1	1	1	0	0
Колоїдна стабільність	1	1	1	1	0	0
В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20 °С	0,80±0,05	1,15±0,10	1,30±0,12	1,45±0,13	-	-
Властивості зразків	Номери зразків					
	7	8	9	10	11	12
Візуальна консис-тенція	2	2	3	3	3	3
Візуальна стабіль-ність	1	1	1	1	1	1
Термостабільність	1	1	1	1	1	1
Колоїдна стабільність	1	1	1	1	1	1
В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20 °С	2,30±0,10	2,61±0,08	3,50±0,08	3,18±0,06	3,30±0,08	4,14±0,07
Основи з емульгатором проліпід 141						
Властивості зразків	Номери зразків					
	13	14	15	16	17	18
Візуальна консис-тенція	1	1	1	1	1	1
Візуальна стабіль-ність	1	1	1	1	0	1
Термостабільність	0	1	0	1	0	0
Колоїдна стабільність	0	1	0	1	0	0
В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20 °С	-	0,81±0,05	-	1,13±0,03	-	-

Продовження табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	8
Властивості зразків	Номери зразків					
	19	20	21	22	23	24
Візуальна консистенція	1	1	2	2	2	3
Візуальна стабільність	1	1	1	1	1	1
Термостабільність	1	1	1	1	1	1
Колоїдна стабільність	1	1	1	1	1	1
В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20 °С	1,55±0,06	1,83±0,08	2,08±0,07	2,25±0,08	2,62±0,06	3,10±0,07
Основи з емульгатором ламекрем						
Властивості зразків	Номери зразків					
	25	26	27	28	29	30
Візуальна консистенція	0	0	0	0	0	1
Візуальна стабільність	0	0	0	0	0	1
Термостабільність	-	-	-	-	-	1
Колоїдна стабільність	-	-	-	-	-	0
В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20 °С	-	-	-	-	-	-
Властивості зразків	Номери зразків					
	31	32	33	34	35	36
Візуальна консистенція	1	1	2	2	2	3
Візуальна стабільність	1	1	1	1	1	1
Термостабільність	1	1	1	1	1	1
Колоїдна стабільність	1	1	1	1	1	1
В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20 °С	1,55±0,06	1,78±50	2,15±0,08	2,21±0,06	2,75±0,05	3,30±0,07

Було встановлено доцільність вивчення впливу кількісних факторів для кожного з емульгаторів на візуальну консистенцію і показники в'язкості (Па·с, при 20 об/хв і 20 °С), оскільки зв'язку між факторами впливу і всіма видами стабільності виявлено не було. На перший погляд для зразків, до складу яких входив емульгатор ламекрем, спостерігався вплив кількісного вмісту емульгатора на стабільність, однак, за результатами проведення статистичного аналізу ці дані не були підтверджені.

Для встановлення залежності між досліджуваними показниками проводили кореляційний аналіз отриманих даних (табл. 5.3).

Досліджувані вибірки характеризуються нормальністю розподілу ($p > 0,05$ за критерієм Шапіро-Уїлка) тож для проведення аналізу використовували лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона (r).

Найвищими показниками кореляції характеризується група зразків, до складу яких входить емульгатор ксильянс. Концентрація емульгатора ламекрем на досліджувані показники не має статистично значущого впливу.

Таблиця 5.3

Результати кореляційного аналізу

Фактори \ Відгуки	Візуальна консистенція	В'язкість
Емульгатор	Ксильянс	
Кількісний вміст олії	$r = 0,82019$ ($p = 0,00109$)	$r = 0,89706$ ($p = 7,6406E-5$)
Кількісний вміст емульгатора	$r = 0,88174$ ($p = 0,00015$)	$r = 0,90816$ ($p = 4,4041E-5$)
Емульгатор	Проліпід 141	
Кількісний вміст олії	$r = 0,72837$ ($p = 0,00722$)	$r = 0,91864$ ($p = 2,4467E-5$)
Кількісний вміст емульгатора	$r = 0,75555$ ($p = 0,00448$)	$r = 0,85851$ ($p = 0,00035$)
Емульгатор	Ламекрем	
Кількісний вміст олії	$r = 0,76603$ ($p = 0,04463$)	$r = 0,81293$ ($p = 0,02621$)
Кількісний вміст емульгатора	$r = 0,67937$ ($p = 0,09322$)	$r = 0,72907$ ($p = 0,06302$)

На завершення з метою оцінювання відтворюваності та достовірності експерименту, а також оцінювання адекватності отриманої моделі було проведено регресійний аналіз методом побудови діаграм (рис. 5.3–5.5).

Встановлено, що переважна більшість моделей відповідають лінійній регресії за винятком впливу кількісного вмісту олії на візуальну консистенцію групи зразків, до складу яких входить емульгатор проліпід 141 (поліноміальна регресія), впливу кількісного вмісту емульгатора на показники в'язкості групи зразків, до складу яких входить емульгатор ксильянс із 15 % вмістом олії (полі-

номіальна регресія) і впливу кількісного вмісту емульгатора на показники в'язкості групи зразків, до складу яких входить емульгатор ксил'янс із 20 % вмістом олії (експонентна регресія). Кожна з моделей регресії має високий рівень достовірності апроксимації ($>80\%$), тож отримані експериментальні дані є достовірними, а власне експеримент – відтворюваним.

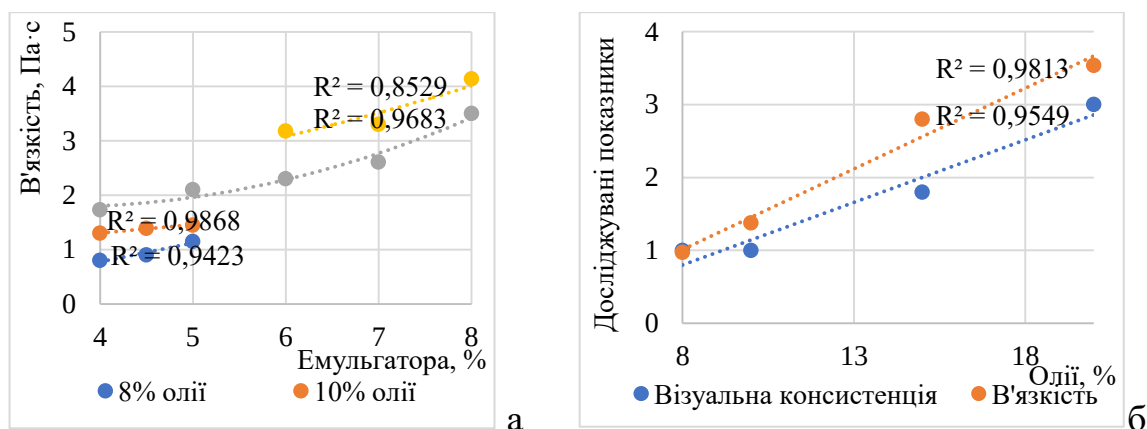


Рис. 5.3 Модель впливу факторів на показники в'язкості групи зразків, до складу яких входить емульгатор ксил'янс, де а – фактор А, б – фактор Б

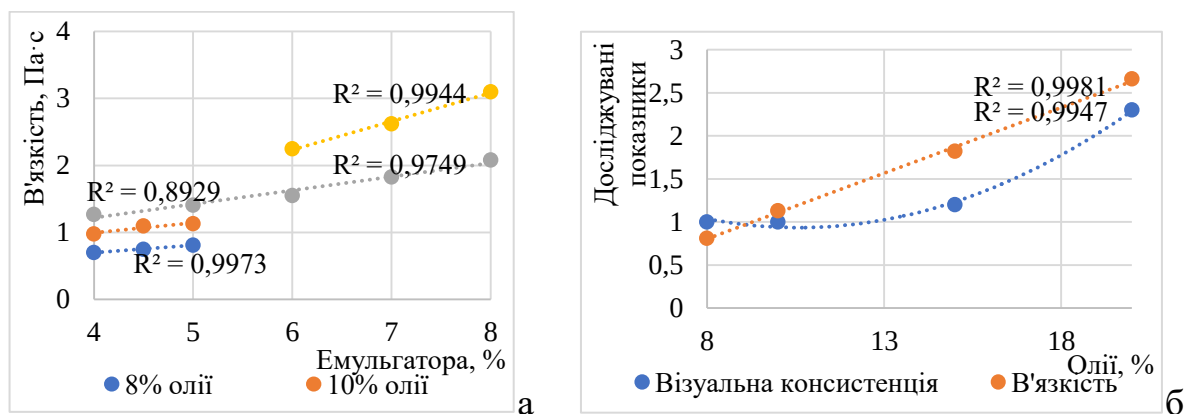


Рис. 5.4 Модель впливу факторів на показники в'язкості групи зразків, до складу яких входить емульгатор проліпід 141, де а – фактор А, б – фактор Б

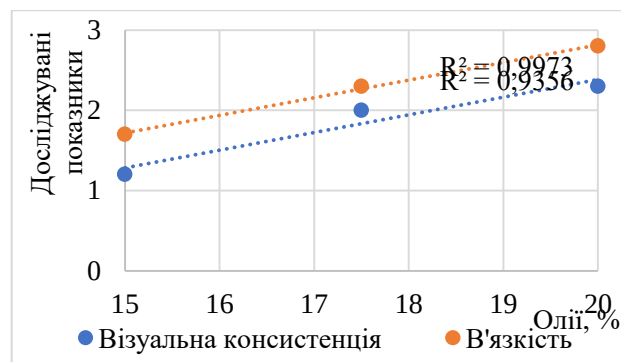


Рис. 5.5 Модель впливу фактору Б на досліджувані показники групи зразків, до складу яких входить емульгатор ламекрем

Результати дослідження показали, що стабільність емульсійних основ залежить як від складу і концентрації емульгатору, так і від концентрації олійної фази. Встановлено, що, при вмісті 8–10 % олійної фази та 4–5 % емульгатору ксильянс утворюються стабільні, але рідкі основи. Підвищення вмісту олійної фази до 15 % і введенні 4–5 % цього комплексного емульгатору не забезпечує стабільність емульсії, дослідні зразки не витримують тест на колоїдну стабільність. Показано, що підвищення вмісту ксильянсу від 6 до 8 % стабілізує емульсійну основу. Стабільними також є емульсійні основи, що містять 20 % олійної фази і 6–8 % емульгатору. Встановлено, що підвищення вмісту олійної фази і емульгатору сприяє підвищенню в'язкості. Основи, що містять 15 % олійної фази та 8 % емульгатору, а також 20 % олійної фази і від 6 до 8 % емульгатору мають в'язку консистенцію. Отримані результати, показують, що використання комплексного емульгатору ксильянс без співемульгаторів стабілізує емульсійні основи типу о/в, які містять олійної фази 8–20 % в концентрації від 4 до 8 %. Підвищення вмісту олійної фази потребує збільшення вмісту емульгатору.

За результатами дослідження, що 4 % комплексного емульгатору проліпід 141 не стабілізує емульсію при концентрації олії від 8 до 15 %, а 5 % емульгатору при 15 % олії. 5 % Проліпід утворює стабільні, однак рідкі емульсійні основи з 8–10 % олійної фази. Підвищення концентрації емульгатору від 6 до 9 % з використанням олійної фази 15–20 % сприяє утворенню стабільних емульсійних основ різної в'язкості. Задовільну кремоподібну консистенцію мають зразки № 20–23, що містять 15 % олії і 7–8 % емульгатору та 20 % олії при 6–7% емульгатору.

За результатами досліджень встановлено, що використання емульгатору ламекрем в концентрації до 6 % не стабілізує емульсію з 8–15 % олійної фази. Збільшення концентрації комплексного емульгатору від 7 до 9 % стабілізує емульсійні системи з вмістом олійної фази 15–20 % з утворенням різних за показниками в'язкості основ. Задовільну кремоподібну консистенцію мають зразки № 33–35, що містять 15 % олії та 9 % ламекрему, а також 20 % олії і 7–8 % емульгатору.

Усі утворені системи є дисперсійними системами, стабілізованими комплексними емульгаторами, що містять нейоногенні поверхнево-активні речовини, емульгатори 1 і 2 роду, які розподіляються на межі розділу двох фаз, зменшуючи тим самим поверхневий натяг, а також утворюють міцели, які сприяють підвищенню в'язкості водного дисперсійного середовища і стабільності системи.

З огляду на стабільність, задовільні органолептичні, фізико-хімічні показники та в'язкість, необхідну для МЛЗ у формі кремів для подальших досліджень обрано по одній з основ, стабілізованих різними емульгаторами, а саме зразки № 8, 22 і 33.

Для цих зразків проводили реологічні і мікроскопічні дослідження. Структурно-механічні властивості є вкрай важливими для оцінки якості і стабільності МЛФ, тому вони досліджуються на етапі фармацевтичної розробки [128, 144]. Проведені нами реологічні дослідження (рис. 5.6–5.11) показали, що дослідні зразки емульсійних основ мають псевдопластичний тип плинину, для них характерна межа плинину, і певні тиксотропні властивості, а відновлення структури відбувається поступово в часі [31, 95].

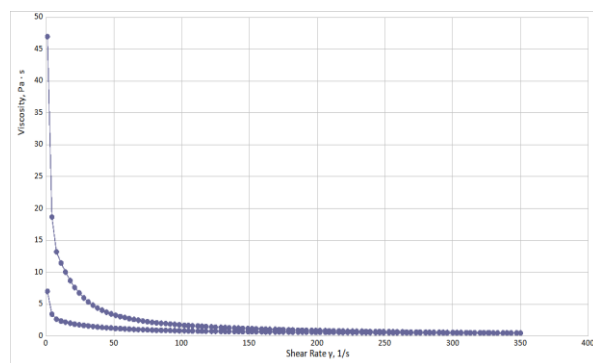
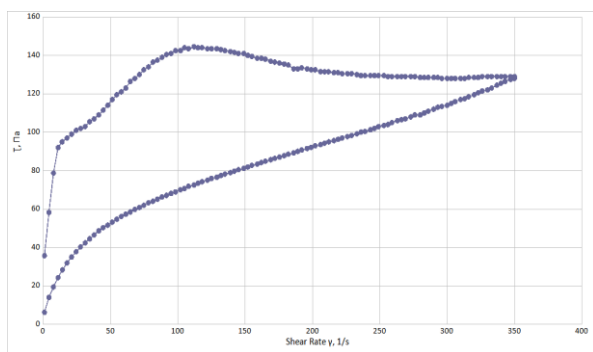


Рис. 5.6 Залежність напруги зсуву (τ , Па) від градієнта швидкості зсуву ($\dot{\gamma}$, 1/s) зразку 8, з емульгатором ксильанс

Рис. 5.7 Залежність структурної в'язкості (η , Pa·s) від градієнта швидкості зсуву ($\dot{\gamma}$, 1/s) зразку 8, з емульгатором ксильанс

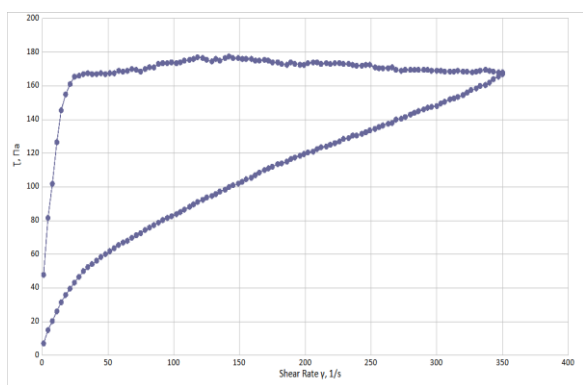


Рис. 5.8 Залежність напруги зсуву (τ , Па) від градієнта швидкості зсуву (γ , 1/s) зразку 22, з емульгатором проліпід 141

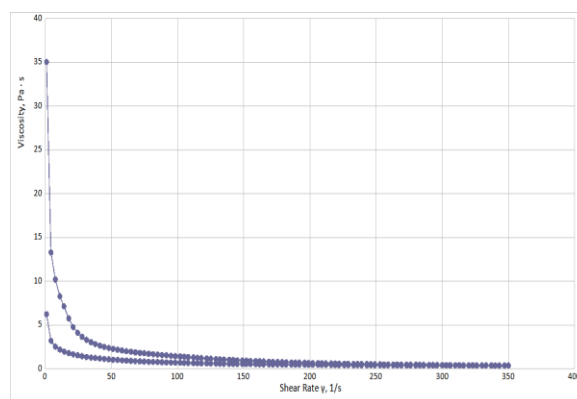


Рис. 5.9 Залежність структурної в'язкості (η , Па·с) від градієнта швидкості зсуву (γ , 1/s) зразку 22 з емульгатором проліпід 141

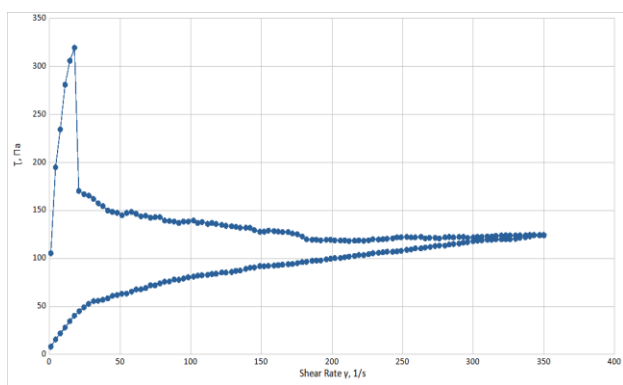


Рис. 5.10 Залежність напруги зсуву (τ , Па) від градієнта швидкості зсуву (γ , 1/s) зразку 33, з емульгатором ламекрем

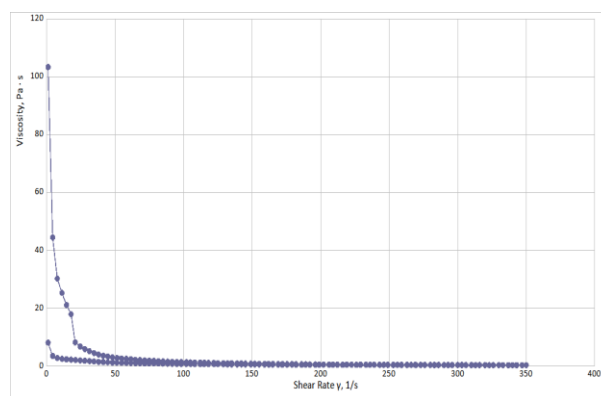


Рис. 5.11 Залежність структурної в'язкості (η , Па·с) від градієнта швидкості зсуву (γ , 1/s) зразку 33, з емульгатором ламекрем

Відмічено, що зразок емульсійної основи, стабілізованої комплексним емульгатором ламекрем демонструє різке зниження напруги зсуву при зростанні швидкості зсуву, що може вказувати на недостатню стабільність зразка, незважаючи на те, що він витримав тест на термо- і колоїдну стабільність.

Мікросвітлинні зразків, наведені на рис. 5.12, демонструють рівномірний розподіл часток олійної дисперсної фази в дисперсійному середовищі з більшістю частинок фази розмір від 0,02 до 0,20 мкм. Мікросвітлинні демонструють певну залежність розподілу фази і її розміру від сумарної концентрації олійної фази і емульгатору, а також від того, який емульгатор використовували. Розмір

часток олійної фази дослідного зразку № 8 був в межах від 0,03 до 0,15 мкм, № 22 – 0,02–0,20 мкм і № 33 – 0,09–0,16 мкм. Більш однорідний фракційний склад та рівномірний розподіл частинок олійної дисперсної фази в дисперсійному середовищі спостерігається у зразку № 8 [95].

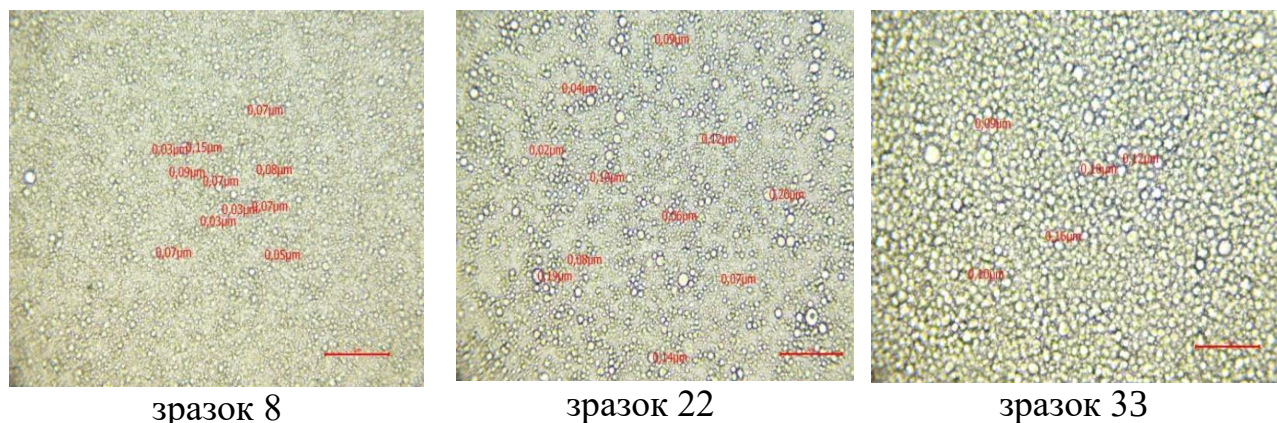


Рис. 5.12 Мікросвітлини дослідних зразків емульсійних основ з різними емульгаторами

З огляду на органолептичні показники, стабільність отриманих зразків і структурно-механічні властивості обґрунтованим для розробки дерматологічного засобу з екстрактами леспедези у формі крему є використання основи, що містить олію кукурудзяну 15,0 %, ксильянс 7,0 %, пропіленгліколь 5,0 % та воду очищену до 100,00 [95]. Запропонована емульсійна основа з емульгувальними сумішами є перспективною для створення топічних ЛФ не лише завдяки утворенню стабільної емульсійної основи з задовільними структурно-механічними властивостями, а й за рахунок відновлення ліпідного бар'єру, пом'якшенню та зволоженню шкіри завдяки зниженню втрати трансепідермальної вологи [133, 134].

5.1.2 Обґрунтування концентрації діючих речовин у складі крему

Наступним етапом роботи було обґрунтування концентрації екстрактів леспедези. З огляду на результати дослідження антимікробної активності ЛЕРС і ЛЕО, наявність вираженої чутливості тест-штамів мікроорганізмів

Staphylococcus, які найчастіше викликають гнійно-запальні захворювання шкіри та слизових оболонок, до складу емульсійної основи, як АФІ вводили олійний і спиртовий екстракти леспедези.

Обґрунтування концентрації екстрактів проводили на підставі результатів мікробіологічних досліджень за методикою наведеною в 2 розділі. До складу основи додавали олійний і спиртовий екстракти леспедези двоколірної. Результати дослідження антимікробних властивостей дослідних зразків крему з різним вмістом екстрактів леспедези, по відношенню до штамів мікроорганізмів, які можуть спровокувати, або ускладнити інфекційно-запальні процеси шкіри (*S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 885-653), наведено в табл. 5.4.

Таблиця 5.4

**Протимікробна активність крему з екстрактами леспедези двоколірної
відносно референтних штамів мікроорганізмів, n=3**

Мікроорганізми	Метод	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм			
		Дослідний зразок крему, що містить:			
		5% олійного екстракту	10% олійного екстракту	15% олійного екстракту	3% спиртового екстракту
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Колодязь	10,0±0,5	12,0±0,5	12,0±1,0	12,0±0,5
	Диски	6,0±1,0	11,0±1,0	12,0±0,5	10,0±0,5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Колодязь	ріст	ріст	ріст	ріст
	Диски	ріст	ріст	ріст	ріст
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	Колодязь	ріст	ріст	ріст	ріст
	Диски	ріст	6,0±1,0	6,0±1,0	ріст
Мікроорганізми		5% спиртового екстракту	7% спиртового екстракту	суміш екстрактів 10% олійного + 5% спиртового екстрактів	Календула мазь
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Колодязь	13,0±0,5	12,5±1,0	18,0±1,0	16,0±1,0
	Диски	12,0±0,5	12,0±1,0	15,0±1,0	12,0±1,0
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Колодязь	10,0±0,5	10,0±1,0	12,0±1,0	ріст
	Диски	7,0±1,0	7,0±1,0	9,0±1,0	ріст
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	Колодязь	10,0±0,5	10,0±1,0	14,0±1,0	ріст
	Диски	9,0±1,0	9,0±0,5	11,0±1,0	ріст

Як показали дослідження введення ЕЛ до основи підвищує чутливість тест-штаму *S. aureus* ATCC 25923, яка зростає при збільшенні їх вмісту. Тест-штами мікроорганізмів *C. albicans* ATCC 885-653 і *P. aeruginosa* не виявляють чутливості до зразків з ЛЕО, а їх чутливість до зразків з ЛЕРС виявилась слаб-

кою. Однак встановлено, що за рівнем активності зразок, який містить два екстракти перевищує активність зразків з одним із екстрактів по відношенню до обраних тест-штамів мікроорганізмів. До усіх тест-штамів мікроорганізмів активність зразку, що містить 10 % ЛЕО і 5 % ЛЕРС перевищує рівень активності препарату порівняння. Результати дослідження продемонстрували потенціювання антимікробної дії екстрактів при їх сумісному введенні до складу крему. Так, антибактеріальна активність крему з екстрактами по відношенню до *S. aureus* ATCC 25923 перевищує активність екстрактів.

З метою посилення антимікробної дії крему було досліджено можливість уведення до його складу етерної олії. Проведені нами попередні дослідження продемонстрували високий рівень антибактеріальної активності низки ОЕ відносно культури *S. aureus*. Встановлено, що серед досліджених ЕО найбільший діаметр зон затримки росту відносно вказаного штаму мікроорганізму характерний для етерних олій іланг-ілангу, рожевого дерева, м'яти перцевої, лемонграсу, чайного дерева, шавлії, лаванди, кориці і гвоздики [34, 35]. Інформація про діаметр зон затримки росту *S. aureus* до вищезазначених ЕО і наявність їх на ринку станом на 1.10.2023 р. наведено в табл. 5.5.

Таблиця 5.5

Етерні олії, що володіють антимікробною активністю по відношенню до *Staphylococcus aureus*

Назва етерної олії	Діаметр зон затримки росту відносно <i>S. aureus</i>	Виробник/вартість, 1 л		
		ТОВ «Ароматика»	ТОВ «Green Pharm Cosmetic»	Deutsche Ole TOB «Краса і Здоров'я»
Олія іланг-ілангу	39,4±1,2	97,30–141,30 грн	49,30–82,20 грн	85,68 грн
Олія рожевого дерева	38,0±0,6	83,10 –132, 30 грн	86,38–132,50 грн	106,5 грн
Олія м'яти перцевої олія	36,1±0,1	95,00–130,71 грн	41,47–77,10 грн	86,52 грн
Олія лемонграсу	36,1±0,2	93,12–119,80 грн	39,90–82,50 грн	–
Олія чайного дерева	32,1±0,6	85,95–121,50 грн	42,50–84,60 грн	81,0 грн
Олія шавлії	31,1±0,3	153,25–194,40 грн	77,84–28,10 грн	109,68 грн
Олія лаванди	30,4±0,4	96,70–121,50 грн	45,70–90,60 грн	91,2 грн
Олія кориці	30,3±0,2	97,20–116,66 грн	66,22–92,90 грн	–
Олія гвоздики	30,1±0,2	108,56–143,08 грн	75,20–84,80 грн	–

З огляду на силу антимікробної дії відносно *S. aureus*, кількість пропозицій на фармацевтичному ринку і вартість ЕО для подальших досліджень обрано олію етерну іланг-ілангу виробництва ТОВ «Green Pharm Cosmetic» (серія 10.0623).

Концентрацію ЕО обирали з огляду на результати дослідження антимікробної активності відносно еталонних тест-культур грампозитивних і грамнегативних бактерій: *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853. Протигрибкову дію зразків досліджували на референтному штамі *C. albicans* ATCC 885-653 (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

**Протимікробна активність крему відносно референтних штамів
мікроорганізмів, n=3**

Мікроорганізми	Метод	Діаметри зон затримки росту в мм до зразків				
		Дослідний зразок крему, що містить:				Препарат порівняння (Календула мазь)
		суміш екстрактів	+ 0,05 етерної олії	+ 0,1 етерної олії	+ 0,15 етерної олії	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Колодязь	18,0±1,0	19,0±1,0	23,0±1,0	24,0±1,0	15,5±0,5
	Диски	15,0±1,0	16,0±1,0	18,0±1,0	19,0±1,0	11,5±0,5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Колодязь	12,0±1,0	13,0±1,0	13,0±1,0	14,0±1,0	12,0±1,0
	Диски	9,0±1,0	10,0±1,0	11,0±1,0	11,0±1,0	10,0±1,0
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	Колодязь	14,0±1,0	16,0±1,0	18,0±1,0	19,0±1,0	14,0±1,0
	Диски	11,0±1,0	12,0±1,0	14,0±1,0	14,0±1,0	14,0±1,0

Результати дослідження продемонстрували підвищення антимікробної дії дослідного зразку крему відносно тест-штамів мікроорганізмів *S. aureus* ATCC 25923 і *C. albicans* ATCC 885-653, на відміну від *P. aeruginosa* ATCC 27853. Більш ефективно антимікробна активність дослідних зразків відносно *S. aureus* ATCC 25923 і *C. albicans* ATCC 885-653 зростає при підвищенні концентрації ЕО від 0,05 до 0,1%, тому саме ця концентрація є обґрунтованою в складі дерматологічного засобу.

5.1.3 Обґрунтування вибору консерванту до складу крему

Дослідження з вибору антимікробного консерванту обумовлена необхідністю забезпечити стабільність в процесі зберігання, і головне безпечність застосування та зниження ризику виникнення побічних реакцій під час застосування ЛЗ. Мікробіологічна чистота є важливою вимогою для ЛЗ, які контактують з ураженою поверхнею шкіри, її придатків і слизових, так як є великий ризик ускладнення протікання патологічного процесу. Дослідження проводили відповідно до методики визначення ефективності консерванту за вимогами ДФУ [9], яку наведено у розділі 2. Як консерванти обрано феноксіетанол, пропілпарабен (ніпазол) і натрію бензоат у середньоефективних, рекомендованих виробником концентраціях [15, 16]. Для вивчення ефективності обраних консервантів напруцьовували серії зразків з феноксіетанолом в концентрації 0,6 і 0,8 %, натрію бензоатом, ніпагіном в концентраціях 0,2 і 0,3 % (табл. 5.7.)

Таблиця 5.7

Результати дослідження антимікробної ефективності консервантів у досліджуваних зразках дерматологічного крему (n = 5, P = 95%)

Тест-культури мікроорганізмів	Консервант (концентрація, %)	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО/мл	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження (вимоги ДФУ/зразок)			
			2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
1	2	3	4	5	6	7
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	№ 1 без консерванта	5,72	2/2,28	3/3,24	—	НЗ/НЗ
	№ 2 ніпагін 0,2 %	5,84	2/2,42	3/3,28	—	НЗ/НВ
	№ 3 ніпагін 0,3 %	5,88	2/3,14	3/4,26	—	НЗ/НВ
	№ 4 феноксіетанол 0,6 %	5,76	2/2,10	3/4,56	—	НЗ/
	№ 5 феноксіетанол 0,8 %	5,90	2/3,28	3/НВ	—	НЗ/НВ
	№ 6 натрію бензоат 0,2 %	5,76	2/3,45	3/4,30	—	НЗ/НВ
	№ 7 натрію бензоат 0,3 %	5,72	2/3,68	3/ НВ	—	НЗ/НВ

Продовження табл. 5.7

1	2	3	4	5	6	7
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	№ 1 без консерванта	5,70	2/0,96	3/1,68	—	НЗ/2,90
	№ 2 ніпагін 0,2 %	5,80	2/2,42	3/3,20	—	НЗ/НВ
	№ 3 ніпагін 0,3 %	5,84	2/2,94	3/4,82	—	НЗ/НВ
	№ 4 феноксіетанол 0,6 %	5,92	2/2,16	3/3,26	—	НЗ/НВ
	№ 5 феноксіетанол 0,8 %	5,82	2/2,90	3/4,58	—	НЗ/НВ
	№6 натрію бензоат 0,2 %	5,76	2/2,86	3/НВ	—	НЗ/НВ
	№ 7 натрію бензоат 0,3 %	5,72	2/3,15	3/НВ	—	НЗ/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	№ 1 без консерванта	5,72	2/2,04	3/2,56	-	НЗ/2,91
	№ 2 ніпагін 0,2 %	5,68	—	—	2/3,42	НЗ/НВ
	№ 3 ніпагін 0,3 %	5,90	—	—	2/3,60	НЗ/НВ
	№ 4 феноксіетанол 0,6 %	5,74	—	—	2/3,92	НЗ/НВ
	№ 5 феноксіетанол 0,8 %	5,58	—	—	2/3,08	НЗ/НВ
	№6 натрію бензоат 0,2 %	5,60	—	—	2/3,86	НЗ/НВ
	№7 натрію бензоат 0,3 %	5,62	—	—	2/НВ	НЗ/НВ
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	№ 1 без консерванта	5,78	—	—	2/1,86	НЗ/2,88
	№ 2 ніпагін 0,2 %	5,92	—	—	2/3,20	НЗ/НВ
	№ 3 ніпагін 0,3 %	5,74	—	—	2/НВ	НЗ/НВ
	№ 4 феноксіетанол 0,6 %	5,68	—	—	2/НВ	НЗ/НВ
	№ 5 феноксіетанол 0,8 %	5,66	—	—	2/3,96	НЗ/НВ
	№6 натрію бензоат 0,2 %	5,74	—	—	2/НВ	НЗ/НВ
	№7 натрію бензоат 0,3 %	5,86	—	—	2/НВ	НЗ/НВ

Примітка: НВ – мікроорганізми не виявляються; НЗ – не спостерігається збільшення числа мікроорганізмів; «—» – не потребує визначення за методикою.

Отримані результати вказують на необхідність введення до складу розробленого крему консерванту незалежно від наявності АФІ антимікробної і протигрибкової дії.

Показано, що зразок, який не містить консерванту не витримує випробування. Логарифми зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів *P. aeruginosa* менше 2 через 2 доби, а для *A. brasiliensis* менше 2 через 7 діб, що

доводять необхідність додавання до складу розробленого крему антимікробних консервантів.

За результатами проведених досліджень, наведених в табл. 5.7, можна зробити висновок, що досліджувані зразки кремів з обраними консервантами — ніпагін і натрію бензоат по 0,2 і 0,3 %, а також феноксіетанолом 0,4 та 0,6 % відповідають вимогам ДФУ (критерій класу «А») відносно бактерій *S. aureus* ATCC 6538 і *P.aeruginosa* ATCC 9027 і грибів *C. albicans* ATCC 885-653 і *A. brasiliensis* ATCC 16404 для нестерильних ЛП для зовнішнього застосування і можуть бути використані для подальших досліджень із розроблення складу і технології МЛФ для профілактики і лікування інфекційно-запальних захворювань шкіри.

З огляду на безпечність використання, економічну доступність сировини та ефективність консерванта з досліджуваних зразків для подальших досліджень нами обрано зразок, що містив 0,3 % натрію бензоату.

На наступному етапі роботи проводили дослідження властивостей основи крему при введенні АФІ. До зразка розробленої емульсійної основи вводили АФІ (етерну олію, олійний та/ або спиртовий екстракт леспедези) й досліджували їх вплив на властивості основи (табл. 5.8).

Відповідно до даних, наведених у табл. 5.9, введення АФІ не впливає на стабільність, що підтверджено відповідними дослідженнями колоїдної і термостабільності. Дослідження показали, що АФІ мають незначний вплив на органолептичні властивості (колір і запах) досліджуваних зразків, що зумовлено властивостями власне АФІ та не має негативного впливу на загальні показники якості. Для властивостей, виражених числовими показниками (значення рН і в'язкість), проводили статистичну обробку отриманих результатів шляхом парних порівнянь двох вибірок, де першою вибіркою були властивості емульсійної основи, другою – властивості зразка із АФІ.

Порівняння проводили за допомогою t-тесту для незалежних вибірок, які характеризуються нормальним розподілом даних (за критерієм Шапіро-Уїлка $p > 0,05$) (табл. 5.10).

Таблиця 5.8

Склад основи та досліджуваних зразків

Найменування інгредієнтів	№ 1 (основа)	Зразки крему		
		№ 2	№3	№4
Олія кукурудзяна	15	5	15	5
Олійний екстракт леспедези	-	10	-	10
Спиртовий екстракт леспедези	-	-	5	5
Етерна олія іланг-ілангу	-	-	-	0,1
Натрію бензоат	0,3			
Ксильянс	7			
Пропіленгліколь	5			
Вода очищена	до 100,0			

Таблиця 5.9

Властивості основи та досліджуваних зразків n=3

Властивості зразків	Номери зразків			
	1	2	3	4
Органолептичні показники	Стабільна од- норідна кремо- подібна маса білого кольору без запаху	Стабільна од- норідна кремо- подібна маса зеленуватого кольору з хара- ктерним запа- хом	Стабільна од- норідна кремо- подібна маса кремового ко- льору з харак- терним запа- хом	Стабільна од- норідна кремо- подібна маса зеленуватого кольору з хара- ктерним запа- хом
Термостабіль- ність	Стабільний	Стабільний	Стабільний	Стабільний
Колоїдна стабільність	Стабільний	Стабільний	Стабільний	Стабільний
Значення рН	5,89±0,10	5,70±0,12	5,65±0,11	5,50±0,12
В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20°C	2,30±0,10	2,45±0,05	2,20±0,15	2,25±0,10

Таблиця 5.10

**Результати попарного порівняння властивостей
досліджуваних зразків (n=3, P=95%)**

Властивості зразків	Досліджувані вибірки, p-value		
	№№ 1–2	№№ 1–3	№№ 1–4
Значення рН	0,02615	0,001885	0,0009221
В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20 °С	0,0551	0,07418	0,2254

Встановлено, що додавання кожного з АФІ до емульсійної основи має вплив на значення рН, оскільки спостерігається статистично значуща різниця при порівнянні вибірок за цим показником ($p < 0,05$). Не зважаючи на це, значення рН знаходиться в межах норми. При цьому жоден з АФІ не має впливу на в'язкість досліджуваних зразків, на що вказує відсутність статистично значущої різниці ($p > 0,05$) [17, 95].

На підставі проведених фізико-хімічних, фармакотехнологічних і біологічних досліджень нами запропоновано склад крему на емульсійній основі (табл. 5.11) [7, 95].

Таблиця 5.11

Склад емульсійного крему з екстрактами леспедези

Найменування інгредієнта	Кількісний вміст, %
Леспедези екстракт олійний	10,0
Леспедези екстракт рідкий спиртовий	5,0
Олія іланг-ілангу етерна	0,1
Олія кукурудзяна	5,0
Ксильянс	7,0
Пропіленгліколь	5,0
Натрію бензоат	0,3
Вода очищена	до 100,0

5.2 Обґрунтування технології крему

На даному етапі дослідження необхідно було обґрунтувати технологічні параметри виробництва розробленого ЛЗ. При обґрунтуванні технології м'яких лікарських засобів на емульсійних основах одним із критичних параметрів технологічного процесу виробництва є стадія емульгування. На якість і стабільність ЛЗ впливають температура, час і швидкість емульгування [30, 70, 95, 142]. Тому метою наших досліджень було вивчення залежності властивостей емульсійного крему від зміни технологічних параметрів його виготовлення.

Дослідні зразки крему емульгували з використанням змішувача МІ-2 для рідких та м'яких лікарських форм в діапазоні швидкостей від 1000 до 3000 об/хв. з кроком 500 об / хв впродовж 5–20 хв з кроком 5 хв для кожного зразку. Дизайн досліджень наведено в табл. 5.12.

Таблиця 5.12

Дизайн досліджень

Зразок	Швидкість емульгування, об/хв	Час емульгування/ номер зразку			
		5	10	15	20
1	1000	1.1	1.2	1.3	1.4
2	1500	2.1	2.2	2.3	2.4
3	2000	3.1	3.2	3.3	3.4
4	2500	4.1	4.2	4.3	4.4
5	3000	5.1	5.2	5.3	5.4

Для оцінки якості виготовлених зразків використовували такі показники: зовнішній вигляд, термостабільність і колоїдну стабільність, ступінь дисперсності часток дисперсної фази та структурно-механічні властивості, а саме значення структурної в'язкості зразка. Стабільність визначали візуально відразу після виготовлення, через 12 та 24 год, колоїдну і термостабільність – через добу.

Отже, для побудови моделі експерименту об'єктом дослідження є зразки крему, вхідними даними встановили змінні технологічні параметри (швидкість емульгування та час емульгування), вихідними – показники якості крему (рис. 5.13).

З метою вивчення впливу факторів вхідних даних на об'єкт дослідження для вихідних даних встановили функціями відгуку візуальну стабільність (0 – розшаровується відразу після виготовлення, 1 – розшаровується через 12 год, 2 – розшаровується через 24 год, 3 – залишається стабільним), термо- та колоїдну стабільність (0 – нестабільна, 1 – стабільна), дисперсність фази (відсотковий вміст частинок дисперсної фази відповідного розміру, мкм та рівномірність розподілу дисперсної фази у дисперсійному середовищі), в'язкість (Па·с, при 20 об/хв і 20 °С).



Рис. 5.13 Модель запланованого експерименту

Відповідно до наведених даних запропоновано план двофакторного експерименту, де фактор А – час емульгування, фактор Б – швидкість емульгування (рис. 5.14).

Відповідно до запропонованого плану необхідно провести 20 окремих дослідів. Отримані результати дослідження основних показників якості зразків вказують на спільний вплив обох факторів на вихідні параметри. Для встановлення залежності між досліджуваними показниками проводили кореляційний аналіз отриманих даних (табл. 5.13).

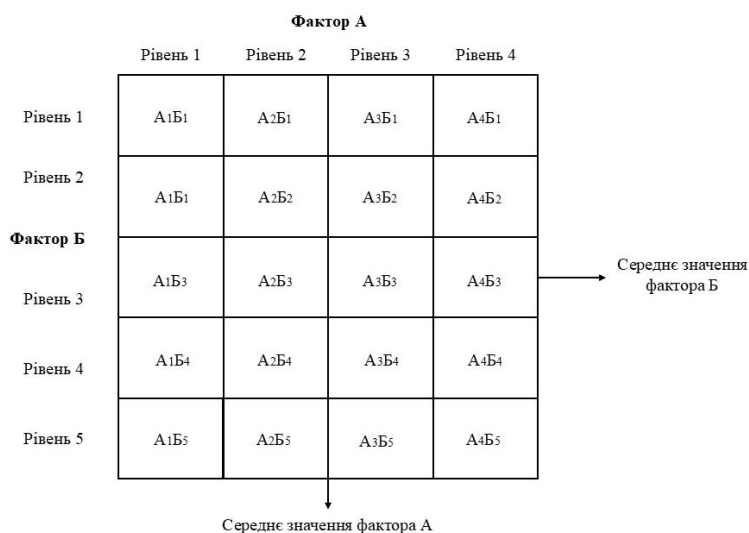


Рис. 5.14 План факторного експерименту

Таблиця 5.13

Властивості дослідних зразків, n=3

№	Візуальна стабільність	Термо/ ко-лоїдна ста-більність	Дисперсність фази	В'язкість, Па·с, при 20 об/хв і 20 °С
1	2	3	4	5
1.1	0	-/-	-	-
1.2	0	-/-	-	-
1.3	2	-/-	-	-
1.4	2	-/-	-	-
2.1	1	-/-	-	-
2.2	2	-/-	-	-
2.3	3	1/0	-	-
2.4	3	1/1	>0,2 - <0,5-25% >0,15 - <0,2-40% >0,1 - <0,15-35% Нерівномірний розподіл з великими краплями фази	2,35±0,05
3.1	2	-/-	-	-
3.2	3	1/1	>0,2 - <0,5 - 2% >0,15 - <0,2-25% >0,1 - <0,15-70% Рівномірний розподіл з наявністю великих часток фази	2,34±0,03
3.3	3	1/1	>0,15 - <0,2-5% >0,1 - <0,15-85% >0,04 - <0,1-10%	2,32±0,06
3.4	3	1/1	>0,1 - <0,15-45% >0,04 - <0,1-50% < 0,04≈ 5% Наявні поодинокі пухирці повітря	2,30±0,08
4.1	3	1/0	-	-
4.2	3	1/1	>0,1 - <0,15-15% >0,04 - <0,1-80% < 0,04≈ 5%	2,30±0,05

Продовження табл. 5.13

1	2	3	4	5
4.3	3	1/1	>0,1 - <0,15-5% >0,04 - <0,1-90% < 0,04≈ 5%	2,25±0,06
4.4	3	1/1	>0,1 - <0,15≈ 1% >0,04 - <0,1≈90% < 0,04≈ 10% Наявні пухирці повітря	2,24±0,05
5.1	3	1/0	-	-
5.2	3	1/1	>0,1 - <0,15-5% >0,04 - <0,1-80% < 0,04≈ 15% Наявні поодинокі пухирці повітря	2,27±0,08
5.3	3	1/1	>0,1 - <0,15≈ 1% >0,04 - <0,1-70% < 0,04≈ 30% Велика кількість пухирців повітря	2,25±0,06
5.4	3	1/1	>0,04 - <0,1≈50% < 0,04≈ 50% Велика кількість пухирців повітря	1,95±0,05

Досліджувані вибірки вихідних даних характеризуються відсутністю нормального розподілу ($p < 0,05$ за критерієм Шапіро-Уїлка) тож для проведення аналізу використовували коефіцієнт кореляції Спірмена (sr) (табл. 5.14).

Таблиця 5.14

Результати кореляційного аналізу

Відгуки \ Фактори	Швидкість емульгування	Час емульгування
Візуальна стабільність	$sr=0,7489$ ($p=0,000145$)	$sr=0,37983$ ($p=0,098561$)
Термостабільність	$sr=0,74125$ ($p=0,000184$)	$sr=0,32817$ ($p=0,15778$)
Колоїдна стабільність	$sr=0,56569$ ($p=0,009333$)	$sr=0,53666$ ($p=0,014704$)
Загальна стабільність	$sr=0,69565$ ($p=0,00066$)	$sr=0,52546$ ($p=0,017346$)
Дисперсність	$sr=0,70098$ ($p=0,000575$)	$sr=0,50963$ ($p=0,021712$)
В'язкість	$sr=-0,37374$ ($p=0,10454$)	$sr=-0,44372$ ($p=0,050025$)

Результати кореляційного аналізу підтверджують спільний вплив обох факторів на функції відгуку, в якому вплив швидкості емульгування має незначну перевагу. Для оптимізації відображення результатів впливу факторів на стабільність крему показники візуальної, термо- і колоїдної стабільності об'єднали у показник «Загальна стабільність». Встановлено, що зі збільшенням значень факторів підвищуються показники стабільності й дисперсності та зменшуються показники в'язкості крему. Однак, коефіцієнти, отримані для вивчення впливу факторів на в'язкість не є статистично значущими. З метою узагальнення отриманих даних, відтворення та оцінювання достовірності запропонованої експериментальної моделі проведено регресійний аналіз методом побудови діаграм (рис. 5.15, 5.16).

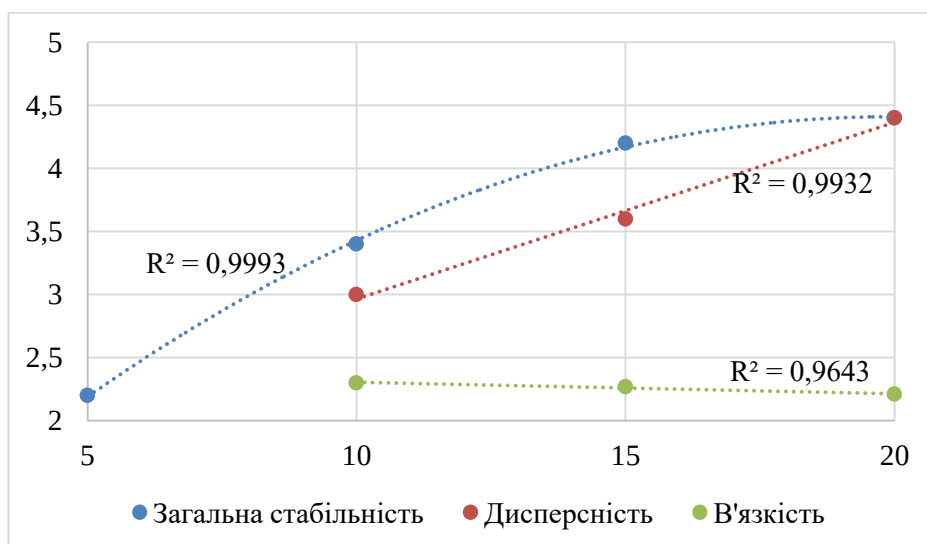


Рис. 5.15 Модель впливу фактору А на досліджувані показники якості

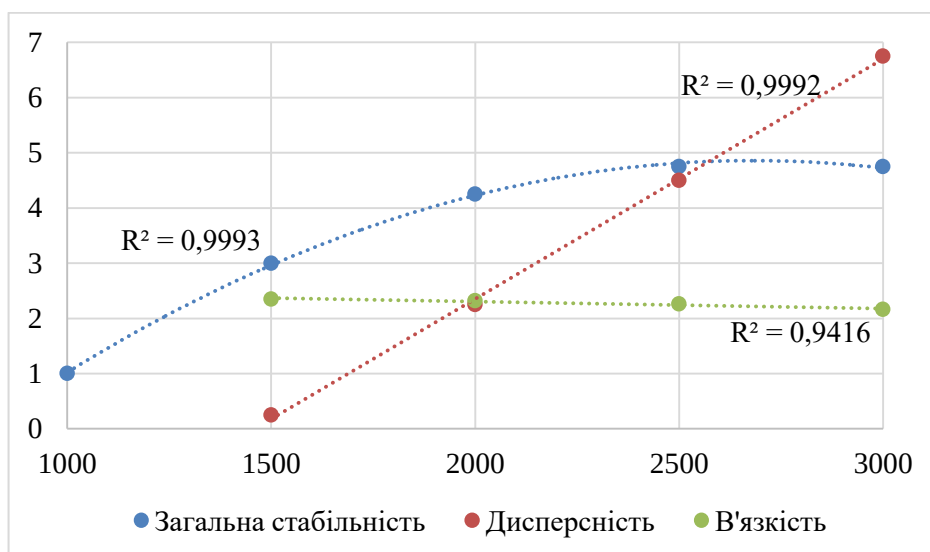


Рис. 5.16 Модель впливу фактору Б на досліджувані показники якості

Встановлено, що більшість моделей характеризуються лінійною регресією за винятком впливу обох факторів на загальну стабільність (поліноміальна регресія). Кожна з моделей регресії має високий рівень апроксимації ($> 90\%$), отже, отримані експериментальні дані є достовірними, а експеримент – відтворюваним.

З огляду на отримані результати дослідження з використанням обраної моделі експерименту оптимальними умови проведення технологічного процесу виробництва крему є емульгування упродовж 15 хв зі швидкістю перемішування 2500 об / хв [52].

Технологія крему базувалась на результатах досліджень з обґрунтування технологічних параметрів. Для виготовлення крему використовували стандартне для виробництва МЛЗ обладнання. Технологічний процес складається із таких стадій: стадії допоміжних робіт, стадії основного технологічного процесу: приготування водної фази, що містить воду очищену, пропіленгліколь, леспедези екстракт рідкий та натрію бензоат; приготування масляної фази (олія кукурудзяна, ксильянс, леспедези олійний екстракт), отримання крему, стадії фасування в контейнери, пакування у пачки та групову тару й відвантаження на склад готової продукції (рис. 5.17).

Стадія 1. Відважування компонентів крему.

Для виробництва крему готують сировину (леспедези екстракт олійний, леспедези екстракт рідкий спиртовий, олія іланг-ілангу етерна, олія кукурудзяна, ксильянс, пропіленгліколь, вода очищена), яку після вхідного контролю доставляють на ділянку на транспортних візках, відважують на вагах (леспедези екстракт рідкий спиртовий та воду очищену відмірюють мірником) у збірники і передають на наступні стадії.

Стадія 2. Приготування водної фази.

Відміряну кількість води очищеної завантажують у реактор, додають попередньо відважений натрію бензоат, перемішують до повного її розчинення. Реактор прогрівають пуском в оболонку гарячої води (70 ± 5) °С, додають відміря-

ний леспедези екстракт рідкий спиртовий, перемішують за допомогою лопатевої мішалки впродовж 15 хв при 70 об / хв.

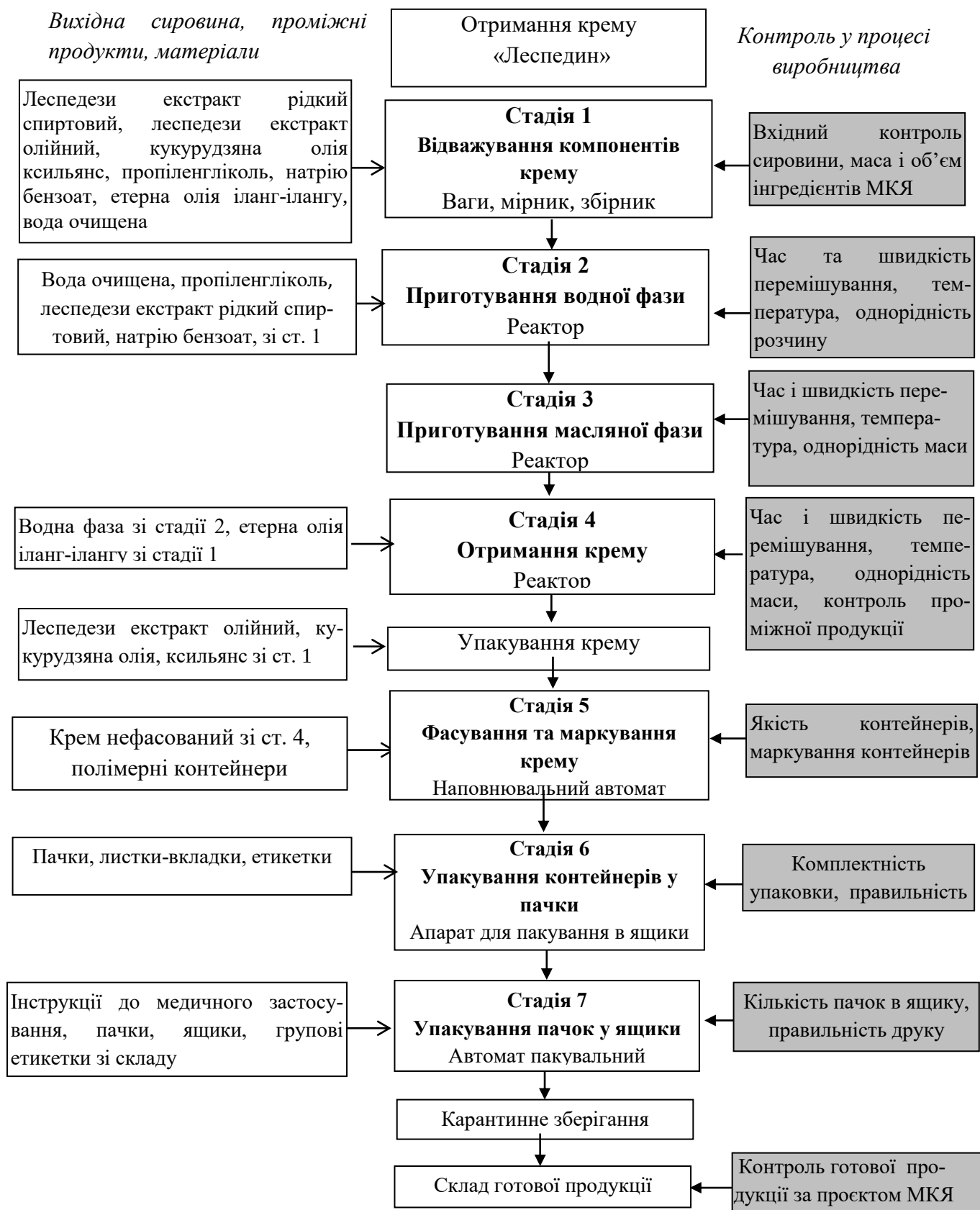


Рис. 5.17 Технологічна схема виробництва емульсійного крему «Леспедин»

Стадія 3. Приготування масляної фази.

У реактор, прогрітий пуском в оболонку гарячої води (70 ± 5) °C, додають відважені ксил'янс, олію кукурудзяну, леспедези екстракт олійний, перемішують до однорідності впродовж 15 хв при 70 об / хв.

Стадія 4. Отримання крему.

У реактор із масляною фазою (стадія 3) за температури (70 ± 5) °C, додають водну фазу і емульгують за допомогою мішалки при 2500 об / хв впродовж 15 хв до одержання однорідної кремоподібної маси. Після охолодження суміші до (45 ± 5) °C додають етерну олію іланг-ілангу, перемішують за допомогою лопатевої мішалки впродовж 15 хв до отримання однорідної маси. Після гомогенізації крему і охолодження його до температури (25 ± 5) °C проводять проміжний контроль продукту, відібравши контрольні проби з різних ділянок реактора. Результати контролю мають відповідати вимогам проекту МКЯ. Після одержання позитивних результатів міжопераційного контролю отриманий крем передають на стадію 5 «Фасування та маркування крему».

Стадія 5. Фасування та маркування крему.

Отриманий крем фасують у контейнери по 100,0 г. Проводять контроль точності дозування та правильності маркування контейнерів (номер серії та термін придатності).

Стадія 6. Упакування контейнерів у пачки.

Контейнери з інструкцією до застосування пакують у пачки на автоматі пакування та контролюють комплектність.

Стадія 7. Упакування пачок у ящики.

Пакування пачок у коробки проводять на пакувальному столі. Серію готової продукції формують із розрахунку одного завантаження реактора.

Серію готової продукції, на яку виданий аналітичний паспорт, відправляють на склад готової продукції. Проводять контроль готової продукції.

Наведена технологія виробництва розробленого емульсійного крему може бути відтворена в умовах стандартного фармацевтичного виробництва і не потребує додаткового обладнання. Для масштабування у промислове виробни-

цтво розробленої лабораторної технології емульсійного крему «Леспедин» визначено критичні параметри й умови технологічного процесу, що дозволить отримати готову продукцію, яка відповідає вимогам НД (табл. 5.15).

Таблиця 5.15

Контрольовані параметри та критерії прийнятності виробництва крему

Стадія	Контрольований параметр	Критерій прийнятності
Відважування компонентів крему	Маса компонентів	Згідно з виробничою рецептурою
Приготування водної фази	Однорідність розчину	Однорідний прозорий розчин
	Час перемішування	15 хв
	Температура перемішування	$(70 \pm 5) ^\circ\text{C}$
	Швидкість перемішування	70 об / хв
Приготування масляної фази	Однорідність маси	Однорідна маса
	Час перемішування	15 хв
	Температура перемішування	$(70 \pm 5) ^\circ\text{C}$
	Швидкість перемішування	70 об / хв
Отримання крему	Однорідність маси	Однорідна маса
	Температура змішування і емульгування	$(70 \pm 5) ^\circ\text{C}$
	Час перемішування	15 хв
	Швидкість емульгування	2500 об / хв
	Температура додавання ефірної олії іланг-ілангу	$(45 \pm 5) ^\circ\text{C}$
	Контроль проміжної продукції	Згідно з виробничою рецептурою
Фасування та маркування крему	Маса вмісту контейнера	100,0 г
	Правильність маркування	Візуально
Упакування пачок у ящики	Комплектність пакування, чіткість маркування	Візуально

Контроль розробленого емульсійного крему проводиться за зовнішніми ознаками: однорідна кремоподібна маса зеленуватого кольору зі специфічним квітково-трав'яним запахом.

Розроблено технологію, принципову технологічну схему виробництва крему «Леспедин», визначено критичні параметри процесу й складено проекти технологічного регламенту і технологічної інструкції на виробництво крему «Леспедин» (додатки В).

Висновки до розділу 5

1. За результатами дослідження органолептичних, фізико-хімічних, структурно-механічних властивостей на мікроскопії дослідних зразків емульсійних основ, що містять різні за складом комплексні емульгатори ксильянс, проліпід 141 та ламекрем, а також обраних зразків, обґрунтовано склад емульсійної основи 1 роду, що містить олію кукурудзяну 15 %, ксильянс 7 %, пропіленгліколь 5 % та воду очищену до 100,0. Мікробіологічними дослідженнями обґрунтовано використання консерванту натрію бензоату в концентрації 0,3 %.

2. Теоретично та експериментально обґрунтовано введення до складу крему екстрактів леспедези (10 % ЛЕО і 5 % ЛЕРС) і 0,1 % олії етерної іланг-ілангу, які завдяки комплексу БАС забезпечать більш широкий спектр фармакологічної активності.

3. Експериментально встановлена наявність вираженої антимікробної дії крему відносно тест-штаму *S. aureus* ATCC 25923 та слабкої антибактеріальної дії до тест-штамів *C.albicans* ATCC 885-653 і *P. aeruginosa* ATCC 27853, яка перевищує або знаходиться на рівні активності референтного препарату мазі календули.

4. Розроблено технологію виробництва дерматологічного крему «Леспедин», визначено критичні параметри технологічного процесу отримання препарату, складено технологічну схему виробництва і технологічну інструкцію; підтверджено відтворення процесу виготовлення крему в умовах виробничої

аптеки (додаток В).

Результати досліджень за розділом наведено у таких публікаціях:

1. Development of the composition of a dermatological product in the form of a cream with extracts of the aerial part of lespedeza bicolor / K. Kiselyova, T. Yudkevych, L. Bodnar, M. Skybitska, L. Vyshnevskaya, T. Yudkevych, L. Ivanauskas, O. Mykhailenko, O. Kukhtenko, V. Georgiyants. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2025. № 1 (53). 3. 26–40. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.322855> (Scopus).
2. Кисельова К. Є., Боднар Л. А., Олійник С. В. Обґрунтування технології крему з екстрактами леспедези. *Вісник фармації*. 2025. № 1 (109). С. 48–54. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.174>
3. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Дослідження антибактеріальної дії витяжок з леспедеці двоколірної та крему на їх основі. *Annals of Mechnikov Institute*. 2024. № 2. С. 69–73 <https://doi.org/10.5281/zenodo.11638092>
4. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 1. С. 54–61. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7721539>
5. Вишневська Л. І., Кисельова К. Є., Ковальова Т. М. Спосіб одержання засобу для лікування інфекційно-запальних уражень шкіри у формі емульсійного крему. Пат. на корисну модель № 157621 Україна, МПК (2024.01) А61К 47/44; заявл. 18.04.204; опубл. 06.11.2024, Бюл. № 45. 4 с.
6. Кисельова К. Є., Сілаєва Л. Ф., Вишневська Л. І. Антимікробні властивості етерних олій. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 139–143.
7. Мікробіологічні дослідження ефірної олії низки лікарських рослин щодо рівня їх антимікробної дії / Л. Ф. Сілаєва, О. О. Шмалько, Л. І. Вишневська, К. Є. Кисельова. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків: НФаУ, 2019. Вип. 6. С. 416–419.

8. Кисельова К. Є., Шмалько О. О, Вишневська Л. І. Етерна олія як активний фармацевтичний інгредієнт у фармацевтичній розробці. *Фармакоєкономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 247.
9. Кисельова К. Е., Яромій М. В. Використання леспедези в народній і традиційній медицині. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція* : матеріали VI наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16 листоп. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С.232.
10. Кисельова К. Є. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. *Youth Pharmacy Science*: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. м. Харків, 6–7 груд. 2023 р. Харків: НФаУ, 2023. С.119.
11. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології*: зб. наук. матеріалів III Міжн. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, м. Харків, 24 листоп. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 305–306.
12. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Вивчення антибактеріальної активності емульсійного крему з екстрактами леспедези двоколірної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VI Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 12 квіт. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 106–107.
13. Кисельова К., Вишневська Л. Обґрунтування умов отримання емульсійного крему з екстрактами леспедеці. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали X наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т.А. Грошового. м. Тернопіль, 17–18 жовтня 2024 р. Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 203.
14. Кисельова К., Боднар Л., Вишневська Л. Дослідження властивостей основи крему при введення активних фармацевтичних інгредієнтів. *Фармінно-*

вації: від освітнього процесу до наукових досягнень : зб. матеріалів І наук.-практ. конф., м. Вінниця, ВНМУ, 03–04 груд. 2024 р. Вінниця : Твори, 2024. С. 18–20.

15. А.с. 126126 Україна. Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів / К.Кисельова, Л. Вишневська № 126126; опубл. 01.05. 2024.

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРЕМУ І ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

6.1 Розроблення методик контролю якості крему і його стандартизація

6.1.1 Розроблення методик ідентифікації і кількісного визначення основних біологічно активних сполук в кремі

Фармакологічна активність розробленого крему обумовлена наявністю суми БАС рослинного походження, тому ЛЗ стандартизували за наявністю поліфенолів, флавоноїдів і пігментів [40, 94, 121, 124, 135, 154].

Для ідентифікації речовин поліфенольної (хлорогенова і кофейна кислоти) та флавоноїдної (рутин і гіперозид) будови використовували метод ТШХ в системі розчинників мурашина кислота безводна – вода – етилацетат (5 : 10 : 85) з послідуєчим детектуванням розчином 10 г/л *дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру у метанолі*, потім розчином 50 г/л *макроголу 400 Р у метанолі Р*. Хроматограми переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

На хроматограмі розчину порівняння у нижній частині виявляється — жовтаво-коричнева флуоресціююча зона (рутин), у середній частині — блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота) та жовтаво-коричнева флуоресціююча зона (гіперозид), у верхній частині — блакитна флуоресціююча зона (кофейна кислота) (рис. 6.1).

Схема хроматограми, отримана під час ідентифікації поліфенольних сполук і флавоноїдів у експериментальному зразку крему, наведена на рис. 6.1. Як свідчить наведена схема, на хроматограмі випробовуваного розчину виявилася жовтаво-коричнева флуоресціююча зона на рівні зони рутину на хроматограмі розчину порівняння (R_f 0,29), безпосередньо вище неї блакитна флуоресціююча зона, що відповідає зоні хлорогенової кислоти на хроматограмі розчину порівняння (R_f 0,43), у верхній частині пластинки – блакитна флуоресціююча зона,

що відповідає кавовій кислоті на хроматограмі розчину порівняння (R_f 0,84). На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші зони.

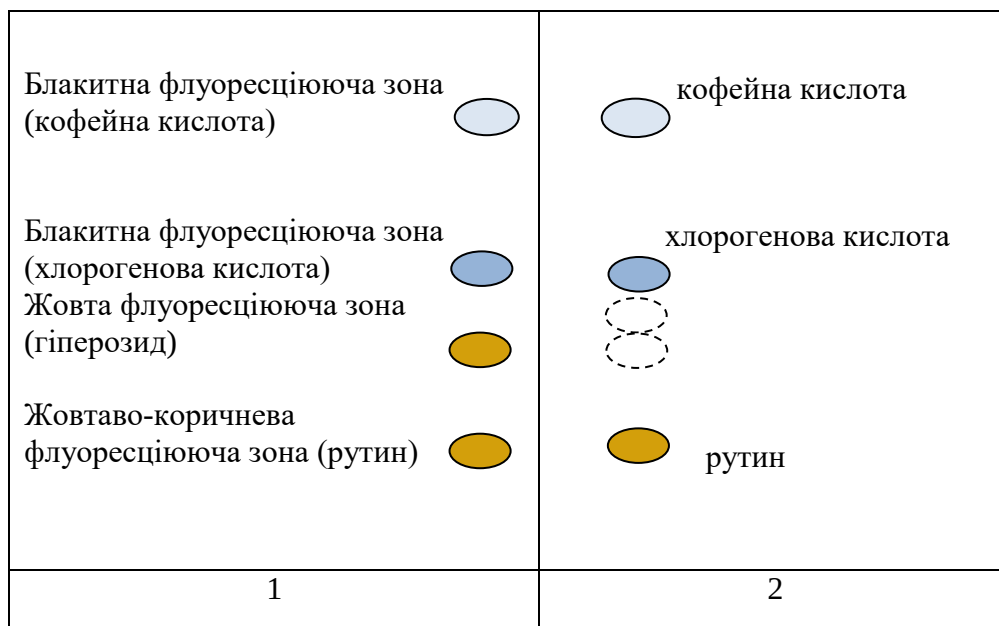


Рис. 6.1 Схема хроматограми, отримана при ідентифікації речовин флавоноїдної природи в кремі: 1 – розчин порівняння; 2 – розчин крему

Для ідентифікації біологічно активних сполук спиртового екстракту в кремі також використовували метод рідинної хроматографії. Дослідження проводили за методикою наведеною в розділі 2. Як видно з наведених хроматограм (рис. 6.2–6.3) часи утримування піків на хроматограмі випробовуваного метанольного розчину крему співпадають з часами утримування піків кофейної, хлорогенової і галлової кислот та рутину на хроматограмі розчину порівняння.

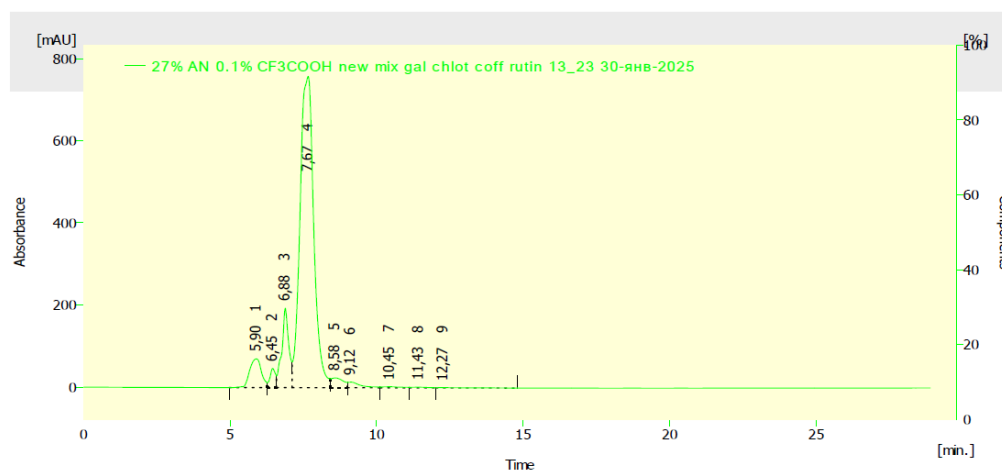


Рис. 6.2 Хроматограма розчину порівняння

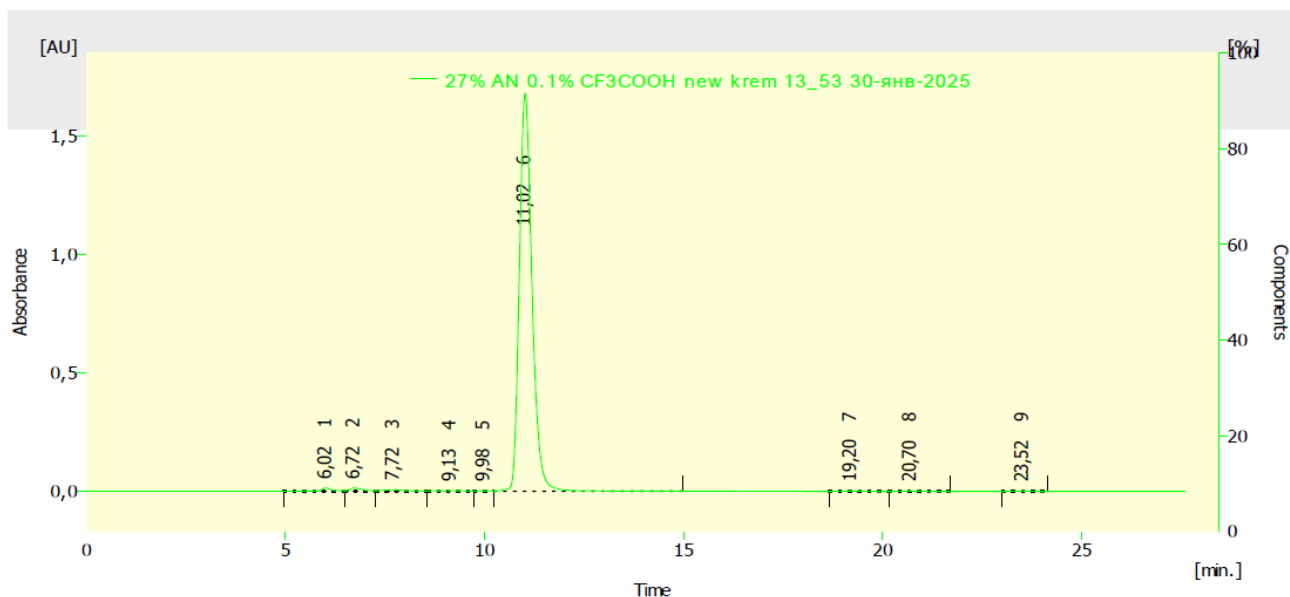


Рис. 6.3. Хроматограма випробовуваного розчину

Біологічно активні сполуки олійного екстракту у кремі ідентифікували методом тонкошарової хроматографії за методикою, наведеною в розділі 2 (ДФУ 2.0). Пігменти визначали у метанольному розчині крему на ТШХ-пластинках з шаром силікагелю Р та флуоресцентним індикатором (F_{254}) з використанням рухомої фази суміші петролейний ефір – діетиловий ефір (10 : 3,5). Детектування проводили 10% розчином фосфорномолібденової кислоти, нагрівали у сушильній шафі при температурі 60 °С не менше 10 хвилин і переглядали при денному світлі, на хроматографі проявлялися сині плями на зелено-жовтому фоні (каротиноїди та їх похідні, хлорофіли). Хроматографічний профіль розчину крему: сині плями $R_f = 0,27$; $R_f = 0,36$; $R_f = 0,67$; $R_f = 0,80$. Також на хроматограмі спостерігалися інші зони.

Отримані результати свідчать про наявність у досліджуваному кремі олійного екстракту леспедези.

Розроблення методик кількісного визначення основних біологічно активних речовин крему

Для визначення кількісного вмісту БАР в кремі використали метод рідинної хроматографії, що дозволив розділити рутин, кофейну, хлорогенову і галову кислоти і визначити переважання однієї складової, а саме рутину в суміші.

Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин, у міліграмах, має бути не менше 7,0 мг на 100,0 г крему. Для оцінки запропонованої методики визначення кількісного вмісту рутину (розділ 2) проведено дослідження на 6-ти серіях крему, отримані результати метрологічно атестовані (табл.6. 1).

Таблиця 6.1

Метрологічна характеристика методу визначення рутину у кремі

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, мг	ν	Середнє значення ($\bar{x}$ сер.)	Дисперсія, S^2	Стандартне відхилення середнього результату S_x	Відносна величина статистичної похибки окремого визначення Δx	Відносна невизначеність середнього результату, $\bar{\varepsilon}$, %
7,19	5	7,76	0,0910	0,1232	0,7755	4,08
7,53						
7,66						
8,02						
8,14						
7,87						

Відносна невизначеність середнього результату складає 4,08 % із довірчою вірогідністю 0,95.

Валідаційні характеристики методики кількісного визначення вивчали згідно вимог Державної Фармакопеї України [9].

Специфічність методики підтверджена шляхом порівняння хроматограми розчину порівняння та випробовуваного розчину.

Часи утримування кофейної, хлорогенової, галової кислот та рутину з випробовуваного розчину відповідають часам утримування кофейної, хлорогенової кислоти, галової кислот та рутину з розчину порівняння.

Лінійність методики визначали на 9 модельних розчинах, які готували в діапазоні концентрацій від 80% до 120% (крок-5%) від номінальної обраної концентрації рутину (табл. 6.2).

Таблиця 6. 2

Розрахунок параметрів лінійності визначення рутину

№	X _i , %	C (мкг/мл)	Y _i	Середнє значення площі піку	Z _i
Рутин					
1	79,20	8,0	79,93	12395	100,92
2	84,40	8,5	84,98	13178	100,69
3	90,40	9,0	90,12	13975	99,69
4	95,20	9,5	95,46	14803	100,27
5	99,60	10,0	99,92	15494	100,32
6	105,60	10,5	105,09	16297	99,52
7	110,80	11,0	110,44	17126	99,68
8	115,20	11,5	115,46	17904	100,22
9	120,00	12,0	119,96	18602	99,97
СЗ рутину					Середнє 100,14

Лінійну залежність вивчали в нормалізованих координатах, виходячи з наведених в табл. 6.4 даних.

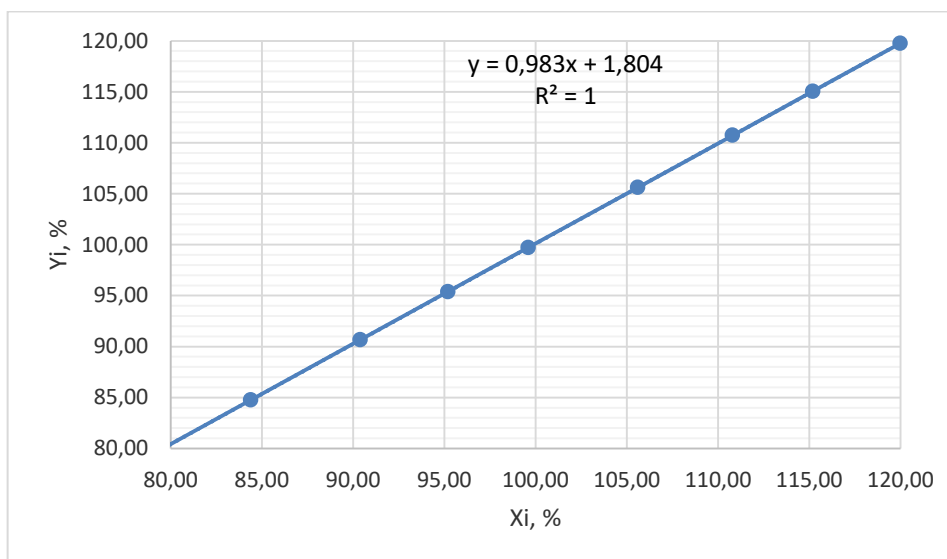


Рис. 6.4 Градувальний графік залежності аналітичного сигналу від фактичної концентрації рутину

З отриманих при вивченні лінійності даних визначали правильність і прецизійність методики (табл. 6.2 і табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Результати перевірки лінійності, правильності і прецизійності

Параметр	Значення	Вимоги	Виконання критерію
$ a $	1,8040	$\leq 2,60$	Виконується
SD_0	0,3565	$\leq 0,84$	Виконується
R_c	0,9997	$> 0,9981$	Виконується
$ \bar{Z} - 100 $	0,14 / 0,35	$\leq 0,51$	Виконуються за двома критеріями
δ	1,02	$\leq 1,6$	Виконується

Одержане значення коефіцієнту кореляції, визначення критеріїв статистичної і практичної незначущості та прецизійності (рис. 6.5, табл. 6.3) свідчать про те, що виконуються усі вимоги ДФУ щодо цих параметрів.

Кількісний вміст суми речовин поліфенольної будови визначали після реакції з фосфорно-молібденово-вольфрамовим реактивом в середовищі насиченого розчину натрію карбонату за методикою ДФУ, наведеною в розділі 2 [9]. Продукт реакції синього кольору характеризується наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 760 нм, що відповідає доволі пологому максимуму поглинання розчину пірогалолу в цих умовах (рис. 6.5).

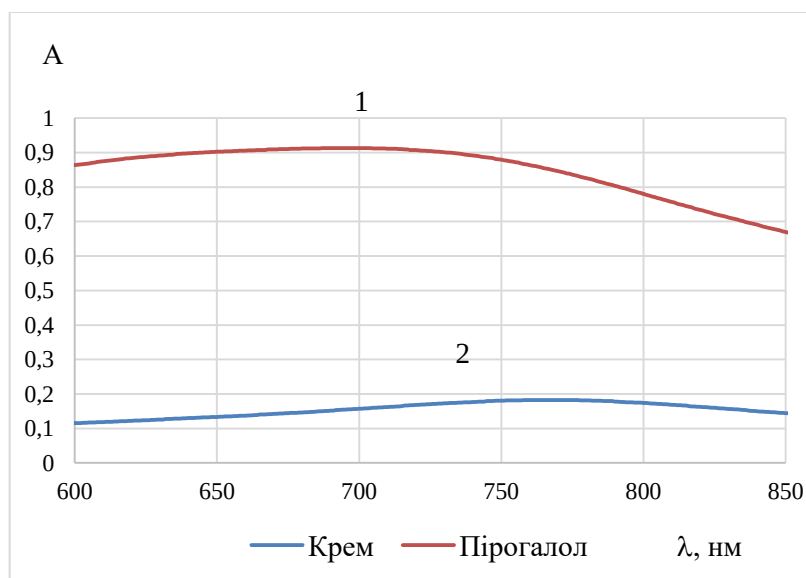


Рис. 6.5 Абсорбційні спектри розчинів після реакції з фосфорно-молібденово-вольфрамовим реактивом: 1 – пірогалолу; 2 – досліджуваної водної витяжки з крему

Вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол у 100,0 г крему має бути не менше 16,0 мг.

Для оцінки запропонованої методики визначення кількісного вмісту суми поліфенолів проведена низка досліджень та отримані результати метрологічно атестовані (табл. 6.4).

Таблиця 6.4

**Метрологічна характеристика спектрофотометричного у видимій ділянці
методу визначення суми поліфенолів у кремі**

Вміст суми поліфенолів, мг	ν	Середнє значення ($\bar{x}$ сер.)	Дисперсія, S^2	Стандартне відхилення середнього результату S_x	Відносна величина статистичної похибки окремого визначення Δx	Відносна невизначеність середнього результату, $\bar{\varepsilon}$, %
16,23	5	16,76	0,1209	0,1419	0,8937	2,18
16,81						
16,75						
17,07						
17,18						
16,54						

Відносна невизначеність середнього результату із довірчою вірогідністю 0,95 складає 2,18 %. Проведені дослідження свідчать про відсутність систематичної похибки запропонованої методики і доведена її відтворюваність.

Результати дослідження кількісного вмісту основних біологічно активних сполук екстрактів леспедези в складі крему та норми, які включено в специфікацію проєкту МКЯ на крем «Леспедин» наведено в табл. 6.5 [117].

Таблиця 6.5

**Вміст біологічно активних сполук екстрактів леспедези в складі крему,
мг/100 г**

Речовина	Час утримування, хв	Вміст, мг/100 г крему	Нормування, мг/100 г крему
Рутин	7,717	$7,76 \pm 0,123$	Не менше 7,0 мг
Пірогалол	-	$16,760 \pm 0,142$	Не менше 16,0 мг

6.1.2 Стандартизація крему «Леспедин»

Стандартизацію розробленого крему відповідно до вимог ДФУ проводили за показниками опис, ідентифікація, однорідність, значення рН, маса вмісту контейнеру, мікробіологічна чистота, кількісне визначення [3].

Опис. Крем зеленуватого кольору, однорідної консистенції, з характерним квітково-трав'яним запахом [3].

Ідентифікація. Наявність каротиноїдів у розробленому ЛЗ доводили методом ТШХ, суму флавоноїдів і поліфенолів методом ТШХ і методом рідинної хроматографії.

Однорідність. Крем має бути однорідним [9].

Значення рН. Величину значення рН крему визначають потенціометричним методом [9]. Згідно вимог ДФУ рН крему має бути в межах від 5,0 до 9,0.

Маса вмісту контейнеру. 97,0–103,0.

Мікробіологічна чистота. У препараті допускається загальне число аеробних мікроорганізмів не більше 10^2 КУО / г, загальне число дріжджових та плісневих грибів не більше 10 КУО / г. Не допускається наявність *S. aureus* та *Ps. aeruginosa* в 1,0 г препарату [9].

Показники якості розробленого крему під умовною «Леспедин» на та їх допустимі межі наведено в табл. 6.6.

Для вивчення стабільності експериментальні серії крему зберігали у пластикових контейнерах при температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Дослідження показників якості проводили впродовж 27 місяців.

Стабільність суми пігментних речовин і речовин поліфенольної та флавоноїдної природи у складі розробленого крему відразу після виготовлення та у процесі зберігання підтверджена експериментальними дослідженнями методом ТШХ (ідентифікація). Стабільність кількісного вмісту суми поліфенолів (у перерахунку на пірогалол) і флавоноїдів (у перерахунку на рутин) визначали методом рідинної хроматографії. Результати вивчення стабільності крему «Леспедин» відповідно до вимог показниками проєкту МКЯ наведено в табл. 6.7.

Таблиця 6.6

Специфікація на крем «Леспедин»

Показник	Допустимі норми
1	2
Опис	Однорідна кремоподібна маса зеленуватого кольору зі специфічним квітково-трав'яним запахом
Ідентифікація:	А. ТШХ
каротиноїди	На хроматограмі досліджуваного розчину мають проявитися плями синього кольору, що відповідають за значенням Rf плямам РСЗ каротиноїдів
флавоноїди	На хроматограмі досліджуваного розчину мають проявитися плями, що відповідають за значенням Rf та кольором плямам РСЗ кислоти хлорогенової, кислоти кофейної і рутину Можуть бути присутні й інші, менш помітні плями
поліфеноли	В. методом рідинної хроматографії На хроматограмі випробовуваного розчину, одержаній при кількісному визначенні компонентів крему, час утримування основних піків має співпадати з часом утримування основних піків на хроматограмі розчину порівняння кофейної кислоти, хлорогенової кислоти, галлової кислоти і рутину
Однорідність	Крем повинен бути однорідним
Значення рН	Від 5,0–9,0
Мікробіологічна чистота	ТАМС: не більше 10^2 КУО/г ТУМС: не більше 10^1 КУО/г Відсутність <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>
Маса вмісту контейнера, г	Від 97,0 до 103,0 при пакуванні по 100,0
Кількісне визначення Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин, мг/100 г	Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, не менше 7,0 мг/100 г
Сума поліфенолів у перерахунку на пірогалол, мг/100 г	Вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, не менше 16,0 мг/100 г

Таблиця 6.7

Результати вивчення стабільності крему Леспедин в процесі зберігання

Показник	Вимоги МКЯ	Термін зберігання, міс.							
		0	3	6	9	12	18	24	27
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Температура зберігання (25 ± 2) °C в полімерних контейнерах									
Опис	Однорідна кремоподібна маса зеленуватого кольору зі специфічним квітково-трав'яним запахом								
Ідентифікація	ТШХ каротиноїди	На хроматограмі виділяються зони синіх кольорів, що відповідають зонам каротиноїдів							
	ТШХ поліфеноли, флавоноїди	На хроматограмі виділяються зони жовтувато-коричневого, блакитного кольорів, що відповідають зонам рутину, хлорогенової кислоти, кофейної кислоти							
	Метод РХ поліфеноли, флавоноїди	На хроматограмі випробовуваного розчину, одержаній при кількісному визначенні компонентів крему, час утримування основних піків співпадає з часом утримування основних піків на хроматограмі розчину порівняння кофейної кислоти, хлорогенової кислоти, галлової кислоти і рутину							
Однорідність	Однорідний	Відповідає							
Значення рН	5,0–9,0	6,84± 0,11	6,82± 0,11	6,80± 0,10	6,80± 0,12	6,81± 0,10	6,76± 0,12	6,75± 0,10	6,76± 0,12
Мікробіологічна чистота	ТАМС: не більше 10^2 КУО/г	Відповідає							
	ТУМС: не більше 10^1 КУО/г	Відповідає							
	Відсутні <i>Ps. aeruginosa</i>	Відповідає							
	Відсутні <i>S. aureus</i>	Відповідає							
Маса вмісту контейнера, г	Від 97,0 до 103,0	Відповідає							
Кількісне визначення: сума флавоноїдів у перерахунку на рутин, мг/100 г	не менше 7,0 мг/100 г	7,76± 0,123	7,72 ± 0,114	7,73 ± 0,120	7,72 ± 0,118	7,71 ± 0,125	7,72 ± 0,115	7,70 ± 0,120	7,68 ± 0,114
сума поліфенолів у перерахунку на пірогалол, мг/100 г	не менше 16,0 мг/100 г	16,760 ± 0,142	16,720 ± 0,124	16,722 ± 0,134	16,716 ± 0,130	16,718 ± 0,128	16,716 ± 0,144	16,710 ± 0,128	16,710 ± 0,142

В зразках ідентифікується наявність каротиноїдів, хлорогенової кислоти, кофейної кислоти і рутину. Зміна кількісного вмісту пірогалолу, а також рутину не перевищують 10 % порівняно з початковими показниками [52, 63].

Отже, за результатами експериментальних досліджень встановлено термін придатності ЛЗ — 2 роки за температури не вище 25 °С в полімерних контейнерах.

6.2 Обговорення результатів дослідження протизапальної активності крему

Протизапальну активність тест-зразків крему вивчали на моделі опікової рани за методикою наведеною в розділі 2. Дослідження проведено на 30 щурах самцях масою 240–262 г, віком 4–4,5 місяці. Як препарати порівняння використовували лікарські засоби мазь Пантенол, «Хемофарм», АД, Сербія, серія 138CLA (за фармакологічною дією) та мазь Календули, ТОВ «Аптека Павлова», Україна, серія 23.0823 (за рослинним походженням). Щоб виключити можливість впливу основи крему на результати дослідження, її вивчали на окремій групі тварин. Тварин контрольної групи не лікували. Всіх тварин розподілили на 5 груп по 6 у кожній: група 1 – контрольна група тварин, які не отримували лікування (n=6); група 2 – контрольна група тварин, яких лікували основою крему (n=6); група 3 – група тварин, яких лікували кремом з екстрактами леспедези двоколірної (n=6); група 4 – група тварин, яких лікували препаратом Пантенол, мазь (n=6); група 5 – група тварин, яких лікували препаратом Календула, мазь (n=6).

Досліджуваний засіб та препарати порівняння (ПП) наносили на шкіру тварин щодня один раз на добу тонким шаром у достатній кількості без втирання. Лікування розпочинали одразу після термічної дії і продовжували до повного загоєння ран [21]. Результати дослідження протизапальної активності (табл. 6.8) показали, що наступного дня, після відтворення опікової травми II ступеня, розмір ранового дефекту збільшився на 3–7 % від заявленої площі 490,0

мм². У всіх тварин дослідних груп утворився щільний струп сіро-бурого кольору з чітко обмеженою зоною некрозу і з вираженими запальними змінами навколишніх тканин [46, 60].

Таблиця 6.8

Динаміка планіметричних показників у щурів з опіковими ранами при лікуванні крему з екстрактами леспедези двоколірної, n=6, (M±m)

Доба експерименту	Показники	Контроль	Основа крему	Крем з екстрактами леспедези двоколірної	Препарати порівняння	
					Пантенол, мазь	Календула, мазь
1	2	3	4	5	6	7
Вихідні дані	S _{вихід} , мм ²	490,00±0,00	490,00±0,00	490,00±0,00	490,00±0,00	490,00±0,00
2 доба	S _{вихід} , мм ²	497,83±26,45	495,83±13,58	490,33±14,28	496,83±22,56	518,00±19,86
	V, ум.од.	-0,02	-0,01	0,00	-0,01	-0,06
6 доба	S, мм ²	442,83±32,50	391,67±17,97	373,33±20,24 ^{T1}	431,00±24,48	394,67±39,73
	V, ум.од.	0,10	0,20	0,24	0,12	0,19
9 доба	S, мм ²	397,33±33,43	306,50±10,24* ¹	286,67±26,26* ^{1, T4}	356,83±25,42	320,17±28,76
	V, ум.од.	0,19	0,37	0,41	0,27	0,35
13 доба	S, мм ²	307,17±37,28	196,00±20,12	162,83±28,88* ^{1, T3}	217,83±24,49	247,00±14,72
	V, ум.од.	0,37	0,60	0,67	0,56	0,50
16 доба	S, мм ²	200,33±33,68	136,67±20,57	76,67±23,44* ^{1, 2}	115,00±20,59* ¹	132,17±20,75
	V, ум.од.	0,59	0,72	0,84	0,77	0,73
20 доба	S, мм ²	142,00±34,81	101,67±13,11	39,80±14,04* ^{1, T2}	70,00±19,15 ^{T1}	91,67±19,18
	V, ум.од.	0,71	0,79	0,92	0,86	0,81
	% тварин з рубцями	—	—	16,7 % (1 тварина)	—	—
21 доба	S, мм ²	129,17±33,82	83,17±17,10	37,25±14,53* ¹	55,00±13,08 ^{T1}	65,33±17,87 ^{T1}
	V, ум.од.	0,74	0,83	0,92	0,89	0,87
	% тварин з рубцями	-	—	33,3 % (2 тварини)	83,3 % (2 тварини)	—
22 доба	S, мм ²	116,33±32,03	73,17±17,76	27,00±11,28* ¹	40,25±12,40* ¹	64,00±14,15
	V, ум.од.	0,76	0,85	0,94	0,89	0,87
	% тварин з рубцями	-	-	33,3% (2 тварини)	33,3 % (2 тварини)	33,3% (2 тварини)
23 доба	S, мм ²	104,33±32,69	72,20±14,59	21,67±11,26* ^{1, T2}	28,25±12,12 ^{T1}	44,75±10,56
	V, ум.од.	0,79	0,85	0,96	0,94	0,91
	% тварин з рубцями	—	16,7 % (1 тварина)	50 % (3 тварини)	33,3 % (2 тварини)	33,3% (2 тварини)

Продовження табл. 6.8

1	2	3	4	5	6	7
24 доба	S, мм ²	92,83±33,32	65,80±14,07	20,00 * ^{1, 2}	23,67±4,10 т ¹	25,00±6,10
	V, ум.од.	0,81	0,87	0,96	0,95	0,95
	% тварин з рубцями	–	16,7 % (1 тварина)	83,3 % (5 тварин)	50 % (3 тварин)	33,3% (2 тварини)
25 доба	S, мм ²	81,50±32,67	53,80±14,20	11,00 * ^{1, 2, 3, 4}	20,33±3,76	16,50±1,50
	V, ум.од.	0,83	0,89	0,98	0,96	0,97
	% тварин з рубцями	–	16,67 % (1 тварина)	83,3 % (5 тварин)	50 % (3 тварин)	66,7 % (4 тварин)
26 доба	S, мм ²	71,17±32,37	45,80±14,37	0,00 * ^{1, 2}	17,00±3,61	0,00* ¹
	V, ум.од.	0,85	0,91	1,00	0,97	1,00
	% тварин з рубцями	–	16,67 % (1 тварина)	100 % (6 тварин)	50 % (3 тварин)	100 % (6 тварин)
27 доба	S, мм ²	71,00±35,91	44,00±13,08	0,00 * ^{1 2}	8,50±3,50	0,00 * ¹
	V, ум.од.	0,86	0,91	1,00	0,98	1,00
	% тварин з рубцями	16,7 % (1 тварина)	33,3 % (2 тварини)	100 % (6 тварин)	67,7 % (4 тварини)	100 % (6 тварин)
28 доба	S, мм ²	78,50±40,42	37,75±13,31	0,00 * ^{1,2}	0,00 * ¹	0,00 * ¹
	V, ум.од.	0,84	0,92	1,00	1,00	1,00
	% тварин з рубцями	33,3 % (2 тварини)	33 % (2 тварина)	100 % (6 тварин)	100 % (6 тварин)	100 % (6 тварин)
29 доба	S, мм ²	65,00±38,52	33,00±11,79	0,00 * ^{1, 2}	0,00* ¹	0,00* ¹
	V, ум.од.	0,87	0,93	1,00	1,00	1,00
	% тварин з рубцями	33,3 % (2 тварини)	33 % (2 тварина)	100 % (6 тварин)	100 % (6 тварин)	100 % (6 тварин)
30 доба	S, мм ²	59,00±44,40	30,00±10,26	0,00* ^{1, 2}	0,00* ¹	0,00* ¹
	V, ум.од.	0,88	0,94	1,00	1,00	1,00
	% тварин з рубцями	33,3 % (2 тварини)	50 % (3 тварин)	100 % (6 тварин)	100 % (6 тварин)	100 % (6 тварин)

Примітки: *¹ – значення достовірні відносно групи контролю (критерій Манна-Уїтні);

*² – значення достовірні відносно групи основа (критерій Манна-Уїтні);

*³ – значення достовірні відносно групи календула (критерій Манна-Уїтні);

*⁴ – значення достовірні відносно групи пантенол (критерій Манна-Уїтні);

*⁵ – значення достовірні відносно групи з дерматологічним кремом (критерій Манна-Уїтні); S (мм²) – площа ран; V – коефіцієнт швидкості загоєння ран, (ум. од.); n – кількість тварин у кожній групі.

На тлі застосування досліджуваних зразків спостерігалось зменшення площі опіку у різні проміжки часу в різних групах. Слід зазначити, що в кожній з цих груп коефіцієнт швидкості загоєння чисельно перевищував показник у контрольній групі. Також, відмічалось зменшення гіперемії та набряку проти контрольної групи.

Всі дослідні тварини були активними, мали задовільний апетит. Приріст у всіх тварин був позитивний (табл. 6.9).

Таблиця 6.9

Вплив дослідних зразків на динаміку маси тіла (г) щурів самців, $M \pm m$

Термін дослідження	Контроль	Основа крему	Крем з екстрактами леспедези двоколірної	Препарати порівняння	
				Пантенол, мазь	Календула, мазь
Вих. дані	253,17 $\pm$ 3,47	253,67 $\pm$ 3,09	252,00 $\pm$ 2,85	253,17 $\pm$ 2,68	251,00 $\pm$ 2,77
1 тиждень	246,33 $\pm$ 3,81	247,50 $\pm$ 6,03	244,83 $\pm$ 3,30	247,00 $\pm$ 2,50	243,00 $\pm$ 2,94
2 тиждень	254,00 $\pm$ 3,55	252,83 $\pm$ 5,76	250,17 $\pm$ 3,34	253,83 $\pm$ 3,19	251,00 $\pm$ 3,26
3 тиждень	258,17 $\pm$ 4,16	258,50 $\pm$ 6,54	259,00 $\pm$ 3,07	261,00 $\pm$ 3,31	259,00 $\pm$ 3,34
4 тиждень	263,33 $\pm$ 3,76	262,17 $\pm$ 6,70	266,17 $\pm$ 2,88*	267,67 $\pm$ 2,75*	264,67 $\pm$ 4,03*

Примітка: n – кількість тварин у кожній групі

Застосування розробленого крему та його основи також позитивно впливали на планіметричні показники. Перші ознаки повної епітелізації у групі з кремом визначалися вже на 20 добу досліду, порівняно з контролем, де повне рубцювання опікової рани було помічено лише у 1 тварини, а у групі, що отримувала основу крему – на 23 добу. У період з 20-ї по 25-у добу помічалося помітне прискорення репараційного процесу, що виражалося у вірогідному зменшенні площі опікових ран у порівнянні з відповідними значеннями контрольної групи. На 26 добу досягнуто повного загоєння 100 % тварин, що вірогідно перевищувало аналогічний показник в контрольній групі (2 тварини з 6) та в групі, що отримувала основу крему (3 тварини з 6). Період епітелізації у групі з препаратом порівняння мазь пантенол припадає на 21 добу (2 тварини), завершальний етап репараційного процесу на 28 добу досліду, що поступається досліджуваному крему. Період епітелізації у групі, що отримувала мазь Календули почався з 22-ї доби (2 тварини з 6) і завершився на 26-у добу, поступаючись досліджуваному крему.

Отже, дослідження протизапальної активності розробленого крему з ком-

плексом БАС екстрактів леспедези двоколірної та ЕО іланг-ілангу на моделі опікової рани показали зменшення ознак запалення та повне загоєння ран на 26 добу дослідження. Візуальних ознак приєднання інфекційного процесу у жодної тварини не спостерігалось. Показано, що застосування крему з комплексом БАР леспедези двоколірної при лікуванні ран сприяє більш швидкому перебігу загоєння, що може свідчити про потенціювання дії олійного і спиртового екстрактів в складі розробленого засобу. Встановлено, що розроблений крем за протизапальною активністю перевищує активність препаратів порівняння мазь Пантенол та мазь Календули.

Висновки до розділу 6

1. Методом ТШХ та рідинної хроматографії досліджено якісний склад біологічно-активних сполук в кремі, доведено наявність хлорогенової, кофейної і галлової кислот, рутину і каротиноїдів. Розроблено та провалідовано методики кількісного визначення БАС в розробленому ЛЗ з використанням методу рідинної хроматографії та спектрофотометрії.

2. Досліджено основні органолептичні, фізико-хімічні і фармакотехнологічні показники якості розробленого крему відповідно до вимог нормативної документації: опис, рН, однорідність, ідентифікація (пігменти, сума речовин поліфенольної і флавоноїдної природи), мікробіологічна чистота, кількісне визначення (сума поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, не менше 16,0 мг/100 г і вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, не менше 7,0 мг/100 г), маса вмісту контейнера.

3. Досліджено стабільність крему «Леспедин» у процесі зберігання, експериментально підтверджено термін зберігання – 24 місяці у пластикових контейнерах за температури не вище 25 °С. Складено специфікацію до проекту МКЯ на крем «Леспедин».

4. Результати дослідження протизапальної активності на моделі опікової рани продемонстрували зменшення ознак запалення при застосуванні крему

«Леспедин», більш швидкий перебіг загоєння та відсутність ознак приєднання інфекційного процесу у дослідних тварин. Встановлено, що розроблений крем за протизапальною активністю перевищує препарати порівняння мазь Пантенол та мазь Календули. Період епітелізації у групі тварин, яким наносили ППі припадає на 21 добу (мазь Пантенол) і з 22-у добу (мазь Календул), а процес завершення епітелізації відбувається на 28 і 26-у добу відповідно, поступаючись досліджуваному крему.

Результати експериментальних досліджень розділу наведено в таких публікаціях:

1. Development of the composition of a dermatological product in the form of a cream with extracts of the aerial part of lespedeza bicolor / K. Kiselyova, T. Yudkevych, L. Bodnar, M. Skybitska, L. Vyshnevskaya, T. Yudkevych, L. Ivanauskas, O. Mykhailenko, O. Kukhtenko, V. Georgiyants. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2025. № 1 (53). 3. 26–40. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.322855> (Scopus).
2. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Дослідження антибактеріальної дії витяжок з леспедеці двоколірної та крему на їх основі. *Annals of Mechnikov Institute*. 2024. № 2. С. 69–73 <https://doi.org/10.5281/zenodo.11638092>
3. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Вивчення антибактеріальної активності емульсійного крему з екстрактами леспедези двоколірної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VI Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 12 квіт. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 106–107.

ВИСНОВКИ

На підставі теоретичних та експериментальних досліджень отримано екстракти леспедези двоколірної і проведено фармацевтичну розробку на їх основі оригінального лікарського препарату у формі емульсійного крему для терапії інфекційно-запальних дерматологічних захворювань.

1. Проаналізовано та узагальнено дані наукових інформаційних джерел щодо сучасного стану фармакотерапії низки інфекційних захворювань шкіри. Установлено, що часте застосування антибактеріальних препаратів загострює проблему антибіотикорезистентності і демонструє перспективи використання в дерматології фітопрепаратів антибактеріальної, протизапальної, репаративної та антиоксидантної дії. Показано, що рослини роду *Lespedeza* володіють необхідним спектром фармакологічної активності, і є перспективним джерелом для створення інноваційних дерматологічних лікарських засобів.

2. Методом ВЕТШХ-досліджень в надземній частині леспедези двоколірної встановлена наявність хлорогенової і кофейної кислот, рутину й ізокверцитрину. Експериментально визначено умови отримання рідкого екстракту леспедези: екстрагент 40 % етиловий спирт, метод перколяції, із загальним значенням DER 1 : 4 з подальшим упарюванням до співвідношення сировина: готовий продукт 1:2. Експериментальними дослідженнями показана можливість використання шроту після отримання рідкого екстракту, як сировини для отримання олійного екстракту леспедези. Встановлено режим екстрагування шроту – настоювання 4 години за температури екстракції 45 °С. Опрацьовано технологічні параметри та розроблено технологічну схему отримання проміжних продуктів – ЛЕРС і ЛЕО.

3. Проведено дослідження фізико-хімічних властивостей ЛЕРС; розроблено методики ідентифікації та визначення кількісного вмісту БАС, складено специфікацію, яка включає: опис, ідентифікація (речовини поліфенольної та флавоноїдної природи (кофейна, хлорогенова кислоти, рутин, гіперозид), полісахариди (глюкоза), дубильні речовини (пірогалол)), важкі метали, екстрактивні речовини (не менше 8 %), вміст етанолу, метанолу і 2–пропанолу, відносна

густина, кількісне визначення (флавоноїди у перерахунку на рутин, не менше 1,2 мг/1 г, речовини поліфенольної будови у перерахунку на пірогалол, не менше 3,0 мг /1 г екстракту).

4. Проведено дослідження фізико-хімічних властивостей ЛЕО; розроблено методики ідентифікації та кількісного вмісту БАС, складено специфікацію, яка включає: опис, ідентифікація (пігментів: каротиноїдів та хлорофілів), кислотне число, перекисне число, відносна густина, кількісне визначення (пігменти: каротиноїди у перерахунку на β -каротин, не менше 0,06 мг/1 г і хлорофіли у перерахунку на *a* хлорофіл, не менше 0,13 мг/1 г екстракту). Встановлено, що спиртовий і олійний екстракти НЧЛД проявляють виражену антимікробну дію відносно тест-штамів мікроорганізмів *Staphylococcus*. та протизапальну активність на моделі опікової рани.

5. За результатами дослідження органолептичних, фізико-хімічних, структурно-механічних властивостей та мікроскопічних досліджень обґрунтовано склад емульсійної основи крему. Теоретично та експериментально обґрунтовано використання 10 % ЛЕРС і 5 % ЛЕО та 0,1 % іланг-ілангу олії етерної, які завдяки комплексу БАС забезпечать широкий спектр фармакологічної активності. Мікробіологічними дослідженнями обґрунтовано використання консерванту натрію бензоату в концентрації 0,3 %. Розроблено технологію та принципову технологічну схему виробництва крему «Леспедин» та визначено критичні параметри процесу.

6. Методом ТШХ та рідинної хроматографії досліджено якісний склад БАС в кремі, доведено наявність хлорогенової, кофейної та галової кислот, рутину і каротиноїдів. Розроблено та провалідовано методики кількісного визначення БАС в розробленому ЛЗ з використанням методу рідинної хроматографії та спектрофотометрії. Досліджено показники якості розробленого крему, складено специфікацію до МКЯ, яка включає: опис, рН, однорідність, ідентифікація (пігменти, сума речовин поліфенольної і флавоноїдної природи), мікробіологічна чистота, кількісне визначення (сума поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, не менше 16,00 мг/100 г і вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин,

не менше 7,0 мг/100 г), маса вмісту контейнера. Досліджено стабільність крему «Леспедин» у процесі зберігання, встановлено термін зберігання – 24 місяці у пластикових контейнерах при температурі не вище 25 °С

7. Експериментально встановлена наявність вираженої антимікробної дії крему відносно тест-штаму *S.aureus* ATCC 25923. Експериментальними дослідженнями протизапальної активності на моделі опікової рани показано зменшення ознак запалення при застосуванні крему «Леспедин», більш швидкий перебіг загоєння та відсутність ознак приєднання інфекційного процесу. Встановлено, що розроблений крем за протизапальною активністю перевищує препарати порівняння мазь «Пантенол» та «Мазь календули».

8. Результати роботи упроваджено у виробничу діяльність низки виробничих аптек України і в освітньо-науковий процес низки кафедр фармацевтичного профілю медичних закладів вищої освіти України.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аптечна технологія ліків : підруч. для студентів вищ. навч. закл. О. І. Тихонов, Т. Г. Ярних. 5-е вид. Вінниця : Нова кн., 2016. 536 с., іл
2. Біофармація : підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. медич. навч. закл. IV рівня акредитації / О. І. Тихонов та ін.; за ред. О.І. Тихонова ; НФаУ. Харків : Золоті сторінки, 2010. 240 с.
3. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. реком. / Ю. Л. Волянський та ін. Київ. 2004. 38 с.
4. Використання етерних олій в екстемпоральних прописах / Н. П. Половко та ін. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр., м. Харків : Вид-во НФаУ, 2017. С. 168–171.
5. Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптеки. Документація : настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.5 / Міністерство охорони здоров'я України. Офіц. вид. Київ : Моріон, 2015. К. 2015. 109 с.
6. Вишневська Л. І., Кисельова К. Є. Обґрунтування вибору етерних олій до складу гелю для лікування вугрової хвороби. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : зб. наук. пр. Х. : НФаУ, 2019. Вип. 3. С. 49.
7. Вишневська Л. І., Кисельова К. Є., Ковальова Т. М. Спосіб одержання засобу для лікування інфекційно-запальних уражень шкіри у формі емульсійного крему. Пат. 157621 на корисну модель № 92219 Україна, МПК (2024.01) A61K 47/44; заявл. 18.04.204; опубл. 06.11.2024, Бюл. № 45. 4 с.
8. Вишневська Л. І., Постой В. В. Розробка складу та технології комбінованого гелю з рослинними екстрактами. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2019. № 1 (57). С. 4–10.
9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 2 і 4. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2018 і 2020. 336 с., 600 с.
10. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопей-

ний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Т. 1 і 2. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014 і 2015. 1126 с., 723 с.

11. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс] / МОЗ України. К. 2020. Режим доступу : <http://www.drlz.kiev.ua>.

12. Державний формуляр лікарських засобів / ред. кол.: В. Є. Бліхар та ін. Київ, 2012. Вип. 4. 1159 с.

13. Дерматологія і венерологія: підручник / В.І. Степаненко та ін. — 2-е вид. К.: Вид-во: Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина», 2020. 336 с.

14. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За редакцією О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. 528 с.

15. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / авт.-уклад.: І. М. Перцев та ін.; за ред. І. М. Перцева. Харків : Золоті сторінки, 2010. 598 с.

16. Допоміжні речовини у виробництві ліків : навч. посіб. для студентів вищ. фармац. навч. закл. / О. А. Рубан та ін. ; за ред.: І. М. Перцева. Харків : Золоті сторінки, 2016. 720 с.

17. Дослідження властивостей основи крему при введення активних фармацевтичних інгредієнтів/ К. Кисельова та ін. *Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень* : зб. матер. І наук.-практ. конф., (м. Вінниця, 03–04 грудня 2024 р.), Вінниця : Твори, 2024. С. 18–20.

18. Дослідження з розробки складу екстемпорального лікарського засобу з декспантенолом / Є. Зуйкіна та ін. *Annals of Mechnikov Institute*. 2024. № 1. С. 39-45 DOI: 10.5281/zenodo.10838552.

19. Дослідження фізико-хімічних властивостей зразків крему ректального з екстрактом моркви посівної та рутином / А. С. Мохаммадта ін. *Вісник фармації*. 2024. Т.107, № 1. С. 28–33. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.136>

20. ДСТУ 4765:2007 Креми косметичні. Загальні технічні умови. Офіц. вид. ;

чинний від 01.01.2009. Київ : Держспоживстандарт України, 2008. 12 с.

21. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран. Методичні рекомендації / Л. В. Яковлєва. Харків: Вид-во НФаУ, 2013. 52 с.

22. Експериментальне дослідження ранозагоювальної дії гелю з наночастками срібла та глюкозаміном/ Л. О. Булига та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2015. № 2 (43). С. 49–54.

23. Екстемпоральні прописи для терапії дерматологічних захворювань : навч. посіб. для студентів медичних та фармацевтичних вузів/ Половко Н.П. та ін. Х.: Вид-во НФаУ, 2017. 97 с.: іл.

24. Загальний огляд захворювань, при лікуванні яких широко застосовують препарати з ефірними оліями / Є. І. Бисага *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. 2018. Вип. 4. С. 34–39.

25. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 1. С. 54–61. DOI:<https://doi.org/10.5281/zenodo.7721539>

26. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Біосурфактанти – перспективні субстанції для використання в дерматологічних м'яких лікарських засобів. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : матер. III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 24 берез. 2023 р. Х : НФаУ, 2023. С. 199–200.

27. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Дослідження протизапальної активності екстрактів леспедези двоколірної. *Індустрія 4.0 : сучасні напрями розвитку фармацевтичної галузі*: зб. наук. пр. I наук.-практ. конф. з нагоди 95-річчя І.М. Перцева (м. Харків, 16 травня 2024 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2024. С. 51–53.

28. Кисельова К. Є. Вишневська Л. І. Дослідження щодо доцільності використання ефірної олії в розробці лікарських препаратів комплексної дії. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів* : матер. IV Міжнар. наук.-практ. дистанц. конф., м. Харків, 20 берез. 2020 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2020. С. 87.

29. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Обґрунтування складу емульсійної ос-

нови для дерматологічного крему. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології*: зб. наук. пр. III Міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2023. С. 305–306.

30. Кисельова К., Вишневська Л. Обґрунтування умов отримання емульсійного крему з екстрактами леспедеці. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матер. X наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т.А. Грошового, (м. Тернопіль, 17 – 18 жовтня 2024 р.). Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 203.

31. Кисельова К. Є. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. *Youth Pharmacy Science*: матер. IV Всеукр наук.-практ. конф. з міжнар. участю, (м. Харків, 6–7 грудня 2023 р.), Х.: НФаУ, 2023. с.119.

32. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Вивчення антибактеріальної активності емульсійного крему з екстрактами леспедези двоколірної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матер. VI Міжнар. наук.-практ. Internet-конф. (м. Харків, 12 квітня 2024 р.). Електрон. дані. Х.: НФаУ, 2024. С. 106–107.

33. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Дослідження антибактеріальної дії вилучень з леспедеці двоколірної та крему на їх основі. *Annals of Mechnikov Institute*. 2024. № 2. С. 69–73 DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.11638092>

34. Кисельова К. Є., Сілаєва Л. Ф., Вишневська Л. І. Антимікробні властивості етерних олій. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Х. : Вид-во НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 139–143.

35. Кисельова К. Є., Шмалько О. О., Вишневська Л. І. Етерна олія як активний фармацевтичний інгредієнт у фармацевтичній розробці. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матер. XII наук.-практ. Internet-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Х : Вид-во НФаУ, 2020. С. 247.

36. Кисельова К. Є., Яромій М. В. Використання леспедези в народній і традиційній медицині. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція* : матер. VI наук.-практ. Internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16 листопада 2023 р. Х. : НФаУ, 2023. С.232

37. Класифікатор хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я. НК 025:2021. 2021. Київ. Міністерство охорони здоров'я України. 1670 с. Режим доступу: <https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/11/naczionalnyj-klasyfikator-nk-025.pdf>

38. Компендіум 2021 — лікарські препарати / За ред. В. М. Коваленка К.: МОРІОН. 2021. Режим доступу: <https://compendium.com.ua/>

39. Коротков В. А., Кухтенко О. С., Гладух Є. В. Вибір оптимальної технології отримання олійного екстракту плодів маклюри. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 6. С. 36–40.

40. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є. Рослини роду *Lespedeza* як перспективні джерела сучасних лікарських засобів. *Фітотерапія*. 2015. № 2, С. 31–35.

41. Лікарські засоби. Випробування стабільності : настанова 42–3.3:2004 / Міністерство охорони здоров'я України. Офіц. вид. Київ : Моріон, 2004. 40 с.

42. Лікарські засоби. Допоміжні речовини : настанова 42–3.6:2004 / Міністерство охорони здоров'я України. Офіц. вид. Київ : Моріон, 2004. 41 с.

43. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика. Київ: Міністерство охорони здоров'я України, 2009. 27 с.

44. Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація : настанова 42–01–2003 / Міністерство охорони здоров'я України. Офіц. вид. Київ: Моріон, 2003. 42 с.

45. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8): настанова СТ–Н МОЗУ 42–3.0:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 33 с.

46. Маєвський О. Є., Міронов Є. В. Зміни в шкірі після термічного опіку (огляд літератури). *Biomedical and biosocial anthropology*. 2015. № 25. С. 218–220.

47. Маркетплейс аптечної мережі «Аптека 911. ua». Режим доступу:

<https://apteka911.ua/>

48. Мацюк О. Д., Вишнеvsька Л. І., Бугай А. В. Загальний огляд екстрактів лікарських та аналіз їх асортименту на фармацевтичному ринку України. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2021. Т. 7, № 3. С. 31–40. <http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/27064>

49. Мікробіологічні дослідження етерних олій ряду лікарських рослин щодо рівня їх мікробіологічної активності / Л.Ф. Сілаєва та ін. *Сучасні дослідження фармацевтичної технології та біотехнології: збірник наукових праць*. Випуск 6. Харків: Вид-во НФаУ, 2019. С. 416–419.

50. Науково практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін та ін., К: Авіцена, 2002. 156 с.

51. Нестерук Т. М., Половко Н. П., Бевз Н. Ю. Дослідження щодо обґрунтування умов отримання олійного екстракту фітокомпозиції. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4 (65). С.52–57.

52. Обґрунтування технології крему з екстрактами леспедези/ К. Кисельова та ін. *Вісник фармації*. 2025. № 1 (109). С.48–54.

53. Обґрунтування умов отримання вилучень надземної частини леспедези двоколірної / Кисельова К. Є. та ін. *Вісник фармації*. 2024. № 1 (105). С. 58–65. DOI: <https://doi.org/10.24959/nphj.24.126>

54. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедези двоколірної/ К. Кисельова та ін. *Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets*. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С.336–342.

55. Половко Н. П., Краслянська А. Л., Кисельова К. Є. Препарати, що використовуються в терапії себореюного дерматиту. *Підготовка спеціалістів фармації в рамках концепції «Навчання протягом життя (Life Long Learning)»:* наука, освіта, практика : матер. II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м Харків 21–22 жовтня 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 134–137.

56. Половко Н. П., Нестерук Т. М. Розробка технології та визначення критичних параметрів виробництва олійного екстракту із суміші лікарської рослинної

сировини. *Теоретичні та практичні аспекти вивчення лікарських рослин*: матеріали V Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків : Вид-во НФаУ. 2022. С. 96–97

57. Розробка технології густого екстракту для лікування хейліту /О. Д. Мацюк та ін. *Вісник фармації*. 2024. № 2 (108). С. 43–49
<https://doi.org/10.24959/nphj.24.153>

58. Сизон О.О., Дашко М.О., Чаплик-Чижо І.О. Досвід застосування фототерапії (IPL) у профілактиці та лікуванні деяких дерматоестетичних проблем. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2023. № 3. С. 9–13.

59. Сучасна фітотерапія : навч. посібник / Гарна С. В. та ін. Харків, вид-во «Друкарня Мадрид». 2016. 576 с.

60. Ткачова О. В. Фармакологічне вивчення нових лікарських препаратів, створених на основі природних субстанцій і призначених для місцевого лікування ранового процесу: автореф. дис. ... д-ра фармац. наук : 14 03.05 . Х., 2014. 45 с.

61. Ткачук О. Ю. Вишневська Л. І., Зубченко Т. Н. Дослідження впливу критичних параметрів на процес виробництва олійного фітоекстракту гепатопротекторної дії. *Вісник фармації*. 2016. № 1 (85). С. 45–49.

62. Ткачук О. Ю., Вишневська Л. І., Зубченко Т. М. Дослідження з розробки технології олійних екстрактів з рослинної сировини. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2015. № 24 (4). С. 311–315.

63. Ткачук О. Ю., Вишневська Л. І., Зубченко Т. Н. Вивчення умов екстрагування насіння моркви дикої органічними розчинниками. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології*: матер. IV наук.-практ. конференції з міжнар.участ. Х.: Вид-во. НФаУ. 2014. С. 287

64. Фармацевтична енциклопедія [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua>

65. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків: навч. посіб. / І. М. Перцев [та ін.] ; за ред. І. М. Перцева. Вид. 2-ге, перероб. та доп. Вінниця : Нова

Книга, 2007. 641 с.

66. Федоровська М. І., Половко Н. П., Ковпак Л. А. Технологічні дослідження та стандартизація соку кропиви дводомної в процесі розробки фітопрепарату для лікування облісіння. *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація* 2015. № 3–4. С. 114–119.

67. Федоровська М. І., Сініченко А. В., Половко Н. П. Порівняльний аналіз виготовлення водних витяжок із лікарської рослинної сировини відповідно до вимог нормативно-правових актів України і Європейського Союзу. *Вісник фармації*. 2024. №1(105). С.13–21. DOI: <https://doi.org/10.24959/nphj.24.135>

68. Федоровська М. І., Чмух С. С., Глущенко О. А. Розробка складу емульсійної основи мазі, призначеної для нашкірного *Вісник фармації*. 2025. № 1 (109). С.102-108.

69. Федоровська М., Даниляк М, Волошенюк Т. Розробка складу емульсійної основи косметичного крему живильної дії. *Проблеми хімії та сталого розвитку*. 2022. № 4. С. 36–46. <https://doi.org/10.32782/pcsd-2023-1-5>

70. Федоровська М., Ярема І., Кошуба А. Розробка складу і технології лікарської косметичної маски з рослинними компонентами. *Проблеми хімії та сталого розвитку*. 2023. № 1. С.36–46.

71. Халавка М. В. Розробка складу мазі з екстрактом солодки для лікування ранового процесу та інфекційно-алергічних захворювань шкіри : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук : 15.00.01. Х., 2016. - 24 с. Бібліогр. 24 с.

72. Шалата В. Я., Сур С. В. Вивчення технологічних властивостей багатокомпонентної лікарської рослинної сировини. *Запорозький медичний журнал*. 2012. № 2(71). С. 111–115

73. A Study of Antibacterial Effect of Some Selected Essential Oils and Medicinal Herbs Against Acne Causing Bacteria / F. S. Daud et al. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 2013. Vol. 2. P. 27–34.

74. Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells / Y. Zu et al. *Molecules*. 2010. Vol. 15, № 5. P. 3200–3210. DOI: [10.3390/molecules15053200](https://doi.org/10.3390/molecules15053200)

75. Activity of various essential oils against clinical dermatophytes of *Microsporum* and *Trichophyton* / N. Parrish et al. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020. Vol. 10. Article 545913. DOI: 10.3389/fcimb.2020.545913

76. Ahuja A, Gupta J, Gupta R. Miracles of Herbal Phytomedicines in Treatment of Skin Disorders: Natural Healthcare Perspective. *Infect Disord Drug Targets*. 2021. Vol.21, № 3. P. 328–338. doi: 10.2174/1871526520666200622142710. PMID: 32568024.

77. Akram A. W., Saba E., Rhee M. H. Antiplatelet and Antithrombotic Activities of *Lespedeza cuneata* via Pharmacological Inhibition of Integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$, MAPK, and PI3K/AKT Pathways and FeCl_3 -Induced Murine Thrombosis. *Evid Based Complement Alternat Med*. Feb 9. 2024:9927160. doi: 10.1155/2024/9927160. PMID: 38370873; PMCID: PMC10872769.).

78. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities / G. Yuan et al. *Scientifits Reports*. 2021. Vol. 11, № 1. 10471. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90035-7>.

79. Antibacterial and antifungal activities of *Lespedeza cuneata* extract against *Candida albicans* / H.–J. Hong et al. *Biomedical Research*. 2018. Vol. 29, № 20. doi: 10.4066/biomedicalresearch.29-18-1080.

80. Antibacterial and Antioxidative Activity of *Lespedeza cuneata* G. Don Extracts / H. J. Lee et al. *Microbiol. Biotechnol. Lett*. 2011. Vol. 39, № 1. P. 63–69.

81. Antifungal activity of different essential oils against *Malassezia pathogenic species* / R. Donato et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020. Vol. 24, № 9. 112376. DOI:10.1016/j.jep.2019.112376

82. Antifungal Activity of Eugenol and Various Eugenol-Containing Essential Oils against Clinical Isolates of *Candida albicans* / E. Schmidt et al. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2007. Vol. 10, № 5. P. 421–429, DOI: 10.1080/0972060X.2007.10643575

83. Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., *Cupressaceae*) / S. Pepeljnjak et al. *Acta Pharmaceutica*. 2005. Vol. 55, № 4. P. 417–422.

84. Antioxidant Polyphenols from *Lespedeza bicolor* Turcz. Honey: Anti-Inflammatory Effects on Lipopolysaccharide-Treated / C. Ren et al. RAW 264.7 Macrophages. *Antioxidants (Basel)*. Sep 28, 2023. Vol. 12, № 10, P. 18–29. doi: 10.3390/antiox12101809. PMID: 37891888; PMCID: PMC10604429.
85. Antioxidants from *Lespedeza homoloba* (I) / T. Miyase et al. *Phytochemistry*. 1999. Vol. 52, № 2. P. 303–310.
86. Antioxidants from *Lespedeza homoloba* (II) / T. Miyase et al. *Phytochemistry*. 1999. Vol. 52, № 2. P. 311–319.
87. Antiproliferative Pterocarpan and Coumestans from *Lespedeza bicolor* / N. T. T. Thuy et al. *J. Nat. Prod.* 2019. Vol. 82, № 11. P. 3025–3032. doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b00567.
88. Bacterial skin infections — an observational study / G. Spurling *Aust Fam Physician*. 2009. Vol. 38, № 7. P. 547–551.
89. Bangert S., Levy M., Hebert A. A. Bacterial resistance and impetigo treatment trends: a review. *Pediatr Dermatol*. 2012. Vol. 29, № 3. P. 243–248.
90. Bernard P. Management of common bacterial infections of the skin. *Curr Opin Infect Dis*. 2008. Vol. 21, № 2. P. 122–128.
91. Characterization of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers: antimicrobial and antioxidant activities / B. Hsouna et al. *Journal of Oleo Science*. 2013. Vol. 62, № 10. P. 763–772. DOI: 10.5650/jos.62.763
92. Clinical guidelines for the antibiotic treatment for community-acquired skin and soft tissue infections / Y. G. Kwak et al. *Infect. Chemoter.* 2017. Vol. 49, № 4. P. 407-409. doi:10.3947/ic.2017.49.4.301.
93. Comparative proteomic profiling of patients with atopic dermatitis based on history of eczema herpeticum infection and *Staphylococcus aureus* colonization / C. J. Broccardo et al. *J Allergy Clin Immunol*. 2011. Vol. 127, № 1. P. 186–193. doi:10.1016/j.jaci.2010.10.033.
94. Deng F., Chang J., Zhang J. S. New flavonoids and other constituents from *Lespedeza cuneata*. *J Asian Nat Prod Res*. 2007. Vol. 9. P. 655–658. doi: 10.1080/10286020600979894. PMID: 17943561.

95. Development of the composition of a dermatological product in the form of a cream with extracts of the aerial part of *lespedeza bicolor* / K. Kiselyova et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2025. № 1 (53). 3. 26–40. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.322855>.

96. Development of Water-In-Oil Emulsions as Delivery Vehicles and Testing with a Natural Antimicrobial Extract / G. Colucci et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25, № 9. P. 21–25. doi:10.3390/molecules25092105

97. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. OJEU2010; L276. P. 33–79.

98. Do M. H., Lee J. H., Cho K. Therapeutic Potential of *Lespedeza bicolor* to Prevent Methylglyoxal-Induced Glucotoxicity in Familiar Diabetic Nephropathy. *J Clin Med*. 2019. Vol. 8, № 8. P. 11–38. doi: 10.3390/jcm8081138. PMID: 31370192; PMCID: PMC6723630.

99. Drucker C. R. Update on topical antibiotics in dermatology. *Dermatol Ther*. 2012. Vol. 25, №1. P. 6–11.

100. Effectiveness of antimicrobial formulations for acne based on orange (*Citrus sinensis*) and sweet basil (*Ocimum basilicum* L) essential oils / G. Matiz et al. *Biomedica*. 2012. Vol. 32, №. 1, P. 125–133. DOI: 10.7705/biomedica.v32i1.614

101. Effects of *Lespedeza cuneata* aqueous extract on testosterone-induced prostatic hyperplasia / B. K. Park et al. *Pharm Biol. Dec*. 2019. Vol. 57, № 1. P. 90–98. doi: 10.1080/13880209.2018.1564929. PMID: 30724641; PMCID: PMC6366415.

102. Essential oils: new perspectives in human health and wellness / F. Firenzuoli et al. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014; 2014 : 467363. DOI: 10.1155/2014/467363.

103. European Medicines Agency. Herbal Medicine: summary for the public. Tea tree oil. 2017. EMA/814441/2016.URL:<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/melaleucaeaetheroleum>

104. European Pharmacopoeia 8.0, Vol. 1. Strasbourg: Council of Europe.

2014. P. 1380.

105. Evans M. Natural Healing: Remedies & Therapies. Hermes House. London. 2010.

106. Experimental research on the development of composition of complex action ointment based on phytocomplex. / K. Matsiuk et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023. Vol. 4, № 44. P. 19–27. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2023.286306>

107. Exploring the Anti-Burkholderia cepacia Complex Activity of Essential Oils: A Preliminary Analysis / I. Maida et al. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014. Vol. 2014. Article ID 573518. DOI: 10.1155/2014/573518

108. Farrer-Halls G. The Aromatherapy Bible: The Definitive Guide to Using Essential Oils. Bounty Books. London. 2011.

109. Formulation and Evaluation of Herbal Face Cream. Research / S. Valarmathi et al. *J. Pharm. and Tech.* 2020. Vol.13, № 1. P. 216–218. doi: 10.5958/0974-360X.2020.00043.8

110. Geria A. N., Schuartz R. A. Impetigo Update: New Challenges in the Era of Methicillin Resistance. *Cutis*. 2010. Vol. 85, № 2. P. 65–70.

111. Hammer K. A., Carson C. F., Riley T. V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. 1999. Vol. 86, № 6. P. 985–990. DOI:10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x

112. Hepatoprotective Effect of Pretreatment with Thymus vulgaris Essential Oil in Experimental Model of Acetaminophen-Induced Injury / R. Grespan et al. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014. Vol. 214. Article ID 954136. DOI:10.1155/2014/954136

113. Herbig M.E. Topical Drug Delivery and the Role of Excipients. *Chim. Oggi Chem. Today*. 2022. Vol. 40. P. 34–37.

114. In vitro antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory evaluation of Eucalyptus globulus essential oil / G. Goger. *Natural Volatiles and Essential Oils*. 2020. Vol. 7, № 3. P. 1–11.

115. Indrayan A., Malhotra K. R. Medical biostatistics. 4th ed. Boca Raton : CRC Press, 2018. 685 p.
116. Influence of Excipients on the Structural and Mechanical Properties of Semisolid Dosage Forms. / H. Kukhtenko et al. *Asian J. of Pharmaceutics*. 2017. Vol. 11, № 3. P. 575–578.
117. Interventions for impetigo / S. Koning et al. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012. Vol.18, № 1. CD003261. doi:10.1002/14651858.CD003261.pub3.
118. Kim S. J., Kim D. W. In vitro anti-oxidant activity of *Lespedeza cuneata* methanolic extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2007. Vol. 4, № 8, P. 674–679, <https://doi.org/10.5897/JMPR09.464>
119. Kim Y., Lee H., Kim S. Y. Effects of *Lespedeza Bicolor* Extract on Regulation of AMPK Associated Hepatic Lipid Metabolism in Type 2 Diabetic Mice. *Antioxidants*. 2019. Vol. 8. P. 599. doi: 10.3390/antiox8120599.
120. Lee S. J., Hossaine M. D., Park S. N. A potential anti-inflammation activity and depigmentation effect of *Lespedeza bicolor* extract and its fractions. *Saudi J Biol Sci*. 2016. Vol. 23, № 1. P. 9–14. doi: 10.1016/j.sjbs.2015.01.016. Epub 2015 Feb 9. PMID: 26858533; PMCID: PMC4705262.
121. Lee Y. S., Joo E. Y., Kim N. W. Analysis on the components of the stem of the *Lespedeza bicolor*. *Adv Carbohydr Chem Biochem*. 2005. Vol. 34, № 8. P. 1246–1250.
122. Luangnarumitchai S., Lamlertthon S., Tiyafoonchai W. Antimicrobial activity of essential oils against five strains of *Propionibacterium acnes*. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2007. Vol. 34, № 1–4. P. 60–64.
123. Maness L. R, Zubov T. The Inhibitory Effect of Essential Oils on *Rhizopus stolonifer*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporum gypseum*. *Laboratory Medicine*. 2019. Vol. 50. P. 18–22. DOI: 10.1093/labmed/lmy080
124. Matsuzaki K. Flavonoid Glycosides of *Lespedeza-Species*. *Shoyakugaku Zasshi*. 1990. Vol. 44, № 15. P. 251–253.
125. Nam S. H. Evalution of the anti-carries effect of *Lespedeza cuneata* extract against *Streptococcus mutans*. *Georgian Med News*. 2023. Vol. 3, № 8, P.19–22.

126. Oliveira G., Hadgraft J., Lane M.E. The influence of volatile solvents on transport across model membranes and human skin. *Int. J. Pharm.* 2012. Vol. 435. P. 38–49.
127. Orchard A., Van Vuuren S. Commercial Essential Oils as Potential Antimicrobials to Treat Skin Diseases. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2017. Vol. 1. P.1–92. DOI: 10.1155/2017/4517971.
128. Park E. C., Song K. W. Rheological evaluation of petroleum jelly as a base material in ointment and cream formulations: steady shear flow behavior. *Pharmaceutical research archives*. 2010. Vol. 33, № 1. P. 141–150. DOI: 10.1007/s12272-010-2236-4
129. Phenological Variations in the Content of Polyphenols and Triterpenoids in *Epilobium angustifolium* Herb Originating from Ukraine / L. Ivanauskas, et al *Plants (Basel)*. 2023;13(1):120. doi: 10.3390/plants13010120. PMID: 38202428; PMCID: PMC10781012
130. Potent inhibition of bacterial neuraminidase activity by pterocarpan isolated from the roots of *Lespedeza bicolor* / H. S. Woo et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011. Vol. 21, № 20. P. 6100–6103.
131. Prediction of chemical absorption into and through the skin from cosmetic and dermatological formulations / S. Grégoire et al. *Br. J. Dermatol.* 2009. Vol. 160. P. 80–91.
132. Rainer B. M., Kang S., Chien A. L. Rosacea: Epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Dermato-Endocrinology*. 2017. Vol. 9. № 1. DOI: 10.1080/19381980.2017.1361574
133. Rational Design of Topical Semi-Solid Dosage Forms-How Far Are We? /M. E. Herbig et al. *Pharmaceutics*. 2023. Vol.15. № 7, P. 18–22. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071822>
134. Rational formulation design / M.E. Lane et al. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2012. Vol. 34. P. 496–501.
135. Research progress of extraction and analysis of flavonoids and chemical constituents in *Lespedeza bicolor* Turcz. / F. Zhang et al. *J Tradit Chin Med*. 2008.

Vol. 19, № 12. P. 2884–2885.

136. Romani L., Steer A. C., Whitfeld M. J. Prevalence of scabies and impetigo worldwide: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2015. Vol. 15, № 8. P. 960-967. doi:10.1016/S1473-3099(15)00132-2.

137. Rush J., Dinulos J. G. Childhood skin and soft tissue infections: new discoveries and guidelines regarding the management of bacterial soft tissue infections, molluscum contagiosum, and warts. *Cur Opin Pediatr.* 2016. Vol. 28, № 2. P. 250–257. doi:10.1097/MOP.0000000000000334.

138. Sami U. Methanolic extract from *Lespedeza bicolor*: potential candidates for natural antioxidant and anticancer agent. *J Tradit Chin Med.* Vol. 37, № 4. P. 444–451. PMID: 32188202

139. Sciallis G. F. Treatment of Skin Disease: Comprehensive Therapeutic Strategies. *Clinic Proceedings*, Vol.78, № 5, 661 p.

140. Selection of the base for a topical pharmaceutical form for stump care after prosthetic fitting./ I. Kovalevska et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2024. Vol. 5, № 51. P. 71–77. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.313142>

141. Sellar W. The Directory of Essential Oils. C. W. Daniel Company, London, UK, 2005. 180 p.

142. Strus O., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia.* 2019. Vol. 66, № 1. P. 19–25. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.66.e35022>

143. Study of the influence of ingredients on biopharmaceutical factors and pharmacological activity of a medicinal product with carrot extract and rutin / O. Ruban et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2023. Vol. 2, № 42. P. 20–28. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2023.277562>

144. Study of Concentrated Emulsions' Structural-Mechanical Properties Dependence From the Type and Concentration of Surfactant / H. P. Kukhtenko et al. *Chemical Senses.* 2018. Vol. 43, № 9 (2). P. 949–962

145. Substantiation of technological parameters of the oil extract obtained from *Urtica dioica* roots based on the yield determination of phytosterols using

capillary gas chromatography method / M. Fedorovska et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 6(34). P. 27–36. DOI: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.249615>

146. Swarbrick J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 6 (3rd ed.). 2007. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b19309>

147. Tan N., Vary J.C., O'Connor K.M. Treatment of Common Dermatologic Conditions. *Med Clin North Am*. 2024.108(5):795-827. doi: 10.1016/j.mcna.2024.02.002. Epub 2024 Jun 12. PMID: 39084835.

148. The in vitro release testing and the antimicrobial activity of semi-solid dosage forms which contain salicylic acid / Ye. Zuikina et al. *Farmacia*. 2021. Vol. 69, № 6. P. 1073–1079.

149. The Japanese Pharmacopoeia. 17th Edition. 2016.

150. Therapeutic Potential of *Lespedeza bicolor* to Prevent Methylglyoxal-Induced Glucotoxicity in Familial Diabetic Nephropathy / M. H. Do et al. *J. Clin. Med*. 2019. Vol. 8, P. 11–38. doi:10.3390/jcm8081138.

151. Topical drug delivery: History, percutaneous absorption, and product development / M. S. Roberts et al. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021. Vol.177, 113929. doi: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113929>

152. Treatment of pityriasis versicolor with topical application of essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf - therapeutic pilot study / E. S. Carmo et al. *An Bras Dermatol*. 2013. Vol. 88, № 3. P. 381–385. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20131800. PMID: 23793205; PMCID: PMC3754369.

153. United States Pharmacopeia. 24 ed. Rockville, 2000. 2569 p.

154. Wang M. S., Cheng G. H. New flavonoids and other constituents from *Lespedeza cuneata*. *J Chin Pharma*. 1989. Vol. 21, № 12. P. 337.

155. Yadav R. N. S., Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*. 2011. Vol. 2, № 12. P. 10–14.

156. Zuikina Ye. V., Buryak M. V., Zuikina S. S. Study of rheological and textural properties of emulsion ointment bases using modern emulsifiers. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 2. P. 85–93. DOI:10.5281/zenodo.8046319

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Development of the composition of a dermatological product in the form of a cream with extracts of the aerial part of lespedeza bicolor / K. Kiselyova, T. Yudkevych, L. Bodnar, M. Skybitska, L. Vyshnevskaya, T. Yudkevych, L. Ivanauskas, O. Mykhailenko, O. Kukhtenko, V. Georgiyants. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2025. № 1 (53). 3. 26–40. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2025.322855> (Scopus). (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, формування висновків, підготовка статті до друку).

2. Кисельова К. Є., Боднар Л. А., Олійник С. В. Обґрунтування техно-логії крему з екстрактами леспедези. *Вісник фармації*. 2025. № 1 (109). С. 48–54. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.174> (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, формування висновків, підготовка статті до друку).

3. Обґрунтування вибору екстрагента для отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної / К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. *Вісник фармації*. 2024. № 1 (105). С. 58–65. <https://doi.org/10.24959/nphj.24.126> (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, формування висновків, підготовка статті до друку).

4. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Дослідження антибактеріальної дії витяжок з леспедеці двоколірної та крему на їх основі. *Annals of Mechnikov Institute*. 2024. № 2. С. 69–73. <https://doi.org/10.5281/zenodo.11638092> (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, планування та проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, формування висновків, підготовка статті до друку).

Продовження дод. А

5. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 1. С. 54–61. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7721539> (Особистий внесок – аналіз, узагальнення літературних джерел, формування висновків, підготовка статті до друку).

6. Вишневська Л. І., Кисельова К. Є., Ковальова Т. М. Спосіб одержання засобу для лікування інфекційно-запальних уражень шкіри у формі емульсійного крему. Пат. на корисну модель № 157621 Україна, МПК (2024.01) А61К 47/44; заявл. 18.04.2024; опубл. 06.11.2024, Бюл. № 45. 4 с. (Особистий внесок – аналіз, узагальнення літературних джерел, підготовка патенту).

7. Кисельова К. Є., Сілаєва Л. Ф., Вишневська Л. І. Антимікробні властивості етерних олій. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Х. : Вид-во НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 139–143.

8. Використання етерних олій в екстемпоральних прописах / Н.П. Половко, Є. І. Світлична К. Є. Кисельова, А. А. Куцанян *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Х., 2017. С. 168–171.

9. Загальний огляд захворювань, при лікуванні яких широко застосовують препарати з ефірними оліями / Є. І. Бисага, Л. І. Вишневська, В. О. Онищук, К. Є. Кисельова *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. 2018. Вип. 4. С. 34–39.

10. Вишневська Л. І., Кисельова К. Є. Обґрунтування вибору етерних олій до складу гелю для лікування вугрової хвороби. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : зб. наук. пр. Х. : НФаУ, 2019. Вип. 3. С. 49.

11. Мікробіологічні дослідження ефірної олії низки лікарських рослин щодо рівня їх антимікробної дії / Л. Ф. Сілаєва, О. О. Шмалько, Л. І. Вишневська, К. Є. Кисельова *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків, 2019. Вип. 6. С. 416–419.

Продовження дод. А

12. Половко Н. П., Красляньська А. Л., Кисельова К. Є. Препарати, що використовуються в терапії себореїного дерматиту. *Підготовка спеціалістів фармації в рамках концепції «Навчання протягом життя (Life Long Learning)» : наука, освіта, практика* : матеріали II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21–22 жовт. 2020 р. Харків: НФаУ, 2020. С.134–137.

13. Кисельова К. Є. Вишневська Л. І. Дослідження щодо доцільності використання ефірної олії в розробці лікарських препаратів комплексної дії. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. дистанц. конф., м. Харків, 20 берез. 2020 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2020. С. 87.

14. Кисельова К. Є., Шмалько О. О, Вишневська Л. І. Етерна олія як активний фармацевтичний інгредієнт у фармацевтичній розробці. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2020. С. 247.

15. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Біосурфактанти – перспективні субстанції для використання в дерматологічних м'яких лікарських засобів. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології*: матеріали III міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 24 берез. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С.199–200.

16. Кисельова К. Е., Яромій М. В. Використання леспедези в народній і традиційній медицині. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція* : матеріали VI наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16 лист. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 232.

17. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології*: збірник наукових матеріалів III Міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2023. С. 305–306.

18. Кисельова К. Є. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. *Youth Pharmacy Science*: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з між-

Продовження дод. А

нар.участю (6–7 грудня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. С.119.

19. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедези двоколірної / К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, Л. І. Вишневська *Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С. 336–342.*

20. Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Дослідження протизапальної активності екстрактів леспедези двоколірної. *Індустрія 4.0 : сучасні напрями розвитку фармацевтичної галузі: зб.наук. матеріалів І Міжнар. наук.-практ. конф. з нагоди 95-річчя І.М. Перцева (м. Харків, 16 травня 2024 р.). Харків : Вид-во НФаУ, 2024. С. 51–53.*

21. Кисельова К. Є., Осолодченко Т. П., Вишневська Л. І. Вивчення антибактеріальної активності емульсійного крему з екстрактами леспедези двоколірної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали VI Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (м. Харків, 12 квітня 2024 р.). Харків : НФаУ, 2024. С. 106–107.*

22. Кисельова К., Вишневська Л. Обґрунтування умов отримання емульсійного крему з екстрактами леспедеці. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали X наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т.А. Грошового (17–18 жовтня 2024 р.). Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 203.*

23. Дослідження властивостей основи крему при введення активних фармацевтичних інгредієнтів. Кисельова К., Боднар Л., Вишневська Л. *Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень : зб.матеріалів І наук.-практ. конф., 03–04 грудня 2024 р., м. Вінниця, ВНМУ. Вінниця : Твори, 2024. С. 18–20.*

Продовження дод. А

24. АС 126126 на твір «Аналіз та перспективи використання етерних олій у складі дерматологічних лікарських препаратів», автори Кисельова К., Вишневська Л., видане 01.05. 2024 р.

*Продовження дод. А***Апробація результатів дисертації**

1. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2017 р., форма участі – публікація тез).
2. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2018 р., форма участі – публікація тез).
3. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2019 р., форма участі – публікація тез).
4. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (Харків, 2019 р., форма участі – публікація тез).
5. II Науково-практична конференція з міжнародною участю «Навчання протягом життя (Life Long Learning)»: наука, освіта, практика (м. Харків, 2020 р. форма участі – публікація тез).
6. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (Харків, 2020 р., форма участі – публікація тез).
7. XII Науково-практична інтернет-конференція «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (Харків, 2020 р., форма участі – публікація тез).
8. VI науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» : (Харків, 2023 р., форма участі – публікація тез).
9. IV Всеукраїнська науково-практичної конференції з міжнародною участю «Youth Pharmacy Science» (Харків, 2023 р., форма участі – публікація тез).

Продовження дод. А

10. III Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології» (Харків, 2023 р., форма участі – публікація тез, постерна доповідь).

11. I Міжнародна науково-практична конференція з нагоди 95-річчя І.М. Перцева «Індустрія 4.0 : сучасні напрями розвитку фармацевтичної галузі» (Харків, 2024 р., форма участі – публікація тез).

12. VI Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 2024 р., форма участі – публікація тез).

13. X науково-практична конференція з міжнародною участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т.А. Грошового «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2024 р., форма участі – публікація тез)

14. I науково-практична конференція Фармінновації: від освітнього процесу до наукових досягнень (м. Вінниця, 2024 р., форма участі – публікація тез)

Додаток Б



Продовження дод. Б

УКРАЇНА



СВІДОЦТВО

про реєстрацію авторського права на твір

№ 126126

Науковий твір «Аналіз та перспективи використання ефірних олій у складі дерматологічних лікарських засобів»

(вид, назва твору)

Автор (співавтори) Кисельова Катерина Євгенівна, Вишневська Лілія Іванівна

(прізвище, ім'я, по батькові (за наявності), псевдонім (за наявності))

Авторські майнові права належать спільно Кисельова Катерина Євгенівна, вул. 1-й в'їзд Жиларді, 21, м. Харків, 61070; Вишневська Лілія Іванівна, вул. Грінченка, 11, м. Харків, 61107

(прізвище, ім'я, по батькові (за наявності) фізичної особи / найменування юридичної особи, адреса)

Дата реєстрації 1 травня 2024 р.

**Директор Державної організації
«Український національний
офіс інтелектуальної власності
та інновацій»**

 **Олена ОРЛЮК**



Додаток В

Аптека № 80			
ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ			
ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ			Стор. 1
Рецептурно-виробничий відділ аптеки № 80	Дата впровадження:	Серія	1 екземпляр
			з Версія № 01



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Завідувачка аптеки № 80, м. Слов'янськ

Штучна Н. І.

11 січня 2024 р.

Діє від «__» _____ 2024 р.
Дата перегляду «__» _____ 2028 р.

ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЕКСТЕМПОРАЛЬНОГО ЗАСОБУ «ЛЕСПЕДЕЗИ ЕКСТРАКТ ВОДНО-СПИРТОВИЙ РІДКИЙ»

Розроблено / змінено	Узгоджено
Аспірантка кафедри аптечної технології ліків	Завідувачка кафедри аптечної технології ліків, професор
Кисельова К. Є.	Вишневська Л. І.
Підпис:	Підпис:
Дата: 02.01.2024	Дата: 03.01.2024

Продовження дод. В

Аптека №80			
ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ			
ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ			Стор. 1
Леспедези екстракт олійний			
Рецептурно-виробничий відділ аптеки № 80	Дата впровадження:	Серія	1 екземпляр
			3
			Версія № 01



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Завідувачка аптеки № 80, м. Слов'янськ

Штучна Н. І.

1 січня 2024 р.

Діє від «__» _____ 2024 р.
 Дата перегляду «__» _____ 2028 р.

ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЕКСТЕМПОРАЛЬНОГО ЗАСОБУ «ЛЕСПЕДЕЗИ ЕКСТРАКТ ОЛІЙНИЙ»

Розроблено / змінено	Узгоджено
Аспірантка кафедри аптечної технології ліків	Завідувачка кафедри аптечної технології ліків, професор
Кисельова К. Є.	Вишневська Л. І.
Підпис:	Підпис:
Дата: 02.01.2024	Дата: 03.01.2024

Продовження дод. В

Аптека № 80			
ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ			
ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ			Стор. 1
Рецептурно-виробничий відділ аптеки № 80	Дата впровадження:	Серія	1 екземпляр з Версія № 01



Затверджую»
Завідувачка аптеки № 80, м. Слов'янськ
Штучна Н. І.

03.01.2024 р.

Діє від «__» _____ 2024 р.
Дата перегляду «__» _____ 2028 р.

ВИГОТОВЛЕННЯ І КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЕКСТЕМПОРАЛЬНОГО ЗАСОБУ «Крем ЛЕСПЕДИН»

Розроблено / змінено	Узгоджено
Аспірантка кафедри аптечної технології ліків	Завідувачка кафедри аптечної технології ліків, професор
Кисельова К. Є.	Вишневська Л. І.
Підпис:	Підпис:
Дата: 02.01.2024	Дата: 03.01.2024

Продовження дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

ПП «Гармонія-2000»

Завідувачка аптеки № 5,

м. Чернівці

О. М. Голубнича

« 05 » серпня 2024 р.



ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ

на виготовлення і контроль якості екстемпорального засобу

«Леспедези екстракт водно-спиртовий рідкий»

Термін дії до 05 серпня 2028 р.

Розроблено / змінено	Узгоджено
Аспірантка кафедри аптечної технології ліків	Завідувачка кафедри аптечної технології ліків, д. фарм. н., професор
Кисельова К. Є.	Вишневська Л. І.
Підпис:	Підпис:
Дата: 01.08.24 р.	Дата: 01.08.24 р.

Продовження дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

ПП «Гармонія-2000»

Завідувачка аптеки № 5,

м. Чернівці

О. М. Голубнича

« 05 » серпня 2024 р.



ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ

на виготовлення і контроль якості екстемпорального засобу «Леспедези
екстракт олійний»

Термін дії до 05 серпня 2028 р.

Розроблено / змінено	Узгоджено
Аспірантка кафедри аптечної технології ліків	Завідувачка кафедри аптечної технології ліків, д. фарм. н., професор
Кисельова К. Є.	Вишневська Л. І.
Підпис:	Підпис:
Дата: 01.08.24 р.	Дата: 01.08.24 р.

Продовження дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

ПП «Гармонія-2000»

Завідувачка аптеки № 5,

м. Чернівці

О. М. Голубнича

« 12 » вересня 2024 р.

ТЕХНОЛОГІЧНА ІНСТРУКЦІЯ

на виготовлення і контроль якості екстемпоруального засобу

крем «Леспедин»

Термін дії до 05 серпня 2028 р.

Розроблено / змінено	Узгоджено
Аспірантка кафедри аптечної технології ліків	Завідувачка кафедри аптечної технології ліків, д. фарм. н., професор
Кисельова К. Є.	Вишневська Л. І.
Підпис:	Підпис:
Дата: 06.09.24 р.	Дата: 06.09.24 р.

Додаток Г



ЗАТВЕРДЖЕНО»

Завідувачка аптеки № 80

Н. І. Штучна

« 01 » серпня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Виготовлення олійного екстракту леспедези і крему для лікування інфекційно-запальних захворювань шкіри.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53; асп. К. Є. Кисельова, д. фарм. н., проф. Л. І. Вишневська.
3. **Джерело інформації:**
 1. Обґрунтування умов отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної. К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. Вісник фармації 2024. № 1 (105). С. 58-65.
 2. Дослідження антибактеріальної дії вилучень з леспедеці двоколірної. К. Є. Кисельова, Т. П. Осолодченко, Л. І. Вишневська. Annals of Mechnikov Institute. 2024. № 2.
 3. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему Кисельова К. Є., Вишневська Л. І. Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: Збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: НФаУ, 2023. С. 305–306.
 4. Обґрунтування умов отримання емульсійного крему з екстрактами леспедеці. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали X наук.-практ. конф. з міжнар.участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т. А. Грошового (17–18 жовтня 2024 р.). Тернопіль : ТНМУ, 2024. С.170
4. **Ефективність впровадження:** Запропонований склад і технологія олійного екстракту і м'якого лікарського засобу дозволить розширити асортимент АФІ та лікарських засобів, призначених для профілактики і лікування інфекційно-запальних захворювань шкіри, а також забезпечить можливість якісного виготовлення і контролю якості лікарського засобу в умовах аптек.

Продовження дод. Г

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор ТОВ «Леда»
І. М. Чанчальшвілі
«5» *листопада* 2024 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Виготовлення олійного екстракту і крему для лікування інфекційно-запальних захворювань шкіри.
2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53; асп. К.С.Кисельова, д. фарм. н., проф. Л.І. Вишневська.
3. Джерело інформації:
 1. Обґрунтування умов отримання витлучень нагрової частини леспедеці двоколірної. К. С. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. В. Яромій, Л. І. Вишневська. Вісник фармації 2024. № 1 (105). С. 58-65.
 2. Дослідження антибактеріальної дії витлучень з леспедеці двоколірної. К.С. Кисельова, Т.П. Осолодченко, Л.І. Вишневська Annals of Mechnikov Institute. 2024. № 2.
 3. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему Кисельова К.С., Вишневська Л.І. Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: Збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2023. С. 305-306.
 4. Обґрунтування умов отримання емульсійного крему з екстрактами леспедеці. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали X наук.-практ. конф. з міжнародною участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т.А. Грошового (17 – 18 жовтня 2024 р.). – Тернопіль : ТНМУ, 2024. с.170
4. Ефективність впровадження: Запропонований склад і технологія олійного екстракту і м'якого лікарського засобу дозволить розширити асортимент АФІ та лікарських засобів, призначених для профілактики і лікування інфекційно-запальних захворювань шкіри, а також забезпечить можливість якісного приготування і контролю якості лікарського засобу в умовах аптек.

Завідувачка аптеки
№ 6 ТОВ «Леда»

Анна Несвітайло

Додаток Д

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з наукової роботи та інновацій
Національного медичного
Університету імені О.О. Богомольця
д.мед.н., проф. Земельов С.В.

«» 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу і технології лікарського препарату у формі крему для лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Г. Сковороди, 53; Виконавець: асп. К. Є. Кисельова, д. фарм. н., проф. Л. І. Вишневська.

3. Джерела інформації:

3.1. Обґрунтування умов отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної. К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. Вісник фармації. 2024. № 1 (105). С. 58-65.

3.2. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедеці двоколірної. Кисельова К.Є., Бевз Н.Ю., Михайленко О.О., Вишневська Л.І. Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С.336-342.

3.3. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. Кисельова К.Є. Youth Pharmacy Science: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (6-7 грудня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. с.119.

3.4. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему Кисельова К.Є., Вишневська Л.І. Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: Збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: НФаУ, 2023. С. 305-306.

4. Впроваджено: в освітній процес кафедри аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О.О. Богомольця при вивченні теми «Екстракційні препарати» та «М'які лікарські форми» (лекційний курс, практичні заняття), згідно протоколу №12 засідання кафедри від 5.12.2024р.

5. Ефективність впровадження: Запропонована технологія екстрактів і м'якої лікарської форми дозволить розширити асортимент лікарських засобів.

Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації. Результати наукових досліджень використовуються здобувачами вищої освіти на кафедрі аптечної та промислової технології ліків.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри аптечної
та промислової технології ліків
професор, доктор фармацевтичних наук



Жанна Полова

Продовження дод. Д

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

з науково-педагогічної роботи

Львівського національного

медичного університету

імені Данила Галицького

доц. Ірина СОЛОНІНКО



2024р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу і технології лікарського препарату у формі крему для лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Г. Сковороди, 53; асп. К. Є. Кисельова, д. фарм. н., проф. Л. І. Вишневська.
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1. Обґрунтування умов отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної. К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. Вісник фармації. 2024. № 1 (105). С. 58-65.
 - 3.2. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедеці двоколірної. Кисельова К.Є., Бевз Н.Ю., Михайленко О.О., Вишневська Л.І. Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С.336–342.
 - 3.3. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. Кисельова К.Є. Youth Pharmacy Science: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (6-7 грудня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. с.119.
 - 3.4. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему Кисельова К.Є., Вишневська Л.І. Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: Збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: НФаУ, 2023. С. 305–306.
4. **Впроваджено:** В освітній процес кафедри технології ліків і біофармації у лекційний курс дисципліни «Технологія лікарських засобів» при вивченні тем «Екстракційні препарати» та «М'які лікарські засоби».
5. **Термін впровадження:** 2024/2025 н.р.
6. **Ефективність впровадження:** Запропонована технологія м'якої лікарської форми дозволить розширити асортимент вітчизняних лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини. Результати наукових досліджень впроваджено з метою вдосконалення та оптимізації навчального процесу, зокрема розширення інформації про розробку нових лікарських засобів.

Завідувач кафедри
технології ліків і біофармації
ЛНМУ імені Данила Галицького,
д. фарм. н., професор

Світлана БІЛЮС

Продовження дод. Д



ЗГОДЖЕНО

Директор з науково-педагогічної

роботи НФаУ

проф. Інна ВЛАДИМИРОВА

01 квітня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу і технології лікарського препарату у формі крему для лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Г. Сковороди, 53; асп. К. Є. Кисельова, д. фарм. н., проф. Л. І. Вишневська.

3. Джерело інформації:

3.1. Обґрунтування умов отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної. К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. Вісник фармації. 2024. № 1 (105). С. 58-65.

3.2. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедеці двоколірної. Кисельова К.Є., Бевз Н.Ю., Михайленко О.О., Вишневська Л.І. Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С.336–342.

3.3. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. Кисельова К.Є. Youth Pharmacy Science: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (6-7 грудня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. с.119.

3.4. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему Кисельова К.Є., Вишневська Л.І. Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: Збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: НФаУ, 2023. С. 305–306.

4. Впроваджено: в освітній процес кафедри аптечної технології ліків НФаУ у лекційний курс при вивченні теми «Екстракційні препарати» та «М'які лікарські форми».

5. Ефективність впровадження: Запропонована технологія екстрактів і м'якої лікарської форми дозволить розширити асортимент лікарських засобів.

Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації. Результати наукових досліджень використовуються здобувачами вищої освіти на кафедрі аптечної технології ліків.

Завідувачка кафедри
аптечної технології ліків
професор

Лілія ВИШНЕВСЬКА

Продовження дод. Д



УЗГОДЖЕНО

Директор з науково-педагогічної

роботи НФаУ

проф. Інна ВЛАДИМИРОВА

02 вересня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу і технології лікарського препарату у формі крему для лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Г. Сковороди, 53; асп. К. Є. Кисельова, д. фарм. н., проф. Л. І. Вишневська.

3. Джерело інформації:

3.1. Обґрунтування умов отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної. К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. Вісник фармації. 2024. № 1 (105). С. 58-65.

3.2. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедеці двоколірної. Кисельова К.Є., Бевз Н.Ю., Михайленко О.О., Вишневська Л.І. Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С.336–342.

3.3. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. Кисельова К.Є. Youth Pharmacy Science: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (6-7 грудня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. с.119.

3.4. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему Кисельова К.Є., Вишневська Л.І. Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: Збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: НФаУ, 2023. С. 305–306.

4. Впроваджено: в освітній процес кафедри промислової технології ліків та косметичних засобів НФаУ у лекційний курс при вивченні теми «Екстракційні препарати» та «М'які лікарські форми».

5. Ефективність впровадження: Запропонована технологія екстрактів і м'якої лікарської форми дозволить розширити асортимент лікарських засобів.

Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації. Результати наукових досліджень використовуються здобувачами вищої освіти на кафедрі промислової технології ліків та косметичних засобів.

Завідувачка кафедри
промислової технології ліків
та косметичних засобів НФаУ,
професор

Олена РУБАН

Продовження дод. Д



1. **Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу і технології лікарського препарату у формі крему для лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Г. Сковороди, 53; асп. К. Є. Кисельова, д. фарм. н., проф. Л. І. Вишневська.
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1. Обґрунтування умов отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної. К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. Вісник фармації. 2024. № 1 (105). С. 58-65.
 - 3.2. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедеці двоколірної. Кисельова К.Є., Бевз Н.Ю., Михайленко О.О., Вишневська Л.І. Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С.336–342.
 - 3.3. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. Кисельова К.Є. Youth Pharmacy Science: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (6-7 грудня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. с.119.
 - 3.4. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему Кисельова К.Є., Вишневська Л.І. Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: Збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: НФаУ, 2023. С. 305–306.
4. **Впроваджено:** в освітній процес кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків у лекційний курс при вивченні теми «Екстракційні препарати» та «М'які лікарські форми».
5. **Ефективність впровадження:** Запропонована технологія екстрактів і м'якої лікарської форми дозволить розширити асортимент лікарських засобів. Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації. Результати наукових досліджень використовуються здобувачами вищої освіти на кафедрі управління та економіки фармації з технологією ліків.

Завідувачка кафедри
управління та економіки фармації
з технологією ліків

Наталія БЕЛЕЙ

Продовження дод. Д



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу і технології лікарського препарату у формі крему для лікування інфекційно-запальних дерматологічних захворювань.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Національний фармацевтичний університет, кафедра аптечної технології ліків, 61002, м. Харків, вул. Г. Сковороди, 53; асп. К. Є. Кисельова, д. фарм. н., проф. Л. І. Вишневська.
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1. Обґрунтування умов отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної. К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська. Вісник фармації. 2024. № 1 (105). С. 58-65.
 - 3.2. Обґрунтування умов отримання олійного екстракту леспедеці двоколірної. Кисельова К.Є., Бевз Н.Ю., Михайленко О.О., Вишневська Л.І. Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers / by general ed. V. Bessarabov, V. Lubenets. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023. С.336–342.
 - 3.3. Дослідження реологічних властивостей емульсійних основ. Кисельова К.Є. Youth Pharmacy Science: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (6-7 грудня 2023 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2023. с.119.
 - 3.4. Обґрунтування складу емульсійної основи для дерматологічного крему Кисельова К.Є., Вишневська Л.І. Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: Збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х.: НФаУ, 2023. С. 305–306.
4. **Впроваджено:** в освітній процес кафедри фармації, фармакології, медичної, біоорганічної та біологічної хімії у лекційний курс при вивченні теми «Екстракційні препарати» та «М'які лікарські форми».
5. **Ефективність впровадження:** Запропонована технологія екстрактів і м'якої лікарської форми дозволить розширити асортимент лікарських засобів. Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації. Результати наукових досліджень використовуються здобувачами вищої освіти на кафедрі фармації, фармакології, медичної, біоорганічної та біологічної хімії.

В. о. завідувачки кафедри
фармації, фармакології, медичної,
біоорганічної та біологічної хімії,
доцент

Олена ЛАРИЧЕВА