

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СТРУС ОКСАНА ЄВГЕНІВНА

УДК: 615.328.014.2:(619+615+ 615.262.4)].001.6

ДИСЕРТАЦІЯ

**Теоретичне та експериментальне обґрунтування
комплексного використання сапропелів для створення
лікарських, ветеринарних та косметичних засобів**

15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи
та судова фармація
22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання результатів
і текстів інших авторів мають посилання на відповідні джерела

 О. Є. Струс

Науковий консультант:

Половко Наталя Петрівна, доктор фармацевтичних наук, професор

Львів – 2021

АНОТАЦІЯ

Струс О. Є. Теоретичне та експериментальне обґрунтування комплексного використання сапропелів для створення лікарських, ветеринарних та косметичних засобів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 «Технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація». – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, МОЗ України, Львів, 2021.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню хімічного складу та властивостей природної органо-мінеральної сировини – сапропелю родовищ України; теоретичному та експериментальному обґрунтуванню складу, технології і методів контролю якості перспективних лікарського, ветеринарного та косметичних засобів із продуктами переробки сапропелю антимікробної, антиоксидантної, протизапальної та ранозагоювальної дії.

Проаналізовано та узагальнено літературні дані щодо світових природо-лікувальних ресурсів, які використовують для профілактики і лікування низки захворювань та медичної реабілітації. Проаналізовано хімічний склад та властивості сапропелів. Встановлено, що сапропелі містять каротин, хлорофіл, ксантофіли, стерини, органічні кислоти, спирти, гормоноподібні речовини, ферменти, вітаміни групи В (В₁, В₂, В₆, В₁₂), С, Е, Р та ін. Основною групою біологічно активних речовин сапропелів є гумінові кислоти, вміст яких коливається в межах від 4-9 до 50-60 % від вмісту органічних речовин. Зазначені біологічно активні речовини володіють протизапальними, ранозагоювальними, антиоксидантними, імуностимулювальними, антибактеріальними, протівірусними та іншими властивостями.

Показано, що згідно з даними інформаційного ресурсу «Мінеральні ресурси України» станом на січень 2019 року в країні знаходилося 308 родовища сапропелю з запасами понад 88 млн тонн, а науково-дослідна робота над дослідженням сапропелів, розробкою лікарських, ветеринарних і косметичних

засобів на їх основі практично не ведеться і, як наслідок, на сьогодні сапропелі в Україні не є вивченими і не використовуються в лікувально-курортних, оздоровчих та інших сферах.

Запропоновано методологію комплексного використання сапропелю для створення препаратів, яка містить інформаційно-пошуковий, дослідницький та біологічний блоки, що, в свою чергу, складаються з кількох послідовних етапів, які взаємопов'язані та доповнюють один одного. Сформовано та обґрунтовано загальний алгоритм дослідження фармацевтичної розробки лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів його переробки.

У результаті дослідження основних фізико-хімічних показників та хімічного складу сапропелю родовища Прибич як найбільш перспективного серед родовищ України встановлено, що сапропель належить до прісноводних безсульфідних низькозольних пелоїдів органічного типу, містить макроелементи – сірку та кальцій у кількості 0,014 і 91,75 % відповідно, мікроелементи Si, Cr, Fe, Co, Zn – 0,011, 0,659; 7,384; 0,114 і 0,067 % відповідно; усі незамінні (ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін, треонін, триптофан і валін), напівзамінні (гістидин, аргінін) та замінні амінокислоти (аланін, гліцин, пролін і серин), серед яких переважає аланін, гліцин, лейцин та ізолейцин; серед ідентифікованих карбонових кислот найбільшу кількість складають азелаїнова (3217,28 мг/кг), октадикарбонова (1260,61 мг/кг) та левулінова (1154,52 мг/кг) кислоти. Сапропель містить 76,63% речовин органічної природи в перерахунку на суху речовину, в т.ч. протеїн, жир, клітковину (21,1; 1,5; 14,3 % відповідно в перерахунку на суху речовину).

За основними фізико-хімічними показниками (масова частка вологи, рН, окиснювально-відновний потенціал (Eh), вміст H_2S , об'ємна вага, напруга зсуву, липкість, наявність частинок діаметром більше 0,25 мм, питома теплоємність, зольність, $C_{орг.}$, п/с стан) донні відклади оз. Прибич відповідають вимогам, які висувають до сапропелевих пелоїдів, окрім значення масової частки вологи, що потребує підготовки до відпуску лікувальних процедур і може бути доведене перед використанням до відповідних нормативних показників шляхом часткового

зневоднення у межах припустимих величин вологості (60 – 90 %) або самоущільнення під дією власної ваги при зберіганні в басейнах глибиною до 3 м.

З метою використання у бальнеології, косметології та як джерела біологічно активних речовин сапропель стандартизували за зовнішнім виглядом, кольором, запахом, консистенцією, рН, масовою часткою води, вмістом органічної речовини в перерахунку на суху речовину, наявністю часток розміром більше 0,01 мм, напругою зсуву та мікробіологічними показниками.

Із сухого сапропелю (вологість 60%) і води очищеної з використанням промислової установки – диспергатора (кавітатора) ДЕС 350/4000 (Україна) зі швидкістю 3000 об/хв протягом 30 хв при температурі $(50 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ і тиску 1 атм отримували сапропасту, яка має високі пластичні та адгезійні властивості. Визначено, що сапропаста є однорідною пастоподібною пластичною масою темно-коричневого кольору зі специфічним ґрунтовим запахом, значення рН якої перебуває в межах фізіологічно допустимих норм для лікувально-профілактичних засобів для наскірного застосування. На відміну від сапропелю паста починає розріджуватися при нижчому значенні напруги зсуву (60 Па порівняно з майже 300 Па для сапропелю), що сприятиме кращому нанесенню сапропасти на шкіру.

На підставі досліджень сапропасту стандартизували за органолептичними показниками, рН, масовою часткою води, вмістом органічної речовини в перерахунку на суху речовину, наявністю часток розміром більше 0,25 мм, напругою зсуву та мікробіологічними показниками.

Для запобігання мікробній контамінації та забезпечення стабільності сапропасти у процесі зберігання мікробіологічними дослідженнями обґрунтовано використання суміші консервантів – нізину і еуксилу К 100, поєднання яких забезпечує синергічний ефект антимікробної дії щодо тест-штамів бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*) і захист від грибів роду *Candida albicans*.

За результатами дослідження органолептичних та фізико-хімічних, фармако-технологічних та мікробіологічних показників сапропасти при зберіганні за різних температурних режимів встановлено термін придатності – 2 роки.

На підставі вивчення сапропелю родовища Прибич та продуктів його переробки розроблено та затверджено ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них».

Розроблено склад основи твердого мила з сапропастою, що містить пальмову, кокосову, кукурудзяну, рицинову олії та арганову олію як пережирювальний компонент. На основі результатів дослідження антимікробної активності встановлено, що зразок із 10% сапропасти проявляє більшу антимікробну активність щодо усіх досліджуваних тест-культур. На підставі результатів дослідження впливу технологічних параметрів виробництва на якісні показники мила розроблено технологічну схему виробництва мила з сапропастою та основні критичні параметри його виробництва. Технологію піномийного засобу апробовано в умовах промислового виробництва.

У результаті проведених досліджень встановлено, що за показниками якісного числа (маса жирних кислот у перерахунку на номінальну масу куска 100 г), масової частки содопродуктів у перерахунку на Na_2O та масової частки натрію хлориду мило з 10% сапропасти, відповідає нормам чинної нормативної документації (НД). Експериментально доведено стабільність розробленого засобу протягом 27 місяців зберігання при температурі $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ у захищеному від світла місці, що дало змогу рекомендувати термін придатності – 2 роки.

Удосконалено технологію отримання водного екстракту сапропелю (ВЕС), встановлено, що диспергування за допомогою (кавітатора) ДЕС 350/4000 (Україна) зі швидкістю 3000 об/хв протягом 60 хв при температурі $50\text{--}60^\circ\text{C}$ і надлишковому тиску 1 атм покращує взаємодію натрію гідроксиду із сапропелем і підвищує вміст гумусових кислот в екстракті майже на 9%. Розроблено технологічну схему отримання екстракту, визначені критичні параметри технологічного процесу. Розроблена та валідована методика кількісного визначення сумарної масової частки гумінових кислот (ГК) у водному екстракті сапропелю (ВЕС) на основі методу І. В. Тюріна в модифікації Б. А. Нікітіна і титрування сіллю Мора. Досліджено властивості та стандартизовано ВЕС за показниками: опис, рН, масова частка сухого залишку, вміст органічної речовини, ідентифікація та кількісний вміст ГК,

мікробіологічна чистота, які введено до ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них». За результатами дослідження показників якості ВЕС у процесі зберігання встановлено термін придатності – 2 роки при зберіганні у скляних флаконах із темного скла при температурі, що не перевищує 25°C.

Отримано й досліджено спиртовий екстракт сапропелю (СЕС), у складі якого методом хромато-мас-спектрометрії ідентифіковано 19 сполук, серед яких 11 жирних кислот - найбільше пальмітинової (97,33 мг/кг) та бегенової (57,05 мг/кг); і 8 органічних, серед яких піровиноградна (83,83 мг/кг) та р-кумарова кислоти (76,27 мг/кг). Стандартизовано СЕС за показниками: опис, ідентифікація ГК, значення рН, вміст органічної речовини, масова частка сухого залишку та етанолу, кількісне визначення сумарної масової частки ГК та мікробіологічна чистота.

За результатами аналізу кількісного та якісного вмісту біологічно активних речовин обґрунтовано використання спиртово-олійної екстракції, яка дає змогу за один технологічний цикл отримати олійний екстракт сапропелю (ОЕС). Розроблено технологічну схему виробництва екстракту з використанням 90% етанолу та кукурудзяної олії як екстрагентів, визначені критичні параметри і стадії, які контролюються.

Для ідентифікації природних пігментів в ОЕС запропоновано використовувати хімічні реакції, метод тонкошарової хроматографії (ТШХ) та абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці. Розроблена та валідована методика кількісного визначення суми природних пігментів та хлорофілу методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці спектра. За результатами визначення стабільності ОЕС встановлено термін придатності, який становить 2 роки при зберіганні у скляних флаконах з темного скла при температурі, що не перевищує +5°C.

На підставі результатів дослідження впливу концентрації гелеутворювача та ВЕС на фізико-хімічні та реологічні властивості експериментальних зразків гелів, і, враховуючи результати фармакологічних досліджень на моделі фотодинамічного запалення, запропоновано склад протизапального та ранозагоювального гелю для

лікування ран та опіків у 2-й фазі ранового процесу, що містить ВЕС (1:10) у кількості 15 %, карбопол марки Ultrez 10 1,0 % та воду очищену до 100,0. За результатами вивчення вологоутримувальної й осмотичної дії досліджуваних зразків обґрунтовано введення до складу гелю 10% гліцерину, а на підставі мікробіологічних досліджень – калію сорбату як консерванта в концентрації 0,2%. Опрацьовано технологію та складено технологічну схему виробництва гелю.

Відповідно до вимог ДФУ й отриманих фізико-хімічних та фармако-технологічних характеристик розроблено та обґрунтовано специфікацію на готовий ЛЗ «Сапрогель», яка містить такі показники якості: опис, ідентифікація, рН, маса вмісту пакування, мікробіологічна чистота, кількісне визначення. Розроблена методика ідентифікації ГК після вилучення з гелю лужним гідролізом з подальшим осадженням концентрованим розчином сульфатної кислоти за характерним темно-коричневим забарвленням. Розроблена та валідована методика кількісного визначення ГК у гелі. За результатами періодичного контролю якості гелю в процесі зберігання обрано термін придатності препарату – 2 роки при температурі, що не перевищує 25°C у захищеному від світла місці.

На підставі результатів комплексних органолептичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, біологічних та мікробіологічних досліджень обґрунтовано склад і технологію крему з ВЕС та ОЕС під умовною назвою «Сапрокрем» для профілактики та лікування тріщин сосків вимені у корів та шкірних захворювань великої рогатої худоби (ВРХ).

За результатами експериментальних досліджень з визначення впливу ВЕС на фізико-хімічні та реологічні властивості емульсійної основи обрано основу, що містить 15% кукурудзяної олії, 1% ЦСС та 6% емульгатора №1. Мікробіологічними дослідженнями обґрунтовано використання комплексу консервантів: еуксилу К 100 та нізину у концентрації 0,1 % і 0,01% відповідно.

На підставі результатів фармакологічних досліджень на моделі фотодинамічного запалення обрано концентрацію ВЕС та ОЕС у складі крему, яка становить 10 % і 15% відповідно.

За результатами реологічних та мікроскопічних досліджень обрано параметри технологічного процесу, розроблено технологічну схему виробництва крему під умовною назвою «Сапрокрем».

Опрацьовано методики ідентифікації в кремі з екстрактами сапропелю речовин каротиноїдної будови методом ТШХ порівняно зі стандартним розчином β -каротину, а хлорофілів – методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці. Розроблено та валідовано методику кількісного визначення сумарної масової частки ГК.

На всі екстракти та ЛЗ на їх основі розроблено проєкти ТР та МКЯ, які апробовано в умовах промислового виробництва.

За результатами вивчення протизапальної та репаративної активності на моделі експериментальної еритеми у мурчаків встановлено, що ОЕС та СЕС виявляють виражену протизапальну дію, сприяють грануляції і епітелізації ран за рахунок мембраностабілізуючої дії, а також наявності антимікробних властивостей.

Встановлено, що застосування «Сапрогелю» під час лікування повношарових вирізаних площинних ран у щурів скорочувало тривалість їх загоєння на 24,5%, що перебувало на рівні референс-зразка. Показано, що гель проявляв ранозагоювальну дію в усіх фазах процесу загоєння ран з найбільш вираженим ефектом у II і III фазах на відміну від референс-зразка. За дії препарату «Сапрогель» у щурів з повношаровими вирізаними площинними ранами в сироватці крові зменшується вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та нормалізується активність ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КАТ), що свідчить про те, що одним із механізмів ранозагоювальної дії сапропелю є його антиоксидантні властивості.

У результаті дослідження протизапальної та ранозагоювальної дії крему із ВЕС та ОЕС і гелю із ВЕС на моделі УФ-еритеми у щурів встановлено, що препарати володіють вираженими протизапальними властивостями, знижують інтенсивність гострого фотодинамічного запалення і скорочують терміни лікування.

У результаті токсико-біологічної оцінки впливу сапропелю встановлено, що курсове 6-разове зовнішнє застосування сапропелю родовища Прибич не чинить токсичного впливу на функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) та імунну систему дослідних щурів.

Результати дослідження впливу тридцятиденного уведення ВЕС на основні біохімічні та гематологічні показники крові клінічно здорових щурів свідчать про те, що застосування ВЕС не впливає на функціональний стан нирок і енергетичний метаболізм у м'язовій тканині, не спричиняє гепатотоксичного ефекту та порушень остеосинтезу, а також володіє антиоксидантними, імуностимулювальними властивостями і стимулює ліпідний обмін в організмі. Гематологічні дослідження свідчать, що ВЕС не володіє токсичною або алергенною дією, не зумовлює порушень в імунному статусі та системі кровотворення організму.

Дослідження гострої токсичності при нашкодному нанесенні показали що ВЕС, СЕС та ОЕС; сапропаста; препарати «Сапрогель» та крем «Сапрокрем» належать до класу малотоксичних речовин (IV клас токсичності); відповідно до загальноприйнятої класифікації К. К. Сидорова. Препарати не виявляють сенсibiliзуювальних і місцевопоздражнювальних властивостей.

Клінічне випробування крему з екстрактами сапропелю «Сапрокрем» довело ефективність та безпечність його використання при загоєнні мікротравм, ерозій та тріщин (ран) дійок вимені корів.

Ключові слова: сапропель, сапропаста, піномийний антибактеріальний засіб із сапропастою, водний екстракт сапропелю, олійний екстракт сапропелю, гель, крем, фармацевтична розробка, стандартизація.

Список публікацій здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

Статті у наукових фахових виданнях

1. Струс О. Є., Половко Н. П., Малоштан Л. М., Яценко Е. Ю. Дослідження протизапальних та репаративних властивостей екстрактів сапропелю родовища Прибич. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2014.

Вип. 23, кн. 4. С. 392–398. *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

2. Струс О. Є., Половко Н. П., Малоштан Л. М., Осолодченко Т. П. Дослідження властивостей сапропелю родовища Прибич. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології* : зб. наук. пр. 2014. № 3(123). С. 169–173. *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

3. Струс О. Є. Дослідження карбонових кислот сапропелю методом хромато-мас-спектроскопії. *Збірник наукових праць НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24(5). С. 228–233.

4. Струс О. Є. Дослідження амінокислотного складу сапропелю методом капілярного електрофорезу. *Вісник фармації*. 2015. № 2 (82). С. 12–16.

5. Струс О. Є. Маркетингові дослідження лікарських та косметичних засобів на основі лікувальних грязей (пелоїдів). *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2015. № 1(39). С. 59–67.

6. Струс О. Є., Половко Н. П. Дослідження технологічних властивостей сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24, кн. 4. С. 336–340. *(Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

7. Strus O. Y. Study of sapropel extracts from Prybych natural deposits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015. № 7(6). P. 133–137.

8. Струс О. Є., Половко Н. П. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 26. С. 266–271. *(Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

9. Струс О. Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою. *Вісник фармації*. 2016. № 3 (87). С. 51–54. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

10. Струс О. Є., Половко Н. П., Філіпська А. М., Рехлецька О. В. Розробка складу і технології мила з сапропелем. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 35–41. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

11. Струс О. Є. Аналіз досвіду використання сапропелів у медицині та косметології. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2018. Т. 13, № 4. С. 77–88.

12. Strus O. Y., Polovko N. P., Smetanina K. I. Marketing aspects of the development of veterinary preparations based on peloids and products of their processing. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2019. Т. 5, № 2. С. 75-84. (Особистий внесок: формулювання мети, узагальнення даних, підготовка публікації).

13. Strus O., Polovko N. Study of the sapropel extract influence on the main biochemical and hematological blood indices of rats. *The Pharma Innovation*. 2019. № 8 (7). P. 47–52. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

14. Strus O., Polovko N., Ostapiv D., Kuzmina N. Study of the toxicity of drugs with sapropel extracts and the testing of the cream effectiveness. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. № 32. P. 37–42. (Особистий внесок : формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

15. Струс О. Є., Половко Н. П. Методологія розробки та стандартизації лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів

його переробки. *Клінічна фармація*. 2019. Т. 23, № 4. С. 52–62. (Особистий внесок: формулювання мети, узагальнення даних, підготовка публікації).

16. Strus O. Y., Polovko N. P., Shatalova O. M. Study of Anti-Inflammatory Activity of Creams with Saproel Extract. *Saudi J. Med. Pharm. Sci.* 2019. № 5(8). P. 740–744. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

17. Струс О.Є., Половко Н.П., Стрельников Л.С. Вивчення ефективності антимікробних консервантів у гелях з екстрактом сапропелю. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. №4(61). С. 4 – 8. URL: <https://doi.org/10.24959/ubphj.19.240>. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

18. Strus O., Polovko N., Plaskonis Y. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147 – 150. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

19. Strus O. Y., Polovko N. P., Yezerska O. Y. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

20. Strus O. Y. Justification of composition of the cream with sapropel extract. *International Journal of Green Pharmacy*. 2019. № 13(1). P. 42–47.

21. Strus O., Polovko N., Maloshtan L., Shakina L. Study of anti-inflammatory activity of medicinal products with sapropel extract on the model of acute photodynamic skin injury in rats'. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2020. Vol. 13, № 9. P. 4381–4386. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

22. Струс О. Є. Исследования по разработке масляных экстрактов сапропеля. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 50–58.

23. Strus O., Polovko N. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. № 9(3). P. 209–224. *(Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації)*.

24. Strus O., Polovko N. The influence of «Saprogel» in the wound healing process on rats with a full-thickness wound model. *Čes. slov. Farm.* 2020. № 69. P. 75–82. *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації)*.

25. Strus O., Polovko N. Intensity Of Protein Oxidative Modification's Processes In The Dynamics Of A Full Thickness Wound Healing In Pharmacotherapy By Gel With Sapropel Extract. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2020. № 11 (3). P. 73–81. URL: <https://doi.org/10.33887/rjpbcs/2020.11.3.8> (Date of access: 25.08.2020) *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації)*.

Патенти

26. Косметична сапропелева маска : пат. (на винахід) 114262 Україна. № а 2016 07575 ; заявл. 11.07.2016; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9, 8 с. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, розробка складу і технології сапропасти та масок, підготовка формули та опису до патенту)*.

27. Лікувально–профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин : пат. (на винахід) 121449 Україна. № 201906003 ;заяв. 31.05.2019; опубл. 25.05.2020, бюл. № 10, 4 с. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, розробка складу і технології препарату, підготовка формули та опису до патенту)*.

28. Косметична сапропелева маска : пат. (на корисну модель) 113942 Україна. № у 201607573; заявл. 11.07.2016; опубл. 27.02.2017, бюл. № 4, 6 с. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, розробка складу і технології сапропасти та масок, підготовка формули та опису до патенту).*

29. Піномийний засіб «Антибактерійне мило з сапропелем» пат. (на корисну модель) 127142 Україна. № у 2017 09363; заявл. 25.09.2017; опубл. 25.07.2018, бюл. № 14, 4 с. *(Особистий внесок : планування патентного пошуку, розробка складу і технології піномийного антибактерійного засобу із сапропелем, підготовка формули та опису до патенту).*

30. Лікувально-профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин: пат. (на корисну модель) 138026 Україна. № у 2019 06004; заяв. 31.05.2019; опубл. 11.11.2019, бюл. № 21, 4 с. *(Особистий внесок : планування патентного пошуку, розробка складу і технології препарату, підготовка формули та опису до патенту).*

31. Протизапальний засіб у вигляді гелю з екстрактом сапропелю : пат. (на корисну модель) 139685 Україна. № у 201907612; заявл. 08.07.2019; опубл. 10.01.2020, бюл. № 1, 4 с. *(Особистий внесок : планування патентного пошуку, розробка складу і технології препарату, підготовка формули та опису до патенту).*

Публікації в інших виданнях

32. Струс О. К вопросу о стандартизации сапропеля. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции* : сб. науч. тр. 2015. Вып. 70. С. 189-193.

33. Струс О. Е., Половко Н. П. Современное состояние и перспективы использования сапропелей и их препаратов в ветеринарной практике. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality : scientific proceedings of the international network AgroBioNet of the institution and researcher of international research, education and development programme «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality»*. Part II. Nitra, 2015. P. 633–636. *(Особистий внесок:*

формулювання мети, проведення літературного пошуку, узагальнення отриманих результатів, участь у підготовці публікації).

34. Струс О. Є., Половко Н. П. Визначення гематологічних показників крові щурів при дослідженні показників токсичності екстракту сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : вид-во НФаУ, 2016. С. 582–585. *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

35. Струс О. Є., Стрілець О. П., Половко Н. П. Дослідження антимікробної активності мила з сапропелем. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук.пр. 2017. Вип. 2. С. 186–188. *(Особистий внесок : формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

36. Strus O., Babov K., Gushcha S., Polovko N., Nasibullin B., Polshchakova T. Toxicological and biological assessment of the effect of sapropel of the Prybych lake during cutaneous application in rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020. № 10. 8(A). P. 633-638. URL: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.4743> (Date of access: 07.11.2020). *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

37. Babov K., Gushcha S., Koieva K., Strus O., Nasibulin B., Dmitrieva G., Arabadji M., Plakida A. Comparative assessment of biological activity of peloids of Ukraine of different genesis. *Balneo Research Journal*. 2020. Vol.11, No. 4. P. 467–471 DOI:<http://dx.doi.org/10.12680/balneo.2020.380>. *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

Тези доповідей

38. Струс О. Є., Коноваленко І. С. Перспективи використання сапропелю Шацьких озер. *Теоретичні і практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали 1-ї наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 20-21 берез. 2014 р. Харків, 2014. С. 158. (Особистий внесок: формулювання мети, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

39. Strus O. Y., Konovalenko I. S., Polovko N .P. Research sapropel's property in medicine. *Plantsin Pharmacy&Nutrition: the Intern. Young Scientists Symp.*, Wrocław, 30 maja 2014. Wrocław, 2014. P. 117. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

40. Strus O. Y., Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research sapropel's property of the pribich. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали XXI міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, м. Харків, 22-23 квіт. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 93. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

41. Струс О. Є. Визначення токсичності сапропелю. *Актуальні питання розвитку медичних наук у XXI ст.* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Львів, 30-31 трав. 2014 р. Львів, 2014. С. 91-94.

42. Струс О. Є. Фармакологічне обґрунтування перспектив використання сапропелю, видобутого з озера Прибич Шацького району Волинської області, в медицині та косметології. *Пріоритети розвитку медичних наук у XXI столітті* : матеріали Міжнар. наук.–практ. конф., м. Одеса, 18–19 квіт. 2014 р. Одеса, 2014. С. 19-24.

43. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Дослідження хімічного складу сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : матеріали IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16-17 жовт. 2014 р. Харків, 2014. С. 283. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

44. Струс О.Є., Половко Н.П. Дослідження ринку косметичних засобів на основі сапропелю. *Хімія, Біотехнології, Нанотехнології, Екологія і Економіка в харчовій і косметичній промисловості*: матер. Міжнар. научно-практ. конф.; м. Харків, 8-10 грудня 2014 р. Харків, 2014. С. 112-114. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

45. Струс О.Є., Половко Н.П., Коноваленко І.С. Маркетингові дослідження лікарських засобів на основі лікувальних грязей та грязеподібних речовин *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матер. І Міжнар. наук.-практ. інтернет - конф., м. Харків, 7-8 листопада 2014 р. Харків, 2014. С. 163. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

46. Strus O. Y., Polovko N. P. Study of antibacterial activity of sapropel extract from Prybych deposits. *Looking towards the future, honoring the past: abstract book of 3rd International conference on pharmaceutical sciences*, Tbilisi, May 29–31 2015. Tbilisi, 2015. P. 152. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

47. Струс О. Є., Половко Н. П. Стандартизація водного екстракту сапропелю. *Аналітична хімія у фармації*: матеріали Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 19-20 берез. 2015. Харків, 2015. С. 102-103. (*Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

48. Струс О. Є., Половко Н. П. Обґрунтування складу косметичних засобів на основі сапропелю родовища Прибич Шацьких озер. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 20–21 лют. 2015 р. Одеса, 2015. С. 10–13. (*Особистий внесок: формулювання мети, участь у проведенні експерименту, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

49. Konovalenko I. S., Procopets S. V., Strus O. E., Polovko N.P. Sapropel - The perspective raw material for medicines and cosmetics. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матер. Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 23 квітня 2015 р. Харків, 2015. С. 199. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

50. Струс О. Е., Половко Н. П. Изучение фракционного состава сапропеля. *Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику : материалы 10 науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междунар. участием, г. Душанбе, 24 апр. 2015. Душанбе, 2015. С. 362–363. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

51. Струс О.Е., Прокопец С.Ю., Половко Н.П. Изучение технологических свойств сапропеля. *Студенческая медицинская наука XXI века: материалы 67 научно-практической конференции ВГМУ, г. Витебск, 24-25 апреля 2016 г. Витебск, 2016. С. 67. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

52. Струс О. Е., Половко Н. П. Визначення загальних показників хімічного складу та мікроелементів сапропелю родовища Прибич. *Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13-14 берез. 2015 р. Дніпропетровськ, 2015. С. 96 – 100. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

53. Струс О. Е., Половко Н. П. Изучение влияния метода и скорости эмульгирования на стабильность крема с экстрактом сапропеля. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации : материалы респуб. науч.–практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 379 – 381. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

54. Струс О. Є., Половко Н. П. Опрацювання технології крему з екстрактом сапропелю. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 6-ої наук.–практ.конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 157. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

55. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Обґрунтування введення консерванту в крем з екстрактом сапропелю. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали 2-ої Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. Харків, 2016. С.232. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

56. Струс О. Є., Половко Н. П. Розробка складу основи крему з екстрактом сапропелю. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку*: матеріали 1-ої наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24–25 берез. 2016 р. Харків, 2016. С.84. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

57 Струс, О. Є. Розробка складу крему із екстрактом сапропелю. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13 – 16 верес. 2016 р. Харків, 2016. С. 283. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

58. Струс О. Е. Использование средств на основе пеллоидов в ветеринарной фармации. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации*: материалы респуб. науч.-практ. конф. с междунар. участием, г. Ташкент, 17-18 ноября 2017 г. Ташкент, 2017. С. 155 – 156. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).

ANNOTATION

Strus O.Y. Theoretical and experimental substantiation of complex use of sapropels for creating medical, veterinary and cosmetic remedies. – Qualifying scientific work is a manuscript copyright.

Doctoral dissertation of a Doctor of Pharmaceutical Sciences degree by specialty 15.00.01 «Drug Technology, Organization of Pharmacy and Forensic Pharmacy». – Danylo Halytsky Lviv National Medical University of Ministry of Healthcare of Ukraine», Lviv, 2021.

The dissertation is devoted to the study of the chemical composition and properties of natural organo-mineral raw materials – sapropels from Ukrainian deposits; the theoretical and experimental substantiation of the composition, technology and quality control methods of prospective medical, veterinary and cosmetic remedies with sapropel processing products of antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory and wound healing action.

It was analyzed and summarized the current data on the world natural healing resources used for the prevention and treatment of a number of diseases and medical rehabilitation. The chemical composition and properties of sapropels were analyzed.

It was found that sapropels contain carotene, chlorophyll, xanthophylls, sterols, organic acids, alcohols, hormone-like substances, enzymes, B vitamins (B₁, B₂, B₆, B₁₂), C, E, P and others. The main group of biologically active substances of sapropels are humic acids, which content ranges from 4-9 to 50-60% of the organic matter content. These biologically active substances have anti-inflammatory, wound-healing, antioxidant, immunostimulatory, antimicrobial, antiviral and others properties.

It was established that according to the information resource "Mineral Resources of Ukraine" as of January 2019 there were 308 sapropel deposits with reserves of over 88 million tons in Volyn, Sumy, Rivne, Kharkiv, Kyiv, Chernihiv regions, and the research work on studying sapropels, development of medical, therapeutic and prophylactic

remedies on their basis is practically not conducted and, as a result, today sapropels in Ukraine are not studied and not used in spa treatment, health and other spheres.

The methodology for complex sapropel processing to create drugs is proposed. It includes information-retrieval, research and biological blocks, which, in turn, consist of successive stages that are interrelated and complement each other. The general algorithm of research on pharmaceutical development of medical, veterinary and cosmetic preparations based on sapropel and its processing products was formed and substantiated.

As a result of studying the main physicochemical parameters and chemical composition of sapropel from Prybych deposit, as the most prospective of the deposits in Ukraine, it was found that sapropel belongs to freshwater non-sulfide low-ash peloids of organic type, contains macronutrients - sulfur and calcium in the number of 0.014% and 91.75% respectively, micronutrients Si, Cr, Fe, Co, Zn - 0.011%, 0.659; 7.384; 0.114 and 0.067%, respectively; all indispensable (isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan and valine), semi-indispensable (histidine, arginine) and dispensable amino acids (alanine, glycine, proline and serine), among which alanine, glycine, leucine, and isoleucine predominate; among identified carbonic acids, the largest amount is azelaic (3217.28 mg / kg), octadecarboxylic (1260.61 mg / kg) and levulinic acid (1154.52 mg / kg). Sapropel contains 76.63% of organic matter in terms of dry matter, including protein, fat, fiber (21.1; 1.5; 14.3%, respectively, in terms of dry matter).

According to the main physico-chemical parameters (mass fraction of moisture, the pH value, redox potential (Eh), H₂S content, volumetric weight, shear stress, stickiness, the presence of particles with a diameter of more than 0.25 mm, specific heat, ash content, Corg in terms of dry matter) the bottom sediments of Lake Prybych meet the requirements for sapropel peloids, except for the value of mass fraction of moisture, which requires the preparation for the supply of medical procedures and can be brought/introduced before the use to the relevant standards by partial dehydration within acceptable humidity (60 – 90%) or self-sealing under the action of its own weight during storage in pools up to 3 m deep.

For the purpose of the use in balneology, cosmetology and as a source of biologically active substances, sapropel was standardized by appearance, color, odor, consistency, hydrogen pH value, mass fraction of moisture, organic matter content in terms of dry matter, the presence of particles larger than 0.01 mm, shear stress and microbiological parameters.

From dried sapropel (humidity of 60%) and purified water with the use of industrial installation - the dispersant (cavitator) DES 350/4000 (Ukraine) at the rate of 3000 rev/min during 30 min at the temperature of $(50 \pm 5)^\circ \text{C}$ and at 1 atm the sapropaste was received, which has high plastic and adhesive properties. It was determined that sapropaste is a homogeneous paste-like plastic mass of dark brown color with a specific soil odor, the pH value of which is within the physiologically acceptable norms for therapeutic and prophylactic preparations for cutaneous application. Unlike sapropel, paste begins to thin at a lower shear stress (60 Pa compared to almost 300 Pa for sapropel), which will contribute to better application of sapropaste on the skin.

Based on the research, the sapropaste was standardized by organoleptic parameters, the pH value, mass fraction of moisture, organic matter content in terms of dry matter, the presence of particles larger than 0.25 mm, shear stress and microbiological parameters.

To prevent microbial contamination and ensure the stability of sapropaste during storage, the use of preservative mixture - Nisin and Euksyl K 100 was justified by microbiological studies. The combination of these preservatives provides a synergistic effect of antimicrobial action in relation to the test – strains of bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*) and protection against fungi of the genus *Candida albicans*.

According to the research results of organoleptic and physicochemical, pharmacotechnological and microbiological parameters of sapropaste during storage at different temperatures for months, the shelf life was set at 2 years.

On the basis of the sapropel research from Prybych deposit and its processing products TSU 20.1-2870305538-004 : 2016 «Natural cosmetic sapropels and their products» were developed and approved.

The base composition of solid antibacterial soap with sapropaste, containing palm and coconut oils, corn, castor oil and argan oil as a fatty substance, was developed. Based on the research results of antimicrobial activity, it was found that the sample with 10% sapropaste has more antimicrobial activity in relation to all studied test-cultures. According to the research results of the influence of technical production parameters on the qualitative indicators of soap, a technological scheme of soap production with sapropaste and the main critical parameters of its production were developed. The technology of the foaming agent has been tested in the industrial conditions.

As a result of research, it was found that soap with 10% sapropaste meets the current normative documentation (ND) by qualitative number indicators (mass of fatty acids in terms of nominal weight of 100 g), mass fraction of soda products in terms of Na_2O and mass fraction of sodium chloride. The stability of the developed product during storage for 27 months at the temperature of $(25 \pm 2)^\circ \text{C}$ in a place protected from light was experimentally proved, which allowed to recommend the 2 -year shelf life.

The technology of obtaining aqueous sapropel extract (AqSE) was improved. It was established that dispersing by the cavitator DES 350/4000 at the rate of 3000 rev/min during 60 min at the temperature of $50\text{--}60^\circ \text{C}$ and an excess pressure of 1 atm improves the interaction of sodium hydroxide with sapropel and increases the content of humic acids in the extract by almost 9%. The technological scheme of obtaining the extract was developed. The critical parameters of the technological process were determined. The methodology for quantitative determination of the total mass fraction of humic acids in AqSE, based on I.V. Tyurin's method in B.A. Nikitin's modification and titration with Mora salt, was developed and validated. The properties were studied and the AqSE was standardized according to the following indicators: description, hydrogen index (the pH value), mass fraction of dry residue, organic matter content, identification and quantitative content of humic acids, microbiological purity, which are included in TSU 20.1-2870305538-004: 2016 "Natural cosmetic sapropels and their products". According to the research results of the AqSE quality indicators during storage the shelf life was set 2 years in dark glass bottles at the temperature not exceeding 25°C .

Alcohol sapropel extract (ASE) was obtained and investigated, in which 19 compounds were identified by the chromatography–mass spectrometry method, including 11 fatty acids, mostly palmitic (97.33 mg / kg) and behenic (57.05 mg / kg) acids ; and 8 organic acids, including pyruvic (83.83 mg / kg) and *p*-coumaric acid (76.27 mg / kg). The ASE was standardized by such indicators: description, identification of humic acids, the pH value, organic matter content in terms of dry matter, mass fraction of dry residue and ethanol, quantification of the total mass fraction of humic acids and microbiological purity.

In accordance with the analysis results of the quantitative and qualitative content of biologically active substances, the use of alcohol-oil extraction was substantiated, which allows to obtain oil sapropel extract (OSE) in one technological cycle. The technological scheme of extract production using 90% of ethanol and corn oil as extractants was developed, the critical parameters and controlled stages were defined.

To identify natural pigments in OSE, it is proposed to use chemical reactions, thin-layer chromatography (TLC) method and absorption spectrophotometry in the visible area. The methodology for quantitative determination of the sum of natural pigments and chlorophyll by the absorption spectrophotometry method in the visible part of the spectrum using acetone and hexane has been developed and validated. According to the results of determining the OSE stability, the shelf life was set at 2 years during storage in dark glass bottles at the temperature not exceeding + 5 ° C.

Based on the research results of the concentration effect of gelling agent and the AqSE on the physicochemical and rheological properties of experimental gel samples, considering the results of pharmacological studies on the photodynamic inflammation model, it was proposed the composition of anti-inflammatory and wound healing gel for the treatment of wounds and burns in phase 2 of the wound process containing the AqSE (1:10) in the amount of 15%, 1.0% Carbopol Ultrez 10 and purified water up to 100.0. According to the results of studying the moisture-retaining and osmotic action of the studied samples, the introduction of 10% Glycerin into gel was substantiated, and on the basis of microbiological studies - Potassium Sorbate as a preservative in the concentration

of 0.2%. The technology was developed and the block diagram of the technological process of gel production was worked out.

In obedience to the requirements of SPhU and the obtained physicochemical and pharmaco-technological characteristics, it was developed and substantiated the specification for the prepared dosage form (DF) "Saprogel" including the following quality indicators: description, identification, the pH value, weight of package content, microbiological purity, quantitative determination. The methodology for the identification of humic acids (HA) after extraction from gel by alkaline hydrolysis followed by precipitation with concentrated sulfuric acid solution by a characteristic dark brown color has been developed. The methodology for quantitative determination of the HAs in gel has been developed and validated. According to the periodic quality control results of gel during storage, the 2-year shelf life of the drug was chosen at the temperature not exceeding 25 ° C in a light-protected place.

On the basis of the results of complex organoleptic, physicochemical, pharmaco-technological, biological and microbiological studies, the composition and technology of the AqSE and OSE cream under the conditional name "Saprocream" for the prevention and treatment of cracked nipples in cows and skin diseases of cattle were substantiated.

According to the experimental research results to determine the effect of the AqSE on physicochemical and rheological properties of emulsion base, the base containing 15% corn oil, 1% Cetyl Stearyl Alkohol (CSA) and 6% emulsifier №1 was selected. By the microbiological studies the use of preservative complex: Euksyl K 100 and Nisin in the concentration of 0.1% and 0.01%, respectively was substantiated.

Based on the results of pharmacological studies on the photodynamic inflammation model, the concentration of the AqSE and OSE in the cream content, which is 10 and 15%, respectively, was chosen.

By the results of rheological and microscopic studies, the technological process parameters were selected, the technological scheme of cream production under the conditional name "Saprocream" was developed.

The methodologies for carotenoid substance identification in cream with sapropel extracts by the TLC method in comparison with the standard solution of β -carotene and

chlorophylls - by the absorption spectrophotometry method in the visible area have been developed. The methodology for quantitative determination of the total mass fraction of the HAs has been developed and validated.

For all extracts and the DFs on their basis the projects of the technical specifications(TS); and quality control methods (QCM) tested in production conditions were developed

Analysis of the obtained results of studying the anti-inflammatory and the reparative activity of the OSE, the ASE and the comparison drug on the model of experimental erythema in ants allows us to conclude that OSE and ASE have a pronounced anti-inflammatory effect, promote granulation and epithelialization of wounds due to membrane stabilizing action and antimicrobial properties.

It was determined that the use of «Saprogel» for the treatment of full-thickness excision wounds in rats reduced their healing duration by 24.5%, which was at the level of the comparator product. It was evidenced that the gel showed a wound-healing effect in all phases of the wound healing process with the most pronounced effect in phases II and III in contrast to the comparator product. By the action of «Saprogel» in rats with full-thickness excision wounds, the content of Lipid peroxidation products in the serum was reduced and the activity of antioxidant protection enzymes - superoxide dismutase and catalase was normalized, which indicates that one of wound healing mechanisms of saprogel is its antioxidant properties.

As a result of the study of anti-inflammatory and wound-healing action of the cream from the AqSE and the OSE and the gel from the AqSE on the ultraviolet-radiation induced (UVR) erythema model in rats, it was found that the drugs have pronounced anti-inflammatory properties, allow to reduce the intensity of acute photodynamic inflammation and shorten the treatment period.

Taking into account the toxico-biological saprogel impact assessments, it was found that 6-time course external application of sapropels from Prybych deposits does not have a toxic effect on the functional state of the central nervous system and immune system of experimental rats.

The research results of the thirty-day input effect of the AqSE on the main biochemical and hematological blood parameters of clinically healthy rats indicated that the use of AqSE does not affect renal function and energy metabolism in muscle tissue, does not cause hepatotoxic effects and osteosynthesis, and has antioxidant and immunostimulatory properties and stimulates lipid metabolism in the body.

Hematological studies revealed that the investigated AqSE does not have a toxic or allergenic effect, does not cause disorders in the immune status and hematopoietic system of the body.

Acute dermal toxicity studies have shown that AqSE, ASE and OSE4; sapropaste; gel «Saprogel» and cream «Saprocream» belong to the class of low-toxic substances (toxicity class IV) according to the generally accepted classification of K.K. Sydorov.

It is experimentally determined that the investigated drugs do not show sensitizing and local irritant properties.

The clinical trial of cream with sapropel extracts "Saprocream" proved the effectiveness and safety of its use in healing from microtraumas, erosions and cracks (wounds) of cow udders.

Key words: sapropel, sapropaste, foaming antibacterial agent with sapropaste, aqueous sapropel extract, oil sapropel extract, gel, cream, pharmaceutical development, standardization.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ЗМІСТ	28
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	33
ВСТУП.....	36
РОЗДІЛ 1. ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ САПРОПЕЛЮ І	
ПРОДУКТІВ ЙОГО ПЕРЕРОБКИ У МЕДИЦИНІ, ФАРМАЦІЇ ТА	
ВЕТЕРИНАРІЇ (Огляд літератури).....	
1.1. Загальна характеристика пелоїдів	47
1.2. Походження сапропелю. Склад, властивості та класифікація	
сапропелю	53
1.3. Історичний аспект дослідження сапропелів.....	62
1.4. Сфери використання сапропелю та продуктів його переробки	65
1.4.1. Застосування сапропелю в галузі охорони здоров'я.....	69
1.4.2. Аналіз асортименту лікарських і косметичних засобів на	
основі лікувальних грязей та продуктів їх переробки	73
1.4.3. Застосування сапропелю у ветеринарії.....	80
1.4.4. Характеристика та біологічна активність гумусових речовин .	85
1.4.5. Аналіз методів отримання екстрактів сапропелю	91
Висновки до розділу 1	98
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ СТВОРЕННЯ	
ЛІКАРСЬКИХ, ВЕТЕРИНАРНИХ ТА КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ НА	
ОСНОВІ САПРОПЕЛІВ ТА ПРОДУКТІВ ЙОГО ПЕРЕРОБКИ.	
ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	101
2.1. Обґрунтування загальної методології досліджень	101
2.2. Характеристика об'єктів дослідження	107
2.2.1. Характеристика діючих речовин.....	107
2.2.2. Характеристика допоміжних речовин	109
2.3. Методи досліджень	111
2.3.1. Методи аналізу сапропелю та сапропасти	111

2.3.2. Фізичні, фізико-хімічні та фармакотехнологічні методи досліджень м'яких лікарських форм	119
2.3.3. Фізичні, фізико-хімічні методи досліджень твердого піномийного засобу «Антибактеріальне мило з сапропелем».	122
2.3.4. Фізичні, фізико-хімічні та фармакотехнологічні методи досліджень водного та олійного екстрактів сапропелю	124
2.3.5. Методи ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних речовин.....	126
2.3.6. Біологічні методи досліджень	135
Висновки до розділу 2	147
РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ САПРОПЕЛІВ РОДОВИЩ УКРАЇНИ	149
3.1. Дослідження складу та фізико-хімічних властивостей сапропелів	150
3.1.1. Дослідження загальних показників хімічного складу сапропелю.....	159
3.1.2. Дослідження макро- та мікроелементного складу сапропелю..	159
3.1.3. Дослідження амінокислотного складу сапропелю.....	161
3.1.4. Дослідження вмісту карбонових кислот сапропелю.....	162
3.2. Дослідження технологічних властивостей сапропелю	165
3.3. Дослідження антимікробних властивостей сапропелю	167
3.4. Дослідження впливу сапропелю на імунну та центральну нервову систему за нашкірного застосування сапропелю	168
Висновки до розділу 3	173
РОЗДІЛ 4. НАУКОВО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ ІЗ САПРОПЕЛЕМ	177
4.1. Отримання та дослідження сапропасти	178
4.2. Обґрунтування вибору консерванта у складі сапропасти	181
4.3. Стандартизація сапропелю і сапропасти	183
4.4. Розробка технології отримання сапропасти.....	187
4.5. Вивчення мікробіологічної чистоти сапропасти.....	192

4.6. Розробка складу і технології антибактеріального мила з сапропелем.	194
4.6.1. Обґрунтування складу та розрахунок компонентів основи мила...	196
4.6.2. Обґрунтування вибору технології основи мила	204
4.6.3. Обґрунтування концентрації сапропасти	209
4.6.4. Розробка технології піномийного антибактеріального мила з сапропастою	210
4.6.5. Дослідження показників якості та стабільності в процесі зберігання піномийного засобу з сапропастою	214
Висновки до розділу 4	218
РОЗДІЛ 5. НАУКОВО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАКТІВ САПРОПЕЛЮ	
5.1 Отримання та дослідження водного екстракту сапропелю	221
5.2. Стандартизація водного екстракту сапропелю	227
5.3. Отримання та дослідження спиртового екстракту сапропелю	234
5.4. Стандартизація спиртового екстракту сапропелю	236
5.5. Отримання та дослідження олійного екстракту сапропелю	237
5.6. Стандартизація олійного екстракту сапропелю	246
5.7. Дослідження біологічних властивостей екстрактів сапропелів	256
Висновки до розділу 5	268
РОЗДІЛ 6. НАУКОВО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКАРСЬКОГО ТА ВЕТЕРИНАРНОГО ЗАСОБІВ З ЕКСТРАКТАМИ САПРОПЕЛЮ	
6.1. Теоретичне обґрунтування актуальності фармацевтичної розробки дерматотропного засобу з екстрактом сапропелю	272
6.2. Розробка складу лікарського засобу з екстрактом сапропелю у формі гелю	276
6.2.1. Розробка складу гелевої основи	276

6.2.2. Фармакологічне обґрунтування концентрації водного екстракту сапропелю у складі гелю	281
6.2.3. Обґрунтування вибору консерванта у складі гелю	283
6.2.4. Експериментальне обґрунтування введення неводних гідрофільних розчинників до складу гелевої основи.....	288
6.3. Розробка технології гелю з екстрактом сапропелю.....	293
6.4. Дослідження показників якості та стабільності в процесі зберігання гелю	297
6.5. Теоретичне обґрунтування актуальності фармацевтичної розробки ветеринарного засобу з екстрактами сапропелю у формі крему	306
6.6. Розробка складу і технології ветеринарного засобу з екстрактами сапропелю у формі крему.....	309
6.6.1. Розробка складу крему з екстрактами сапропелю.....	310
6.6.2. Дослідження з вибору концентрації активних фармацевтичних інгредієнтів	318
6.6.3. Фармакологічне обґрунтування концентрації екстрактів сапропелю у складі крему	320
6.6.4. Обґрунтування вибору консерванта у складі крему з екстрактами сапропелю.....	321
6.6.5. Розробка технології крему з екстрактами сапропелю.....	324
6.7. Дослідження показників якості крему з екстрактами сапропелю та його стабільності в процесі зберігання.....	334
6.7.1. Опрацювання методів ідентифікації й кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів препарату	336
6.7.2. Контроль мікробіологічної чистоти.....	340
6.7.3 Вивчення стабільності крему в процесі зберігання.....	342
Висновки до розділу 6	347

РОЗДІЛ 7. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ М'ЯКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ З ЕКСТРАКТАМИ САПРОПЕЛЮ	351
7.1. Дослідження протизапальної та ранозагоювальної дії гелю з екстрактом сапропелю на моделі площинно-вирізаних ран у щурів.....	351
7.2.1. Дослідження антиоксидантних властивостей гелю з водним екстрактом сапропелю.....	355
7.2. Дослідження протизапальної та ранозагоювальної дії крему та гелю з екстрактом сапропелю на моделі ультрафіолетової еритеми у щурів.....	366
7.3. Дослідження показників токсичності м'яких лікарських форм з екстрактами сапропелю та сапропасти	371
7.3.1. Оцінка гострої токсичності сапропасти	373
7.3.2. Дослідження показників токсичності м'яких лікарських форм з екстрактами сапропелю	375
7.3.3. Вивчення місцевоподразнювальної та сенсibilізувальної дії гелю та крему з екстрактами сапропелю.....	379
7.4. Клінічні випробування крему з екстрактами сапропелю.....	380
Висновки до розділу 7	381
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	385
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	389
ДОДАТКИ.....	433

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛТ	– аланінамінотрансфераза
АО	– антиоксидант
АСТ	– аспартатамінотрансфераза
АФІ	– активний фармацевтичний інгредієнт
АФО	– активні форми кисню
БАР	– біологічно активна речовина
БрФ	– Британська фармакопея (British Pharmacopoeia)
ВЕС	– водний екстракт сапропелю
ВЗ	– ветеринарний засіб
ВМ	– ветеринарна медицина
ВРХ	– велика рогата худоба
ГА	– гетерофільні антитіла
ГГТ	– гамма-глутамілітранспептидаза
ГК	– гумінові кислоти
ГПО	– глутатіонпероксидаза
ГР	– гумінові (гумусові) речовини
ДК	– дієнові кон'югати
ДР	– допоміжні речовини
ДУ УНДІ МР та К МОЗУ	– Державна установа «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології Міністерства охорони здоров'я України»
ДФУ	– Державна фармакопея України
ДФУ 1.0	– Державна фармакопея України, 1-е видання
ДФУ 2.0	– Державна фармакопея України, 2-е видання
ДФЦ МОЗ України	– Державний фармакопейний центр Міністерства охорони здоров'я України
ЖК	– жирні кислоти
ЗВО	– заклад вищої освіти

ЕА	– емоційна активність
ЕС	– екстракт сапропелю
КАТ	– каталаза
КЗ	– косметичний засіб
КК	– креатинкіназа
КУО	– колонієутворювальна одиниця
КЧ	– кислотне число
ЛД ₅₀	– середньо-смертельна доза
ЛДГ	– лактатдегідрогеназа
ЛЗ	– лікарський засіб
МКЯ	– методики контролю якості
МЛЗ	– м'які лікарські засоби
МЛФ	– м'які лікарські форми
МС	– механічна стабільність
МЧ	– масова частка
НААН	– Національна академія аграрних наук
НГР	– неводний гідрофільний розчинник
НД	– нормативна документація
ОДП	– орієнтувально-дослідницька поведінка
ОЕС	– олійний екстракт сапропелю
ПАР	– поверхнево активна речовина
ПЕГ	– поліетиленгліколь
ПП	– препарати пелоїдів
РА	– рухова активність
РПА	– роторно-пульсаційний апарат
СВ РАМН	– Сибірське відділення Російської академії медичних наук
СДГ	– сукцинатдегідрогеназа
СЕС	– спиртовий екстракт сапропелю
СОД	– супероксиддисмутаза

ТБК-активні	– тіобарбітурової кислоти-активні продукти продукти
ТР	– технологічний регламент
ТУ У	– технічні умови України
УФ-випромінювання	– ультрафіолетове випромінювання
УФ-спектроскопія	– ультрафіолетова спектроскопія
УФ-еритема	– ультрафіолетова еритема
ФР	– фармацевтична розробка
ЦК	– циркулюючі імунні комплекси
ЦНС	– центральна нервова система
ЦСС	– цетилстеариловий спирт
Шацький НПП	– Шацький національний природний парк
ШКФ	– швидкість клубочкової фільтрації
ШО	– шифові основи
ЯЧ	– якісне число
Kd	– коефіцієнт динамічного розрідження
K ₂ EDTA	– dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. До природних лікувальних ресурсів належать мінеральні і термальні води, лікувальні грязі, ропа лиманів та озер, морська вода, природні об'єкти і комплекси із сприятливими для лікування кліматичними умовами, придатні для використання з метою лікування, медичної реабілітації та профілактики захворювань. Можливість практичного використання природних лікувальних ресурсів обґрунтовується медико-біологічною оцінкою їх якості та кондиційності, яка складається з двох етапів — доклінічних досліджень та клінічних випробувань, за результатом яких отримують медичний (бальнеологічний) висновок.

Сапропелі відносять до природних лікувальних ресурсів, що відновлюються та характерні лише для прісноводних водойм. Процеси нагромадження продовжуються і зараз, причому для більшості озер мають прогресувальний характер. Озера в результаті техногенного і антропогенного впливу позбуваються здатності самоочищатися, заболочуються, втрачають господарське значення як рибогосподарські угіддя і як зони відпочинку, тому видобуток сапропелю необхідно розглядати в аспекті їх застосування й охорони навколишнього середовища.

Склад та властивості сапропелю залежно від його залягання істотно різняться та визначаються умовами формування, а також різноманітністю рослинного і тваринного світу, мінеральним складом тощо. Основною групою речовин у сапропелях є гумусові (гумінові) кислоти, які, за даними вітчизняних та закордонних наукових досліджень, володіють широким спектром біологічної активності.

За даними ДНВП «Геоінформ», станом на січень 2019 року відклади сапропелю в Україні (понад 88 млн тонн) виявлено у водоймах Волинської (близько 75% запасів), Рівненської, Сумської, Чернігівської, Харківської і Київської областей. В Україні з лікувальною метою використовують родовища мулових сульфідних пелоїдів, рідше торфи і сопкові пелоїди. І хоча наразі у

Західному регіоні України вивчено низку сапропелевих родовищ, з лікувальною метою вони не використовуються.

Проблемним питанням дослідження та розробки лікарських препаратів на основі пелоїдів і сапропелів присвячені праці Н. П. Аввакумової, М. Н. Глибокової, А. В. Жданової, О. М. Нікіпелової, М. Г. Зоріна, В. В. Платонова, А. А. Хадарцева, К. А. Дичко, Г. Л. Рижової, М. А. Тюніна, Aneka Klavina, Agris Auce, Ivars Vanadzins, B. A. Gomes De Melo, R. Klocking, B. Helbig, A. Аукас та інших вітчизняних і закордонних учених, проте наукові підходи до опрацювання різних лікарських форм вимагають подальшого ретельного теоретичного та експериментального обґрунтування.

У цьому аспекті проблема дослідження сапропелю родовищ України з метою їх комплексного використання в галузі охорони здоров'я є важливим і актуальним завданням вітчизняної медичної та фармацевтичної науки і практики.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи фармацевтичного факультету ЛНМУ імені Данила Галицького (номер державної реєстрації 0116U004500, шифр теми ІН.10.06.0001.16).

Тема дисертаційного дослідження затверджена вченою радою Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 2-ВР від 21 березня 2016 р.).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є створення науково-методичного підходу до комплексного використання сапропелю, розробка і стандартизація перспективних лікарського, ветеринарного та косметичних засобів із продуктами переробки сапропелю.

Реалізація поставленої мети вимагала вирішення таких **завдань**:

– провести аналіз та узагальнити дані наукової літератури щодо сучасного стану використання лікувальних грязей та продуктів їх переробки у фармації, косметології та ветеринарії, а також асортименту лікарських,

косметичних та ветеринарних засобів на основі пелоїдів та продуктів їх переробки;

- проаналізувати проблеми та обґрунтувати науковий підхід до створення лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та екстрактів, отриманих із нього;

- науково обґрунтувати концепцію комплексного використання сапропелю та визначити методологію фармацевтичної розробки лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів його переробки;

- за результатами досліджень хімічного складу, фізико-хімічних та біологічних властивостей сапропелю обґрунтувати можливість використання сапропасти у медицині та косметології;

- реалізувати комплекс фізико-хімічних, фармако-технологічних, біологічних, мікробіологічних досліджень з метою обґрунтування складу і технології мила із сапропастою та дослідити показники його якості;

- теоретично та експериментально обґрунтувати технологію та дослідити екстракти сапропелю (ЕС);

- на підставі результатів фізико-хімічних, фармакологічних, фармако-технологічних та біологічних досліджень обґрунтувати склад та розробити технологію м'яких лікарського (ЛЗ) та ветеринарного засобу (ВЗ) з екстрактами сапропелю;

- здійснити апробацію розробленої технології сапропасти, мила із сапропастою, екстрактів сапропелю, м'яких ЛЗ та ВЗ на підставі проєктів технологічних регламентів (ТР);

- провести фізико-хімічний, фармако-технологічний, мікробіологічний аналіз розроблених екстрактів сапропелю, м'яких ЛЗ та ВЗ, установити термін придатності та умови їх зберігання; розробити та затвердити технічні умови (ТУ) та проєкти методів контролю якості (МКЯ);

- вивчити специфічну фармакологічну активність та токсичність сапропасти, мила з сапропастою, екстрактів сапропелю та м'яких ЛЗ і ВЗ.

Об'єкти дослідження: сапропель, сапропаста, олійний екстракт сапропелю (ОЕС), водний екстракт сапропелю (ВЕС), мило із сапропастою, крем з ОЕС та ВЕС, гель із ВЕС; допоміжні речовини (ДР) та референс-зразки.

Предмет дослідження – методологічні підходи до комплексного використання сапропелю та фармацевтичної розробки лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів його переробки.

Методи дослідження. Для вирішення поставлених у роботі завдань були використані загальноприйняті методи дослідження: загальнонаукові (аналіз та узагальнення), органолептичні (колір, запах, однорідність тощо), хімічні (титриметричний метод за К'ельдалем, метод проміжної фільтрації), фізичні, фізико-хімічні (гравіметрія, потенціометрія, фотоколориметрія, хромато-мас-спектроскопія, капілярний електрофорез, газорідинна хроматографія); а також методи оцінки структурно-механічних властивостей (структурна в'язкість, намазуваність, екструзійна спроможність м'яких лікарських та косметичних засобів на основі сапропелю нативного та сапропасти); фармако-технологічні методи дослідження показників якості розроблених засобів (опис, ідентифікація, однорідність, маса вмісту контейнера тощо); мікробіологічні (антимікробна активність, ефективність дії консервантів, мікробіологічна чистота); фармакологічні (визначення фармакологічної активності і токсичності сапропелю та препаратів на його основі); методи дослідження показників якості розроблених препаратів; статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна полягає в тому, що вперше запропоновано методологію комплексного дослідження і використання сапропелів з метою фармацевтичної розробки низки перспективних дерматологічних засобів на основі нативного сапропелю та продуктів його переробки з протизапальною та ранозагоювальною дією для застосування в медицині та ветеринарії, а також косметичних засобів для застосування в косметології.

Запропонований науково-методичний підхід до комплексного використання сапропелю базується на послідовному проведенні фізико-хімічних, фармако-технологічних, біологічних (мікробіологічних, фармакологічних і токсикологічних) досліджень, що були використані в процесі дослідження сапропелю та продуктів його переробки, для розробки складу, технології та оцінки якості лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на їх основі.

Уперше за результатами досліджень хімічного складу, фізико-хімічних властивостей і токсико-біологічної оцінки сапропелю озера Прибич визначена перспектива його використання у бальнеології і косметології як джерела біологічно активних речовин та як сировини для отримання АФІ.

Уперше отримано новий пастоподібний продукт – сапропасту, за результатами фізико-хімічних, реологічних і токсикологічних досліджень показана можливість її використання у медицині для проведення грязевих процедур, у косметології для обгортань та як основи для косметичних масок.

Уперше за результатами фізико-хімічних, реологічних, мікробіологічних і біологічних досліджень теоретично та експериментально обґрунтовано склад, опрацьовано технологію, досліджено показники якості масок на основі сапропасти та мила із сапропастою.

Удосконалено технологію отримання ВЕС, опрацьовано технологію та досліджено хімічний склад СЕС. Теоретично та експериментально обґрунтовано технологію ОЕС з використанням постадійної двофазної екстракції 90% етанолом і кукурудзяною олією, що забезпечує збільшення виходу хлорофілів на 24 % порівняно з однофазною екстракцією. Здійснено стандартизацію екстрактів: досліджено показники якості, розроблено та валідовано методики кількісного визначення суми ГК, природних пігментів та хлорофілів.

Уперше за результатами фізико-хімічних, реологічних, фармако-технологічних, мікробіологічних і біологічних досліджень теоретично та експериментально обґрунтовано склад і опрацьовано технологію нових ЛЗ із

пружно-пластичним дис-персійним середовищем у формі гелю з ВЕС для лікування ран у 2-ій фазі ранового процесу та ветеринарного засобу ранозагоювальної дії з ВЕС та ОЕС у формі крему для лікування мікротравм, ерозій і тріщин дійок вимені великої рогатої худоби (ВРХ).

Наукова новизна підтверджена 2 патентами України на винахід: «Косметична сапропелева маска» № 114262 від 10.05.2017 р., «Лікувально-профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин» № 1214492 від 25.05.2020 р. та 4 патентами України на корисну модель: «Косметична сапропелева маска» № 113942 від 27.02.2017 р., «Піномийний засіб «Антибактерійне мило з сапропелем»» № 127142 від 25.07.2018 р., «Лікувально-профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин» № 121449 від 11.11.2019 р., «Протизапальний засіб у вигляді гелю з екстрактом сапропелю» № 139685 від 10.01.2020 р.

Практична значущість роботи. Створена концепція комплексного використання сапропелю з метою його застосування в різних галузях народного господарства, зокрема в охороні здоров'я: з метою отримання нових АФІ – екстрактів сапропелю, фармрозробки лікарських, ветеринарних та косметичних засобів, що одночасно вирішує низку екологічних проблем та розвиває економічний потенціал України.

Розроблено препарати протизапальної та ранозагоювальної дії на основі екстрактів сапропелю, які розширюють асортимент вітчизняних лікарських і ветеринарних засобів. Розроблена та зареєстрована відповідно до чинного законодавства України нормативна документація – технічні умови України ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 р. «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них», що регламентують якість сапропелю нативного, сухого, пастоподібного та водного екстракту сапропелю, на який отримано висновок санітарно-епідеміологічної експертизи № 05.03.02-07/10351 від 30.03.2016 р. з доповненням № 12.2 – 18-2/30 від 02.01.2020 р. Розроблено проекти ТР на виробництво пастоподібного сапропелю під умовною назвою «Сапропаста» і

масок на його основі. Розроблено проекти МКЯ і ТР на виробництво олійного екстракту сапропелю, гелю з екстрактом сапропелю під умовною назвою «Сапрогель», крему з екстрактами сапропелю під умовною назвою «Сапрокрем» та піномийного антибактерійного засобу із сапропастою.

Технологію фармацевтичних розробок апробовано в умовах промислового виробництва ПАТ ХФЗ «Червона зірка» (Україна, м. Харків), ТОВ «Зендер-Україна» (Україна, м. Луцьк), НВФК «ЕЙМ» (Україна, м. Харків), СП АТ «Фармако» (Республіка Молдова, м. Кишинів) (акти апробації від 13.04.2020 р., 11.05.2018 р., 25.05.2018 р., 15.11.2019 р., 15.04.2020 р., 05.09.2019 р. відповідно).

Окремі фрагменти роботи упроваджено в науковий та освітній процес низки ЗВО фармацевтичного (медичного) профілю і НДІ України та іноземних країн, зокрема: кафедри технології ліків та інженерних дисциплін Казахського національного медичного університету, кафедри промислової технології лікарських засобів з курсом факультету підвищення кваліфікації і перепідготовки кадрів Вітебського державного медичного університету, кафедр косметології та ароматології, заводської технології ліків, аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету, м. Харків, кафедри аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри організації та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», кафедри організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету, а також Державної установи «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України» (акти впровадження 25.05.2018 р., 01.11.2017 р., 07.09.2020 р., 01.10.2020 р.,

02.11.2020 р., 22.12.2020 р., 11.09.2020 р., 11.12.2020 р., 25.12.2020 р., 09.11.2020 р., 6.12.2020 р. відповідно).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним завершеним науково-експериментальним дослідженням. У комплексних випробуваннях з розробки складу і технології м'яких ЛФ, таких, як крем із ВЕС та ОЕС і гель із ВЕС, пастоподібного сапропелю під умовною назвою «Сапропаста», рідких екстрактів – ВЕС, СЕС та ОЕС, мила із сапропастою, над якими працював науковий колектив співавторів, особисто дисертанту належить ключова роль у визначенні загальної мети досліджень, плануванні і реалізації експерименту, інтерпретації отриманих результатів, формуванні основних положень і висновків.

У комплексному дослідженні особисто дисертантом:

- здійснено пошук та аналіз джерел літератури щодо покладів, хімічного складу та біологічної дії пелоїдів (сапропелю) в різних країнах світу, узагальнено матеріали щодо використання сапропелю в різних галузях господарства, зокрема і в медицині; проаналізовано сучасні наукові дослідження та визначено перспективи використання сапропелів України;

- окреслено мету, завдання та методологічні підходи до їх вирішення, обрано об'єкти і методи дослідження, розроблено алгоритм дослідження;

- виконано експериментальну частину роботи, яка описана у дисертації;

- на підставі теоретичного матеріалу та експериментальних випробувань автором обґрунтовано склад, показники контролю якості ЛЗ із пружно-пластичним дисперсійним середовищем (маски, крем та гель з екстрактами сапропелю) та екстракційних препаратів (олійного та водного екстрактів сапропелю), розроблено й апробовано їх промислову технологію; розроблено та затверджено ТУ, розроблено проекти МКЯ і технологічних регламентів на отримані м'які ЛЗ та ВЗ.

- опрацьовано та узагальнено результати фармакологічних і біологічних досліджень про вивчення ефективності та нешкідливості сапропелю, продуктів його переробки, розроблених ЛЗ та ВЗ.

Персональний внесок у всіх опублікованих працях зі співавторами (О. Г. Гейдеріх, О. І. Єзерська, Н. В. Кузьміна, Л. М. Малоштан, Т. П. Осолодченко, Д. Д. Остапів, Н. П. Половко, О. В. Рехлецька, К. І. Сметаніна, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець, Л. Ф. Силаєва, А. М. Філіпська, О. М. Шаталова, Л. О. Шакіна, Е. Ю. Яценко) вказано в анотації, за текстом дисертаційної роботи, в авторефераті і у списку публікацій.

Співавторами наукових праць дисертанта захищені такі дисертації: О. Г. Гейдеріх «Піюціанін як антибактеріальний та імуногенний субстрат синьогнійної палички», Харків, 2002; О. І. Єзерська «Обґрунтування складу, технології та дослідження таблеток з екстрактом цикорію і кукурудзи», Львів, 2014; Н. В. Кузьміна «Активність та ізоформи ензимів малат-аспартатного шунта й антиоксидантного захисту сперми і якість спермій», Львів, 2014; Л. М. Малоштан «Фармакологічні аспекти патогенетично обґрунтованої хіміотерапії цукрового діабету з використанням фітопрепаратів на основі екстрактів трави квасолі», Харків, 1994; Т. П. Осолодченко «Обґрунтування з бактеріологічних підходів складів багатокomпонентних антибактеріальних препаратів для місцевого лікування гнійних ран», Харків, 1992; Д. Д. Остапів «Окисно-відновні процеси в статевих клітинах бугаїв і корів, способи оцінювання якості та підвищення запліднюваності», Львів, 2008; Н. П. Половко «Наукове та експериментальне обґрунтування складу і технології безводних гелів протигрибкової дії з похідними імідазолу», Харків, 2011; О. В. Рехлецька «Опрацювання складу, технології та дослідження фітопрепаратів з берези бородавчастої для лікування дерматологічних захворювань», Львів, 2007; К. І. Сметаніна «Фармацевтичне забезпечення медичної діагностики (в кардіології та онкології)», Львів, 1998; Л. С. Стрельников «Технологічні і біофармацевтичні аспекти створення ліпосомальних препаратів на основі біологічно активних дисперсійних середовищ», Харків, 1992; О. П. Стрілець «Наукове і експериментальне обґрунтування складу і технології комбінованих таблетованих лікарських форм антигіпертензивної дії», Харків, 2013; Л. Ф. Силаєва «Ектерицид як біологічно активний розчинник кислотостійких

антибіотиків», Харків, 1991; О. М. Шаталова «Анаболічна дія гідрофільного екстракту з трави сої», Одеса, 2008; Л. О. Шакіна «Структурно-функціональна організація політенних хромосом *Drosophila Melanogaster* Meig. у зв'язку з ефектом гетерозису, ізогенізацією та впливом щільності культури», Харків, 2006.

Усі наукові узагальнення, положення наукової новизни, результати, висновки і рекомендації, викладені у дисертації, виконані автором особисто.

Апробація результатів дисертації. Основні теоретичні та експериментальні результати дослідження представлені на: I і II науково-практичних інтернет-конференціях «Теоретичні і практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2014, 2016); Міжнародному симпозіумі молодих вчених «Plants in Pharmacy & Nutrition» (Вроцлав, 2014); XXI Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2014 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання розвитку медичних наук у XXI ст.» (Львів, 2014); Міжнародній науково-практичній конференції «Пріоритети розвитку медичних наук у XXI столітті» (Одеса, 2014); IV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2014); II Міжнародній науково-практичній конференції «Хімія, Біо- та Нанотехнології, Екологія і Економіка у Харчовій та Косметичній Промисловості» (Харків, 2014); I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2014); III Міжнародній конференції з фармацевтичних наук «Looking towards the future, honoring the past» (Тбілісі, 2015); Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства» (м. Одеса, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку

медичної практики» (Дніпропетровськ, 2015); 67 науково-практичній конференції ВДМУ «Студенческая медицинская наука XXI века» (Вітебськ, 2015); 10 науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених і студентів ТДМУ імені Абуалі ібні Сіно «Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику» (Душанбе, 2015); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2016); I науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (Харків, 2016); республіканських науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 2016, 2017).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 58 наукових праць, а саме 27 наукових публікацій, які розкривають основний зміст дисертації, (6 одноосібних), з них 11 у закордонних фахових виданнях, з яких 4 цитуються наукометричною базою даних Scopus, 2 патенти України на винахід; в інших виданнях опубліковано 6 праць, 2 з них цитуються наукометричними базами Scopus і Web of Science; 21 тезах доповідей на науково-практичних конференціях. Отримано 4 патенти України на корисну модель.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 512 сторінках машинопису (обсяг основного тексту 312 сторінок). Складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), об'єктів та методів дослідження (розділ 2), експериментальної частини (розділи 3-7), загальних висновків, списку використаних джерел і 13 додатків. Робота ілюстрована 101 таблицею та 59 рисунками. Список використаних джерел містить 457 найменувань, з яких 350 кирилицею та 107 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ САПРОПЕЛЮ І ПРОДУКТІВ ЙОГО ПЕРЕРОБКИ У МЕДИЦИНІ, ФАРМАЦІЇ ТА ВЕТЕРИНАРІЇ (Огляд літератури)

1.1. Загальна характеристика пелоїдів

Грязі лікувальні (пелоїди) – це торфові, сапропелеві, мулові сульфідні, прісноводні глинисті мули, сопкові гідротермальні мули, утворені з мінеральних та органічних речовин, що зазнали складних перетворень внаслідок фізико-хімічних, хімічних, біохімічних процесів.

Спектр застосування пелоїдів широкий і охоплює низку захворювань усіх систем і органів людини. Загальним показанням до пелоїдотерапії є захворювання запального характеру в хронічній стадії патологічного процесу. Лікувальні грязі, згідно з додатком 4 «Порядку здійснення медико-біологічної оцінки якості та цінності природних лікувальних ресурсів, визначення методів їх використання», затвердженим наказом № 243 МОЗ України від 02.06.2003 р., застосовуються для лікування захворювань *кістково-м'язової системи* (артрити і поліартрити), *органів опору та руху* (артрози, подагра, остеохондрози, наслідки пологових травм), *периферичної нервової системи* (травми нервів, закінчень, наслідки нейроінфекцій), *судин* (облітеруючий атеросклероз, варикозне розширення судин), *шкіри* (органічний і дифузний нейродерміт, екзема всіх різновидів поза стадією загострення, псоріаз у стаціонарній та регресивній стадіях, хронічні дерматози), *за захворювань верхніх дихальних шляхів* (часті гострі респіраторні вірусні інфекції, хронічні бронхіти і риніти), *вуха, горла, носа* (хронічні отити, ларингіти та тонзиліти), а також *гінекологічних* (хронічний сальпінгіт, хронічний параметрит, тазові спайки черева, неправильне положення матки, безплідність), *хронічного простатиту, чоловічого безпліддя* [1 – 3]. Пелоїдотерапія ефективна при патології травної системи поза періодом загострення (виразкова хвороба,

хронічний коліт, гепатит, холецистит), наслідках запальних процесів у черевній порожнині – спайковій хворобі, перігастритах, перидуоденітах і ін.

Можливе використання пелоїдотерапії при захворюваннях серцево-судинної системи, зокрема, міокардіодистрофії тонзілогенного генезу, ревматичного міокардиту, хронічної артеріальної і венозної недостатності судин нижніх кінцівок.

Пелоїдотерапію, електрогрязелікування, грязьові препарати застосовують у комплексному реабілітаційному лікуванні хронічних неспецифічних захворювань бронхолегеневої системи (хронічний бронхіт, хронічна пневмонія, плевральні рубці та ін.), хронічних запальних захворювань в офтальмології (блефарокон'юнктивіти, дистрофічні захворювання очей та ін.).

Показаннями до застосування пелоїдотерапії в стоматології є хронічні запальні і дегенеративні захворювання структур жувального апарату – скронево-щелепного суглоба, остеомієліт щелеп, пародонтоз, періодонтит, гінгівіт.

Основними протипоказаннями до застосування пелоїдів є гострі запальні процеси, злоякісні новоутворення, захворювання крові, туберкульоз, гіпертонічна хвороба, ендокринні захворювання, вагітність, психічні захворювання, епілепсія, цироз печінки, інфекційні захворювання в гострій стадії. Грязелікування несумісне з ваннами і душами низьких температур, морськими купаннями [1, 3].

Лікувальні грязі приймають усередину для загального оздоровлення організму та для лікування при таких захворюваннях: атеросклероз, хвороби печінки, жовчного міхура, гепатит та його наслідки; гінекологічні, проктологічні захворювання для стимуляції мінерального та вітамінного обміну при авітамінозі; шкірні захворювання (псоріаз, нейродерміт, фолікуліт, фурункульоз, трофічні виразки, екзема, грибкові ураження, дитячий діатез тощо), цукровий діабет, хронічні захворювання лор-органів, органів дихання (пневмонія, бронхіт, гайморит), урологічні захворювання (пієлонефрит, цистит, простатит).

Лікувальні грязі за фізико-хімічними показниками, які визначають їхні лікувальні властивості, поділяються на типи й різновиди за показниками: вмістом водорозчинних солей у грязевому розчині, вмістом сульфідів, зольністю (відсотком на суху речовину) та за реакцією середовища (pH) (табл.1.1) [1, 4].

Основні види лікувальних грязей

Типи і різновиди лікувальних грязей	Мінералізація грязевого розчину, г / дм ³	Вміст сульфідів, % на нативну грязь	Зольність, % на суху речовину	pH
Торфові грязі				
Прісноводні				
Безсульфідні: низькозольні	< 1	<0,01	<5	
середньозольні			5-20	3,5-7,6
високозольні			> 20	4,4-7,6
Слабкосульфідні: низькозольні		0,01-0,15	<5	
середньозольні			5-20	
високозольні			> 20	6,8-7,3
Низькомінералізовані				
Безсульфідні:низькозольні	1-15	<0,01	< 5	
середньозольні			5-20	7,2-7,4
високозольні			> 20	7,0
Слабкосульфідні: низькозольні		0,01-0,15	< 5	4,0-7,5
середньозольні			5-20	
високозольні			> 20	6,8-7,3
Мулові сульфідні грязі				
Низькомінералізовані				
Слабкосульфідні	1-15	0,01-0,15	> 90	6,0-9,0
Середньосульфідні		0,15-0,50		
Сильносульфідні		> 0,50		7,0-9,0
Середньомінералізовані				
Слабкосульфідні	15-35	0,01-0,15	> 90	7,0-9,0
Середньосульфідні		0,01-0,15		
Сильносульфідні		> 0,50		
Високомінералізовані				
Слабкосульфідні	35-150	0,01-0,15	> 95	7,0-9,0
Середньосульфідні				
Сильносульфідні		> 0,50		
Соленасичені				
Слабкосульфідні	> 150	0,01-0,15	> 95	7,0-9,0
Середньосульфідні				
Сильносульфідні		> 0,50		
Сопкові грязі				
Середньо- і високомінералізовані				
Безсульфідні	15-150	< 0,01	> 95	7,0-9,0
Сапропелеві грязі				
Прісноводні				
Безсульфідні:низькозольні	< 1	< 0,01	< 30	7,0-9,0

Міжнародну класифікацію пелоїдів [4, 5] схематично можна представити такою таблицею:

Таблиця 1.2

Міжнародна класифікація пелоїдів

Неорганічні грязі	Органічні	Торф'яні	Змішані види	Продукти вивітрюван- ня вулканіч- них порід	Штучні пелоїди
Джерельні: термальних джерел, холодних джерел, сопкові Осадкові: лиманні, морські, материкові	Сапропелі Гітін Лиманні Морські Материкові	Верхові Низинні Землисті	Сульфідні мулові з високим вмістом органічних речовин	Глиняні мули Каолін Глина	Лікувальні гріззі, які виготовляють у лабораторних умовах на основі природної сировини шляхом створення відповідних умов грізеутворення

В останні роки грізелікування стає дедалі популярнішим, що значно підвищує попит на пелоїди та інтерес до розробки грізевих родовищ.

Для грізелікування найширше використовують сульфідні мулові грізі, сапропелі і торфи [4, 5].

В Україні з лікувальною метою використовують родовища мулових сульфідних пелоїдів, рідше - торфи і сопкові пелоїди [4]. Станом на квітень 2020 року за офіційними даними інформаційного ресурсу «Мінеральні ресурси України» [6] в Україні розвідано 13 родовищ (15 ділянок) лікувальних грізей.

Серед 10 розвіданих родовищ (12 ділянок) мулових сульфідних грізей у лікувально-курортних та оздоровчих цілях використовують лише 4 родовища: Солонолиманське (Дніпропетровська область), Куяльницьке (Одеська), «Гопри» та Чаплинське (Херсонська область).

Розвідані родовища мулових грізей – Сакське родовище в АР Крим (2 ділянки), родовище Ріпне в Донецькій області, родовища Бердянське, Кирилівське

і Обитічне в Запорізькій області, Бейкуське в Миколаївській області, Куяльницьке (ділянка 2) в Одеській області - не використовують.

В Україні з лікувально-курортною та оздоровчою метою використовують торф'яні лікувальні грязі родовищ Великолюбінське (Львівська обл.), «Семеренки» (Полтавська обл.) та Черченське (Івано-Франківська обл.) [6].

Сапропелеві грязі – це органічні мули, в основному прісноводних водоймищ, що утворюються в результаті розкладання флори і фауни водоймищ під впливом мікробіологічної діяльності і характеризуються нейтральною реакцією середовища ($\text{pH} = 7\text{--}9$ од. pH), низькою мінералізацією розчину (до 1 г/дм^3), низьким вмістом золи (нижче 30%) та сульфідів (нижче 0,01%) (табл. 1.1). Зустрічаються сапропелі в Україні, в основному, у лісовій медико-географічній зоні, але не є вивченими з метою використання у лікувальній практиці [4].

Сапропелі особливо поширені в середній смузі Європи та Азії. У Північній Америці є в районі Великих озер (Канада, США). В Європі родовища сапропелю виснажені. Вони характерні для водойм Скандинавії, Німеччини, Польщі, Франції, Великобританії, Литви, Білорусі, України. За запасами сапропелю Росія посідає одне з провідних місць у світі (запаси 2,6 млрд тонн). Найбільше поширені озера із сапропелевими покладами на території Західно-Сибірської низовини, Далекого Сходу, Уралу та Зауралля, Білорусі, Карелії [7 – 9].

В Україні на 01.01.1993 р. було розвідано 234 родовища сапропелів у Волинській, Рівненській, Сумській, Чернігівській і Київській областях із запасами, що перевищували 74,5 млн тонн [10].

Станом на січень 2019 р. розвідано 308 родовищ сапропелю із запасами понад 88 млн т (табл. 1.3) [6].

Слід зазначити, що станом на квітень 2020 р. за даними інформаційного ресурсу «Мінеральні ресурси України» (створений на Державному науково-виробничому підприємстві «Державний інформаційний геологічний фонд України» (ДНВП «Геоінформ України»)) [6] налічено 303 родовища сапропелю, який використовують лише як сировину для органо-мінеральних добрив і не застосовують у лікувально-курортних та оздоровчих цілях.

Таблиця 1.3

Запаси розвіданих родовищ сапропелів за період 1993* – 2018 рр. за даними інформаційного ресурсу «Мінеральні ресурси України» [6]

Стадія розвідки, категорія запасів	Кількість родовищ			Балансові запаси сапропелю, тис.т		
	01.01.1993	01.01.2013	01.01.2019	01.01.1993	01.01.2013	01.01.2019
Детальна A+B+C ₁ (підготовлені до видобування)	100 -	307 1 розробляється	308 4 розробляються	48741 -	57096.00 1896.00	63750.00 2221.00
Пошуково-оцінювальна C ₂ (прогнознi)	134 -	307 1 розробляється	308 4 розробляються	25765,7 -	28445.00 -	24641.00 430.00
Всього	234	307	308	74 506,7	85541,00	88391,00

Це родовища у Волинській, Сумській, Рівненській, Харківській, Київській, Чернігівській областях. Серед родовищ сапропелю розрізняють *перспективні для розвитку, охоронні* – Сомине, Стрільське, Мале Почаївське, Велике Почаївське у Рівненській обл., *резервні та експлуатаційні* – Біле, Прибич і Синове у Волинській обл. (табл. 1.4)

Найбільші запаси родовищ сапропелю, перспективних для розвідки, резервних і в т.ч. експлуатаційних, зосереджені у Волинській області [6] (табл. 1.4).

Таблиця 1.4

Родовища сапропелів України (квітень 2020)

Вид родовища	Області					
	Рівненська	Сумська	Волинська	Харківська	Київська	Чернігівська
Перспективні для розвитку	14	46	80	22	0	2
Охоронні	4	0	0	0	0	0
Резервні	19	6	105	0	2	0
Експлуатаційні	0	0	3	0	0	0

Добування та переробку сапропелю на території України ведуть лише декілька підприємств: налагодила видобуток сапропелю в озері Синове Старовижівського району ТзОВ «Волиньсапрофос», основним видом діяльності якої є виробництво добрив, та в озері Прибич ТзОВ «Зендер Україна», яке має дозвіл на видобуток сапропелю у двох родовищах – Біле і Прибич Шацького району Волинської області [9, 11 – 13].

Нині у Західному регіоні України вивчено кілька сапропелевих родовищ. Проте далеко не всі пелоїди є кондиційними і внаслідок цього не мають бальнеологічної цінності, тому вивчення і застосування в санаторно-курортній практиці якісних, високоефективних цілющих природних пелоїдів є актуальним завданням.

1.2. Походження сапропелю. Склад, властивості та класифікація сапропелю

Термін «сапропель» походить від грец. *sapρός* – гнилий і *pelός* – мул, грязь). За сучасними визначеннями термін «сапропель» (рос. *сапропель*, англ. *sapropel*, нім. *sapropel*, *faulschlamm*, *gyttija*) застосовують до органічних відкладів прісних континентальних водоймищ, що містять понад 15% (мас.) органічних речовин, утворених при саморозкладанні органічних речовин на дні водоймищ [8, 9, 14].

А.Д. Дюдюн та ін. ідентифікують сапропелеві грязі як складні органічні, органо-мінеральні комплекси речовин, що утворюються на дні відкритих прісноводних водойм і формуються в результаті біохімічних, мікробіологічних, механічних процесів при малому доступі кисню із залишків відмерлих рослинних і тваринних організмів та органічних і мінеральних домішок, що приносяться у водойми [15].

У 1862 році для позначення озерних відкладів шведський вчений Г. Пост вперше ввів два терміни «гиттія» – відклади аутохтонного характеру, органічна речовина яких утворилася внаслідок власне населення водойми і «дью» –

відклади алохтонного походження, які утворилися при надходженні в озеро з наступним осадженням розчинених гумінових речовин [16].

Німецький вчений Р. Лаутерборн у 1901 р. до поняття «гиттія» і «дью» додав термін «сапропель», під яким він розумів відклади з запахом сірководню, які утворилися в мілководних озерах [17].

Незалежно вдруге термін «сапропель» ввів у літературу Р. Потоньє (1920), використавши його для позначення всіх типів озерних відкладів, що формуються за рахунок багатого білками планктону, який проходить процес бітумізації в анаеробних умовах [18]. Після цього до поняття «сапропель» почали вживати синоніми «сапропелеві відклади», «донні відклади», «мулисті відклади», «озерні відклади» [16].

Для вивчення верхнього активного шару сапропелевих утворень у 1921р. М. М. Соловйов запропонував термін «пелоген» (за І.Ф. Ларгіним, 1989). Саме в цьому шарі відбувається процес становлення сапропелю з первинної маси відмерлого планктону шляхом подальшої його переробки личинками комах, черв'яків, молюсками і мікроорганізмами [16].

Утворення пелоїдів, у т.ч. сапропелів, визначається сукупністю геолого-гідрогеологічних (будова, склад, вивітрювання порід, де відбувається утворення пелоїдів, тектонічний рух підземних вод, особливості водоймищ, ступінь їх проточності тощо), кліматичних (атмосферні опади, температура повітря, води, швидкість випаровування та ін.), фізико-хімічних (дифузні іонно-сольові та обмінно-адсорбційні процеси між водою та донними відкладами, змішування вод різного походження і складу, метаморфізація хімічного складу води під впливом різних процесів, соленагромадження) і біологічних факторів. Біологічний фактор формується в результаті життєдіяльності, розкладу, загибелі і переробки флори і фауни водоймищ (водорості, планктон, мікроорганізми), визначає утворення органічних і мінеральних речовин у пелоїдних системах, їх біологічні властивості. Зі зміною водного режиму озера змінюється і його характеристика, якісні та кількісні показники [3, 16, 19].

Вихідним матеріалом для утворення озерних сапропелів є переважно планктон, макрофіти і бентос, які, відмираючи, опускаються на дно водоймища. Важливе значення в утворенні сапропелів належить діяльності мікроорганізмів. Сапропелі утворюються не лише з продуктів озера, значний вплив на їх формування мають мінеральні речовини озера – переважно піщані глинисті частинки [14].

Вік сапропелевих покладів у сучасних озерах не перевищує 12 тисяч років. Товщина покладів коливається в межах 3-10 м і може сягати 18-20 м. Інтенсивність нагромадження сапропелів на дні озера впродовж тисячоліть становила близько 1 мм на рік. У сучасних водоймах, внаслідок евтрофікації вона може досягати близько 3-8 мм на рік. Середній річний приріст коливається від 1 до 6,6 мм [10, 14 – 16]. Процеси нагромадження продовжуються і зараз, причому в більшості озер мають прогресувальний характер.

Будова, склад та властивості сапропелю. Сапропелі будь-якого походження (озерні і морські) мають желеподібну форму з консистенцією, близькою до сметаноподібної з ущільненням у міру заглиблення в їх товщу.

Свіжі озерні сапропелі мають різне забарвлення, що дає можливість визначати «на око» їх властивості: оливковий – свідчить про перевагу в них хлорофілу, рожевий – каротину або марганцю, голубуватий – вівіаніту, чорний – заліза, сірий – глини або вапна. Проте видобутий на повітря сапропель швидко окиснюється і втрачає природне забарвлення [14].

Незважаючи на те, що сапропелі є гетерогенними фізико-хімічними системами, склад яких залежить від природних умов утворення родовища, вони характеризуються загальним принципом структури. Сапропель складається з рідкої та твердої фази, які перебувають між собою в рівновазі. *Рідка фаза* – це грязевий водний мінеральний розчин, *тверда* – складається з двох частин: грубодисперсного остову або кристалічного скелету і тонкодисперсного – гідрофільного колоїдного комплексу [2, 4, 10, 16].

У разі відсутності рідкої фази в осадах не можуть відбуватись бактеріальні процеси та міграція елементів [4, 16].

Грязевий розчин, який просочує кристалічний скелет і колоїдну масу пелоїдів, за своїм хімічним складом суттєво відрізняється від водного витягу пелоїдів, оскільки в процесі утворення відбуваються фізико-хімічні процеси, що змінюють його склад. Грязевий розчин складає від 25 % до 97 % маси пелоїдів. Загальна мінералізація грязевого розчину знаходиться в межах від 0,01-0,05 г/дм³ (для торф'яних відкладів) до 250 – 300 г/дм³ (для мулових сульфідних) [1, 4].

Кристалічний скелет (остов) пелоїдів складається з глинистих і піщаних часток діаметром більше, ніж 0,01 мм, малорозчинних у воді солей, – гіпсу, карбонатів, фосфатів, карбонатів магнію та ін., а іноді й грубих органічних залишків.

Дисперсність кристалічного скелета має важливе бальнеологічне значення: що більший вміст дрібних силікатних частинок, то вища якість пелоїдів. За наявності в кристалічному остові частинок діаметром більше 0,25 мм пелоїди вважаються засміченими. Сапропелі з показником засміченості понад 3% відносять до пелоїдів низької якості, що не мають бальнеологічного значення. З кристалічним скелетом сапропелю пов'язані важливі фізичні властивості пелоїдів: їх в'язкість, пластичність, масова частка вологи і вологоємність, теплові властивості і адсорбційна здатність. Що тонший скелет пелоїдів, то вища їх вологоємність.

Колоїдний комплекс утворюють неорганічне залізо і алюмосилікатні сполуки (сульфід заліза, гідроксиди алюмінію, заліза, марганцю, гідросульфід заліза, кремнієва кислота та ін.), органічні речовини (переважно вуглеводи і азотовмісні сполуки), глинисті (силікатні) частинки діаметром менше, ніж 0,01 мм.

Фізичні властивості сапропелю визначаються колоїдним комплексом, кристалічним скелетом, вмістом вологи і обумовлюють в'язкість, пластичність, масову долю вологи та вологоємність, теплові властивості та адсорбційну здатність. Адсорбційна ємність вища тоді, коли більша кількість найдрібніших колоїдних частинок. Вміст колоїдних часток у мулових відкладах – від 4 до 20%, у торф'яних і сапропелевих – до 80%.

У зв'язку з колоїдною природою сапропелі характеризуються досить високою вологістю. Масова частка води також впливає на пластичність, консистенцію, теплоємність пелоїдів. Що вища масова частка води пелоїдів, то вищий початковий запас тепла, повільніше вони охолоджуються і вищий тепловий ефект від грязевої процедури.

Пластичність – здатність під впливом зовнішніх механічних чинників деформуватися без розриву суцільної пластичної маси і зберігати отриману форму після припинення дії чинника. Пластичність пелоїдів визначає їх здатність легко намащуватися на тіло і добре на ньому утримуватися. Характеризується такими показниками, як липкість та напруга зсуву. Для пелоїдів, які можна використовувати для лікувальних процедур, міститься в межах: 50 – 750 Па [2, 4, 20].

В'язкість – це внутрішнє тертя, завдяки якому пелоїди володіють зчепленням і тримаються суцільної маси [4]. В'язкість є показником міцності колоїдної структури, при низьких значеннях якої «пелоїд сповзає з тіла хворого». В'язкість залежить від багатьох факторів: складу пелоїдних систем, температури, вологості повітря тощо.

Масова частка води сапропелів і торфів значно вища, ніж мулових сульфідних (60 – 90% і 50 – 85% відповідно).

Теплові властивості обумовлюють придатність пелоїдів для лікувальних цілей, основними з них є питома теплоємність і теплопровідність.

Питома теплоємність визначається кількістю тепла в кДж, яке необхідне для нагрівання 1 кг пелоїдів на 1 градус. Питома теплоємність торфів і сапропелів ближча до 4,2 Дж/кг·К, для мулових – 1,7-2,3 Дж/кг·К. Для пелоїдів цей показник не нормований.

Теплопровідність пелоїдів визначається кількістю тепла у ваттах (Вт), яка проходить за 1 с через 1 м тіла з різницею температур в 1 градус. Найвища теплопровідність характерна для мулових пелоїдів.

Теплоутримувальна здатність – це час в секундах, протягом якого 1 кг пелоїдів при даній теплоємності і теплопровідності змінює свою температуру на 1

градус. Теплоутримувальна здатність характеризує швидкість охолодження пелоїдів. Вона найбільша для торфів і сапропелів, менша – для мулових пелоїдних систем.

Якість пелоїдів визначає низку фізико-хімічних властивостей.

Значення pH для торфів - в межах від 1,5 до 8,5; для мулових пелоїдів та сапропелів - від 6 до 10.

Окисно-відновний потенціал (Eh), мВ, характеризує стан рівноваги окислювально-відновлювальних систем в осадах, існування яких обумовлено наявністю хімічних сполук, що містять елементи зі змінною валентністю (сірку, залізо, марганець та ін.). Під впливом розчинного кисню, вуглекислого газу, кількості та якості органічних речовин, дисперсності осадів та деяких інших факторів рівновага в таких системах може зміщуватися у той чи інший бік, забезпечуючи таким чином окиснювальні або відновлювальні властивості середовища.

Величина мінералізації та іонний склад грязьового розчину характеризується формулою іонного складу, де вказується значення загальної мінералізації розчину в г/дм³, в чисельнику – аніони, в знаменнику — катіони в екв. % (від більшого їх вмісту до меншого).

Хімічний склад сапропелю. Лікувальна дія сапропелів визначається якісним та кількісним складом органічної речовини [3, 4, 16]. Найбільша кількість органічних речовин в торфах (20-99%), найменша – у мулових та глинистих пелоїдах (1-5%). Проміжне місце посідають сапропелі із вмістом органічних речовин 10-95%, які є енергетичним матеріалом для розмноження мікроорганізмів. Елементний склад органічної маси сапропелю в однорідному родовищі є постійним [14, 16].

Уміст органічної речовини в сапропелях різних типів змінюється в широких межах: від 15 до 94,3% на суху речовину, компонентний склад якої є досить різноманітний. У ній є вуглеводи різної складності, азотовмісні сполуки, речовини протейноподібної і гумусової природи, жирні кислоти і бітумінозні речовини [16]. Органічна речовина алохтонного генезису вирізняється значним

вмістом гумусових речовин, оскільки наземна рослинність порівняно бідна вуглеводно-білковим комплексом, а макрофіти посідають проміжне становище [21]. Хімічну природу органічної речовини сапропелю вивчали Я.К. Краулерс, М.З. Лопотко, Г.А. Євдокимова, М.М. Караєв, В.С. Поздняк та ін. Науковці довели, що основними компонентами органічної речовини донних відкладів є речовина вуглеводно-білкового комплексу, а жирні сполуки відіграють другорядну роль [21-25].

Органічні речовини сапропелів - це:

- залишки рослинних і тваринних організмів різного ступеня розкладу;
- мономерні сполуки – продукти гідролізу біополімерів;
- продукти життєдіяльності мікроорганізмів, вітаміни та біологічно активні речовини;
- полімерні сполуки, що утворилися в процесі біотичної і абіотичної деструкції та синтезу органічних речовин.

За елементами склад органічної маси сапропелю становить, у %: С – 53 – 60, О – 30-36, Н – 6 – 8, S – 1,5 – 3, N до 6. Органічна частина сапропелю містить від 3 % до 11% бітумів, до 40% гумінових речовин [14, 16]. Основними фракціями органічної речовини сапропелю є гумінові і легкогідролізовані речовини, які складають більше половини органічної речовини, й інертні в геохімічному відношенні важкогідролізовані сполуки [26]. Гумусові речовини не містяться у складі живих організмів, вони є продуктами перетворення рослинних, тваринних і мікробних залишків у природних умовах. Гумусові речовини у сапропелі становлять від 6,7 % до 71,2% на органічну речовину. Гумінові кислоти, вміст яких у межах 7 % – 40% на органічну речовину, натомість кількість фульвокислот становить від 1 % до 6% [4, 14, 16].

Максимальна кількість гідролізованих речовин виявлена в гумінових кислотах органічного сапропелю – 77 % – 78 %, мінімальна кремнеземистого – 53%, в карбонатних відкладах їх вміст 61 % – 63 %. У гідролізатах гумінових кислот сапропелю виявлено від 5 % до 15 % моносахаридів, гексоз і пентоз: глюкоза (1,3 % – 3,4 %), галактоза, арабіноза, ксилоза, рамноза. Найбільшу

кількість моносахаридів виявлено в органічних сапропелях – 10,4 % – 12,2%. Крім моносахаридів, у їхньому складі можуть бути уронові кислоти, фурфурол і оксиметилфурфурол [16].

Гумінові кислоти відіграють значну роль у міграції і нагромадженні багатьох макро- і мікроелементів, оскільки більшість металів утворюють з гуміновими кислотами міцні сполуки, частіше – у вигляді комплексів [14, 16].

Із основних типів сапропелю найкращою сировиною для виробництва гумінових препаратів вважається органічний та органо-мінеральний типи сапропелю, в яких зольність не перевищує 50%, а вміст органічної речовини коливається від 50 % до 94 % [10, 16] (табл.1.5).

Таблиця 1.5

Класифікація сапропелю за генетичним типом

Тип	Клас	Діагностичні ознаки класу		Сфера використання
		Сухий залишок, %	Біологічний і мінеральний склад	
Біогенний	<i>Органічний</i>	30	Зелені (протококові), Ціанобактерії (ціанофіційні) водорості	Добрива, кормові добавки, лікувальні гряді, для виробництва будівельних матеріалів, клеючих добавок, бурових розчинів
	<i>Кремнистий</i>	65	Залишки вищих рослин, тварин Діатомові водорості	Добрива
Кластоген-ний	<i>Органо-силікатний</i>	31-65	Органічні залишки, кварц, діатомові водорості, глинисті мінерали	Добрива, лікувальні гряді
Змішаний	<i>Силікатний</i>	65-85	Органічні залишки, кварц, глинисті мінерали, кальцит	Меліорант для кореневого покращення ґрунтів
	<i>Карбонатний</i>	31-65	Органічні залишки, глинисті мінерали, кальцит	Добрива для нейтралізації кислих ґрунтів, кормові добавки
	<i>Залозистий Органо-та вапняково залозистий,</i>	31-65	Органічні залишки, лімоніт, кальцит	Добрива
	<i>Сульфідний, лімонітовий</i>	31-65	Лімоніт, пірит, марказит	Не використовується

У сапропелі містяться біологічно активні речовини, зокрема вітамін B₁₂ (кобаламін, 2 мг/кг на суху речовину), який є продуктом синтезу мікроорганізмів. вітаміни групи B, в тому числі тіамін (B₁) рибофлавін (B₂), пантотенова кислота (B₅) піридоксин (B₆), фолієва кислота. Виявлені також вітаміни E, C, D, P і каротиноїди. Кількість бета-каротину (провітаміну A) сягає 178 мг/кг сухої речовини.

Сапропелі містять й інші високомолекулярні напівфункціональні органічні кислоти, які беруть участь у фізіологічних процесах, а також гормоноподібні речовини, ферменти [16].

Мінеральна частина сапропелів найчастіше представлена глинистими, піщанистими і дрібноалевритовими теригенними або карбонатними частинками. Мінеральна частина сапропелей містить мікроелементи, в тому числі і важкі метали, і радіоізотопи – Co, Mn, Cu, B, Zn, I, Br, Mo, Cr, Be, Ni, Ag, Sn, Pb, Sr, Ti та ін. За мінеральним складом виділяють: алотигенні мінерали – кварц, калієві польові шпати, плагіоклази, бітит, мусковіт та ін.; синтетичні аутигенні – опал, кальцит, лімоніт, сидерит, гіпс; даїгенетичні – кальцит, сидерит, марказит, пірит, сірка та ін. [10, 16].

Співвідношення органічних і мінеральних компонентів сапропелю, яке покладено в основу класифікації за генетичним типом, відображає тип озерних процесів, які відбувалися в умовах певного географічного середовища, та визначає сферу використання [9, 10].

Сапропель біогенного типу з низькою зольністю доцільно використовувати в медицині, ветеринарії та промисловості, а кластогенного і змішаного – для добрив та вітамінно-мінеральної підгодівлі тварин.

Сапропелів біогенного типу у Волинській області розвідано 9,6 млн т, тобто 15,1%. Їх використовують як кормові добавки (крім торф'янистого сапропелю), лікувальні грязі, для виробництва будматеріалів, бурових розчинів.

Запаси біогенних сапропелів у Любешівському районі становлять 2 млн тонн, у Ратненському – 1 млн тонн. Сапропелі змішаного типу складають 43,7 млн тонн або 68,7 % загальних запасів. Вони можуть бути використані для сільського

господарства як добрива, деякі види — як кормові добавки. Сапропелі кластогенного типу, запаси яких 10,3 млн тонн (16,2 % запасів), можна використовувати як добрива і лікувальні грязі [10, 14, 16].

1.3. Історичний аспект дослідження сапропелів

У 1916 р. Комісія з вивчення природних виробничих сил Росії, діючи за вказівкою Особливої наради по обороні держави при військовому міністрі, розпочала експедиційне вивчення зразків сапропелю озера Балхаш, бітумів і сапропелів інших озер [26], що і стало початком їх досліджень.

У 1932 р. був створений сапропелевий інститут. За роки роботи сапропелевого комітету і сапропелевого інституту був виконаний великий об'єм роботи науково-прикладних робіт із застосування сапропелю у сільському господарстві, медицині, бальнеології та різних галузях промисловості. У результаті хімічної переробки сапропелю отримували моторне паливо, різні олії, кокс, оцтову кислоту, метиловий спирт, ізоляційні матеріали та ін. У той час була створена сапропелева промисловість СРСР [26].

У період з 1950 по 1990 роки активні дослідження проводили у Білорусії та Росії. Масштабні дослідження, що присвячені вивченню генезису, фізико-хімічних і технологічних властивостей сапропелів з метою отримання дешевих добрив, різних хімічних продуктів, виконані Г. А. Євдокимовою, Р. І. Грищуком, М. З. Лопотко, А. П. Підоплічко, А. В. Тишковичем та ін. [26]. Слід зазначити, що лідерство білоруських учених у розробці сапропелевої тематики не викликає сумнівів. В Інституті торфу АН БРСР було проведене детальне і всестороннє дослідження сапропелів з понад 300 озер, що дало змогу запропонувати промислово-генетичну класифікацію сапропелю і розробити рекомендації для їх широкого застосування у різних галузях народного господарства [23]. Вивчення сапропелів з лікувальною метою в Республіці Білорусь налагодили в НДІ неврології, нейрохірургії і фізіотерапії, Інституті торфу АН РБ [27-30].

Питаннями раціонального використання і переробки сапропелю займаються фахівці Національного дослідного Томського державного університету, РФ. Це науковці М. А. Тюніна, К. А. Дичко, Г. Л. Ригова [31-33].

В Україні озерні відкладення вивчали на окремих водоймах, в основному, в 1950-х роках спеціалісти Академії наук УРСР. Геологорозвідувальні роботи з вивчення запасів сапропелю почала проводити Київська геологорозвідувальна експедиція з 1980 року. За період 1980-1994 рр. державним геологічним підприємством «Севукргеологія (ДГП «Севукргеологія») було розвідано запаси родовищ сапропелю у Волинській, Рівненській, Сумській, Чернігівській та Київській областях. Проведені пошукові роботи в Житомирській, Одеській та Херсонській областях не виявили промислових запасів сапропелю. Результатом цієї діяльності стало видання в 1994 р. «Довідника ресурсів сапропелю України», підготовленого Комітетом України з геології та використання надр і ДГП «Севукргеологія» [10].

Результати дослідження сапропелю в поліській зоні простежуємо в працях А.Л. Жуховицької, В.А. Генералової [34], Л.В. Ільїна [19, 35, 36], О.В. Ільїної [37, 38], М.Й. Шевчука [14, 16, 39 – 41] та ін. Зокрема, досліджено геохімічні особливості донних відкладів, розглянуто їх ресурсну оцінку в [9, 15], наявність забруднювальних речовин у покладах [14, 16], перспективи використання [42] тощо.

М.Й. Шевчук глибоко вивчав сапропелі Волинської області, опублікував праці, які стосуються донних відкладів і перспектив використання сапропелів України. Основний акцент у роботах М.Й. Шевчука зроблено на аналізі властивостей сапропелю як цінного органо-мінерального добрива й мінерально-вітамінної добавки для тварин. Л.В. Ільїн описав генетичні типи донних відкладів озер та питання використання сапропелевих ресурсів у загально-лімнологічних дослідженнях Українського Полісся [35].

Важливим внеском українських вчених є наукові дослідження та вивчення впливу озерних сапропелів на зменшення надходження радіонуклідів у рослинну

продукцію на забруднених ґрунтах внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС [14, 16].

Вивчення грязевих родовищ Чорноморського побережжя України почалося ще в середині XIX століття. Безпосередньо ресурсам озер присвячені наукові праці Є.С. Бурксера, А.І. Дзенс-Литовського, С.А. Щукарьова. Починаючи з 1930 р. роботу з вивчення Одеських лиманів здійснював Український інститут курортології (зараз Державна установа «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології Міністерства охорони здоров'я України» (ДУ УНДІ МР та К МОЗУ)). Багато уваги було приділено Кримським приморським озерам та їх пелоїдам, які вивчали дослідники С. А. Щукарьов, А. І. Бунєєв, Л. А. Яроцький, В. І. Бахман та ін. Пелоїди Чорноморського побережжя України представлені двома типами: муловими сульфідними і сопковими. Мулові сульфідні пелоїди домінують та розповсюджені на всьому побережжі. Сопкові пелоїди характерні лише для Керченського півострова [4].

У 1989-1990 р. в ДУ УНДІ МР та К МОЗУ виконано роботу з уніфікації сучасних фізико-хімічних, мікробіологічних і експериментальних методів дослідження пелоїдів.

Починаючи з 2000 р. значне підвищення цін на добрива для сільського господарства за необхідності збільшення виробництва сільськогосподарської продукції і більш жорсткі екологічні вимоги до її якості зумовили необхідність пошуку порівняно недорогого природного ресурсу, який відповідав би сучасним екологічним вимогам і став би альтернативою хімічним добривам. Такою альтернативною сировиною може бути сапропель. Це спричинило стрімке зростання інтересу до його використання, а також появу прикладних і наукових розробок із сапропелевої тематики у країнах з великими запасами сапропелю – Росії, Білорусі, Латвії та ін. [22 – 25, 27 – 30, 43 – 47]. У цих країнах вживають низку заходів при державній підтримці і стимулюванні виробничих і науково-дослідних робіт. На жаль, в Україні при запасах сапропелю понад 88 млн т добування, використання і переробка наразі на низькому рівні, а науково-дослідні роботи практично не проводяться, хоча

економічний ефект від їх використання в різних областях вже доведений досвідом наших сусідів.

Сапропелі широко використовують для потреб різних галузей промисловості та для удобрювання сільськогосподарських культур і за кордоном. У Нідерландах із затоки під Роттердамом щороку добувають кілька мільйонів тонн покладів для створення високопродуктивних ґрунтів, для чого розроблено систему меліоративних машин і механізмів. Використовують сапропелі на добриво при одночасному очищенні водоймищ в Канаді, Фінляндії, Німеччині, Швеції. У США добуванням діатомового сапропелю займаються дванадцять компаній, які отримують його в межах 30-40% від світового рівня. Його експортують в Англію, Канаду, Німеччину. Розширюється добування в Ісландії, Японії, Австралії, а також в Європі – в Німеччині, Данії, Швеції, Польщі, Румунії, Угорщині [14, 16].

Загальне споживання сапропелю в розвинених країнах світу зростає як в сільському господарстві, так і в харчовій, хімічній, нафтовій, будівельній, фармацевтичній, паперовій промисловості [14, 16, 42].

1.4. Сфери використання сапропелю та продуктів його переробки

Комплексність використання сапропелів як сировини обумовлена їх унікальними структурними і механічними особливостями. Специфічна органічна речовина озерних сапропелів може бути вигідною сировиною для різних галузей народного господарства, що дає підставу для продуманого і раціонального їх використання. Для цього при добуванні сапропелів слід передбачити комплексне дослідження та їх комплексну переробку. При вилученні з них біологічно активних (у т.ч. білкових речовин та інших продуктів і матеріалів) можливе їх використання на добриво, оскільки під час переробки агрохімічні властивості сапропелів не втрачаються.

Основними напрямками використання сапропелів є сільське господарство (землеробство, тваринництво), виробництво будівельних матеріалів

(деревоволокнисті плити, теплоізоляційні матеріали), медицина (лікувальні грязі, косметичні препарати), геологія (бурові розчини) тощо (рис. 1.1.) [14, 16, 21, 22].

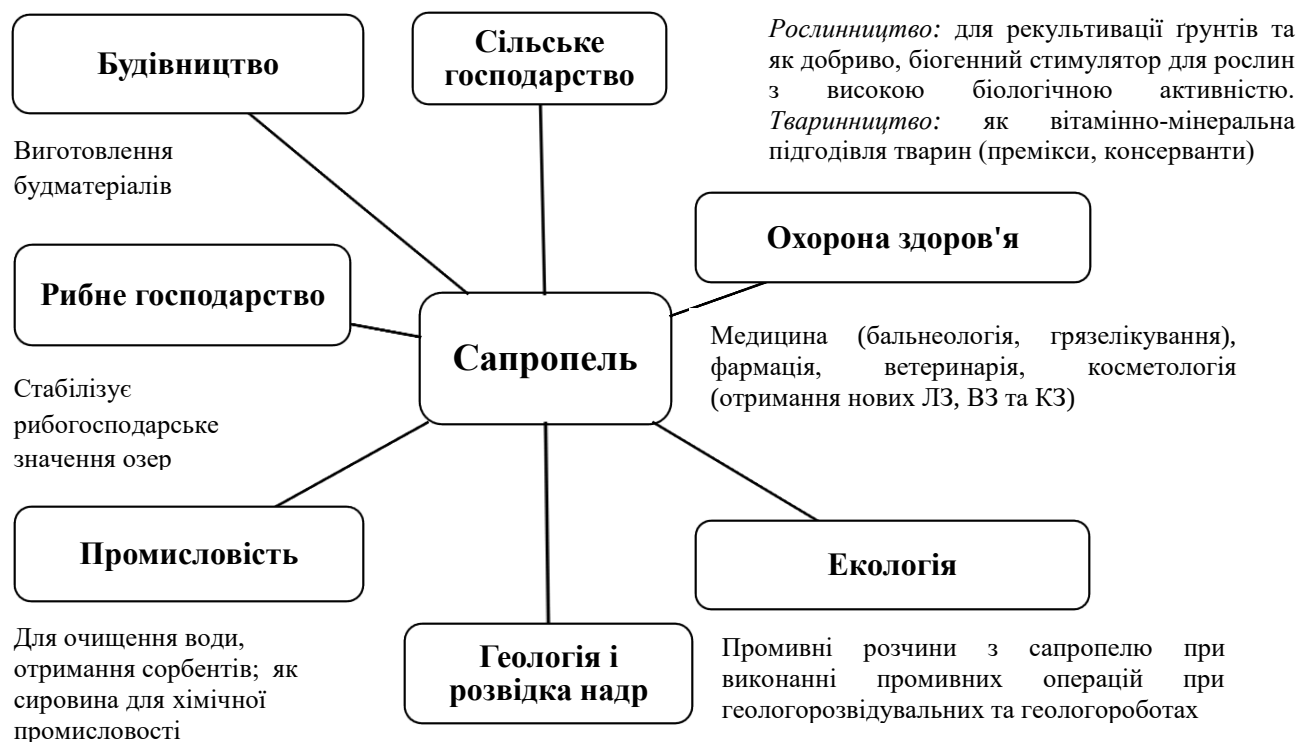


Рис. 1.1. Використання сапропелю у галузях народного господарства

Видобутий сапропель має важливе народногосподарське значення. Залежно від фізичних властивостей і вмісту мінеральних речовин та хімічних сполук озерні сапропелі передбачають широкий спектр застосування [15].

Видобуток сапропелів слід розглядати не тільки з погляду їх застосування, а й з точки зору охорони навколишнього середовища. Вплив людини на озерні екосистеми відбувається постійно в різних напрямках: освоєння цілинних земель: осушення боліт, вирубування чагарників, лісів, знищення природних трав й рослин, які прикривали ґрунт; інтенсивне сільськогосподарське використання земель, прилеглих до водойми тощо [41].

Озера швидко і чуттєво реагують на зміну зовнішнього середовища. Будь-яке порушення вже сформованих екологічних умов протягом порівняно короткого

проміжку часу впливає на водний режим озер, кількість мінеральної та органічної речовини, що надходить, умови життєдіяльності організмів і т. п.

У результаті вищенаведених негативних процесів погіршується екологічний стан озер, вони втрачають свою рекреаційну цінність, площа зменшується, рівень води значно знижується, водне дзеркало і прибережна смуга починають інтенсивно заростати водною і болотною рослинністю, що призводить до заростання і замулення та втрати їх гідрологічної ролі.

На сьогодні природні водойми Волинської області в результаті техногенного та антропогенного впливу втрачають здатність до самоочищення, замулюються, заростають і заболочуються. Нагромадження донних відкладів відбувається одночасно як з дна, так і з поверхні.

У низки озер Шацького природного заповідника, таких як Луки, Люцимер, Кримне, донні нашарування сапропелю досягли більше 10 м із шаром води над ними всього 1,5 – 3,0 м. Добування сапропелю могло б відновити гідрологічний режим озер та запобігти їх «відмиранню» [7, 9, 14].

Важливою причиною погіршення екологічного стану озер є заростання і замулення, що призводить до втрати їх гідрологічної ролі.

У багатьох озерах заповненість улоговини донними відкладами іноді сягає 80–90%, а процеси евтрофікації набули незворотних ознак. Комплексне освоєння родовищ сапропелю пов'язане не лише з дефіцитом джерел органо-мінеральної сировини, а й із необхідністю відновити дистрофічні озера для господарських та рекреаційних цілей [15].

До заходів, що відновлюють стан та водний режим озер, належать: подавання в озера поверхневих вод з річок, наявних водогонів; підземних вод, штучного підймання ґрунтових вод на навколишній території та добування з озера сапропелю. Найбільші екологічні зміни очікують озеро під час його відновлення шляхом добування сапропелю – передбачається поглиблення дна озера, зміна в ньому глибини води, зростання об'єму водної маси тощо. Таким чином, відновлення водного режиму озера у будь-якому варіанті призведе до зміни екосистеми озера, однак, враховуючи той факт, що нині більшість озер є

відмираючими, такий вплив є екологічно безпечним і з часом стабілізує їх рекреаційне та рибогосподарське значення [14, 38].

На державному рівні Спілкою екологів України (червень, 2016) обґрунтована необхідність екологічної, технічної та економічної експертизи проектних рішень на видобуток сапропелю та на отримання з них товарної продукції, що передбачає:

- проведення екологічного аудиту родовищ сапропелю;
- надання офіційного висновку на придатність сапропелю або донних мулів водойм як сировини для виробництва добрив, кормових та сапропеле-вітамінних добавок, лікувальних та косметичних засобів;
- здійснення екологічної, технічної та економічної експертизи проектних рішень на видобуток сапропелів та на одержану з них товарну продукцію [48].

Увагу при експлуатації сапропелевих родовищ слід зосереджувати на виділенні особливо цінних сапропелевих родовищ в заповідні зони і заказники та вживанні додаткових заходів, які б за необхідності призупинили евтрофікацію озер і сприяли відновленню їх гідрологічної ролі, а також максимально ефективному використанню добутої сапропелевої маси для потреб народного господарства. Водночас добування сапропелю розв'язує екологічну проблему замулення та подальшого зникнення озер, що останнім часом загострилась унаслідок проведення меліоративних робіт і збільшення надходження біогенних елементів та теригенного матеріалу з поверхневих стоків в озера. Загалом в області з 186 озер 18 мають глибину від 0,09 до 0,48 м, 19 – від 0,53 до 1,0 м, 37 – від 1,05 до 1,48 м. Майже всі вони перебувають на стадії зникнення, і тільки очищення їх котловин від осадів у процесі добування сапропелю продовжить функціонування водойм [42]. Розробка родовищ повинна здійснюватись відповідно до технологічних карт, роботи слід обмежувати певною ділянкою водного дзеркала озера, щоб рослинні і тваринні біоценози могли мігрувати в безпечні місця, треба лімітувати надходження у водойму органічних речовин і біогенних елементів, заборонити скидання стічних вод промислових та

сільськогосподарських підприємств і побутових стоків; не допускати добування сапропелю в озерах із сильною проточністю тощо [14, 16].

Таким чином, кінцевою метою при вирішенні проблеми комплексного відновлення озер і освоєння ресурсів сапропелю в соціальному, екологічному і економічному планах повинно бути поліпшення водного балансу й якості води, створення нових рекреаційних територій, а також раціональне використання цінної органо-мінеральної сировини сапропелю в різних галузях народного господарства.

1.4.1. Застосування сапропелю в галузі охорони здоров'я

Доведено, що сапропелеві грязі позитивно впливають на периферичну нервову, ендокринну, серцево-судинну, травну систему, покращують стан опорно-рухового апарату, стимулюють метаболічні процеси в печінці, виліковують шкірні та гінекологічні захворювання, сприяють швидкому загоєнню запальних процесів і лікуванню екзем, дерматитів та опіків, що обумовлене наявністю у складі сапропелю антибіотиків та відсутністю патогенних мікроорганізмів [49].

Дослідженнями встановлено, що застосування сапропелю покращує лімфо- і кровообіг, стимулює функції вегетативної нервової системи. Сапропель посилює метаболічні процеси в тканинах, підвищуючи кисневий обмін, володіє вираженою протизапальною дією, сприяє активізації імунних реакцій організму, має тонізуючу дію, підвищує опірність організму до захворювань тощо [50 – 53].

Вперше сапропель озера Молтаєво як лікувальний засіб використав І. Н. Демідов [54]. Н. М. Самутін [55] довів, що сапропель є ефективним протизапальним засобом пролонгованої дії при хронічній запальній патології суглобів. При застосуванні аплікацій відновлюється маса імунокомпетентних органів (тимус, селезінка), клітинність тимуса і продукція антитілоподібних клітин у селезінці, показники фагоцитозу імунних комплексів.

Сапропель як природний стимулятор перистальтики кишківника активно оновлює клітини кишкової стінки, нормалізує роботу кишково-шлункового тракту, покращує засвоєння їжі. Саму тому його рекомендують споживати при запорах, колітах, ентероколітах, гастритах, холециститах, печії, дисбактеріозі, геморої.

Вивчення властивостей сапропелю здійснюють з 1947 р. у Свердловському науково-дослідному інституті (НДІ) фізіотерапії та курортології. В оздоровчих закладах Уралу пройшли лікування близько 10 млн осіб, позитивні результати отримані у 90% випадків. Сапропель використовують також в Єкатеринбурзькій клініці косметичної і пластичної хірургії і в Центрі дитячих алергодерматозів МОЗ Росії. Методики і рекомендації щодо застосування сапропелю розроблені Інститутом курортології і фізіотерапії Російської Федерації. Лікувальні грязі застосовують навіть внутрішньо. У цій галузі дослідження проводив відомий фізіолог професор П. Ф. Солдатенков [54]. Хімічний склад, властивості та біологічну активність лікарських грязей озер Глибоке, Леб'яже, Татарстан досліджували фахівці кафедри загальної, біонеорганічної і біоорганічної хімії Самарського державного медичного університету (РФ), Тульського державного університету (Тула, РФ) та ін. Вивченням цих питань займалися науковці Н. П. Аввакумова, А. В. Жданова, В. А. Платонов, А. А. Хадарцев та ін [56-76].

Мікробіологічними та експериментальними дослідженнями на лабораторних тваринах встановлено, що патогенних мікроорганізмів у сапропелях немає. Більш того, виявлені мікроорганізми, які продукують антибіотики та антагоністичні до деяких патогенних і сапрофітових мікроорганізмів [10, 50, 77].

Антибактеріальні властивості пелоїдів обумовлені смолоподібними органічними речовинами [78, 79], в результаті розкладання яких під впливом мікроорганізмів утворюються аміносполуки, солі жирних кислот, ароматичні похідні. На користь того, що пелоїди мають бактерицидну дію, свідчать і позитивні результати грязелікування відкритих інфікованих ран [80].

Вплив пелоїдів на життєдіяльність і персистентні особливості бактерій підтверджено експериментально [44]. Навіть слабкобактерицидні пелоїди

пригнічують здатність патогенних бактерій інактивізувати комплемент, лізоцим і бактерицидний компонент препарату інтерферону, а також знижують гідрофобність бактеріальних клітин [81].

Наявність в пелоїдах бактерицидного ефекту відкриває можливість їхнього використання як природних антимікотичних засобів при грибкових виразках шкірних покривів, спричинених низкою дерматофітів [82].

Для сапропелів, які містять мікрофлору, що бере участь у переробці азотистих сполук (нітрифікуючі, денітрифікуючі групи, а також мікробактерії, плісневі гриби), виявлена ферментативна активність щодо каталази, пероксидази, дегідрогенази [4, 83, 84].

Встановлений зв'язок біологічної активності сапропелевих пелоїдів з їх антиоксидантними властивостями, у формуванні яких велику роль відіграють жиророзчинні антиоксиданти фенольної природи – токоферолі, які зв'язують активні вільні радикали. [84].

Антибактеріальні властивості мікроорганізмів, виділених із сапропелів, вивчали стосовно стандартних мікробіологічних тест-культур, а також щодо патогенних грибів шкіри і волосся людини, палочки Волковіца-Фріша, штамів, виділених у жінок із запальними процесами сечостатевої сфери. Встановлено, що бактерії і актиноміцети, які містяться у сапропелях, виявляють антибактеріальні властивості переважно до грампозитивних мікроорганізмів [3, 4].

Особливості формування сапропелю і його бактерицидні властивості обумовили незначний вміст (або відсутність) хвороботворної мікрофлори і токсичних речовин: нітратів, солей ртуті, миш'яку, важких металів, хлор- і фосфороорганічних сполук, збудників канцерогенної активності [3, 4, 10, 14, 16, 48]. Сапропелі мають значний антибактеріальний ефект; виражені антиоксидантні властивості, уповільнюють старіння; підсилюють захисні властивості шкірних покривів, активують процеси фібринолізу; зв'язують і виводять з організму шлаки, токсини, важкі метали і радіонукліди. Наявність мінеральних речовин і мікрочастинок хітину забезпечує відлущення епідермісу. Колоїдні структури сапропелю утримують воду і запобігають зневодненню клітинних структур

шкіри; нормалізують тонус м'язової мускулатури, що сприяє помітному розгладженню зморшок, активізують синтез колагену і еластину; впливають на процеси регенерації (в тому числі нервових волокон), сприяють ефективнішому проведенню нервових імпульсів, релаксують нервову систему [7, 9, 13, 85].

Основною перешкодою у справі фармацевтичної розробки ЛЗ на основі сапропелю та продуктів переробки є складність його стандартизації.

Ще в 40-х роках минулого століття під керівництвом академіка В.П. Філатова були розроблені біостимулювальні препарати («ФіБС» та ін.), де одним із компонентів з вираженою фізіологічною активністю були гумінові речовини. Публікації останніх років свідчать про зростання інтересу багатьох учених до даного класу сполук, що пояснюється широким спектром біологічної активності гумінових речовин, визначеної експериментальним шляхом [85-89].

Методологічні основи і єдині критерії стандартизації гумінових сполук як субстанції для виробництва ЛП на сьогодні ще не розроблені. Це пояснюється складністю структури гумінових сполук, різноманіттям способів виділення їх з природних об'єктів, неможливістю використання багатьох класичних методів аналітичної хімії для ідентифікації та кількісного визначення гумінових речовин, відсутністю стандартних зразків. Багато показників якості гумінових кислот залежать не тільки від сировинного джерела, а й від способу виділення їх з природних об'єктів.

Загалом властивості гумінових речовин вивчені недостатньо, тому що наразі немає загальноприйнятої методології дослідження і оцінки якості гумінових речовин через складність їх хімічної будови, поліморфізму і пов'язаних з цим певних труднощів при ідентифікації окремих фракцій.

Водорозчинні препарати лікувальної грязі – «ФіБС», «Гумізоль», «Пелоїдодистилят», «Торфот» тощо – застосовують у вигляді ін'єкцій в отоларингології, офтальмології, стоматології та інших галузях медицини для лікування запальних захворювань. Препарати, що містять біологічно активні ліпідорозчинні фракції пелоїдів (органічні сполуки – бітуми, естрогеноподібні сполуки і ін.), володіють гепатопротекторною, антиоксидантною та

протизапальною дією і вводяться в організм за допомогою фонофорезу [3]. Перевагою використання препаратів на основі водо- і ліпідорозчинних фракцій грязей є можливість їх призначення в гострій фазі запального процесу, що, як відомо, абсолютно неприпустимо для традиційної методики пелоїдотерапії [3, 90, 91].

До того ж терапевтична ефективність препаратів на основі хімічних інгредієнтів пелоїдів істотно підвищується, оскільки при їх застосуванні не спостерігається бальнеопатологічних реакцій, які часто змушують переривати курс лікування аплікаціями нативною гряззю [92].

Нині на основі гумінових речовин створено низку біологічно активних добавок (БАД) – «Гумівіт», «Охуhumate-k» (ПАР), «Avirol™» (США), «Humic & Fulvic Acid» (США), «Vitality Boost HA» (США), «Colloidal Minerals XL with Fulvic Acid» (Австралія), «RF2 Liquid Plant Minerals» (Канада). У науковій літературі є публікації з розробки лікарських препаратів на основі ГР («Solviral™», «Оліпіфат™»), але жоден з них в медичну практику не впроваджено [85, 93 – 95].

1.4.2. Аналіз асортименту лікарських і косметичних засобів на основі лікувальних грязей та продуктів їх переробки

Нами проаналізовано асортимент лікарських і косметичних засобів на основі лікувальних грязей та продуктів їх переробки. Об'єктом дослідження була інформація про зареєстровані в Україні та інших країнах засоби на основі пелоїдів (довідники лікарських засобів України, Державний реєстр лікарських засобів України, інструкції для медичного застосування лікарських засобів на основі сапропелю, електронні каталоги, наукові статті) [96 – 114].

У косметології ефективно використовують маски на основі вулканічної (сопкової) грязі (косметична маска на основі вулканічної грязі «Гея», Сакська гідрогеологічна станція Саки, АР Крим, Україна).

На основі куюльницької грязі виробляють грязеві маски «Чорна перлина», «Чорна орхідея» (ТОВ «Далк», Одеса, Україна), концентрат для тіла «Кофеїн», «Кінський каштан», «Спіруліна», «Хвощ польовий» (ТМ «Kaetana», Київ, Україна), на основі сакської грязі – грязьовий препарат «Біоль», мінеральний бальзам «Фіто-Біоль», нативна сировина, натуральне мило із Сакською гряззю (Сакська гідрогеологічна станція, Саки, АР Крим, Україна).

На вітчизняному ринку представлена косметична продукція переважно ізраїльських виробників: «Sea of Spa», «Ahava», «Premier», «Health and Beauty», «Dead Sea Minerals», які випускають КЗ на основі лікувальних грязей Мертвого моря. Це креми для обличчя, рук, ніг, тіла, пілінги, гелі, натуральні грязі з ароматичними оліями, грязеве мило тощо [115, 116].

КЗ на основі сапропелів представлені українськими, російськими, білоруською та латвійською торговими марками, а саме: «І-Есо», «Добрин», Київ, Україна (виробник СП «Вибір»), «Faberlic», «Биобьюти», Москва, «Секрет Красоты», Бердськ, РФ (виробник – НВЛ «ЛН-Косметика»), ТОВ «Стройиндустрия», Вологда, ТОВ «Биолит», Томськ, РФ, ЗАТ «Триумф», Єкатеринбург, ЗАТ «Сибирская органика», Омськ, РФ, ТОВ «Есо-Sapropel», Мінськ, Республіка Білорусь, «Selenium», Рига, Латвія (Додаток А).

Сегментаційний аналіз вищенаведених КЗ за країнами-виробниками сапропелевої продукції та торговими марками, які її реалізують, свідчить, що з них вітчизняного виробництва представлено 4,4% асортименту препаратів, а 95,6% – закордонного виробництва. Українські виробники представлені торговими марками «І-Есо», (Київ), «Добрин» (Київ). Вони постачають нативну продукцію одного виробника, на основі сапропелю озера Волове Київської області Вишгородського району і призначені для традиційної технології грязелікування та у косметичних і оздоровчих цілях у вигляді масок та обгортань [115, 117].

Серед закордонних країн перше місце посідає продукція фірм-виробників Російської Федерації – 47,85%, друге – Республіки Білорусь 37,75%, і з великим відривом – Латвії з показником 10% (рис. 1.2).

За видами косметичної сировини (рис. 1.3), яку використовують у складі КЗ, нативна складає 30,0%, нативна сировина суміші з іншими речовинами (ефірні олії; ментол; пантенол; крохмаль тапіоки) – 38,6%, препарати, які містять екстракти сапропелю та в суміші з іншими речовинами (білок пшениці, комплекс рослинних екстрактів) – 10% косметичного ринку препаратів, а препарати, що містять індивідуальні речовини сапропелю (ГК) – 21,4%.

Сапропель використовують у вигляді нативної сировини озер Волове, Кишемське, Шимське, Пучай, Молтаєво, Судобль та ін. [54]. Крім того, сапропель є у складі шампунів, мил, скрабів у вигляді тонкодисперсного порошку. Це лінія сухої косметики «Фам», запропонована торговою маркою «Секрет красоти» [108].

У складі КЗ косметики ТОВ «ЕсоСапропел» є екстракти сапропелю, які містять ГК, вітаміни та мікроелементи тощо, а також розчини ГК, виділених із сапропелю окремо або у суміші з іншими речовинами [104]. (Додаток А)

КЗ на основі сапропелю представлені у різних формах: маски (37,1%), тоніки (4,4%), креми (5,7%), шампуні (11,4%) та бальзами-ополіскувачі для волосся (5,7%), розчини (5,7%), скраби (4,4%), пілінги (1,4%), мила (5,7%), солі для ванн (1,4%), гелі для душу (1,4%), а також у вигляді нативної сировини (15,7%) (рис. 1.4).

Наведені дослідження ринку КЗ на основі пелоїдів продемонстрували, що потенціал їх ще не вичерпано. Використання сапропелів як нативної сировини та у суміші з іншими біологічно активними речовинами у вигляді різних косметичних форм – масок, тоніків, розчинів, скрабів вказує на актуальність розробки КЗ із сапропелями та продуктами його переробки.

Пелоїди використовують на бальнеологічних курортах України, РФ та Європи: Слов'янськ, Саки, Куяльник (Україна), Хаапсалу (Естонія), Поморіє (Болгарія) тощо – від простих аплікацій, тампонів та газогрязевих ванн до електрогрязелікування [102, 103].

Спектр показань до застосування пелоїдів дуже різноманітний і залежить від типу пелоїдів, а також асортименту послуг, який надається.

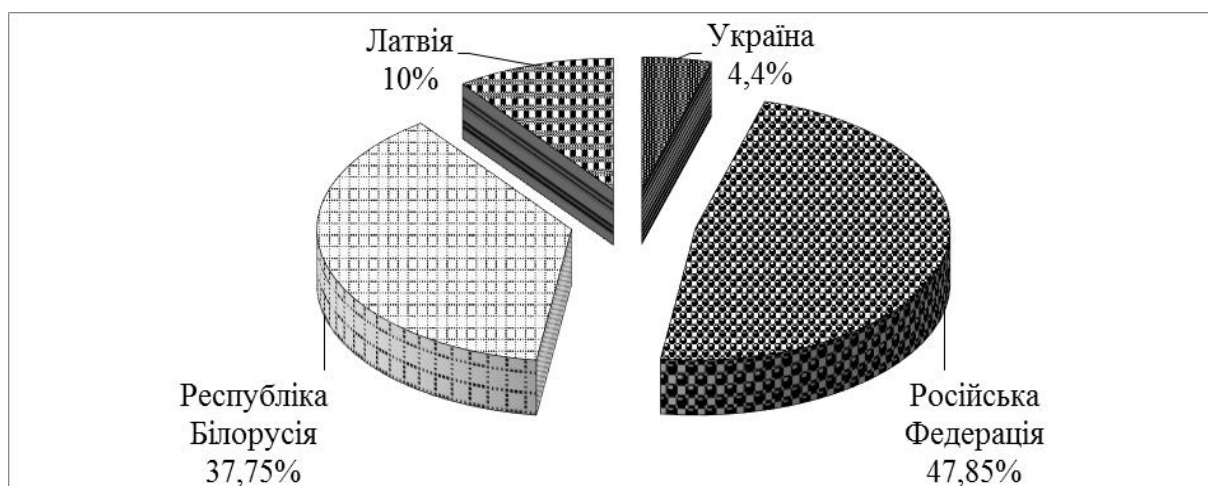


Рис.1.2. Розподіл КЗ з саурпелем за країнами-виробниками

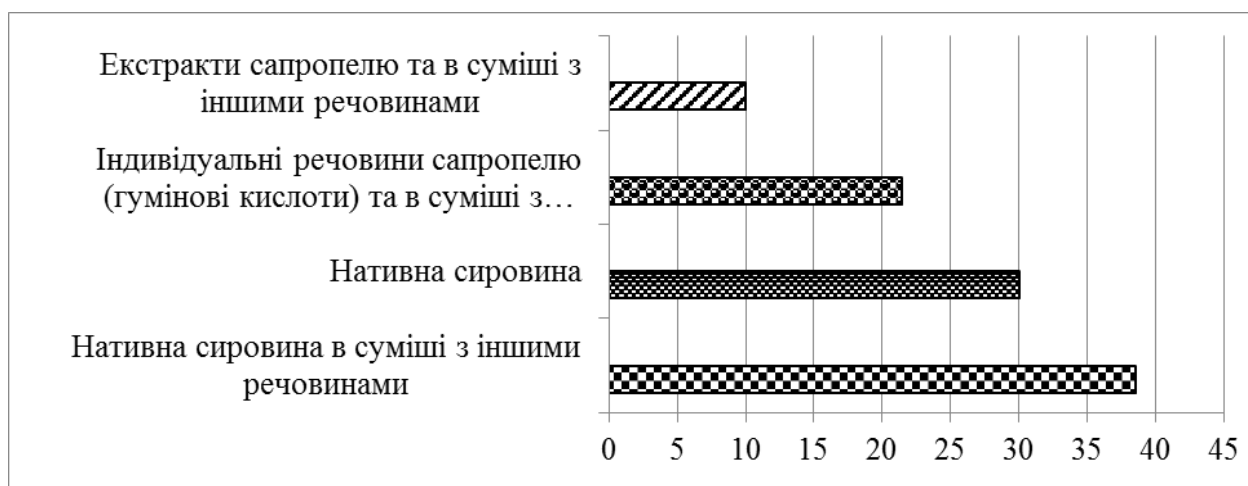


Рис. 1.3. Розподіл КЗ із саурпелем за видами косметичної сировини

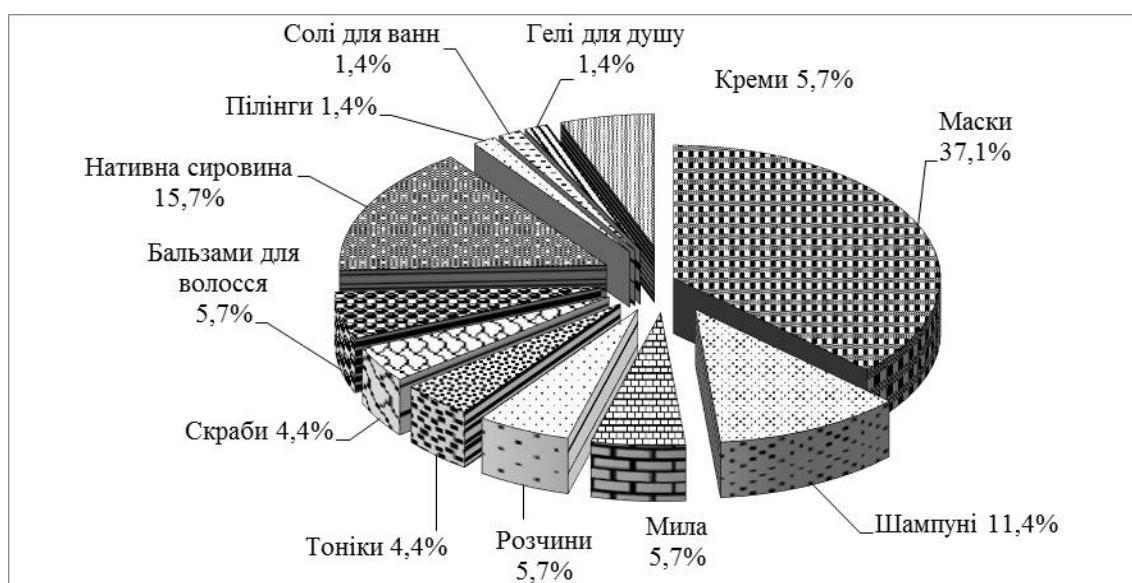


Рис.1.4. Розподіл КЗ на основі саурпелю за косметичними формами, %

Нами проаналізована наявність на фармацевтичному ринку лікарських засобів на основі лікувальних грязей. На основі даних інформаційних джерел встановлено, що станом на 2014 рік в Україні не було ЛП на основі сапропелю, а за кордоном ЛП на основі сапропелю представлені лініментом сапропелевим (ЗАТ «Сибирская органика», Омськ, РФ) [96 – 99]. Препарат є модифікацією лініменту Вишневського, яка полягає в заміні дьогтю березового в оригінальному прописі на дьоготь, отриманий із сапропелю. Спричиняє місцеву подразнювальну дію, схожу на оригінал. У той же час при використанні цього препарату відзначено більш виражене очищення ран і стимуляція процесу грануляції [100].

Другу частину фармацевтичного ринку займають препарати на основі інших видів пелоїдів:

- осадкових : Хаапсалузької лікувальної грязі (морська), маточників Поморійських соляних озер (лиманна);
- сульфідних мулових : лиманної грязі Куяльницького лиману Одеської області, грязь Сакського озера;
- торфу.

ЛЗ на основі цих пелоїдів випускають у формі розчинів для ін'єкцій – «Гумізоль», «Пелоїдодистиллят», «Фібс», «Торфот», «Гумінат», «Пелоїдин»; розчинів для внутрішнього та зовнішнього застосування – «Пелоїдин», «Пелодекс», мазей – «Вулнузан» і лініментів – «Лінімент бальзамічний сапропелевий» (Додаток Б). Досліджувані лікарські препарати належать до фармакотерапевтичної групи засобів, що регулюють метаболічні процеси, зокрема до біогенних стимуляторів. Препарати «Пелоїдодистиллят», «Гумізоль», «Торфот», «Фібс», «Пелоїдин» за АТХ-класифікацією відносять до засобів, що впливають на травну систему і регулюють метаболічні процеси код A16A X, «Вулнузан» - до D03A X. Засоби для лікування ран та виразок. Інші ранозагоювальні засоби.

Таким чином, на фармацевтичному ринку представлено 10 лікарських препаратів на основі пелоїдів, з них лише один – на основі сапропелю, що складає 11,15% ринку (рис. 1.5).

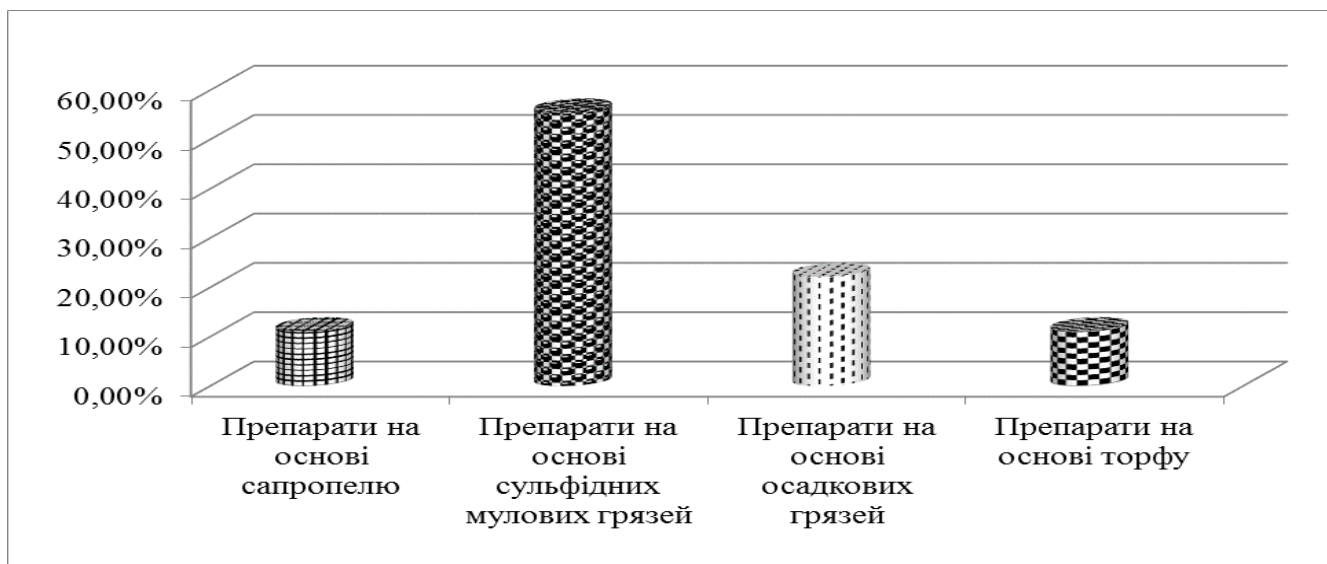


Рис.1.5. Розподіл лікарських засобів, що містять пелоїди, за їх якісним вмістом

Лікарські препарати на основі сульфідних мулових пелоїдів складають 55,50%, на основі осадкових – 22,20%, а ті, що містять продукти дистиляції торфу – 11,15% фармацевтичного ринку.

На сьогодні одним із перспективних напрямів є створення очних лікарських форм на основі натуральних субстратів (концентрований екстракт алое, комплекс гумінових кислот торфу, дистиляція лиманної грязі, концентрат мікроелементів морської води), доклінічна оцінка їх фармако-біологічних властивостей, механізму дії, лікувальної ефективності і токсичності. Науковими дослідженнями у цьому напрямі займається лабораторія фармакології і тканинної терапії ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова» НАМН України,

Розроблено комбіновані очні краплі 20% сульфацил-гумінату, що володіють вираженими антимікробними, протизапальними і репаративними властивостями . З дистиляції лиманної грязі отримані і запатентовані нові очні ЛФ (краплі і мазь біопелоїдів), а також поєднання їх з вітамінами групи В: пелонат-Р (з рибофлавіном) і пелонат-П (з піридоксином). Розроблені і запатентовані комбіновані очні мазі на основі концентрату і сухого екстракту алое, пелоїдодистиляту. Аналіз клінічних спостережень показав, що вони мають виражені протинабрякові, протизапальні, репаративні властивості й ефективні при

лікуванні запальних захворювань рогівки, дистрофічних захворювань сітківки та зорового нерва, при синдромі «сухого ока» та іншої очної патології [118].

1.4.3. Застосування сапропелю у ветеринарії

Сапропелі концентрують у собі комплекс речовин, необхідних організму тварин. Вони містять мінеральні макро- (Ca, P, K, M, Na тощо) і мікроелементи (Mn, Cu, Zn, I і ін.), вітаміни (групи B, каротин), набір амінокислот, біологічно активні речовини. Всі вони містяться, як правило, в збалансованих для споживання кількостях і в доступних організму формах [14].

Для *вітамінно-мінеральної підгодівлі тварин* придатні перш за все сапропелі, збагачені кальцієм, карбонатного або змішаного типів. Позитивно впливають на ріст та розвиток тварин донні відкладення біогенного типу сапропелю з вмістом органічної речовини більше 70% на суху речовину [10, 14, 16].

Сапропелі, які використовують як кормову добавку, в органічній речовині мають високу кількість азоту (до 6%). Азот сапропелю на 35-55% є у складі амінокислот, вміст яких становить 11-15% на органічну речовину. Переважно білкове походження азоту в сапропелі обумовлене наявністю незамінних амінокислот (лізин, метіонін, цистеїн, триптофан і ін.). Крім того, в сапропелях зустрічаються хлорофіл, каротин, стерини та інші важливі для організму тварин речовини [14].

Особливе значення підгодівля сапропелем має при вирощуванні молодняка, оскільки в ньому є комплекс речовин, необхідних для нормального росту і розвитку, а саме: мінеральні речовини, мікроелементи, вітаміни і біостимулятори. Організм тварин отримує весь комплекс елементів, у результаті чого збільшується процент виживання, зростають добові прирости, прискорюється ріст і розвиток, міцніє скелет, бо кальцій із сапропелю засвоюється краще, ніж із крейди чи інших джерел мінерального корму [119].

Різнманітні лікувальні властивості сапропелю були встановлені водночас із використанням його як мінеральної-вітамінної підгодівлі тварин. У ветеринарії з великим успіхом лікують зовнішні і внутрішні шкірно-запальні хвороби: мітрити, мастити, бурсити, флегмони, тендовагініти, різного роду абсцеси та ін. При цьому лікуванню піддаються і хронічні форми багатьох захворювань [14].

Так, кафедрою хірургії і акушерства Свердловського сільськогосподарського Інституту (РФ) вперше використано сапропель для лікування запалення молочної залози (мастит) у корів. Із 56 випадків тільки 3 не дали позитивного результату, причому в усіх відбувалося гнійно-катаральне запалення. Позитивний ефект отримано при лікуванні тендовагініту в коней і телят. З'ясувалося, що сапропель в цьому випадку більш ефективний, ніж інші загальноприйняті лікувальні препарати [14].

При введенні в раціон гумату натрію і гідрогумату захворюваність поголів'я молодняку великої рогатої худоби і свиней респіраторними, шлунково-кишковими хворобами в умовах комплексів зменшується в 1,5-2 рази [120].

А. А. Богуш, Г. А. Євдокимова (1992 р.) встановили позитивний вплив кормових добавок сапропелю на вихід і якість продукції, резистентність органів і систем кровотворення, кровообігу, печінки, шлунку. При споживанні таких добавок поліпшується апетит, підвищується засвоюваність поживних речовин раціону [121].

Проф. П. Ф. Солдатенков [122, 123] в результаті тривалих наукових досліджень встановив орієнтовні норми введення сапропелю у раціон тварин.

Складність, яка виникає на шляху створення ЛЗ на основі пелоїдів, та активне впровадження у ветеринарну практику та медицину – стандартизація лікарської речовини природного походження, яка необхідна при реєстрації лікарського засобу. Це пояснює той факт, що у ветеринарії основними препаратами з похідними пелоїдів є кормові добавки і премікси, для яких вимоги при стандартизації нижчі. У ветеринарній медицині пелоїди, в т.ч. похідні сапропелів, природні гумінові речовини і продукти їх модифікації (гумати натрію,

калію, амонію, фульвокислоти та ін., суміш кислот), а також комбіновані препарати використовують як:

- ентеросорбенти для виведення з організму токсинів мікробного, грибкового походження, хімічних отрут, солей важких металів, радіотоксинів;
- імуномодулятори;
- стимулятори продуктивності тварин, переважно завдяки речовинам, які підвищують ефективність травлення;
- лікарські препарати, які володіють антимікробною, ранозагоювальною, протипухлинною дією;
- засоби для лікування і профілактики залізодефіцитної анемії у тварин;
- засоби адаптогенної дії, біогенні стимулятори [124 – 126].

Ветеринарні препарати представлені здебільшого препаратами на основі торфу і продуктів його переробки, кормові добавки – засобами на основі сапропелів, торфу і продуктів їх переробки.

Для лікування та профілактики захворювань молочної залози сільськогосподарських тварин використовують природні біостимулятори – похідні гумусових кислот торфу – гумат натрію (гумінат), гідрогумат [127].

Особливий інтерес викликає використання сапропелю у ветеринарній практиці як мінеральна підгодвля для свиней і ВРХ. Встановлено, що мінеральна частина (кальцій, фосфор, залізо і мікроелементи), а також вітаміни стимулюють та активізують розвиток тварин [119, 128].

Дослідження показали, що використання сапропелю у складі раціонів кур-несучок, качок, курчат і каченят у кількості 1-8% від маси корму, сприяє підвищенню яйцenessкості і зниженню собівартості кормів [129].

В останні роки рекомендується використовувати сапропель як наповнювач при виготовленні преміксів. Результати використання сапропелю у преміксах (3% у складі комбікорму) для курчат-бройлерів показали збільшення середньодобового приросту на 6%, що знижувало затрати корму на одиницю приросту на 3% порівняно з контролем [119].

Сапропель можна згодовувати птиці у вигляді брикетів, гранул, порошоків, а також додавати до комбікормів, використовувати як наповнювачі у преміксах [130].

Кормові добавки з сапропелем використовують при лікуванні та профілактиці аліментарної дистрофії різної етіології тварин і птиці. Застосування сапропелю підвищує продуктивність свиней, ВРХ і птиці, а також їх стійкість до різних хвороб [131].

У нативному вигляді сапропель використовують у вигляді аплікацій при ендометриті та ранах шкіри у тварин. Сапропель стимулює захисні сили організму, нормалізує фізіологічні функції хворих тварин, зменшує запальні реакції (набряки, інфільтрати, проліферати, фібринозні і рубцеві тканини) [132]. Завдяки в'яжучій дії сапропель підсушує мокрі тканини, забезпечує хороший лікувальний ефект при мокрих формах екзем і опіках в ділянці пута у коней. Рекомендується для застосування при хронічних запальних процесах (захворювання м'язів, сухожилів, суглобів, кісток, при довготривалих і ранах, що погано гояться, тріщинах сосків, флегмонах вінчика і м'якуша, тріщинах копитного рога та ін.). Гарячий сапропель, прикладений до шкіри тварини завдяки нейрогуморальному фактору активізує крово- та лімфообіг, підвищує окислювально-відновні процеси і покращує живлення тканин [131].

Комплексна витяжка із сапропелю сприяє швидкому відновленню матки тварин і слизової оболонки ендометрію після пологів, підвищує тонус мускулатури матки і стимулює розсмоктування жовтого тіла з подальшою активізацією овуляції. Екстракт усуває післяпологовий гіпоглікемічний стан за рахунок поживних властивостей, що приблизно дорівнюють 20% розчину глюкози. Рекомендований для профілактики післяпологових ускладнень у корів і свиней; профілактики розладів травлення у телят і поросят, стимуляції роботи імунної системи сільськогосподарських тварин і птиці [128, 133, 134].

Аналіз складу та перспектив використання ветеринарних препаратів на основі сапропелів показав, що на сьогодні найбільшим виробником є компанія ЗАТ «Респект», Омськ, РФ. Препарати на основі омського сапропелю, які

використовують у ветеринарії, представлені: сапросорбом, преміксами органічними для різноманітних сільськогосподарських тварин і птахів, гранульованою сапропелевою кормовою добавкою, підгодівлею на основі сапропелю, екстрактом і дьогтем сапропелевим [130].

Також на ринку є премікси: «Премікс-Мілк» (ТОВ «Агропремікс», Кіров, РФ) – вітамінно-мінеральний премікс з пробіотиком, сапропелем і гуміновою добавкою для дійних і сухостійних корів [135] та «Сапроверм «Енергія Еткуля» – білково-мінеральна вітамінна кормова добавка на основі сапропелю для великої рогатої худоби на основі сапропелю озера Оренбург Челябінської області, РФ [128,136].

Нами було зібрано інформацію про наявні в Україні станом на 2018 р. ветеринарні препарати (ВП) на основі пелоїдів; проведено скринінг каталогів, зареєстрованих в Україні, РФ, Республіці Білорусь; ВП, кормових добавок (КД), преміксів, інструкцій щодо їх застосування з використанням маркетингових і статистичних методів аналізу наукових матеріалів та електронних джерел [135, 137 – 145]. При систематизації асортименту продукції увагу зацентрували на виробниках, формі випуску, складі препарату. Як свідчать результати дослідження, представлені у додатку В, більшість КД і преміксів випускають на основі сапропелю, вони різні за складом, проте головними діючими речовинами є ГК та їх похідні [124].

Аналіз асортименту препаратів пелоїдів (ПП), які використовують у ветеринарії, продемонстрував, що більшість (75%) – це премікси і КД, частка ВП складає 21%; 4% - це консерванти (рис. 1.6).

Під час дослідження встановлено, що ВП в основному представлені виробниками РФ, в той час, як КД і премікси – виробниками різних країн (рис. 1.7). Слід відмітити, що 64% ринку ПП займають російські виробники, і лише 7% – українські.

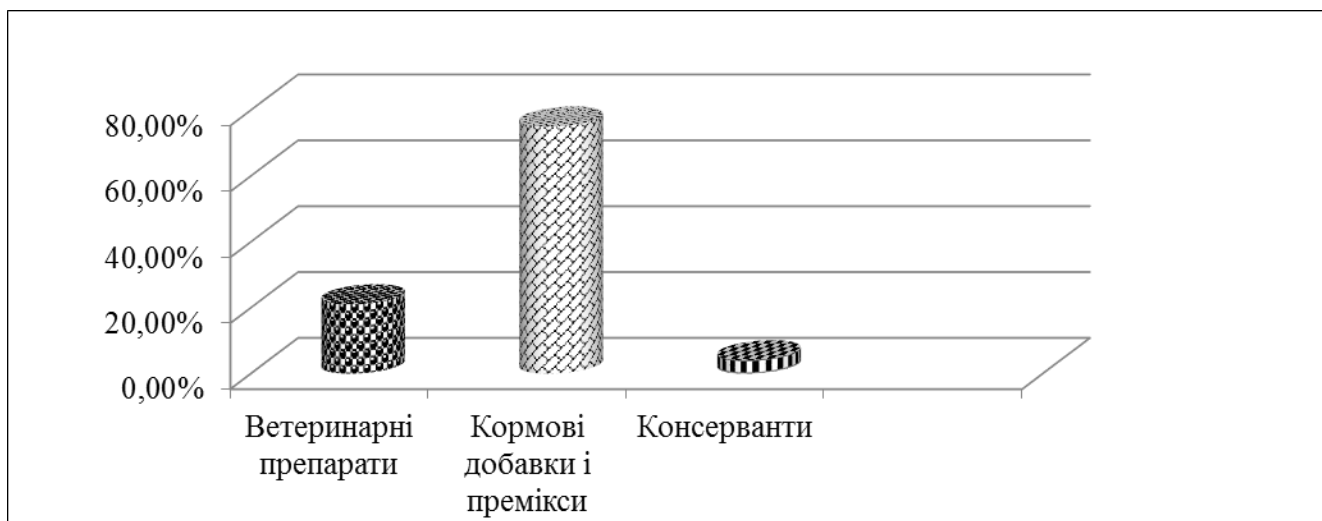


Рис. 1.6. Розподіл препаратів на основі ПП за призначенням

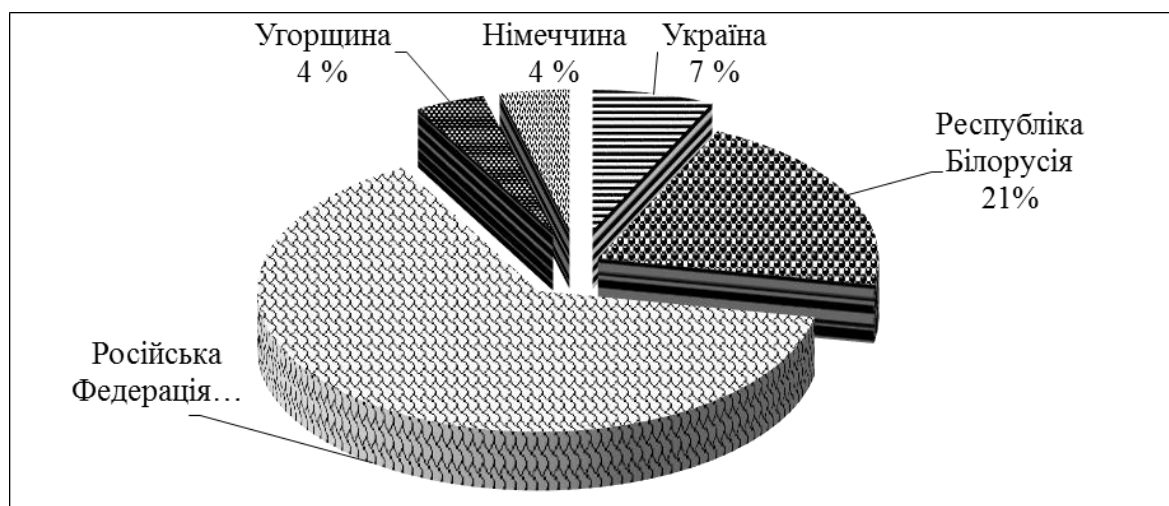


Рис. 1.7. Розподіл препаратів на основі пелюдів за країнами-виробниками

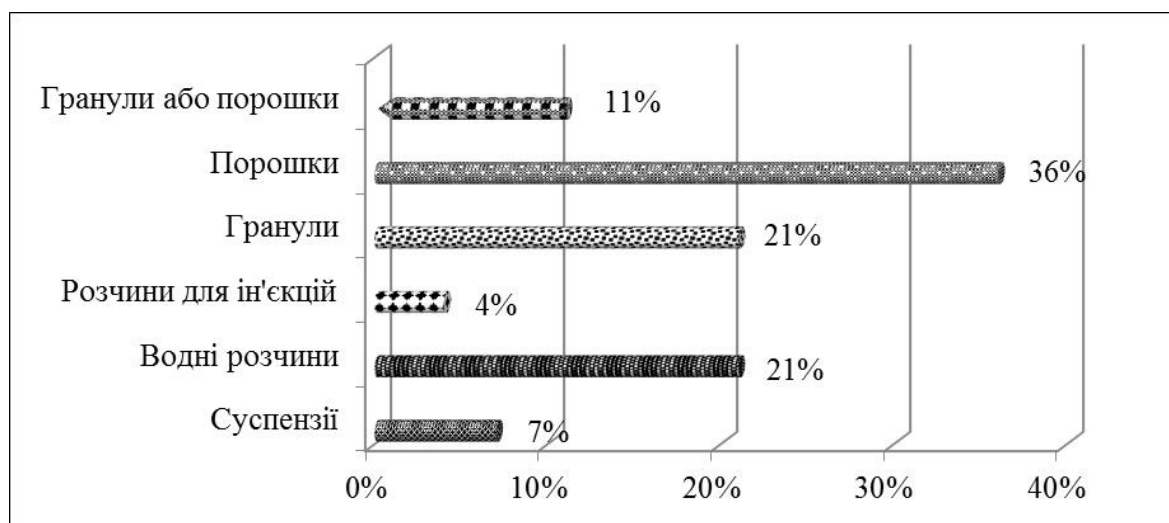


Рис. 1.8. Розподіл препаратів на основі пелюдів за формою випуску

Це свідчить про те, що вітчизняний ринок ПП фактично імпортозалежний. Український виробник внаслідок низького рівня фінансування галузі розробляє і випускає лише кормові добавки (7%), що можна пояснити доволі простою процедурою реєстрації останніх при виході на конкуруючий ринок. Відсутність на ринку України ВП та КД на основі сапропелю та продуктів його переробки свідчить про актуальність розробки нових ветеринарних засобів на його основі.

1.4.4. Характеристика та біологічна активність гумусових речовин

Основною групою БАР у сапропелях є гумусові речовини, які, згідно з класифікацією Д. С. Орлова, поділяються на: прогумінові та гумусові кислоти, які, в свою чергу, поділяються на *гумінові* кислоти (чорні та бурі), *гіметамеланові* кислоти та *фульвокислоти*; гумін [146, 147]. Кожна з фракцій - це складна суміш органічних молекул, хімічна структура яких гетерогенна, складна і ще не до кінця відома [148]. Міжнародне товариство з вивчення гумінових речовин (IHSS) запропонувало використовувати термін «гумінові речовини» як синонім до «гумусові речовини» [149].

Значний вклад у вивчення гумусових речовин внесли вітчизняні та закордонні вчені: І. В. Тюрин, М. М. Кононова, С. С. Драгунов, Л. Н. Александрова, Л. А. Христева, Л. Р. Пивоваров, А. Є. Пшеничний, І. І. Ярчук, А. І. Горова, Д. С. Орлов, В. Фляг, Ф. Дюшофур, Т. Хаясі, М. Шнитцер, Ф. Стевенсов, М. Х. Б. Херес та ін. [146 – 149].

Гумінові речовини (гумусові речовини, ГР) посідають особливе місце серед БАР природного походження – це полідисперсні біополімери складної будови з високою молекулярною масою [150]. Важливі біологічні функції і широка поширеність у природі визначають великий інтерес до ГР, проявлений за останні десятиліття. На основі ГР створені різноманітні препарати для сільського господарства, ветеринарії та біологічно активні добавки, що застосовуються в медичній практиці [151, 152].

ГР – це складні системи високомолекулярних органічних сполук природного походження, що представляють поліфункціональні структури ароматичної, аліциклічної і гетероциклічної природи, заміщені алкільними ланцюгами з різними функціональними групами [152]. Складність будови ГР спричинена різними факторами і умовами їх формування. Способи, які застосовують для вилучення ГР з природних об'єктів, істотно впливають як на їх склад, так і на властивості [153].

На відміну від більшості біологічно активних сполук природного походження, біосинтез яких генетично обумовлений і впорядкований, утворення ГР відбувається хаотично. Донні органічні залишки розкладаються до простих сполук, з яких відбувається синтез складних органічних речовин, що супроводжується конденсацією і полімеризацією вихідних сполук [154]. Реакції синтезу і розкладу відбуваються практично безперервно. У результаті накопичуються найбільш стійкі сполуки [155, 156].

Труднощі з визначенням молекулярної маси ГР, висока частка зольності цих сполук призвели до необхідності визначення їх складу. ГР характеризуються елементним складом, принципово відмінним від живої органічної речовини. Загалом елементний склад ГР є однією з головних ознак, за якими ідентифікують ці природні речовини, дані про які можуть бути використані для класифікації та з'ясування генетичного взаємозв'язку різних класів ГР [157].

Вміст ГР у сапропелі перебуває в широких межах – від 6,7 % до 71,2% на органічну речовину. Більш як наполовину вони складаються з гумінових кислот (ГК) [148]. Літературні дані про розмір молекул гумусових кислот різноманітні і неоднозначні. Наведені значення молекулярної маси можна поділити на дві групи: перша – від декількох сотень до 10000-20000 Да і друга – від 20000-30000 до 100000-200000 Да (інколи наводять і вищі значення). Таке групування молекулярної маси значною мірою пов'язане з методами їх визначення. Для гумусових кислот розрахована і встановлена хімічними методами молекулярна маса міститься, як правило, в межах 1300-13000 Да, методами оротметрії, кріоскопії, ебуліоскопії, діалізу, дифузії і віскозиметрії – 200-300 Да, методами ультрацентрифугування і світлорозсіювання – 30000-80000 Да [143, 158].

ГК характеризують молекулярно-масовим розподілом, на підставі якого розраховують середню молекулярну масу. Середні молекулярні маси гумусових кислот ґрунтів відповідають 1500-600000 Да [159, 160].

Розчинність, реакційна здатність, біологічна активність гумусових кислот залежать від умов їх формування, способів виділення з природної сировини, від розмірів і конфігурації макромолекул [161, 162].

Гумусові кислоти полідисперсні, мають змінну молекулярну масу на відміну від індивідуальних органічних сполук, для яких характерні монодисперсність і постійне значення молекулярної маси.

Елементний склад ГК – це склад їх органічної частини (кількість атомів вуглецю, водню, кисню, азоту, сірки). Однак, крім органічної, у ГК є й неорганічна частина, що складається із зольних елементів (переважно іонів металів, оксидів кремнію і алюмінію). Встановлено, що гумусові кислоти містять 45 – 60% вуглецю, 30 – 35% кисню, 3 – 7% водню, 3 – 5% азоту, 1 – 3% сірки та іони металів, склад яких багато в чому залежить від джерела формування гумусових кислот [163]. Широке використання в дослідженнях сучасних методів (молекулярної спектроскопії, рентгенографії, електронної мікроскопії, електронного парамагнітного резонансу тощо), розширило уявлення про молекулярну будову і реакційну здатність гумусових кислот.

Встановлено, що молекула гумусових кислот складається з негідролізованого ядра і гідролізованої периферичної частини. Ядро збагачене ароматичними, бензойними фрагментами, основу яких становлять бензольні кільця. Периферична частина молекули представлена аліфатичними сполуками. Співвідношення ядра і периферичної частини не однакоє в молекулах різних гумусових кислот [148]. Основними структурними одиницями гумусових кислот є полікарбонові кислоти, амінокислоти, амідні, аміноцукри, вуглеводи, феноксиациди та ін. Гумусові кислоти містять близько 15 різних видів функціональних груп у різній пропорції і конфігурації [164], серед яких найважливішими є аміногрупи, амідні, спиртові, альдегідні, карбоксильні, карбоксилатні, кетонні, метоксильні, фенольні, хінонні,

гідроксикінонні та інші [148,165]. Найбільш поширені в структурах ГК фенольні та карбонові групи [149] (рис. 1.9).

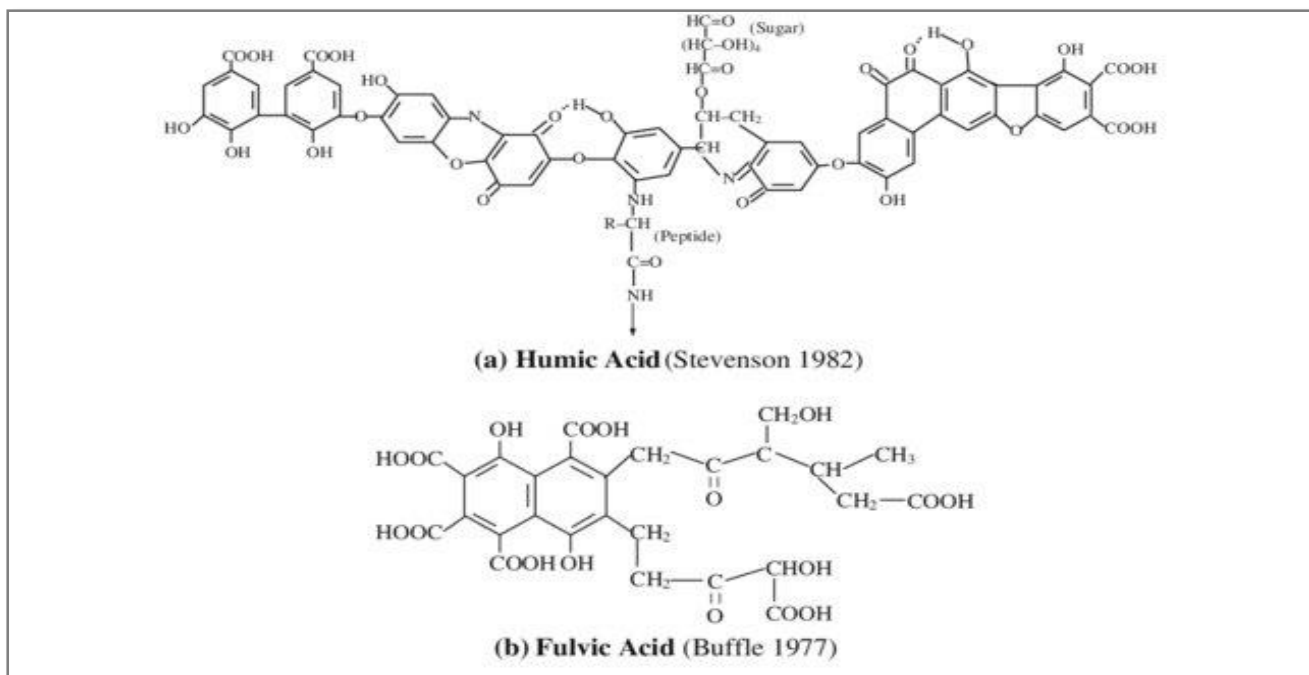


Рис.1.9. Структура а) гумінових і б) фульвових кислот, що входять до складу сапропелю *Джерело*: [166]

Склад функціональних груп і структура молекулярних фрагментів гумусових кислот залежать від їх джерела і способу виділення [167]. Відкритими залишаються питання про просторове розташування атомів у молекулах ГК.

Складність будови ГК, наявність великої кількості функціональних груп, можливість утворювати міжмолекулярні і внутрішньомолекулярні зв'язки обумовлюють широкий спектр взаємодій, в які можуть вступати ГК.

Наявність таких груп, як карбоксильні, карбонільні, фенольні та гідроксильні, в поєднанні з ароматичними структурами забезпечує здатність ГК до іонної і донорно-акцепторної взаємодії.

ГК беруть участь в сорбційних і окислювально-відновних процесах [85, 154]. Однак виділити в структурі макромолекули ГК ділянку або функціональні групи, що визначають конкретний вид біологічної активності, є дуже складним завданням. Відомі досить суперечливі дані про взаємозв'язок інтенсивності фармакологічної дії з величиною молекулярної маси ГК. Відзначено, що

протівірусна активність ГК зростає зі збільшенням молекулярної маси молекули [34], однак деякі дослідження свідчать про зворотну залежність [85].

При розгляді питання взаємозв'язку біологічної активності ГК з їх структурою більшість учених відзначають, що наявність в негідролізованій частині гетероциклічного азоту є однією з причин їх високої біологічної активності [71]. Поширена думка, що активною частиною молекули, яка відповідає за фармакологічний ефект, є гідролізована частина з функціональними групами кислотного характеру; і що їх більше, то вища біологічна активність [168, 169].

В експериментах виявлена антибактеріальна, протизапальна, антиоксидантна, гепатопротекторна, протівірусна активність ГК [61, 85, 150, 151].

Водночас достовірних відомостей про механізми дії ГК на біологічні об'єкти немає. Досліди *in vivo* та *in vitro* показали, що гумати виявляють антиоксидантну активність [61, 155, 159]. Це пояснюється структурними особливостями ГК - насамперед наявністю великої кількості хіноїдних груп, які є каталізаторами окислювально-відновних реакцій [170]. Протизапальна активність ГК вивчена на моделях гострого і хронічного запалення. Можливий механізм протизапальної дії пояснюється здатністю ГК знижувати генерацію кисневих радикалів і зменшувати споживання кисню активованими фагоцитами [151, 152].

На сьогодні досліджено і вивчено протівірусну активність ГК. Механізм протівірусної дії ГК пояснюють здатністю їх полімерних молекул перешкоджати адсорбції вірусу на клітинній мембрані [147].

Відомі дані про сорбційні властивості ГК. Механізм адсорбції ГК визначено їх здатністю проявляти властивості комплексоутворювачів, а не механічних ентеросорбентів. Цим вони відрізняються від поверхнево активних адсорбентів (активоване вугілля, силікати і мінерали глини) [85].

Хінони сприяють загоєнню ран і мають фунгіцидні/бактерицидні властивості. Феноли та карбонові кислоти відповідають за інші функції, такі як

антиоксидантні та протизапальні властивості ГК. Зокрема, наявність фенольних груп у ГК зумовлює антиоксидантні властивості [149]. Фенольні фрагменти, у складі яких моно- та полігідроксильовані бензольні одиниці, мають антиоксидантні властивості [171].

Антиоксидантна властивість гумінових речовин доведена ферментативним люмінесцентним дослідженням *in vitro* та рекомендовано гумінові речовини як природний детоксикаційний засіб [172]. Фульвокислоти запобігають прогресуванню ранової інфекції та стимулюють імунну функцію [173, 174]. Імуномодулювальна властивість фульвових кислот впливає на окислювально-відновний стан і на здоров'я кишечника [175].

Вчені продовжують подальше вивчення фармакологічних властивостей гумусових кислот з метою розробки на їх основі лікарських препаратів. Велику увагу приділяють вивченню впливу гумусових кислот на імунологічну реактивність організму і поліпшення обмінних процесів, а також розробку високоефективних біостимуляторів і імуномодуляторів – засобів підвищення загальної резистентності організму [176].

Гумінові речовини знижують дію вільних радикалів в організмі. Антиоксидантні властивості, виявлені гуміновими речовинами, та їх фракціями були засвідчені в науково-дослідних роботах Аввакумової та інших [176, 177].

На сьогодні значну увагу приділяють ГР, що можна пояснити їх протівірусними, профібринолітичними, протизапальними та естрогенними властивостями [178]. Експериментальні дослідження показують, що ГК, як правило, ФК, ефективні у терапії ракових пухлин з використанням спеціальних методів терапії ГР [154, 176, 178 – 180].

З'ясовано, що ГК пришвидшують загоєння ран і виявляють антибактеріальні властивості [181]. Механізм дії гумінових речовин також може сприяти пригніченню як класичного, так і альтернативного шляху активації комплементу, а також дегрануляції фагоцитів і продукуванню цитокінів, пов'язаних із запаленням, таких як IL-1 β , IL-6, IL -10 та TNF- α [182-

185]. Протизапальна дія ГМК пов'язана з їх здатністю зворотно пригнічувати надлишковий синтез інтерлейкіну – 1β гіперактивованими макрофагами, нівелювати посилений вихід нейтрофілів з кістковомозкового депо в кров, зменшувати споживання кисню активованими фагоцитами з подальшим зниженням генерації кисневих радикалів, що в підсумку зумовлює зменшення вираженості запальної реакції [150, 186, 187].

При вивченні Р. Р. Ісматовою і А. У. Зіганшиною протизапальної активності було встановлено, що очищений гумат натрію має виражену протизапальну активність, про що свідчить пригнічення запалення, спричиненого гістаміном, серотоніном, брадикініном, простагландином, а також статистично значуще пригнічення ексудативної і проліферативної фази запалення, що можна порівняти з ефектом еталонного протизапального препарату ортофену.

У дослідженнях, проведених Р. Р. Ісматовою, А. У. Зіганшиною, Л. Т. Мусіною і С. Є. Дмитрук, було встановлено, що гумати, виділені з торфу і сапропелю родовищ Томської області, мають протизапальну активність, яку в деяких випадках можна порівняти з ефектом диклофенаку [188 – 190].

Наразі фахівці мають проблеми з виділенням та ідентифікацією в молекулах ГК структурних компонентів, які максимально функціонально активні. Сучасні фізико-хімічні методи дослідження дають змогу детально вивчити склад, функціональні групи і хімічні властивості гумусових кислот і сприяють ідентифікації найбільш реакційноспроможної частини молекул гумусових кислот, що в подальшому має стати основою стандартизації цих сполук

1.4.5. Аналіз методів отримання екстрактів сапропелю

Як було зазначено, основною групою **водорозчинних** біологічно активних речовин у сапропелях є ГР. Враховуючи розчинність у воді, вони поділяються на наступні фракції: ГК – нерозчинні у кислих середовищах (рН

нижче 2), але розчинні при вищих значеннях рН; фульвові кислоти – фракція гумінових речовин розчинна у воді при всіх значеннях рН, гумін – нерозчинний у воді при всіх значеннях рН [165]. Також серед групи гумінових кислот виділяють гіметамеланові – розчинні у спирті. Гумінові речовини можуть бути розчинними та хімічно активними у нейтральному або лужному середовищах [191].

Гумінові препарати отримують шляхом хімічної модифікації сировини – обробки сировини кислотою, пероксидом водню, киснем повітря, озоном з наступною екстракцією лужним розчином при підвищених температурах [148]. Ці способи дають змогу отримувати препарати з високим виходом гумінових кислот.

Для виділення ГК використовують органічні розчинники – ацетон, діоксан, тетрагідрофуран, диметилсульфоксид, диметилформальдегід та пірофосфат натрію. Однак у зв'язку з високою вартістю їх не надто широко реалують на практиці.

Основним методом виділення гумусових кислот (гумінових та фульвокислот) з сапропелю є його обробка лугом у водному середовищі при співвідношенні сапропелю і води 1:0,5-2,0 і рН не більше 10 з одночасною гомогенізацією отриманої суміші з наступним відокремленням рідкої фракції [192]. Для підвищення екологічності даного методу та розширення сфери застосування екстракту як лужний реагент використовують золу. При використанні даного методу сапропель з вологістю не більше 93% обробляють золою у співвідношенні 2-10 масових частин золи на 100 частин сапропелю. Цей метод удосконалюють, використовуючи ультразвук: сапропель обробляють золою під впливом ультразвуку при частоті 22-23 кГц і потужності 50-160 Вт на 1 дм³ протягом не менше 90 хв [193]. У зв'язку з тим, що взаємодія гумінових кислот з іонами лужних металів за звичайних умов протікає повільно, виробництво гумінових препаратів налагоджують при підвищених температурах і надлишковому тиску. Для доведення рН середовища витяжки до нейтрального використовують кислоти.

Технологія отримання гуматів передбачає обробку сировини розчином лугу при надлишковому тиску в автоклавах з наступним відокремленням рідкого цільового продукту від твердого осаду.

Обробка вологого сапропелю водним розчином пірофосфату калію у співвідношенні 25 : 1 при кімнатній температурі і перемішуванні протягом 3 год з наступним витримуванням протягом 20-ти год [194] характеризується низькою швидкістю виділення гумусових кислот, що знижує продуктивність методу.

Водні екстракти сапропелю також отримують з попередньою обробкою спиртовим розчином лугу до рН 8,5-9,0 і наступною екстракцією сировини водою при співвідношенні сировина: екстрагент 1: (10-12) при температурі 50-60 °С з подальшим відокремленням екстракту від осаду і випарюванням його в вакуумі [195]. Для модифікації даного методу запропонована обробка сухого екстракту хлороформом у співвідношенні 1 : 3-5 і випарювання хлороформної витяжки з отриманням кінцевого продукту [196]. Однак при цьому втрачаються кислотно-розчинні речовини в кінцевому продукті.

Відомий спосіб одержання екстракту сапропелю [149] без попередньої обробки шляхом настоювання з трикратним об'ємом 0,05 М розчину аміаку. Екстракт концентрують випарюванням у 80-100 разів, експонують 24 год при температурі 15 °С, відокремлюючи частинки, які не розчинилися, центрифугуванням із прискоренням 3000-4000 с⁻¹, після чого діалізують через целофан Т-100 із 200-кратним об'ємом води. Фракцію, яка не піддалася діалізу, випарюють насухо на ротаційному випарювачі, отримуючи розчинний у воді порошок. Однак цей метод потребує використання складного апаратного оснащення і дороговартісних та екологічно шкідливих компонентів і високотоксичних сполук, небезпечних для здоров'я [148, 197].

Окрім описаних способів екстракції сапропелю для відокремлення рідкої фази грязі використовують відцентрову силу (сапропель центрифугують з прискоренням протягом 1 год і відокремлюють надосад).

Виділяють ГК диспергаційним методом, основною стадією якого є доведення сировини до колоїдного стану в лужному середовищі. Г. М. Волков та Л. Л. Ходунцов встановили, що колоїдне подрібнення твердої фази в лужному розчині без підігріву збільшує вихід ГК порівняно з виділенням шляхом двогодинного кип'ятіння [198].

На сьогодні спостерігаються нові підходи до диспергування сировини з використанням сучасного обладнання. А. А. Івановим, Н. В. Юдіною, Т. Я. Гашинською та іншими встановлено, що механохімічна активація є раціональним методом переробки природних каустобіолітів. Роль її полягає в збільшенні ефективної поверхні контакту між компонентами дисперсних систем, зменшенні дифузійних взаємозв'язків за рахунок порушення морфології сировини і створенні умов для ефективного перебігу хімічних перетворень речовин у високорозчинні у воді форми (відбувається розрив хімічних зв'язків, зменшення їх молекулярної маси та полідисперсності, утворення лінійних продуктів з розгалуженими фрагментами). Вихід ГК у результаті механохімічних перетворень зростає в 1,5 рази [199, 200].

Однак використання таких методів забезпечує вилучення лише водорозчинних компонентів сапропелю.

Окрім лужних водних розчинів, як екстрагенти використовують гідрофільні неводні розчинники: пропіленгліколь, етанол різної концентрації. Описано спосіб отримання БАР, що передбачає екстракцію сапропелю із вмістом органічної речовини 45-90% пропіленгліколем або його водним розчином при температурі 20-90 °С і співвідношенні сапропелю і екстрагента 1: 5 [201]. Використання пропіленгліколю як екстрагента дає змогу отримати екстракт, що містить основну масу гумінових кислот та ліпідний комплекс, не потребує складного технологічного процесу і його апаратного оснащення.

На сьогодні розроблено значну кількість способів виготовлення гумінових препаратів. Співробітниками Дніпропетровського аграрного університету при дослідженні різних способів виготовлення гумінових препаратів встановлено, що найбільш ефективними реагентами є розчини лугів

[202]. Під час розробки технологічних засад виготовлення гумінових препаратів раціональним є використання гідроксиду натрію із диспергуванням для доведення вихідної сировини до колоїдного стану і покращення взаємодії між компонентами [203]. Ці підходи були використані для виготовлення водного екстракту сапропелю з вищим вмістом гумусових кислот. З фізичної точки зору механоактивація сировини призводить до збільшення питомої поверхні та розкриття недоступних пор; з хімічної – основний результуючий момент цього багатфакторного процесу можна описати як деформацію речовини, що призводить до зміни міжатомних і міжмолекулярних зв'язків – послаблення та розрив зв'язків і утворення активних радикалів. За напрямком перетворень і кінцевим результатом механічні процеси можуть бути поділені на: механодеструкцію – утворення лінійних продуктів, зниження молекулярної маси і полідисперсності; механосинтез – утворення гомополімерів; механоактивація хімічних процесів розкладу, заміщення, приєднання; механохімічне протікання – протікання просторово-структурних полімерних систем під дією механічних сил [148, 197, 199].

Багатоваріантність механохімічних перетворень ускладнює визначення механізму і напрямку перетворень навіть індивідуальних хімічних речовин, посилюючи цей процес, коли об'єктом механічного впливу стає сапропель, який з фізико-хімічної точки зору належить до класу складних полідисперсних високомолекулярних систем і містить значну кількість речовин з не до кінця вивченою хімічною будовою [204].

Актуальним також залишається проведення досліджень з розробки способу модифікації гумінових речовин на стадії виділення з метою зменшення їх молекулярної маси, збільшення розчинності і кількості різних функціональних груп у структурі молекул, що, в свою чергу, може підвищити біодоступність гумінових сполук.

Впровадження лікарських засобів на основі гумінових речовин передбачає вивчення їх властивостей, розробку способів модифікації і підбір

критеріїв стандартизації як сировинного джерела гумінових сполук, так і самих гумінових речовин.

Ліпідна фракція сапропелю. Біологічну активність пелоїдам надають ферменти класу оксидоредуктаз і гідролаз, а також ліпіди, каротиноїди, токоферол та інші [83, 84]. Незважаючи на відмінності умов утворення ліпідного комплексу сапропелю, хімічний склад ліпідів однаковий і представлений гліцеридами, насиченими і ненасиченими органічними кислотами, фосфоліпідами (лецитини, кефаліни), стеринами; в складі ліпідної фракції виявлені каротиноїди, ксантофіли, хлорофіли [90].

Ліпіди (ліпопротеїди) виконують в організмі людини і тварин роль енергетичного резерву і є основним матеріалом для побудови клітинних мембран. Відіграють вони важливу роль у розвитку і старінні організму, у створенні захисно-компенсаторних механізмів при порушенні обміну в розвитку атеросклерозу та інших патологічних станів [205, 206].

Аналіз методів отримання ліпідного комплексу сапропелів продемонстрував, що коли екстрагентами є деякі органічні розчинники або їх суміші (соєва, оливкова олія, етанол у різній концентрації, суміш 5% спирту та хлороформу), у результаті отримують ліпідний комплекс сапропелю, який містить жирні кислоти, фітостерини, хлорофіл, каротин і окислені каротиноїди.

Описано технологію одержання спиртових екстрактів згідно з якою зневоднений сапропель розчиняють в 96% етанолі та підігрівають до 35-40 °С, стерилізують в екстракторі газоподібною вуглекислою під тиском 66 атм, витримують при цьому тиску з подальшим стрімким зниженням до атмосферного. Надалі екстракцію здійснюють, подаючи в екстрактор рідку вуглекислоту, відстоюють спиртову міцелу, дистилують розчинник одночасно з розчиненням екстракту в олії [207].

Відомі різні методи отримання лікарських засобів з лікувальних грязей [208, 209], які базуються, в основному, на використанні таких екстрагентів, як диетиловий ефір, дихлоретан, хлороформ, гексан та ін. Суттєвим недоліком цих

методів є неповний вихід цільового продукту, токсичність виробництва, можлива наявність залишкових кількостей розчинника в складі ліпідів.

У літературі є інформація про спосіб отримання каротиноїдів з мулових сульфідних грязей шляхом висушування нативної грязі з наступною екстракцією її розчинником. При цьому висушування триває до вмісту вологи 40-50%, а як розчинник використовують олію. Екстракцію здійснюють при температурі 75-105 °С [210]. Однак слід зазначити, що проведення екстракції при високій температурі 75-105 °С може негативно позначитися на біологічній активності ЛЗ в результаті окислювальних процесів, що призводить до структурних змін біологічно активних речовин.

Ще один спосіб одержання ЛЗ із сапропелю, зневодненого до 40%, - за допомогою етилового спирту та оливкової олії у співвідношенні 1 : 5 при постійному перемішуванні в умовах кімнатної температури [211].

Також в літературних джерелах є інформація про спосіб отримання ліпідів з лікувальних грязей, який полягає в обробці 95% етанолом при рН 9,0 висушеної повітряним шляхом грязі до вологості 12% з наступною екстракцією етанолом або сумішшю етанолу з неполярним розчинником у співвідношенні 5:1 (наприклад, сумішшю 5% спирту етилового та хлороформу). Загущують отриманий екстракт в присутності 1 частини вазелінового масла або рослинної олії [212].

Відомий метод одержання ліпідів безпосередньо з нативної грязі екстракцією органічними розчинниками. Для отримання екстракту використовують етанол різної концентрації, соєву олію. Отриманий екстракт загущують [213].

Ще один спосіб отримання олійного екстракту з нативного сапропелю передбачає використання сапропелю вологістю 50-60%, який зневоднюють шляхом віджиму під пресом до вологості 20-40%, і екстрагують олією й етанолом у масовому співвідношенні 1,5: 0,5: 1,0 відповідно при температурі 98-100 °С до вмісту каротиноїдів в окремій пробі не менше 22 мг %. Отриманий концентрат розводять стерильним маслом вазеліновим у

співвідношенні 1 : 9 і стерилізують протягом 2-3 год при температурі 125 – 130 °С [214].

Для підвищення виходу БАР при отриманні екстракту [215], а також зниження енергоємності та трудомісткості технологічного процесу, сапропель із вмістом води 50-60% розтирають до сметаноподібного стану, двічі екстрагують 96% етанолом з підігрівом до 30-50 °С, при співвідношенні 6-10 об'ємів розчинника на 1 кг сировини протягом 20-25 хв при перемішуванні. Відстоюють протягом 3-4 год, після чого зливають спиртовий розчин. До розчину додають вазелінове масло, а спирт відганяють під вакуумом – 0,5 – 0,7 атм, при температурі не вище 50 °С, періодично перемішуючи.

При використанні як екстрагентів органічних розчинників або їх сумішей отримують ліпідний комплекс сапропелю, який містить високомолекулярні жирні кислоти, фітостерини, хлорофіл, каротин та окислені каротиноїди. Недоліками використання органічних розчинників є відсутність водорозчинних компонентів та гумусових кислот, які біологічно активні.

Висновки до розділу 1

1. За результатами аналізу літературних джерел встановлено, що різноманітність мінерального і органічного складу, велика кількість біологічно активних речовин в озерних сапропелях зумовлює їх використання у різних галузях народного господарства, зокрема у медицині, землеробстві, тваринництві і ветеринарії (виготовлення мінеральних вітамінних кормових добавок, ветеринарних препаратів), меліоративному будівництві, промисловості будівельних матеріалів тощо.

2. Показано, що видобуток сапропелю необхідно розглядати не тільки з погляду застосування у різних галузях народного господарства, а й з точки зору охорони навколишнього середовища, оскільки важливою причиною погіршення екологічного стану озер є заростання і замулення, яке призводить до втрати їх гідрологічної ролі.

3. Проаналізовано сучасні тенденції створення лікарських препаратів на основі лікувальних грязей та продуктів їх переробки. Охарактеризовані наявні методи отримання гумінових кислот, екстрактів та препаратів на основі сапропелів.

4. Встановлено, що в Україні, яка має значні запаси сапропелів, не проводяться дослідження з визначення складу, властивостей та розробки препаратів на основі продуктів його переробки. Показано необхідність розробки методологічних підходів до раціонального комплексного використання вітчизняних сапропелів кінцевою метою якої є покращення водного балансу і якості води, створення нових рекреаційних територій, умов для розширення виробництва риби в природних водоймах, а також раціональне використання цінної органо-мінеральної сировини і продуктів її переробки в медицині, ветеринарії та косметології.

Результати досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Струс О. Є. Маркетингові дослідження лікарських та косметичних засобів на основі лікувальних грязей (пелоїдів). *Управління, економіка та забезпечення якості у фармації*. 2015. №1(39). С. 59 – 67.

2. Струс О. Є. Аналіз досвіду використання сапропелів у медицині та косметології. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2018. Т. 13, № 4. С. 77 – 88.

3. Strus O. Y., Polovko N. P., Smetanina K. I. Marketing aspects of the development of veterinary preparations based on peloids and products of their processing. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2019. Т. 5, № 2. С. 1 – 10.

4. Струс О. Е., Половко Н. П. Современное состояние и перспективы использования сапропелей и их препаратов в ветеринарной практике. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality : scientific proceedings of the international network AgroBioNet of the institution and researcher of international research, education and development programme*

«Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality». Part II. Nitra, 2015. P. 633–636.

5. Струс О.Є., Половко Н.П. Дослідження ринку косметичних засобів на основі сапропелю. *Хімія, Біотехнології, Нанотехнології, Екологія і Економіка в харчовій і косметичній промисловості*: матер. Міжнар. научно-практ. конф.; м. Харків, 8-10 грудня 2014 р. Харків, 2014. С. 112-114.

6. Струс О.Є., Половко Н.П., Коноваленко І.С. Маркетингові дослідження лікарських засобів на основі лікувальних грязей та грязеподібних речовин *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матер. I Міжнар. наук.-практ. інтернет - конф., м. Харків, 7-8 листопада 2014 р. Харків, 2014. С. 163.

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ СТВОРЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ, ВЕТЕРИНАРНИХ ТА КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ НА ОСНОВІ САПРОПЕЛЮ ТА ПРОДУКТІВ ЙОГО ПЕРЕРОБКИ. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Обґрунтування загальної методології досліджень

У цьому розділі дисертаційної роботи викладена загальна методологія досліджень, яка полягає у створенні науково-методичного підходу до комплексної переробки сапропелю, яка базується на послідовному проведенні маркетингових, фізико-хімічних, фармако-технологічних, біологічних (мікробіологічних, фармакологічних та токсикологічних) досліджень, що були використані в процесі дослідження сапропелю та продуктів його переробки, для розробки складу, технології та оцінки якості лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на їх основі.

Методологія комплексної переробки сапропелю для створення препаратів містить інформаційно-пошуковий, дослідницький та біологічний блоки, які, в свою чергу, складаються з послідовних етапів, які взаємопов'язані та доповнюють один одного [216-218].

На першому етапі інформаційно-пошукового блоку здійснено аналіз даних літератури щодо світової практики використання, результатів досліджень сапропелю та вилучень з нього, визначення перспектив дослідження і комплексного використання сапропелів озер України для різних галузей народного господарства, а також щодо природоохоронної значимості добування сапропелю.

Алгоритм дослідження сапропелю і фармацевтичної розробки (ФР) та стандартизації лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів його переробки наведений у табл. 2.1.

Методологічні підходи до комплексного використання сапропелю, ФР і стандартизації ЛЗ, ВЗ і КЗ з сапропелем та продуктами його переробки

І блок. Інформаційно-пошуковий		
Маркетингові та статистичні методи досліджень електронних і паперових джерел інформації Державний реєстр ЛЗ України, державний формуляр ЛЗ, довідники ЛЗ, інструкції до медичного застосування ЛЗ, електронні каталоги, наукові статті і бази даних Логічний, системно-аналітичний, структурно-функціональний та порівняльний методи аналізу		
І етап	ІІ етап	
Аналіз електронних і паперових джерел інформації, що описують, вивчають і аналізують родовища сапропелів, класифікацію, склад та світові практики використання та дослідження сапропелів і препаратів на його основі у медицині, ветеринарії та косметології	Аналіз асортименту ЛЗ, ВЗ і КЗ на основі пелюдів та продуктів їх переробки	
Мета		
Визначення сучасних пріоритетних підходів до комплексного використання сапропелів, продуктів переробки та препаратів на їх основі для різних галузей народного господарства, зокрема охорони здоров'я, а також перспектив природоохоронної значущості їх добування	Обрання стратегії розробки та формування проекту характеристик для нових ЛЗ, ВЗ та КЗ	
Результат І блоку		
Вирішення питання щодо розробки, вибору об'єкта дослідження, стратегії розробки, формування характеристик ЛЗ, ВЗ та КЗ, що плануються до розробки		
ІІ блок. Дослідницький		
Дослідження сапропелю, отримання, дослідження та стандартизація продуктів його переробки та засобів на їх основі		
І етап	ІІ етап	ІІІ етап
Дослідження сапропелю та створення КЗ на його основі	Отримання та дослідження ЕС	Розробка та дослідження ЛЗ і ВЗ із ЕС
Мета		
Дослідження нативної сировини: властивостей, біологічної активності, сфери застосування і створення на її основі КЗ	Отримання та дослідження ЕС для ФР ЛЗ та ВЗ	ФР і стандартизація ЛЗ та ВЗ
Сапропель нативний, сапропель сухий: вивчення хімічного складу, технологічних властивостей, біологічної активності, сфери застосування	Обґрунтування технології ВЕС і ОЕС. Дослідження фізико-хімічних властивостей, хімічного складу, біологічної активності	Вибір сфери застосування, лікарської форми, розробка оптимального складу, технології та пакування
Сапропаста: визначення сфери застосування, технологічних параметрів отримання		
Антибактеріальне мило із сапропастою: розробка складу і технології		
Стандартизація сапропелю, сапропасти, антибактеріального мила, ЕС, МЛФ з ЕС		
Методи досліджень: фізико-хімічні, фармако-технологічні, біологічні та статистичні		
Результат ІІ блоку		
Розробка складу, технології, визначення показників якості, стабільності й установлення термінів придатності КЗ, ЕС, МЛФ з ЕС, розробка ТУ, проектів МКЯ, ТР		

III блок. Біологічний	
Мета: доклінічні дослідження сировини, продуктів її переробки та розроблених ЛЗ та ВЗ	
Токсикологічна характеристика	Специфічна активність
Показники токсичності сапропасти, ЕС, антибактеріального мила, м'яких ЛЗ та ВЗ	Протизапальна, репаративна, антиоксидантна, антибактеріальна активність
Результат III блоку	
Розробка ЛЗ, ВЗ та КЗ із визначеною фармакологічною активністю та відсутністю токсичності, зокрема місцевоподразливої та сенсibiliзуючої дії	

На другому етапі інформаційно-пошукового блоку проводяться дослідження з вивчення наявності на фармацевтичному ринку ЛЗ, ВЗ та КЗ на основі пелоїдів, в т. ч. сапропелів. Отримані результати дають змогу оцінити перспективу використання сапропелю та продуктів його переробки; обрати стратегію розробки та скласти проект характеристик для ЛЗ, ВЗ та КЗ [113, 115 – 117, 219 – 221].

Дослідницький блок складається з трьох послідовних етапів, що охоплюють фізико-хімічні, фармако-технологічні та біологічні дослідження нативної сировини для використання в косметології та бальнеології; отримання активних субстанцій (ВЕС, СЕС та ОЕС), а також ФР ЛЗ, ВЗ та КЗ.

Метою другого блоку є дослідження складу та властивостей сапропелю, отримання та дослідження екстрактів сапропелю та ФР, яка містить вибір діючих та допоміжних речовин, оптимальну форму, технологію та стандартизацію. При виконанні етапів другого блоку закладаються необхідні показники якості опрацьованих препаратів: технологічність, ефективність, якість і безпечність.

Результатами другого блоку є дослідження сапропелю, отримання та дослідження екстрактів сапропелю, створення ЛЗ, ВЗ і КЗ, що відповідають вимогам чинної НД, а також опрацювання складу, технології та визначення показників якості сапропасти, антибактеріального мила з сапропастою; препаратів: крему «Сапрокрем», гелю «Сапрогель»; розробка НД (ТУ, проєктів МКЯ, технологічних регламентів), вивчення стабільності та встановлення термінів придатності.

Завершальний блок – біологічний – містить оцінку специфічної активності та токсичності опрацьованих ЛЗ і ВЗ на доклінічному етапі їх створення [127].

Враховуючи методологічні підходи, запропоновано методологію експериментальних досліджень комплексного використання сапропелю для розробки екстрактів сапропелю, ЛЗ, ВЗ і КЗ, схему яких наведено на рис. 2.1-2.3.

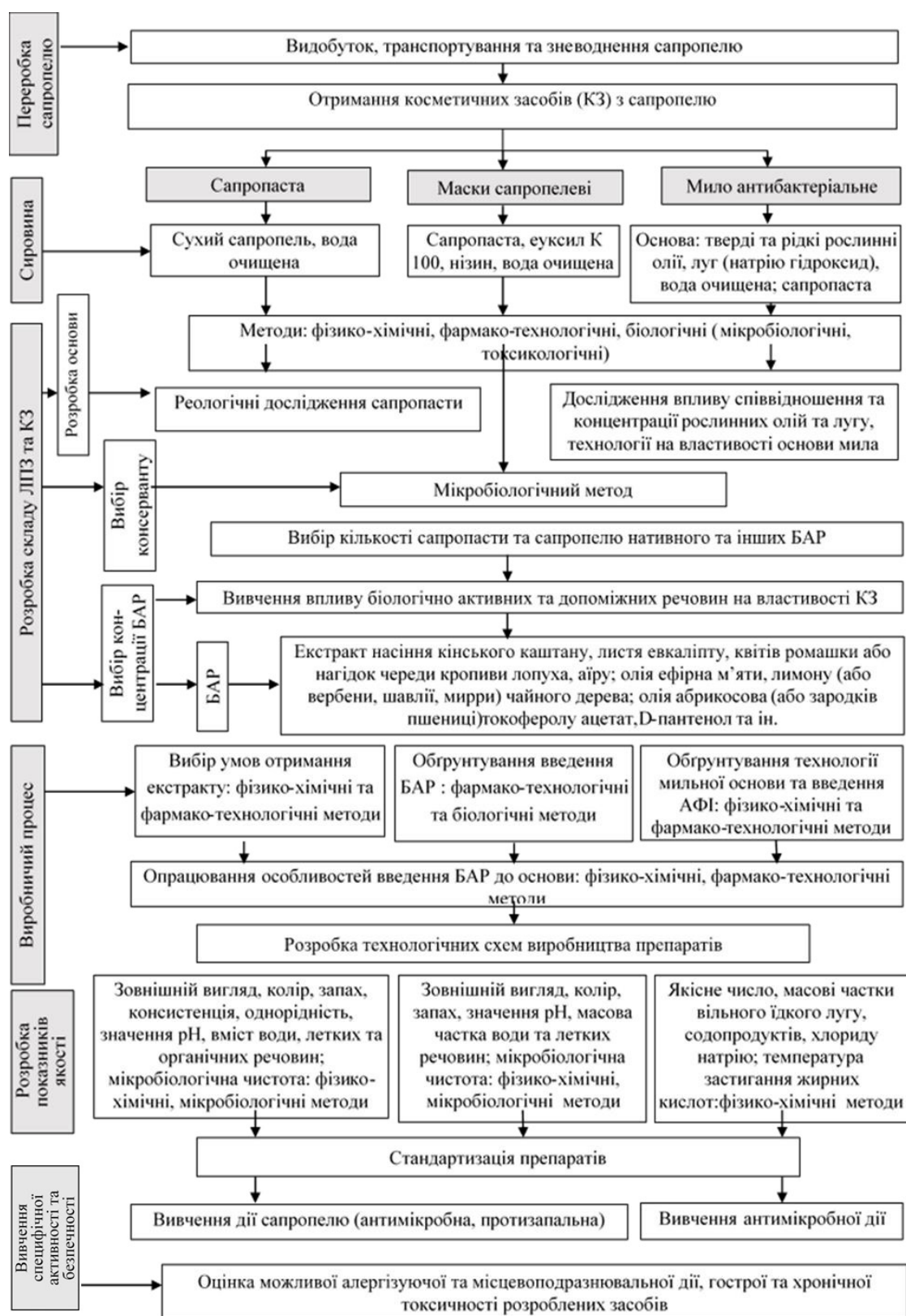


Рис. 2.1. Схема методології розробки КЗ на основі сапропелю

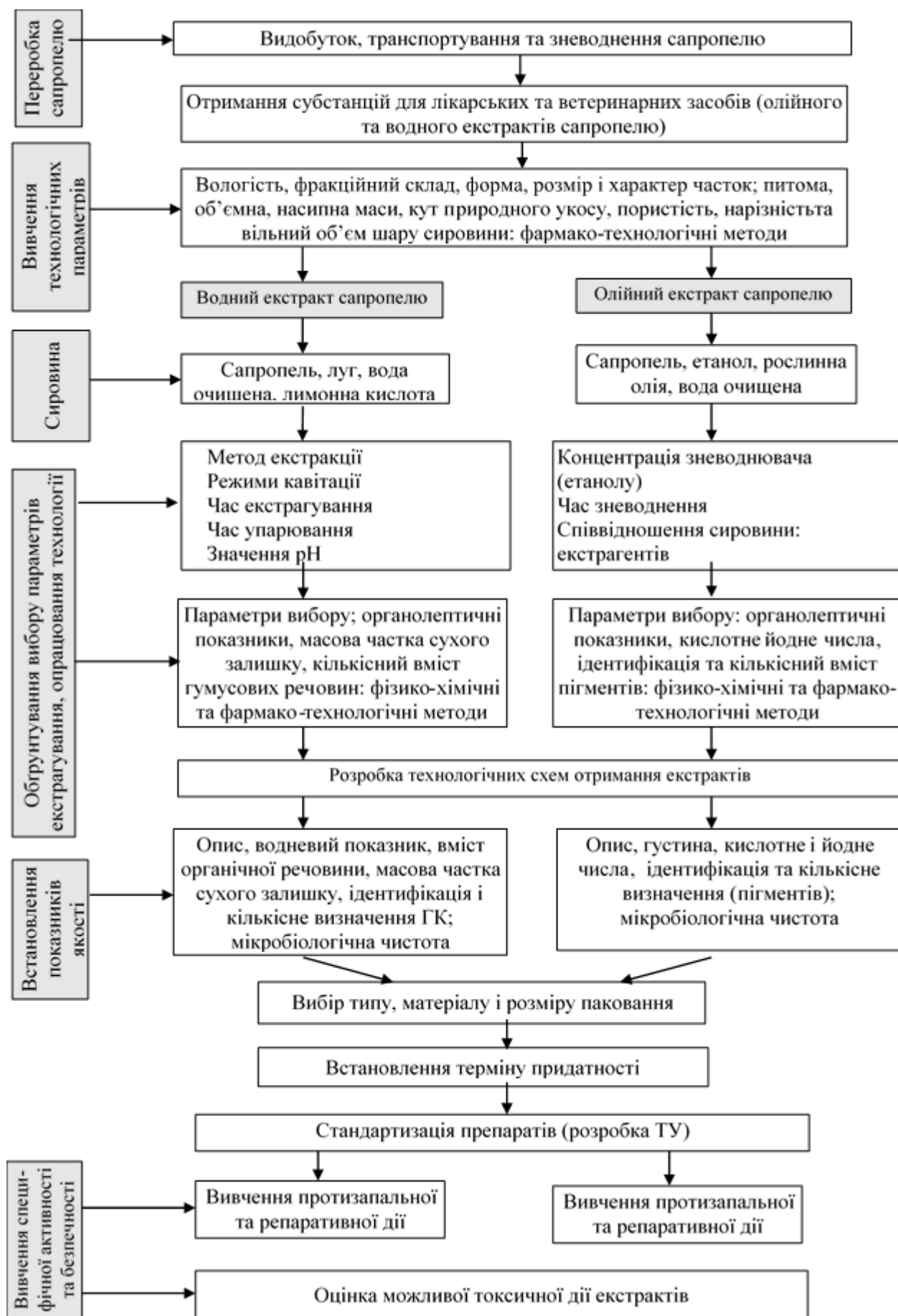


Рис. 2.2. Схема методології розробки екстрактів на основі сапропелю

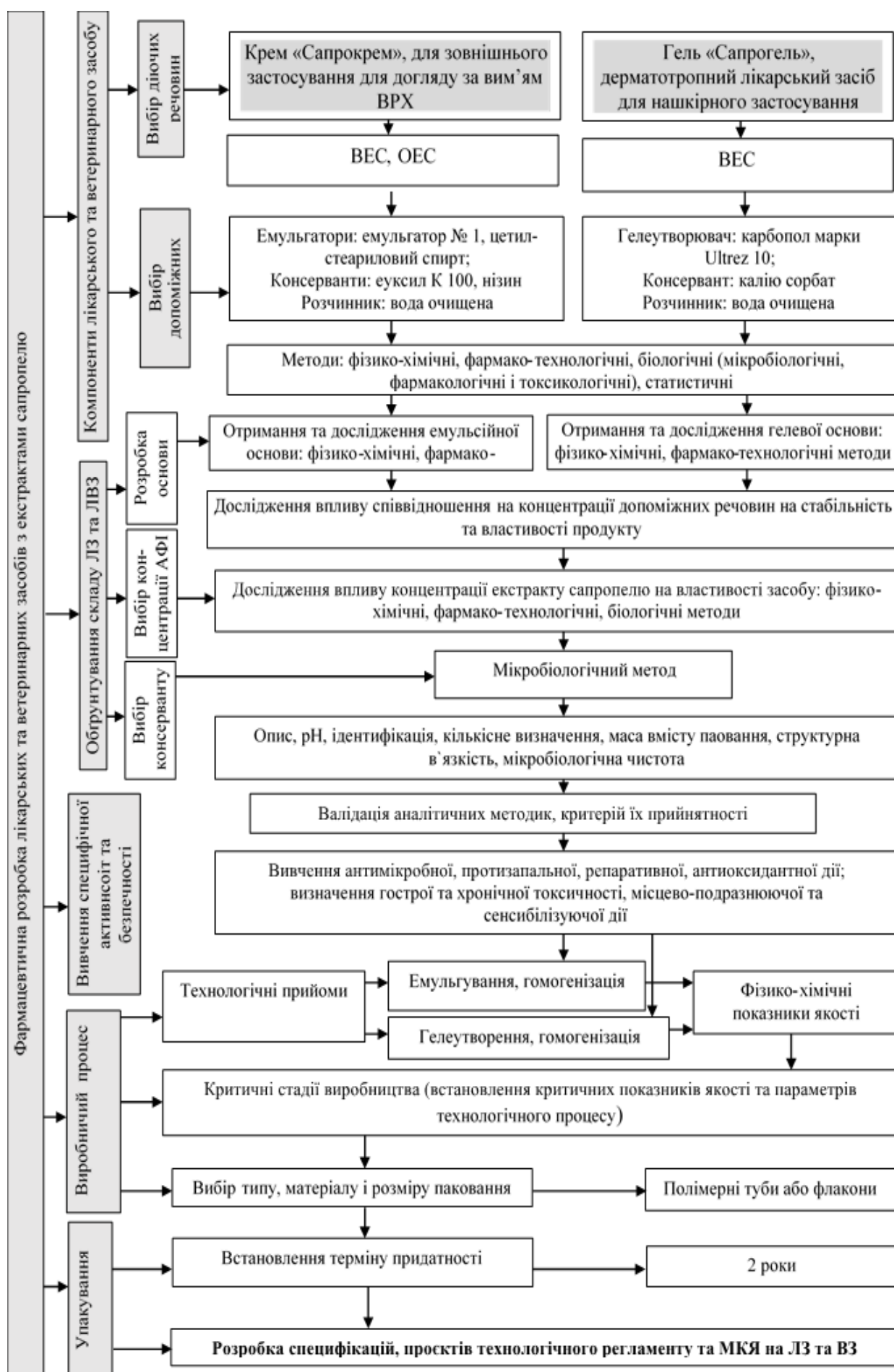


Рис. 2.3. Схема методології ФР МЛФ на основі екстрактів сапропелю

На основі алгоритмічного принципу передбачено комплексне використання сапропелю та продуктів його переробки при розробці перспективних лікарських, ветеринарних та косметичних засобів, стабільних при зберіганні, з вираженою специфічною активністю та без токсичної дії [222].

2.2. Характеристика об'єктів дослідження

Об'єктами дослідження були: сапропель, сухий сапропель, сапропаста, олійний екстракт сапропелю (ОЕС), водний екстракт сапропелю (ВЕС), спиртовий екстракт сапропелю (СЕС), мило з сапропастою, крем з ОЕС та ВЕС, гель з ВЕС; допоміжні речовини (ДР) та референс-зразки.

2.2.1. Характеристика діючих речовин

Сапропель родовища Прибич. Технічні умови ТУ У 20.4-33579789-004:2016. «Сапропелі натуральні косметичні» – водоростевий мул, однорідний за складом, темно-зеленого кольору, з болотним запахом, пластичний та грудкуватий за консистенцією. Має нейтральну реакцією середовища (рН - 7), низьку мінералізацію розчину (до 1 г/дм³), високу масову частку води (96,5%), за вмістом золи є низькозольним (органічних речовин більше 50%). Сапропель родовища Прибич належить до прісноводних безсульфідних низькозольних сапропелей органічного типу. Значення окисно-відновного потенціалу (Eh) – 80 мВ, величина теплоємності 4,06 Дж/кг·К. Об'ємна вага пелоїдів залежить від мінерального складу, пористості та масової частки води і становить 1,02. В донних відкладах родовища Прибич липкість та напруга зсуву становить 606,33 Па та 294,30 Па відповідно. Наявність часток діаметром більше 0,25·10⁻³м складає 0,035% [223].

Як діючі речовини використовували такі продукти переробки сапропелю, як:

- *паста сапропелева* – пастоподібний продукт природного проходження виготовлений із сухого сапропелю, містить БАР, комплекс макро- та мікроелементів;
- *сухий сапропель* – сапропель, висушений у природних умовах до рівноважного стану води (60%);

- *олійний екстракт сапропелю (OEC);*
- *водний екстракт сапропелю (BEC);*
- *спиртовий екстракт сапропелю (SEC).*

Нижче наведено референс-зразки, які використовували під час досліджень.

Пантенол аерозоль піна н/ш 50 мг/г по 116 г у конт. (ТОВ «Мікрофарм», м. Харків, Україна) серія 310614 [224]; *діюча речовина:* декспантенол; 1 г препарату містить декспантенолу 50 мг (без урахування пропеленту) (у перерахуванні на 100% речовини); *допоміжні речовини:* спирт цетостеариловий (тип А) емульгований, макроголгліцерол кокоат, метилпарагідроксибензоат (Е 218), пропіленгліколь, калію дигідрофосфат, натрію гідрофосфат додекагідрат, вода очищена, тетрафторетан. Застосовують при різних ушкодженнях шкіри та слизових оболонок, у тому числі при саднах, опіках, асептичних післяопераційних ранах, трансплантатах шкіри, бульозному та пухирчастому дерматитах [225].

Пантенол мазь, 50 мг/г по 30 г у тубах (Хемофарм АД, Республіка Сербія) серія 901615 [224]; 1 г мазі містить декспантенолу 50 мг; *допоміжні речовини:* гліцерин, парафін білий м'який, ланолін, олія мінеральна, парафін, спирт стеариловий, спирт цетиловий, вода очищена. Мазь застосовують для прискорення загоєння та епіталізації шкіри при мікроушкодженнях (нетяжкі опіки та подряпини); при подразненнях шкіри (наприклад унаслідок радіотерапії, фототерапії або опромінення УФ-променями); при хронічних виразках шкіри та пролежнях; анальних тріщинах; ерозіях шийки матки та після пересадки шкіри та інше [225].

Пантестин-Дарниця® гель 30 г, (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна). Серія GS101119 [224]; 1 г гелю містить: декспантенолу (D-пантенолу) 50 мг, мірамістину 5 мг; *допоміжні речовини:* пропіленгліколь, поліетиленгліколь (макрогол 400), полоксамер, спирт цетиловий, спирт стеариловий, вода очищена. Лікування ран різної локалізації і генезу, у тому числі післяопераційних ран, трофічних виразок і пролежнів, променевих виразок у фазі регенерації (II фаза ранового процесу), лікування сонячних опіків та інфекцій шкіри, зокрема, вторинно інфікованих екзем та нейродермітів та ін [225].

Гель Ніжnodій, 250 мл Серія 120919 (ТОВ «Бровафарма», Україна) – 1 г препарату містить: екстракт хвої – 5 мг. Допоміжні речовини: кукурудзяна олія, олія з насіння гарбуза, гліцерин, твін-80, емульгатор Т-2, вода. Згідно з анотацією виробника «Ніжnodій гель» має захисну та асептичну дію, стимулює місцевий кровообіг, живить шкіру, сприяє регенерації та відтворенню бар'єрних функцій епідермісу, загоєнню мікротравм, захищає шкіру вимені від згубного впливу навколишнього середовища, підтримує її природну еластичність. Застосовують як системний гігієнічний засіб для: регулярного догляду за шкірою вимені дійних тварин; полегшення механічного або ручного доїння; пом'якшення дійок вимені корів, особливо тугодійних; профілактики тріщин та інших ушкоджень шкірного покриву вимені, передусім при випасанні худоби в дощову погоду, в холодні вітряні дні тощо; обробки рук (рукавиць) спеціалістів при наданні рододопомоги тваринам, акушерсько-гінекологічних маніпуляціях та штучному осіменінні [226].

Фітосепт мазь для доїння (ТОВ «Бровафарма», Україна). Серія 072019 100 г препарату містять: настоянка календули – 20 мл, олія обліпихи – 5 мл, мазеву основу (рослинні компоненти, продукти бджільництва, ланолін і стабілізатор) – до 100 г. Мазь Фітосепт має асептичну і протизапальну дії, посилює місцевий кровообіг, активізує живлення шкіри, сприяє загоєнню мікротравм, тріщин та ерозії дійок вимені корів та використовується для профілактики маститів та гігієнічного догляду за вим'ям [226].

2.2.2. Характеристика допоміжних речовин

Для розробки складу ЛЗ, ВЗ та КЗ використовували різні допоміжні речовини, що містяться в переліку допоміжних речовин, дозволених до застосування у складі ліків і затверджених МОЗ. Детальна характеристика допоміжних речовин наведена у навчальних посібниках «Допоміжні речовини в технології ліків» та «Допоміжні речовини у виробництві ліків» за редакцією д. фарм. н., проф. І. М. Перцева [227, 228].

При дослідженнях із розробки складу гелю з ВЕС використовували носій гелевої основи акриловий полімер (карбопол) марки Ultrez 10 (Carbomera, ЄФ; Carbomers, БрФ), воду очищену (ДФУ 2.0, Т.2, ст. 129), гідрофільні неводні розчинники пропіленгліколь (ДФУ 2.0, 2 том, ст. 563), гліцерин (ДФУ 2.0, 2 том, ст. 162), трометамол (ДФУ 2.0, 2 том, ст. 638) [229-233].

Ми обрали карбопол марки Ultrez 10, оскільки ВМС має високі технологічні характеристики (швидко розчинний у воді, навіть кімнатної температури), а основи з карбополом Ultrez 10 відповідають вимогам для препаратів місцевої дії: мають помірну осмотичну активність, належну адгезійну здатність [234-236].

У дослідженнях мікробіологічної стабільності гелю використовували консерванти метилпарагідроксибензоат (ДФУ 2.0, 2 том, ст. 444), торгова назва «Ніпагін», натрію бензоат (ДФУ 2.0, 2 том, ст. 472) та калію сорбат (*Potassium Sorbate*, Br.Ph., Vol. III., 2009. 750 p) [231, 237].

При дослідженнях із розробки складу крему з екстрактами сапропелю використовували: емульгатор № 1 (ФС 42У-209-1043-99), цетилстеариловий спирт (ВР, USPNF, CAS № 67762-27-0 і № 8005-44-5), воду очищену, (ДФУ 2.0, 2 том, ст. 129), олію кукурудзяну (*Refined Maize Oil*, Br. Ph., Vol. III, 2009, 750 p.), кислоту лимонну (регулятор рН) (ДФУ 2.0, ст. 399) [231,237].

У дослідженнях мікробіологічної стабільності крему під умовною назвою «Сапрокрем» та сапропасти використовували консерванти нізин (ГОСТ Р 57646-2017), гермабен (комплексний консервант: (INCI: Propylene Glycol, Diazolidinyl Urea, Methylparaben and Propylparaben), Виробник Xiuzheng Swabplus Worldwide Medicine (Weifang) Co., LTD, Китай) та еуксил К 100 (склад: 90% феноксіетанолу (ЄФ 7.0, с. 2705- 2706), 10% етилгексилгліцерину) [229].

У дослідженнях з розробки екстрактів використовували такі допоміжні речовини: воду очищену (ДФУ 2.0, Том 2, ст. 129), олію кукурудзяну (Br. Ph., Vol. III, 2009; 750 p.), олію соняшникову (Br. Ph., Vol. III, 2009; 750 p.), спирт етиловий (96%) ДФУ 2.0, Том 2, ст. 233), гідроксид натрію (ДФУ 2.0, Том 2, с.475), пропіленгліколь (ДФУ 2.0, Том 2, ст. 563) [231,237].

При розробці складу піномийного антибактерійного мила з сапропастою використовували такі ДР: олію кокосову рафіновану (ДФУ 2.0, Том 2, с. 340), олію пальмову (African Pharmacopoeia 2nd ed., 2014, 200 p.; Br. Ph., Vol. III, 2009; 750 p.), олію рицинову (Castor oil, virgin; Eur.Ph., 10th Ed., 0051p.), олію арганову (Service De Normalisation Industrielle (SNIMA). Huiles d'arganes. Spécifications. Norme marocaine очищену (ДФУ 2.0, Том 2, ст. 129) [231 – 233, 237 – 239].

2.3. Методи досліджень

При виконанні роботи були використані сучасні органолептичні, фізико-хімічні, фармакотехнологічні, біохімічні, мікробіологічні, фармакологічні та статистичні методи досліджень. Дослідження проводили згідно з договорами про співпрацю в наукових та навчальних установах України.

2.3.1. Методи аналізу сапропелю та сапропасти

Визначали фізико-хімічні показники сухого, нативного сапропелю та сапропасти в Державній установі «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса (ДУ «УНДІ МР та К МОЗ України»).

Визначення зовнішнього вигляду, кольору, запаху й консистенції сапропелю нативного, сапропасти, сухого сапропелю. Суть методу полягає у визначенні структури та однорідності продукції в добре освітленому приміщенні та візуальному оцінюванні кольору випробовуваного виробу порівняно зі зразком-еталоном [223]. Зовнішній вигляд і колір продукції пастоподібної консистенції визначають огляданням проби, яку наносять тонким шаром на предметне скло чи аркуш білого паперу; порошкоподібної консистенції – огляданням засобу на поверхні скла [223].

Визначення запаху. Суть методу полягає в органолептичному оцінюванні запаху випробовуваної продукції та порівнюванні його із запахом, властивим для продукції конкретної назви. Органолептичні показники визначають за кімнатної температури (20 ± 5) °C. Запах продукції визначають органолептичним методом після контролю зовнішнього вигляду, періодично перевіряючи протягом 15 хв на відстані від 40 мм до 60 мм. Запах випробовуваного виробу має бути властивим запаху продукції конкретної назви.

Визначення водневого показника (pH) сапропелю нативного та сапропасти здійснювали у розчині з масовою часткою сапропелю нативного, сапропасти і сухого сапропелю 10% [240].

Визначення окислювально-відновного потенціалу (Eh, мВ) Метод базується на зміні електрорушійної сили (ЕРС) за наявності іонів окислювачів та відновників, яка реєструється іономіром за допомогою платинового, допоміжного електродів та вимірювальної комірки для пелоїдів. Для визначення ЕРС сапропель вносять у вимірювальну комірку, занурюють у неї електроди та термокомпенсатор і вимірюють ЕРС, відраховуючи за шкалою приладу в мВ [241].

Вміст H_2S , % – метод базується на визначенні титриметричним (йодометричним) методом загального вмісту вільного сірководню та сірководню, що вивільнюється при руйнуванні кислотою сірчистих сполук пелоїдів [241].

Наважку проби пелоїдів (від 5 до 10 г) переносять у конічну колбу з притертим корком, додавали 1 мл 1% розчину крохмалю і титрують 0,05 М розчином йоду до появи синього забарвлення водного шару над пелоїдами. Потім у колбу додають 5 мл 10% розчину соляної кислоти, закривають корком, перемішують та очікують закінчення реакції розкладу. Якщо відбувається знебарвлення водного шару, то знов титрують 0,05 М розчином йоду до появи синього забарвлення. Операції тривають до припинення знебарвлення водного шару над пелоїдами. Вміст загального сірководню X, % (в г/100 г пелоїдів) розраховують за формулою 2.1:

$$X = V \cdot C \cdot 0,017 \cdot 100 / m, \quad (2.1)$$

де: V – об'єм розчину йоду, витрачений на титрування, см³;

C – концентрація розчину йоду, моль-екв/дм³;

0,017 – молярна маса еквіваленту сірководню;

m – маса наважки пелоїдів, г.

Об'ємна вага – метод базується на визначенні об'ємної ваги пелоїдів як співвідношення між вагою пелоїдів і вагою води у тому ж об'ємі [241].

Зважують порожній та сухий стакан місткістю 100 мл, а потім той самий стакан, наповнений дистильованою водою. За різницею ваги визначають вагу дистильованої води у стакані. Після цього стакан висушують та заповнюють пробой пелоїдів, уникаючи включень повітря, зважують.

Об'ємну вагу пелоїдів (X) розраховують за формулою 2.2:

$$X = (a - b) / (c - b), \quad (2.2)$$

де: a – вага стакана з пелоїдами, г;

b – вага порожнього стакана, г;

c – вага стакана з дистильованою водою, г.

Напруга зсуву, P_a – метод базується на визначенні мінімального навантаження, при якому металева пластинка, занурена в пелоїди, починає рухатися [241]. Пробу пелоїдів переносять у стакан, який закріплений в основі штативу спеціального приладу. Металеву пластинку з нанесеними позначками з ціною поділки 1 см занурюють у пелоїди. Пластинку поєднано з чашкою вагів, на яку ставлять гирі, доки вони своєю вагою не зрушують пластинку з пелоїдів.

Напругу зсуву (X, P_a) розраховують за формулою 2.3:

$$X = 0,1 \cdot P \cdot g / S, \quad (2.3)$$

де: P – вага гирь, г;

g – 981 см/с²;

S – площа поверхні стику, см².

Липкість, P_a . Метод базується на визначенні мінімального навантаження, при якому металевий диск, покладений на поверхню проби пелоїдів, відривається від неї [241].

Стаканчик, закріплений в основі штативу, наповнюють пробой пелоїдів. Потім накладають на поверхню пелоїдів металевий диск, щільно притираючи його.

Металевий диск з'єднаний з чашкою ваг, на яку ставили гирі доти, доки вони своєю вагою не відривають диск від поверхні проби пелоїдів.

Липкість (X, Па) розраховують за формулою 2.4:

$$X=0,1 \cdot P_0 \cdot g / \pi \cdot r^2 \quad (2.4)$$

де: P_0 – вага гирь, г;

g – 981 см/с²;

π – 3,14;

r^2 – радіус диска, см.

Засміченість частинками діаметром більше 0,25 мм, % [241]. Метод базується на гравіметричному визначенні ваги частинок, які залишилися після пропускання проби пелоїдів крізь сито з діаметром отворів 0,25 мм.

До наважки сапропелю чи сапропасти приблизно 10,0 г в порцеляновій чашці додають воду очищену та ретельно перемішують. Потім вміст чашки переносять до сита з діаметром отворів 0,25 мм та промивають на ньому пробу водою очищеною до стікання прозорої води. Залишок на ситі переносять до зваженої порцелянової чашки, висушують на водяній бані та доводять до постійної ваги у сушильній шафі при температурі (105±5) °С. Після охолодження в ексікаторі чашку з пробой зважують.

Засміченість (X, %) – розраховують за формулою 2.5:

$$X=a \cdot 100/m \quad (2.5),$$

де: a – вага залишку частинок у чашці, г;

m – наважка сапропасти, г.

Засміченість частинками діаметром більше 10 мм, %. Зразок нативного сапропелю масою 2000±5 г просівають через сито з діаметром отворів 10 мм, залишок на ситі відповідає масі частинок більше 10 мм [223].

Вміст частинок, більших, ніж 10 мм, визначають за формулою 2.6:

$$X = \frac{q_1}{q}, \text{ де} \quad (2.6)$$

де: X – вміст частинок більших ніж 10 мм, %;

q – маса проби сапропелю, яку аналізують, г;

q_1 – маса частинок більших ніж 10 мм, г.

Визначення питомої теплоємності та теплозбережної здатності [241].

Круглодонну колбу діаметром 5-8 см з широкою короткою горловиною наповнюють пробою пелоїдів рівномірно, без порожнин. Колбу закривають корком з термометром, кінець якого встановлюють у центрі колби. Потім колбу переносять до ємності, заповненої льодом. Кожні 5 хв визначають температуру пелоїду з точністю 0,1°C протягом 2-3 год, поки температура не стає близькою до нуля. Коли температура починає знижуватися рівномірно, вибирають два значення температури у проміжку часу 20-40 хв.

Розраховують коефіцієнт теплопровідності (відносне падіння температури за одиницю часу) за формулою 2.7:

$$a = R^2 \cdot (\lg t_1 - \lg t_2) / [0,4343 \cdot \pi^2 \cdot (Z_1 - Z_2)] \quad (2.7)$$

де: R – радіус колби;

t_1, t_2 – значення температур, °C;

Z_1, Z_2 – відповідні температурам відрізки часу;

π – 3,14.

Теплозбережну здатність (ω , с) розраховують за формулою 2.8:

$$\omega = 1/a \quad (2.8)$$

де: a – коефіцієнт теплопровідності.

Питому теплоємність (X, Дж/кг·K) розраховують за формулою 2.9:

$$X = 4,19 \cdot [A + (100 - A) \cdot b] / 100, \quad (2.9)$$

де: A – масова частка води, %;

b – теплоємність сухої речовини (мулові пелоїди $b=0,2$, торфові пелоїди $b=0,48$).

Визначення органічного вуглецю, $C_{орг}$, %. Метод базується на окисленні біхроматом калію органічних речовин пелоїдів у сильноокислому середовищі (метод Тюріна в модифікації Орлова та Гріндель) [241].

Наважку повітряно-сухих пелоїдів (3 г) переносять у конічну колбу об'ємом 100 мл і додають 20 мл окислювальної суміші. Горло колби закривають маленькою скляною воронкою та кип'ятять на електроплитці з товстою азбестовою сіткою рівно 5 хв з моменту закипання. Потім суміш охолоджують, переносять у мірний циліндр

на 100 мл із притертим корком, доводять дистильованою водою до мітки та перемішують. Залишають вистояватися на ніч. Розчин обережно зливають у кювету довжиною 50 мм та вимірюють оптичну густину розчину при довжині хвилі 590 ± 10 нм.

Вміст вуглецю ($C_{\text{орг.}}, \%$) у наважці пелоїдів розраховують за формулою 2.10:

$$C_{\text{орг.}}, \% = 1,86 \cdot A/P, (2.10)$$

де: A – оптична густина досліджуваного зразка;

P – наважка проби пелоїдів, г.

Дослідження вмісту азоту і сирого протеїну, жиру, сирій золи, вологи та інших летких речовин, сирій клітковини, органічної речовини, мікроелементів і амінокислотного складу сухого сапропелю родовища Прибич Шацького району Волинської області проводили в лабораторії контролю кормових добавок та преміксів Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів.

Визначали вміст азоту і сирого протеїну титриметричним методом за К'ельдалем згідно з ДСТУ ISO 5983:2003 [242].

Визначення вмісту жиру здійснювали згідно з ДСТУ ISO 6492:2003 [243]

Вміст сирій золи визначали за ДСТУ ISO 5985:2004 [244].

Вміст вологи та інших летких речовин визначали за ДСТУ ISO 6496:2005 [245].

Визначення вмісту сирій клітковини проводили методом проміжної фільтрації за ДСТУ ISO 6865:2004 [246].

Визначення органічної речовини проводили гравіметричним методом за ГОСТ 26213-91 [247].

Визначення вмісту мікроелементів проводили згідно з ДСТУ 4482 [248].

Дослідження амінокислотного складу. При проведенні досліджень методом капілярного електрофорезу використовували систему капілярного електрофорезу «Капель – 105/105 М» із позитивною полярністю джерела високої напруги (внутрішній діаметр капіляру 50 мкм, повна довжина капіляру 75 см, ефективна

довжина 65 см), оснащену спеціальним програмним забезпеченням на основі персонального комп'ютера [249].

Метод заснований на розкладі проб кислотним гідролізом з переходом амінокислот у вільні форми фенілізотіокарбамільних похідних (ФТК-похідних), подальшому їх розділенні і кількісному визначенні методом капілярного електрофорезу. Детектування проводили в УФ-ділянці спектра при довжині хвилі 254 нм.

Проведення гідролізу проб. Наважку проби масою $(100,0 \pm 0,2)$ мг вміщують у віалу для гідролізу, додавали 10 см³ соляної кислоти, герметично закривають закрученою кришкою і перемішують. Встановлюють віали в сушильну шафу. Гідроліз проводять при температурі 110°C впродовж 14-16 год. Після закінчення гідролізу віали із наважками виймають із шафи і охолоджують до кімнатної температури. Вміст віал після охолодження фільтрують через фільтри «синя стрічка», відкидають перші порції і збирають основні фільтри в посуд із кришкою, щоб запобігти випаровуванню. Далі переходять до одержання ФТК-похідних.

Отримання ФТК-похідних амінокислот. У скляні бюкси вмістом 10-15 см³ відбирають по 0,05 см³ гідролізатів із наважок. Розчини випаровують насухо в струмені теплого повітря. У кожний бюкс із сухими залишками додають 0,15 см³ розчину карбонату натрію, 0,3 см³ розчину фенілізотіоацетату (ФІТЦ). Ретельно перемішують до розчинення осаду, закривають кришкою і залишають на 35 хв при кімнатній температурі. Потім розчини випаровують насухо в струмені теплого повітря.

Аналіз підготовлених проб. Підготовлені для аналізу розчини переносять в пробірки типу «Епендорф», центрифугують впродовж 1 хв при швидкості 6000 об/хв.

Для кожного приготованого розчину у відповідних умовах реєструють не менше двох електрофореграм. Після закінчення аналізу перевіряють правильність автоматичної розмітки піків. Використовуючи програмне забезпечення, ідентифікують компоненти у пробі за збіганням часу міграції компонентів у пробі і контрольній суміші при ширині вікна ідентифікації не більше 5%.

Обробка результатів випробувань. Масову частку кожної амінокислоти (X , %) вираховують за формулою 2.11:

$$X = \frac{10 \cdot C_{\text{виз}}}{m}, \quad (2.11)$$

де: $C_{\text{виз}}$ – визначене значення масової концентрації амінокислоти у розчині, мг/дм³;

m – маса наважки проби, мг.

Паралельно проводять два дослідження. Для кожного з приготованих розчинів реєструють по дві електрофореграми. *Умови дослідження:* наважка сапропелю зразка 1 – 509,4 мг, зразка 2 – 300,1 мг, температура: 30,0°C і довжина хвилі – 254 нм [250].

Дослідження вмісту карбонових кислот. Для ідентифікації та кількісного визначення карбонових кислот у сапропелі та спиртовому екстракті сапропелю, який отримували методом перколяції 40% етанолом з подальшим випарюванням на вакуум-випарному апараті при температурі 50-60 °C до необхідного об'єму, використовували метод хромато-мас-спектрометрії [251]. Для цього застосовували хроматограф Agilent Technologies (США), оснащений хроматографічною колонкою (із внутрішнім діаметром 0,25 мм і довжиною 30 м), серії 6890 з мас-спектрометром серії 5973. Температура термостата була запрограмована від 50 °C (1 хв) і потім до 320 °C зі швидкістю 4 °C / хв, останнє значення температури утримували впродовж 9 хв. Як газ-носій використовували гелій, швидкість газу-носія – 1,2 мл/хв. Внутрішній стандарт, тридекан, вводили в перерахунку 50 мкг субстанції на певну кількість рослинного зразка. Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектрів Nist 05 і Wiley 138.

Визначення вологовмісту сапропелю проводили за методикою ДФУ 2.0, т.1, с. 96 на вологомірі Sartorius MA-150, в якому наважку 3,0 г (з точністю до 0,01 г) сушать при температурі 100-105 °C до постійної маси, після чого на дисплеї фіксують вміст вологи в дослідній сировині. Вологість сапропелю (X), у відсотках, обчислюють за формулою 2.12:

$$X = \frac{(m - m_1) \times 100}{m_1}, \quad (2.12)$$

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

m_1 – маса наважки сировини після висушування, г.

За остаточний результат визначення приймають середнє арифметичне двох паралельних визначень, обчислених до десятих часток відсотка. Розбіжність між результатами двох паралельних визначень не має перевищувати 0,5% [232].

Визначення фракційного складу здійснювали за методикою, наведеною у ДФУ 1.0, п. 2.9.12 [252], с. 481. 100,0 г сапропелю зважують з похибкою $\pm 0,1$ г, просіюють через набір з чотирьох послідовно зібраних сит. Відповідно до ДФУ використовують сита: № 1400, діаметр 710 мкм; № 355, діаметр 224 мкм; № 180, діаметр 125 мкм; №125, діаметр 90 мкм. Наважку порошку вміщають на верхнє сито і весь комплект струшують вручну протягом 5 хв. Потім просів і відсів матеріалу на ситах зважують. Вміст фракцій різного розміру виражають у відсотках від загальної маси.

Технологічні параметри (питому, об'ємну, насипну масу, кут природного ухилу) сапропелю визначали за методиками, наведеними у літературі, крім того розраховували пористість сировини, порізність та вільний об'єм шару [253-255].

2.3.2. Фізичні, фізико-хімічні та фармако-технологічні методи досліджень м'яких лікарських форм

Відповідно до вимог ДФУ 2.0 та ДФУ 1.2, ст. 312, м'які ЛЗ і ВЗ контролювали за такими показниками якості: опис, ідентифікація, однорідність, маса вмісту контейнера, мікробіологічна чистота, кількісне визначення. За необхідності додатково контролювали розмір часток, рН, реологічні властивості, герметичність контейнера тощо [231-233, 256].

Опис. Контролювали зовнішній вигляд і характерні органолептичні властивості зразків МЛФ, а саме колір, консистенцію та ін. Для цього переглядають

мазки гелів/кремів, нанесених на предметне скло шаром (2 - 4) мм з використанням кольорових стандартів [257].

Запах (ДФУ 2.0, 2.3.4.) [256].

Визначення однорідності. Однорідність зразків крему і гелю визначали за методикою, наведеною в ДФУ 1.0, с. 511 [256].

Визначення термостабільності. Для дослідження термостабільності МЛФ для кожного зразка використовували 5 скляних пробірок діаметром 15 мм і висотою 150 мм. Пробірки наповнюють (8-10) мл досліджуваних зразків і вміщують їх у термостат марки ТС-80 МГ із температурою $(42,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ на 7 діб. Після цього зразки переносять на 7 діб у холодильник із температурою $(6 \pm 2) ^\circ\text{C}$ і потім протягом 3 діб витримують їх при кімнатній температурі. Стабільність визначають візуально: якщо в жодній пробірці не спостерігають розшарування, то зразок вважають стабільним [258].

Визначення колоїдної стабільності. Для тесту використовували лабораторну центрифугу Т 62 з набором пробірок, ртутний термометр з інтервалом вимірюваних температур від 0 до $100 ^\circ\text{C}$ і ціною поділки $1 ^\circ\text{C}$, а також секундомір і водяну баню. Пробірки наповнюють на $2/3$ об'єму (приблизно 9 г) досліджуваними зразками (так, щоб маси пробірок з препаратом не відрізнялись більш, ніж на 0,02 г, і зважують з точністю до 0,01. Потім пробірки вміщують у водяну баню при температурі $(42,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ на 20 хв, після чого насухо витирають із зовнішнього боку і розміщують в гнізда центрифуги. Центрифугують протягом 5 хв зі швидкістю 6000 об/хв. Зразок вважають стабільним, якщо після центрифугування в пробірках не спостерігається розшарування. Якщо хоча б в одній із пробірок спостерігається розшарування зразка або виділення осаду, аналіз проводять повторно з новими порціями. Якщо при повторному тесті виявляють хоча б одну пробірку з розшаруванням, зразок вважають нестабільним [258].

Метод ротаційної віскозиметрії застосовували для вивчення реологічних властивостей м'яких ЛФ (ДФУ 2.0, т. 1, п. 2.2.10, с. 58–60) [232]. Вимірювання *напруги зсуву* τ (Па або H/m^2) і *швидкості зсуву* $D\dot{\gamma}$ (с^{-1}) проводять шляхом збільшення кількості обертів шпинделя від 20 до 100 об/хв, досягаючи постійних

показників при максимальному обертанні і подальшому зменшенні швидкості обертання шпинделя [232].

Механічна стабільність (МС) характеризує ступінь руйнування структури в процесі незворотної деформації. Оптимальним значенням МС є 1 [257, 258]. Значення МС експериментальних зразків гелю розраховують як відношення величини межі міцності структури перед руйнуванням (τ_1) до величини межі міцності після руйнування (τ_2):

$$МС = \tau_1 / \tau_2. \quad (2.13)$$

Для дослідження екструзійних властивостей основ розраховують **коефіцієнт динамічного розрідження** за формулою:

$$K_d = \frac{(\eta_{18,6} - \eta_{93,0}) \times 100\%}{\eta_{18,6}}, \quad (2.14)$$

де: $\eta_{18,6}$ – в'язкість основи при швидкості зсуву $18,6 \text{ c}^{-1}$;

$\eta_{93,0}$ – в'язкість основи при швидкості зсуву $93,0 \text{ c}^{-1}$ [259-261].

Визначення величини рН. Величину рН вимірювали згідно з ДФУ 2.0, 2.2.3, с. 51–53. – потенціометрично за допомогою лабораторного приладу рН-150-МІ (ТОВ «Вимірювальна техніка», РФ) [232].

Визначення ступеня дисперсності та лінійних розмірів дисперсної фази емульсійної основи крему здійснювали методом оптичної мікроскопії (ДФУ 2.0, том 1, п. 2.9.37, с. 481–483) електронним мікроскопом «Delta Optical Genetic Pro» із вмонтованою камерою (об'єктив 40/0,65 160/0.17; окуляр WF 10×/18) [232].

Вивчали вологоутримувальну здатність дослідних зразків гелів ваговим експрес-методом за ДФУ 2.0 шляхом висушування інфрачервоним промінням на вологомірі торсійних терезів ВТ-500 [232].

Вологовміст визначають за формулою:

$$u = (G_{\text{вол.}} - G_{\text{сух.}}) / G_{\text{вол.}} \cdot 100\%, \quad (2.15)$$

де: $G_{\text{вол.}}$ – маса матеріалу до висушування, г;

$G_{\text{сух.}}$ – маса висушеного матеріалу, г.

Дослідження осмотичної активності дослідних зразків гелів здійснювали методом діалізу через напівпроникну мембрану. Як мембрану використовували інертний целюлозний матеріал Suprophan, Type 150 pm, шириною $(11 \pm 0,5)$ мкм [232].

Маса вмісту пакування препаратів «Сапрогель» та «Сапрокрем». Три туби без бушонів разом з препаратом зважують, кожен окремо, з точністю 0,01 г. Туби ретельно звільняють від крему, зробивши на них подовжній розріз ножицями, промивши кожен тубу гарячою водою, старанно видаляючи залишки води фільтрувальним папером і знову зважують [256].

Герметичність контейнера також визначали за методикою ДФУ І вид., с. 511, витримуючи необхідну кількість туб з гелем та кремом (10 або 30) у термостаті при температурі (60 ± 3) °C протягом 8 год.

2.3.3. Фізичні, фізико-хімічні методи досліджень твердого піномийного косметичного засобу «Антибактеріальне мило з сапропелем»

Досліджували показники якості мила з сапропелем у випробовувальній лабораторії «Екохімсерт» Державного підприємства «Сертифікаційний центр продукції та послуг» ДП «СЦ «Галсерт».

За зовнішнім виглядом, формою, кольором і запахом мило з сапропелем повинно відповідати вимогам ДСТУ 4537:2006 «Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови». Органолептичні показники оцінювали візуально [260].

Дослідження фізико-хімічних показників мила (якісне число (γ), масова частка содопродуктів у перерахунку на (%), температура застигання жирних кислот, що виділені з мила (титр) (°C), масова частка хлориду натрію (%) проводили згідно зі стандартом ДСТУ 4537:2006 «Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови». Норму за показником «Початковий об'єм піни (см^3)» визначали згідно з додатком А ДСТУ 4537:2006 «Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови».

Фізико-хімічні показники мила з сапропелем:

Якісне число (ЯЧ) (маса жирних кислот у перерахунку на номінальну масу куска 100 г) в грамах розраховують за формулою:

$$\text{ЯЧ} = \frac{X \cdot m}{m_1}, \text{ де} \quad (2.16)$$

де: X – маса жирних кислот в 100 г мила, г, що розрахована за п. 3.2 ГОСТ 790;

m – фактична маса куска мила, г;

m_1 – номінальна маса куска мила, г.

Визначають масову частку жирних кислот (X) відповідно до п. 3.3 ГОСТ 790–89 :

$$X = \frac{(m_1 - V \cdot K \cdot 0,011)}{m} \cdot 100, \quad (2.17)$$

де: m_1 – маса залишку в колбі після висушування, г;

V – об'єм спиртового розчину гідроксиду натрію (NaOH)=0,5 моль/дм³, витрачений на титрування, см;

K – поправка, яка враховує відношення фактичної концентрації гідроксиду натрію в моль/дм³ до номінальної концентрації (NaOH)=0,5 моль/дм³;

m – маса досліджуваної проби мила, г;

0,011 – різниця між атомною масою натрію і водню, еквівалентна 1 см³ спиртового розчину гідроксиду натрію з концентрацією (NaOH)=0,5 моль/дм³ [263].

Масову частку содопродуктів у перерахунку на Na_2O , % визначають за формулою відповідно до п. 3.4 а ГОСТ 790–89 [263]:

$$X = 0,775 X_1 + 0,590 X_2, \quad (2.18)$$

де: 0,775 – коефіцієнт перерахунку вільного їдкого лугу на Na_2O ;

X_1 – масова частка вільного їдкого лугу, %, що визначена за ГОСТ 790–89 п. 3.3;

0,590 – коефіцієнт перерахунку вільного вуглекислого натрію на Na_2O ;

X_2 – масова частка вільного вуглекислого натрію, %, визначена за ГОСТ 790–89 п. 3.4.

Масову частку хлориду натрію у відсотках визначали відповідно до п. 3.8 ГОСТ 790–89

Масову частку хлористого натрію у відсотках (X_5) розраховують за формулою:

$$X_5 = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 0,005845}{m} \cdot 100, \quad (2.19)$$

де: V – об'єм розчину азотнокислого срібла з концентрацією $(\text{AgNO}_3)=0,1$ моль/дм³, витрачений на титрування контрольної проби, см³;

K – поправка, яка враховує відношення фактичної концентрації розчину азотнокислого срібла в моль/дм³ до номінальної концентрації $(\text{AgNO}_3)=0,1$ моль/дм³;

V_1 – об'єм розчину азотнокислого срібла з концентрацією $(\text{AgNO}_3)=0,1$ моль/дм³, витрачений на титрування досліджуваного зразка, см³;

m – маса досліджуваного зразка, г;

0,005845 – маса хлористого натрію еквівалентна 1 см³ розчину азотнокислого срібла з концентрацією $(\text{AgNO}_3)=0,1$ моль/дм³ [263].

Температура застигання жирних кислот, що виділені з мила (титр), °С. У фарфоровій чашці у 300-400 см³ гарячої води розчиняють 40-50 г стружки мила (із загальним вмістом жирних кислот не менше 30 г). Після розчинення мило розкладають розчином сірчаної кислоти у присутності метилового оранжевого (до нейтральної реакції промивних вод). Температуру застигання жирних кислот визначають на приладі Жукова. Температурою застигання жирних кислот вважають ту, при якій затримується падіння ртутного стовпчика термометра [263].

Вимірювання показника «Початковий об'єм піни». 100 см³ мильного розчину наливають у воронку приладу, закривають її корком і струшують протягом 1 хв (приблизно 180 струшувань). Потім швидко виймають корок і зразу вимірюють об'єм піни у ділильній воронці її конусній частині [263].

2.3.4. Фізичні, фізико-хімічні та фармакотехнологічні методи дослідження водного та олійного екстрактів сапропелю

Опис. Зовнішній вигляд, колір і консистенцію екстракту сапропелю визначають візуально шляхом оглядання пробірок з безбарвного прозорого

нейтрального скла з плоским дном з екстрактом у розсіяному денному світлі на білому фоні [223].

Визначення сухого залишку. Сухий залишок ВЕС визначають за методикою ДФУ 2.0, том 1, п. 2.8.16, с. 385 [256].

Визначання вмісту органічної речовини в перерахунку на суху речовину. Вміст органічних речовин визначають термогравіметричним методом, який полягає у визначенні втрати маси відібраної проби сапропелю після прожарювання за температури 800 °С [256].

Масову частку золи (X) у відсотках визначають за формулою 2.20:

$$X=(m_1-m_2)/m, \quad (2.20)$$

де: m_1 – маса тигля з наважкою після озолювання, г;

m_2 – маса тигля, г;

m – маса наважки, г.

Визначення запаху олійного екстракту сапропелю. Визначають з допомогою смужки щільного паперу розміром 10x160 мм, змоченою приблизно на 30 мм зануренням в досліджувану рідину. Для приготування водного розчину проби 10 г олійного екстракту змішують з 90 см³ дистильованої води [257].

Прозорість олійного екстракту – випробовувану рідину порівнюють з свіжоприготованим еталоном у розсіяному денному світлі через 5 хв після приготування еталону, переглядаючи зразки уздовж вертикальної осі пробірок на чорному фоні [232].

Кислотне число (КЧ) визначали за методикою ДФУ 2.0, том 1, п. 2.5.1, с. 211 [232].

Йодне число олійного екстракту сапропелю (ЙЧ) визначали за методикою ДФУ 2.0, том 1, п. 2.5.4, с. 212 [232].

Розчинність. Властивість олійного екстракту розчинятись у різних розчинниках визначали за методикою ДФУ 2.0, том 1, с. 33 [232].

Об'єм вмісту пакування. Випробування здійснюють на 10 пакуваннях відповідно до ДСТУ 64-492-85. Об'єм вмісту пакування має бути від 97 до 103 мл.

2.3.5. Методи ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних речовин

Для стандартизації діючих речовин у ВЕС здійснювали ідентифікацію та кількісне визначення ГК. Для визначення сумарної масової частки ГК використовували методику, описану в літературі, після окислення ГК за методом І.В. Тюріна в модифікації Б.А. Нікітіна і титрування сіллю Мора [264].

Ідентифікація гумінових кислот у водному екстракті сапропелю та гелі. ГК у ВЕС та гелі з ВЕС ідентифікують після вилучення з ВЕС лужним гідролізом за методикою кількісного визначення. Після подальшого осадження концентрованим розчином сульфатної кислоти ГК мають характерне темно-коричнє забарвлення.

З колби об'ємом 1000,0 мл, яка містить лужний розчин ГК, відбирають 50 мл і додають краплями концентровану сірчану кислоту до помутніння розчину, яке відбувається за кислотності розчину в межах від 2,0 до 3,5 одиниць рН. Колбу накривають годинниковим склом і нагрівають на киплячій водній бані протягом 30 хв. Потім її знімають з бані і залишають для повного осаджування на 16 год. Фільтрують. Осад на фільтрі 2-3 рази промивають розчином сірчаної кислоти до одержання прозорого фільтрату.

Кількісне визначення сумарної масової частки гумінових кислот у водному екстракті сапропелю, гелі з водним екстрактом і кремі з водним та олійним екстрактами сапропелю. Сумарну масову частку ГК визначали за методикою, описаною в літературі, після окислення ГК за методом І.В. Тюріна в модифікації Б.А. Нікітіна і титрування сіллю Мора [264].

Вилучення гумінових кислот з наважки ВЕС. 2,0000 г екстракту (точна наважка) вміщають у конічну колбу місткістю 250 мл (колба А), додають 100 мл лужного розчину натрію дифосфату та перемішують протягом 1 год на струшувачі.

Вилучення гумінових кислот з наважки крему. 5,000 г крему (точна наважка) вміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 20 мл гексану, перемішують з магнітним змішувачем 5 хв. Отриману суспензію переносять у ділильну лійку, додають 2 мл насиченого розчину калію хлориду, струшують та залишають до

розшарування. Водний шар (знизу) зливають у колбу місткістю 250 мл (колба А), додають 100 мл лужного розчину натрію дифосфату та перемішують протягом 1 год на струшувачі.

Вилучення гумінових кислот з наважки гелю. 5,000 г гелю (точна наважка) вміщують у конічну колбу місткістю 250 мл (колба А), додають 100 мл лужного розчину натрію дифосфату та перемішують протягом 1 год на струшувачі.

Одержану суспензію переносять у відцентрову пробірку та центрифугують протягом 15 хв зі швидкістю 2000 об/хв. Розчин над осадом декантують у конічну колбу місткістю 1000 мл (колба Б). Осад двічі промивають по 100 мл 1% розчином натрію гідроксиду, щоразу центрифугують та зливають розчин у колбу Б.

До осаду у відцентровій пробірці додають 100 мл 1% розчину натрію гідроксиду та переносять у колбу А. Колбу з суспензією нагрівають протягом 2 год на киплячій водяній бані та охолоджують до кімнатної температури. Суспензію центрифугують та зливають розчин над осадом у колбу Б.

Осад, що залишився, двічі промивають 100 мл 1% розчину натрію гідроксиду та центрифугують, розчин зливають у колбу Б. Осад тричі промивають по 100 мл водою очищеною Р, центрифугують та розчин зливають у колбу Б.

Вміст колби Б фільтрують крізь фільтр «синя смужка» у мірну колбу місткістю 1000,0 мл, доводять водою очищеною Р до позначки та перемішують (розчин для визначення сумарної масової частки ГК).

Осаджування гумінових кислот. З колби місткістю 1000 мл, яка містить лужний розчин ГК, відбирають 50,0 мл розчину, переносять у конічну колбу місткістю 100 мл та, перемішуючи, додають по краплині, кислоту сірчану концентровану до рН розчину від 2,0 до 3,5. рН розчину вимірюють потенціометрично. Колбу нагрівають на киплячій водяній бані протягом 30 хв, охолоджують та залишають на 16 год для повного осаджування.

ГК фільтрують крізь фільтр «синя смужка». Осад на фільтрі та колбу, в якій осаджували ГК, промивають 0,05 М розчином сірчаної кислоти 3 рази по 10 мл до одержання прозорого фільтрату.

Лійку з осадом на фільтрі вставляють у мірну колбу місткістю 100,0 мл і розчиняють осад ГК гарячим 0,05 М розчином натрію гідроксиду. Промивають фільтр гарячим розчином натрію гідроксиду до повного розчинення осаду і отримання прозорого фільтрату. Отриманий лужний розчин ГК охолоджують до кімнатної температури і доводять об'єм колби до позначки 0,05 М розчином натрію гідроксиду.

Окислення гумінових кислот за методом І.В. Тюріна в модифікації Б.А. Нікітіна і титрування сіллю Мора. У конічну колбу місткістю 100 мл поміщають 20,0 мл лужного розчину ГК, випарюють розчин на киплячий водяній бані до сухого залишку, не пересушуючи його.

До конічної колби з сухим залишком додають 10 мл 0,4 М розчину хромової суміші. Розчин доливають повільно, ретельно змивають стінки колби. Колбу закривають лійкою та поміщають у сушильну шафу на 20 хв при температурі 150 – 160 °С. Після охолодження колби знімають лійку, промивають водою очищеною, додають 6 крапель 0,2% розчину *N*-фенілантранілової кислоти і титрують 0,2 М розчином солі Мора до переходу забарвлення від вишнево-червоного до зеленого.

Паралельно роблять контрольне дослідження.

1 мл 0,2 М розчину солі Мора відповідає 0,001034 г гумінових кислот.

Сумарну масову частку ГК (*X*), у міліграмах, у 1 г ВЕС, розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times K \times 1034}{m}, \quad (2.21),$$

де: V_1 – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування контрольного дослід, мл;

V_0 – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування аналітичної проби, мл;

K – поправковий коефіцієнт розчину солі Мора;

m – маса наважки випробуваного зразку, г.

Кількість суми ГК у 1 г концентрованого водного розчину сапропелю має становити не менше 85 мг.

Примітка: приготування 0,1 М лужного розчину натрію дифосфату ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$). У мірну колбу місткістю 1000,0 мл вміщують 44,6 г натрію дифосфату і 4,0 г натрію гідроксиду, розчиняють наважку в 500 мл води очищеної Р та доводять розчин водою очищеною Р до позначки.

Приготування 0,4 М розчину хромової суміші. У мірну колбу місткістю 1000,0 мл вміщують 40,0 г тонкоподрібненого калію біхромату, розчиняють у 500 мл води очищеної Р та доводять водою очищеною Р до позначки. Розчин вміщують у конічну колбу місткістю 3000 мл та додають сірчану кислоту концентровану в кількості 1000 мл частками по 100 мл обережно, з інтервалом 10-15 хв. Після охолодження суміш переливають у посуд з темного скла.

Приготування 0,2М розчину солі Мора ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \times \text{FeSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$) 80,0 г солі Мора розчиняють у 500 мл води очищеної Р, фільтрують у мірну колбу місткістю 1000,0 мл, додають 20 мл сірчаної кислоти концентрованої та доводять водою очищеною Р до позначки.

Перевіряють концентрацію солі Мора: у три конічні колби місткістю 100 мл вміщують 10 мл розчину солі Мора, додають 1 мл кислоти сірчаної концентрованої і титрують 0,1 М розчином калію марганцевокислого до блідо-рожевого забарвлення, що не зникає протягом 1 хв. Використовують середнє значення з трьох випробувань.

Приготування 0,2% розчину N-фенілантранілової кислоти. 0,20 г N-фенілантранілової кислоти розтирають з невеликою кількістю 0,2% розчину натрію вуглекислого, переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, перемішують і доводять до позначки 0,2% розчином натрію гідрокарбонату.

Для **вивчення валідаційних характеристик** (ВЕС) використовували підхід до валідації БАР у рослинних препаратах, описаний в літературі [265]. Специфічність даної аналітичної процедури доводили шляхом визначення кількості міліграм суми ГК у досліджуваному ВЕС методом об'ємного титрування. Для підвищення специфічності редокс-методики паралельно проводили контрольний дослід.

Критерієм прийнятності запропонованої методика є лінійна залежність між концентрацією сумарної масової частки ГК від маси наважки ВЕС. При визначенні

лінійності проводили титрування кожної наважки в концентрації від 80% до 120% від обраної не менше трьох разів.

Ідентифікація та кількісне визначення біологічно активних речовин в олійному екстракті сапропелю. Для ідентифікації природних пігментів використовували метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці з використанням різних розчинників, таких як ацетон і гексан, метод тонкошарової хроматографії (ТШХ), хімічні реакції.

Для підтвердження наявності речовин каротиноїдної будови застосовували ТШХ порівняно зі стандартним розчином β -каротину. Випробування проводили з використанням ацетонового розчину олійного екстракту на ТШХ-пластинках з шаром силікагелю та флуоресцентним індикатором F_{254} (фірма «Merk» *Merck Silica gel F254*), рухомої фази петролейний ефір-діетиловий ефір (10 : 3,5). Детектування здійснювали після висушування хроматограм в УФ-випромінюванні і обробки хроматограм 10% розчином фосфорномолібденової кислоти та висушування при нагріванні при денному світлі.

Ідентифікація. Тонкошарова хроматографія (ДФУ 2.0, 2.2.27).

Випробуваний розчин. 0,5 г ОЕС розчиняють у 5 мл ацетону.

Розчин крему, який містить ОЕС та ВЕС, під умовною назвою «Сапрокрем»: до 1,0 г крему додають 10 мл ацетону та перемішують з магнітним змішувачем у конічній колбі місткістю 100 мл протягом 30 хв. Розчин фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка».

Розчин порівняння: 5 мг ФСЗ β -каротину розчиняють у 10 мл гексану.

Пластинка: ТШХ-пластинка з шаром силікагелю *P* та флуоресцентним індикатором F_{254} або ідентична.

Рухома фаза: петролейний ефір *P* – діетиловий ефір *P* (10 : 3,5).

Об'єм проб: по 5 мкл випробуваного розчину і розчину порівняння смугами, ретельно сушать місця нанесення смуг.

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

Висушування: на повітрі протягом 20 хв.

Виявлення А: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

Результати А: на хроматограмах виявляється зона поглинання жовтої флуоресценції у верхній частині.

Виявлення В: обприскують 10% розчином фосфорномолібденової кислоти, нагрівають у сушильній шафі при температурі 60 °С не менше 10 хв.

Результати В: спостерігаються сині плями на зелено-жовтому фоні (каротиноїди та їх похідні, хлорофіли).

Для визначення каротиноїдів використовували реакцію окиснення полієнових вуглеводнів концентрованою сульфатною кислотою, у результаті якої з'являлось зеленкувате забарвлення, що швидко зникало, перетворюючись на сірувато-буре.

Кількісне визначення природних пігментів. Найчастіше для визначення природних пігментів спектрофотометричним способом застосовують різні розрахункові формули, виведені для визначення вмісту кожного пігменту на підставі використання питомих. Для цих методик не передбачено використання стандартів [265]. Характеристичні смуги поглинання в абсорбційному спектрі ацетонового розчину олійного екстракту дають змогу для стандартизації отриманого ОЕС визначати суму пігментів за формулами Lichtenthaler. Концентрацію хлорофілів *a* (C_a , мг/л) і *b* (C_b , мг/л) розраховують за формулами:

$$C_a = 12,21A_{668} - 2,81A_{642} \quad (2.22)$$

$$C_b = 20,13A_{642} - 2,81A_{668} \quad (2.23)$$

де A_{668} – оптична густина розчину за довжини хвилі 668 нм;

A_{642} – оптична густина розчину за довжини хвилі 642 нм.

Загальну кількість пігментів (C_{x+c} , мг/л) визначають з урахуванням отриманої кількості хлорофілів за формулою:

$$C_{x+c} = \frac{1000A_{470} - 3,27C_a - 104C_b}{229}, \quad (2.24)$$

де A_{470} – оптична густина розчину за довжини хвилі 470 нм.

Випробовуваний розчин. 4,000 г олійного екстракту поміщають у мірну колбу місткістю 10,0 мл, розчиняють в ацетоні і доводять об'єм розчину тим же розчинником до мітки.

Компенсаційний розчин. Ацетон.

Вимірюють оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі за довжин хвиль 470 нм, 642 нм і 668 нм.

Нормування: Вміст суми природних пігментів у ОЕС повинен бути не менше 0,45 мг/л [227].

Кількісне визначення вмісту хлорофілу у олійному екстракті сапропелю спектрофотометричним методом здійснювали за поданою нижче методикою.

Випробовуваний розчин. 4,000 г олійного екстракту вміщують у мірну колбу місткістю 10,0 мл, розчиняють в гексані і доводять об'єм розчину тим же розчинником до мітки.

Компенсаційний розчин. Гексан.

Вимірюють оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 671 нм.

Вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл *a*, у мг/100 г олійного екстракту, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 10^6}{m \cdot 944,5}, \quad (2.25)$$

де: *A* – оптична густина розчину в максимумі поглинання 671 ± 3 нм;

m – наважка олійного екстракту, г;

944,5 – питомий показник поглинання хлорофілу *a* при 671 ± 3 нм.

Нормування: Вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл *a* у ОЕС повинен бути не менше 0,25 мг/100 г.

Ідентифікація та кількісне визначення біологічно активних речовин у кремі з водним та олійним екстрактами сапропелю. У досліджуваному кремі визначали наявність ОЕС шляхом ідентифікації речовин каротиноїдної будови і хлорофілів та ВЕС за кількісним визначенням сумарної масової частки ГК.

Для ідентифікації речовин каротиноїдної будови використовували метод ТШХ порівняно зі стандартним розчином β-каротину. Випробування проводили із застосуванням ацетонового витягу з крему на ТШХ-пластинках з шаром силікагелю та флуоресцентним індикатором F₂₅₄ (фірма «Merk» Merck Silica gel F254), рухома фаза петролейний ефір-діетиловий ефір (10 : 3,5). Детектування робили після

висушування хроматограм в УФ-випромінюванні і обробки хроматограм 10% розчином фосфорномолібденової кислоти та висушування з нагріванням при денному світлі.

Ідентифікація олійного екстракту сапропелю у кремні. Тонкошарова хроматографія (ДФУ 2.0, 2.2.27). *Випробуваний розчин:* до 1,0 г крему додають 10 мл ацетону та перемішують з магнітним змішувачем у конічній колбі місткістю 100 мл протягом 30 хв. Розчин фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка».

Розчин порівняння: 5 мг ФСЗ β -каротину розчиняють у 10 мл гексану.

Пластика: ТШХ-пластика з шаром силікагелю *P* та флуоресцентним індикатором F_{254} або ідентична.

Рухома фаза: петролейний ефір *P* – діетиловий ефір *P* (10 : 3,5).

Об'єм проб: по 5 мкл випробуваного розчину і розчину порівняння смугами, ретельно сушать місця нанесення смуг.

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

Висушування: на повітрі протягом 20 хв.

Виявлення А: переглядають в УФ-випромінюванні за довжини хвилі 254 нм.

Результати А: на хроматограмах проявляється зона поглинання жовтої флуоресценції у верхній частині.

Виявлення В: обприскують 10% розчином фосфорномолібденової кислоти, нагрівають у сушильній шафі при температурі 60 °С не менше 10 хв.

Результати В: спостерігаються сині плями на зелено-жовтому фоні (каротиноїди та їх похідні, хлорофіли).

Для ідентифікації хлорофілів ОЕС використовували метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці.

Абсорбційний спектр поглинання гексанового вилучення з крему в ділянці від 500 нм до 750 нм повинен мати максимум поглинання за довжини хвилі 670 ± 2 нм, який збігається з максимумом поглинання гексанового розчину ОЕС [227].

Кількісне визначення водного екстракту сапропелю у кремні. Кількісне визначення сумарної масової частки гумінових кислот у кремні. Сумарну масову

частку ГК визначали за методикою, описаною в літературі, після окислення ГК за методом І.В. Тюріна в модифікації Б.А. Нікітіна і титрування сіллю Мора [263].

Сумарну масову частку ГК (X), у міліграмах, у 1 г крему, розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times K \times 41,36}{m}, \quad (2.26)$$

де: V_1 – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування контрольного дослід, мл;

V_0 – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування аналітичної проби, мл;

K – поправковий коефіцієнт розчину солі Мора;

m – маса наважки випробуваного зразка, г.

Кількість суми ГК у 1 г крему має бути не менше 8,0 мг.

Примітка: приготування 0,1 М лужного розчину натрію дифосфату ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$), 0,4 М розчину хромової суміші, 0,2М розчину солі Мора ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \times \text{FeSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$) та 0,2% розчину N-фенілантранілової кислоти. [263].

Ідентифікація водного екстракту сапропелю [263]. ГК ідентифікують після вилучення з гелю лужним гідролізом за методикою кількісного визначення. Після подальшого осадження концентрованим розчином сульфатної кислоти, ГК мають характерне темно-коричнє забарвлення.

Кількісне визначення водного екстракту сапропелю у гелі. Кількісне визначення сумарної масової частки гумінових кислот у гелі. У досліджуваному гелі відповідно до пропису визначали наявність ВЕС за сумарною масовою часткою ГК за методом І. В. Тюріна в модифікації Б. А. Нікітіна і титрування сіллю Мора після окислення ГК [264].

Сумарну масову частку ГК (X), у міліграмах, у 1 г гелю, розраховують за формулою:

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times K \times 82,72}{m}, \quad (2.27)$$

де: V_1 – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування контрольного дослід, мл;

V_0 – об'єм розчину солі Мора, витрачений на титрування аналітичної проби, мл;

K – поправковий коефіцієнт розчину солі Мора;

m – маса наважки випробуваного зразку, г.

Кількість суми ГК у 1 г гелю має бути не менше 12,5 мг.

Примітка: приготування 0,1 М лужного розчину натрію дифосфату ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$), 0,4 М розчину хромової суміші, 0,2М розчину солі Мора ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \times \text{FeSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$) та 0,2% розчину *N*-фенілантранілової кислоти [263].

Для вивчення валідаційних характеристик використовували підхід до валідації біологічно активних речовин у рослинних препаратах, описаний в літературі [2327, 265].

2.3.6. Біологічні методи досліджень

Антимікробну активність сапропелю, дослідних зразків мила з сапропелем та ВЕС вивчали на базі лабораторії біохімії мікроорганізмів і поживних середовищ ДЗ «Інститут мікробіології і імунології ім. І. І. Мечникова НАМН» *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів») [232]

Як тест-культури використовували чисті культури з Американської колекції культур (ATCC): грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грамнегативні культури *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Антифунгальну дію з'ясовували щодо дріжджоподібного грибу роду *Candida* - *Candida albicans* ATCC 885-653 [267, 268].

Мікробну суспензію мікроорганізмів з використанням приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі – 540 нм) готували згідно з інструкцією та інформаційним листом про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 “Стандартизація приготування мікробних суспензій”, м. Київ. Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона (HIMedia Laboratories Pvt. Ltd., India, для *Candida albicans* – агар Сабура (HIMedia Laboratories Pvt. Ltd., India).

Обліковували результати шляхом вимірювання зони пригнічення росту мікроорганізмів, у тому числі діаметра лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на цілковиту відсутність видимого росту [232].

Для порівняльного вивчення **ефективності консервантів експериментальних зразків сапропасти і МЛФ** в умовах *in vitro* як тест-штамів використовували еталонні штами із американської типової колекції культур мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231. Окремо досліджували ефективність консервантів щодо сульфїтвідновлювальних клостридій *Clostridium perfringens* ATCC 13124 (для сапропасти). Ефективність консервантів вивчали згідно зі стандартною методикою ДФУ 2.0 за логарифмом зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів за визначений період після інокуляції зразків [232].

Випробування на мікробіологічну чистоту здійснювали на кафедрі біотехнології Національного фармацевтичного університету, м. Харків відповідно до ДФУ 2.0, 2.6.12, 2.6.13 [232].

Мікробіологічні показники сапропелю, сапропасти та ВЕС досліджували відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 17516 і п. 3.2.5 і 3.2.6 ТУ У20.1-2870305538-004:2016 [223, 269].

Критерії прийнятності мікробіологічної чистоти готових ЛЗ для зовнішнього застосування (ДФУ 2.0). Загальна кількість аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – 10^2 КУО/мл. Загальна кількість дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС) - 10^1 КУО/мл. Відсутність *Staphylococcus aureus* в 1 мл. Відсутність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 мл.

Згідно з вимогами ДФУ 2.0 у ЛЗ для на шкірного застосування (категорія 2^N) допускається не більше 10^2 КУО/мл аеробних мікроорганізмів (ТАМС), 10^1 КУО/мл дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС), відсутність *S. aureus*, *P. aeruginosa* в 1 мл. У деяких випадках за наявності рослинних БАР не допускається розмноження ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*). [232].

Критерії прийнятності мікробіологічної чистоти сапропелю, сапропасти та ВЕС згідно із ДСТУ EN ISO 17516 і п. 3.2.5 і 3.2.6 ТУ У20.1-2870305538-004:2016 (додаток) такі: загальна кількість аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – 10^3 КУО/мл;

загальна кількість дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС) - 10^1 КУО/мл: відсутність *S. aureus*, *P.aeruginosa*, ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*) в 1 мл. ДСТУ EN ISO 17516 і п. 3.2.5 і 3.2.6 ТУ У20.1-2870305538-004:2016 [223, 269]

Експерименти, в яких використовували тварин, проводили відповідно до Міжнародних вимог про гуманне ставлення до тварин з дотриманням вимог Директиви 86/609 / ЄЕС щодо питання захисту тварин [270]. Експерименти відбувалися згідно з етичними принципами, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики [271], міжнародними угодами, національним законодавством у цій галузі [272-274].

Дослідження протизапальної активності екстрактів сапропелю на моделі термічного запалення лапи у мишей. Експериментальні дослідження фармакологічних властивостей і оцінювання можливої токсичної дії екстрактів сапропелю виконані з використанням трьох видів тварин: нелінійних статевозрілих білих щурів обох статей масою 180-230 г та нелінійних статевозрілих білих мишей обох статей масою 18-20 г та мурчаків масою 360-480 г. Враховуючи, що початковим етапом ранового процесу є альтеративне й ексудативне запалення, вивчали вплив ОЕС та СЕС на перебіг ексудативної запальної реакції. Протизапальну активність об'єктів вивчали на моделі термічного запалення лапи у мишей [275].

Для відтворення патології у мишей спричиняли опік правої задньої лапки шляхом занурення в гарячу воду з температурою 66,5 °С на 4 с. Після цього на обпечену лапку дослідної групи наносили досліджувані об'єкти. Тварин групи контрольної патології не лікували. Через 24 год мишей виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом. Лапки зважували на електронних терезах марки «Adventurer Ohaus» і розраховували різницю в масі між набряклою та інтактною лапками. Протизапальну активність препаратів у відсотках розраховували за формулою:

$$A = 100\% - \frac{P_{\text{досл.}} \times 100}{P_{\text{кон.}}}, \quad (2.28)$$

A – протизапальна активність;

$P_{\text{кон.}}$ – середня різниця у масі набряклої та інтактної лапки у контролі;

$P_{\text{досл.}}$ – середня різниця у масі набряклої та інтактної лапки дослідних тварин.

Вивчення протизапальної та репаративної активності екстрактів сапропелю на моделі експериментальної еритеми у мурчаків. Експериментальний дерматит відтворювали на мурчаках масою 360-480 г. Депільовані ділянки шкіри тварин опромінювали УФ-світлом. Про важкість розвитку дерматиту робили висновок за загальним станом й поведінкою тварин [270].

Досліджувані екстракти сапропелю та аерозоль «Пантенол» застосовували місцево, наносячи на шкіру 2 рази на добу в дозі 0,5 см на 1 тварину. Лікування починали відразу після опромінення до повного загоєння ран. Контрольних тварин не лікували.

Оцінювали регенеративні властивості за зміною площі рани й швидкістю її загоєння.

Дослідження протизапальної та ранозагоювальної активності гелю з водним екстрактом сапропелю. Дослідження протизапальної та репаративної активності гелю з екстрактом сапропелю здійснювали за участі старшого лаборанта кафедри фармакології на базі віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького І.О. Нектегаєва.

Протизапальну та репаративну активність «Сапрогелю» досліджували на білих лабораторних щурах-самцях масою 200-250 г, $n=170$. Тварин утримували у віварії ЛНМУ імені Данила Галицького за стандартних умов температурного режиму (21°C), освітлення (12/12 год), вологості та стандартного раціону харчування, згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)» [276].

Перед початком хронічного експерименту щурів витримували на карантині, по завершенні якого лабораторних тварин оглядали і зважували. Всі больові процедури та операції проводились під загальним знеболюванням тіопенталом натрію (Thiopental sodium, Biochemie GmbH/Austria) у дозуванні 60 мг/кг маси тварини.

Тварин тримали в індивідуальних клітках у стандартних умовах віварію протягом всього експерименту.

Модель повношарових вирізаних площинних ран. Тварини були поділені на 5 груп. У щурів 2-5 груп були змодельовані повношарові вирізані площинні рани [277]. Для цього на попередньо депільованій ділянці шкіри у наркотизованих щурів вирізали за допомогою хірургічних скальпеля та пінцету шкіру розміром $1 \times 1 \text{ см}^2$. Кровотечу зупиняли за допомогою стерильних марлевих тампонів та 3% розчину перексиду водню. Лікування починали одразу після відтворення ран і до цілковитого загоєння. Нанесення на уражену ділянку відповідного препарату здійснювали за допомогою стерильного металевого шпателя, який перед кожним використанням фламбували. З 2-5 груп щурів на 3, 7, 14 добу ранового процесу відбирали по 10 тварин для дослідження про-/антиоксидантної рівноваги в сироватці крові. У цих групах залишалось по 10 тварин. Їх виводили з експерименту в день повного рубцювання ранового ложа. Кожні 24 год оцінювали загальний стан тварин, стан ураженої поверхні і визначали розмір рани.

Клініко-візуальні методи. Проводили візуальне спостереження за станом тварин (масою тіла, активністю, поведінкою, апетитом) та за станом рани (часом появи грануляцій у вогнищі, закриттям дна рани грануляціями; ходом епітелізації; станом тканин навколо рани).

Планіметричні показники. Для визначення площі поверхні рани фотографували цифровою фотокамерою Canon Power Shot (Японія), зображення переносили на комп'ютер, де їх обробляли у вільному програмному забезпеченні GIMP2 та вимірювали площу ранового пошкодження за допомогою програми ImageJ (NIH, USA) [278].

Розраховували наступні планіметричні показники [279, 280]:

1. Площу загоєння ($S, \text{мм}^2$) за формулою : $S_{\text{заг.}} = S_{\text{вихід.}} - S_{\text{досл.}}$
2. Швидкість загоєння: ($S, \text{мм}^2$) за формулою: $V_{\text{заг.}} = S_{\text{заг.}}/n$
3. Ранозагоювальний ефект зразків оцінювали за динамікою зміни площі (S) і відсотка зменшення площі (ВЗП) ран на 3, 7 та 14 добу лікування. ВЗП розраховували за загальноприйнятою методикою:

$$B3П = ((S_0 - S)/S_0) \times 100, \quad (2.29)$$

де: B3П – відсоток зменшення площі рани;

S_0 – середня площа рани до початку лікування;

S – середня площа рани на момент вимірювання.

Дослідження біохімічних параметрів сироватки крові тварин на різних стадіях ранового процесу. Біохімічні показники крові експериментальних тварин досліджували в лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин Національної Академії Аграрних Наук.

Отримання сироватки крові. Сироватку крові ссавців отримували з цільної крові. Кров залишали при 37° С на 4 год для вилучення фібриногену та супутніх білків. Чистою сухою скляною паличкою згусток крові обережно відділяли від стінок пробірки для пришвидшення отримання сироватки і центрифугували протягом 40 хв при 2000 с⁻¹. Отриману сироватку швидко відокремлювали від формених елементів крові, переносили епандорфи та заморожували при -20 °С до подальшого використання [281]. У сироватці крові щурів на 3, 7, 14 добу ранового процесу визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом [282], шифових основ (ШО) – флуориметричним методом [283], вміст ТБК-активних сполук визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [284]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за S. H. Chevari [285], активність каталази (КАТ) – за М. А. Koroliyk [286], глутатіорпероксидази – [287]. Вміст продуктів окисної модифікації білків та олігопептидів визначали за рівнем карбонільних похідних, які виявляються в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином [289], рівень загальних, білок-зв'язаних та небілкових сульфгідрильних (SH)-груп вимірювали за методом Elmana [290].

Дослідження протизапальної та ранозагоювальної активності гелю та крему з екстрактами сапропелю. Протизапальну активність препаратів з екстрактами сапропелю досліджували на моделі гострого фотодинамічного запалення шкіри у щурів (УФ-еритеми) на базі проблемної лабораторії морфофункціональних досліджень Національного фармацевтичного університету, м. Харків.

Дослідження протизапальної активності МЛФ на моделі УФ еритеми проводили на клінічно здорових білих безпородних щурах віком 3-4 місяців (самки), вагою 180–220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію на загальноприйнятому харчовому раціоні [276].

Гостру фотодинамічну травму шкіри у щурів спричиняли за допомогою опромінювача «Промінь «ЗЕМІ» з ртутно-кварцевою лампою типу ДРТ 125-1 (діапазон ультрафіолетового випромінювання 230 – 400 нм).

За день до експерименту тваринам видаляли шерсть на лівому боці. Перед опроміненням тварин наркотизували барбамілом (0,8 мл 1% водного розчину барбамілу на 100 г маси тварини, депільовану ділянку шкіри закривали широким пластирем з отвором 1 см². Опромінювач розташовували на відстані 10 см від тварини, час експозиції становив 60 с.

МЛФ з екстрактами сапропелю наносили на поверхню шкіри в умовно-терапевтичній дозі 25 мг/см² зразу після опромінення, а потім щоденно, з 1 по 7 добу експерименту.

Протизапальну активність досліджуваних препаратів оцінювали протягом 7 діб за товщиною шкірної складки, яку вимірювали з допомогою штангенциркуля в мм, і стану шкірного покриву.

Ступінь запальних ознак на шкірі дослідних тварин оцінювали в балах: 0 – відсутність еритеми; 1 – слаба еритема (рожевий тон), 2 – помірно-виражена еритема (рожево-червоний тон), дрібнолусочкове лущення шкіри; 3 – виражена еритема (червоний тон), крупнолусочкове лущення шкіри, точкові крововиливи; 4 – різко виражена еритема (яскраво червоний тон), вогнищевий некроз [290].

Протизапальну активність лікарських препаратів (ПЗА, %) розраховували за формулою 2.30:

$$\text{ПЗА, \%} = 100\% - \frac{I_{30}}{I_{\text{КП}}}, \quad (2.30)$$

де: I_{30} – інтенсивність запальної реакції на шкірі тварин дослідної групи, бали;

$I_{\text{КП}}$ – інтенсивність запальної реакції на шкірі тварин групи контрольної патології, бали.

Дослідження токсичності сапропелю. Дослідження функціонального стану імунної та центральної нервової систем (ЦНС) при використанні грязевого розчину сапропелю проводили у віварії Державної установи «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса (ДУ «УНДІ МР та К МОЗ України»).

Дослідження функціонального стану імунної системи та ЦНС. Дослідження проводили на 20 білих щурах-самицях аутбредного розведення лінії Вістар з масою тіла від 180 г до 210 г віком 6-8 місяців. Щури перебували в індивідуальних пеналах (спеціальних установках), які обмежували їх рухливість. по 5 тварин у кожній. Через 10-15 хв після розміщення щура в клітки-пеналі, коли він заспокоїться, його хвіст на 2/3 довжини занурюють на 2 год у грязевий розчин сапропелю.

Грязевий розчин сапропелю отримували змішуванням сапропелю з водою очищеною у співвідношенні 1 до 3. (100 г сапропелю на 300 мл очищеної води).

Температуру грязевого розчину підтримували на постійному рівні, що відповідала температурі тіла тварини (39-40°C). Після закінчення сеансу впливу хвіст ополіскували теплою водою і здійснювали візуальну оцінку стану ЦНС та шляхом відбору проб оцінювали функціональний стан імунної системи експериментальних тварин. На 12 добу експерименту тварин виводили з експерименту під легким ефірним наркозом методом декапітації та відбирали біологічний матеріал (цільна кров). Оцінювали стан імунної системи за показниками крові експериментальних тварин, порівнюючи з відповідними показниками інтактних тварин.

Методика «відкрите поле». Стан активності ЦНС досліджували за загальноприйнятою методикою «відкрите поле» та враховували сумарні показники – рухову активність (РА) (сума кількості виходів у центр, кількості та тривалості зупинок тварин); орієнтувально-дослідницьку поведінку (ОДП) (суму кількості перетнутих квадратів, вертикальних стійок, зазирань у нірки) та емоційну активність (ЕА) – суму кількості та тривалості грумінгів (чисток), урінацій, дефекацій (болюсів) [291 – 294].

Гематологічні дослідження. Периферійну кров одержували шляхом відбору крові після декапітації тварин після курсового (6 процедур через добу) нашкірного застосування грязьового розчину сапропелю під легким ефірним наркозом в стерильні пробірки з гепарином або з K_2EDTA (для гематологічних досліджень) .

У периферійній крові визначали кількість Т-лімфоцитів методом розеткоутворення, концентрацію циркулювальних імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові за загальноприйнятим методом преципітації в поліетиленгліколі (ПЕГ-6000) та концентрацію гетерофільних (природних) антилімфоцитів (ГА) за допомогою реакції Пауля-Буннеля, яка базується на здатності антилімфоцитів (аглютинінів), що містяться в сироватці крові, склеювати (аглютинувати) у фізіологічному розчині еритроцити барана [295].

Вивчення гострої токсичності екстрактів сапропелю при нашкірному нанесенні щурам. Гостру токсичність ВЕС, ОЕС та СЕС вивчали шляхом нашкірного нанесення щурам на базі проблемної лабораторії морфофункціональних досліджень НФаУ, м. Харків. Оцінювали токсичність за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова [296]. Враховуючи те, що ВЕС, ОЕС та СЕС є засобами для зовнішнього застосування, було вивчено їх можливу токсичну дію при одноразовому нашкірному нанесенні.

Гостру токсичність вивчали на білих безпородних щурах (по 6 тварин кожної статі), яким одноразово на вистрижені ділянки шкіри було нанесено ВЕС, ОЕС та СЕС у максимальній дозі четвертого класу токсичності з урахуванням шляху введення (2810 мг/кг) [296].

Дослідження показників токсичності водного екстракту сапропелю здійснювали у лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН України, м. Львів.

Експерименти проводили на клінічно здорових самцях щурів (лінія Wistar), віком 6-8 місяців, вагою 200 – 230 г, яких утримували в стандартних умовах віварію на загальноприйнятому харчовому раціоні.

Цільну кров одержували шляхом декапітації тварин під легким хлороформним наркозом в стерильні пробірки з гепарином або з K_2EDTA (для гематологічних

досліджень). Для отримання плазми кров відразу центрифугували при 3 тис. об. /хв протягом 10 – 15 хв.

У цільній крові визначали гематологічні показники: вміст гемоглобіну (г/л), гематокрит (%), кількість еритроцитів ($10^{12}/л$), лейкоцитів ($10^9/л$) і тромбоцитів ($10^9/л$); вміст (у %) лімфоцитів, MID (еозинофіли, моноцити), ретикулоцитів, гранулоцитів та активність супероксиддисмутази (СОД; МО/мг гемоглобіну), глутатіонпероксидази (ГПО; мкмоль/хв.×мг гемоглобіну) та каталази (КАТ; мкмоль/хв мг гемоглобіну).

У плазмі крові визначали вміст гідропероксидів ліпідів (оДЕ480/мл), дієнових кон'югатів (нмоль/мл) та ТБК-активних продуктів (нмоль/мл); вміст фракцій розчинних протеїнів (%).

У сироватці крові визначали вміст загального протеїну (г/л); активність гамма-глутамілтранспептидази (ГГТП), лужної фосфатази (ЛФ) та креатинкінази (Од/л); активність ензимів трансамінування: аспартатамінотрансферази (АСТ) і аланінамінотрансферази (АЛТ, Од/л); вміст креатиніну (ммоль/л).

Дослідження показників білкового та енергетичного обмінів за застосування екстракту сапропелю. Вміст фракцій розчинних протеїнів визначали вертикальним електрофорезом у пластинах 7,5% поліакриламідного гелю (ПААГ) [299].

Вивчення ензиматичної ланки антиоксидантного захисту та інтенсивності окисних процесів за застосування водного екстракту сапропелю. Визначення вмісту дієнових кон'югатів на основі властивостей молекул жирних кислот з двома подвійними спряженими зв'язками інтенсивно поглинати світло при довжині хвилі $\lambda=233$ нм. Оптичну густину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 233 нм проти н-гептану [297].

Визначення вмісту гідроперексидів ліпідів за реакцією осадження білків розчином трихлороцтової кислоти (ТХОК) та екстракцією ліпідів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тіоціанатом амонію. Вимірюють оптичну густину протягом 10 хв після додавання тіоціанату амонію на спектрофотометрі при довжині хвилі 480 нм [287].

Визначення вмісту ТБК-активних продуктів (малонового діальдегіду — МДА) за реакцією між (МДА) і тіобарбітуровою кислотою (ТБК), яка при високій температурі та кислому середовищі протікає з утворенням триметинового комплексу; у центрифугаті вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 535 і 580 нм, щоб унеможливити поглинання зафарбованих комплексів ТБК-речовинами неліпідної природи [284].

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали реакцією з нітросинім тетразолієм, глутатіонпероксидази (ГПО) – з реактивом Елмана та каталази (КАТ) – реакцією з молібдатом амонію.

Дослідження гематологічних показників крові щурів за застосування екстракту сапропелю. *Вміст гемоглобіну визначали ацетонціангідриновим методом, гематокрит, кількість еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів; вміст лімфоцитів, MID (еозинофіли, моноцити), ретикулоцитів, гранулоцитів – на гематологічному аналізаторі "Mythic" (Швейцарія).*

Вивчення токсикологічних властивостей сапропасти, гелю та крему з екстрактами сапропелю. Токсичність сапропасти та МЛФ досліджували у лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН України, м. Львів.

Гостру токсичність сапропасти, гелю з ВЕС та крему з екстрактами сапропелю визначали шляхом нанесення одноразової аплікації на шкіру досліджуваних тварин [275]. За стандартної процедури після одноразової нашкірної аплікації тест-зразків сапропасти реєструють вплив препарату на виживання та розраховують середньо-летальну дозу (LD_{50}) – основну токсикологічну характеристику лікарського засобу. Оцінка токсичності проводилася згідно з класифікацією К. К. Сидорова [296].

Тваринам груп негативного контролю відповідним шляхом наносили гелеву основу (карбопол, трометамол, калію сорбат, воду очищену) або основу крему (емульгатор № 1, цетилстеариловий спирт, нізин, еуксил К 100, воду очищену), відповідно в еквівалентному об'ємі. Перед нанесенням зразків тварини голодували протягом ночі. Доступ тварин до води був вільний, до їжі їх допускали лише через чотири години після нанесення об'єктів.

При визначенні гострої токсичності розробленого гелю та крему з екстрактами сапропелю як референтний препарат використовували «Ніжnodийгель» для та «Фітосепт мазь для доїння».

За стандартної процедури протягом 14 днів після нашкірних аплікацій тест зразків щоденно реєстрували вплив препарату на виживання, на зовнішній вигляд і прояви порушень фізіологічного стану тварин. Маса тварин визначають на 3, 7 та 14 добу від початку експерименту. Через 14 діб після нанесення тест-зразків тварин знеживлюють шляхом декапітації, проводять розтин та макроскопічне обстеження внутрішніх органів, розраховують їх масові коефіцієнти (МК).

Дослідження показників місцевоподразнювальної та сенсibilізувальної дії сапропасти, гелю та крему. Вивчення сенсibilізувальної та місцевоподразнювальної дії гелю, крему та сапропасти здійснювали на моделі нашкірних аплікацій порівняно з основами препаратів, референс-зразками та інтактним контролем в експерименті з визначення гострої токсичності досліджуваних препаратів [275, 297]. Тест-зразки досліджуваних та референс-зразків наносили нашкірно в дозі 0,5 г на тварину протягом 4 тижнів по 5 разів на тиждень один раз на добу на вистрижені ділянки шкіри (правий та лівий боки) розміром 2x2 см². Реакцію шкіри правого боку враховували щодня з метою виявлення подразнювальної дії препаратів. Місцевоподразнювальну дію на шкіру оцінювали після 10 та 20 аплікацій до нанесення завершальної аплікації візуально за ступенем виразності еритеми та за товщиною шкірної складки правого боку, яку вимірювали за допомогою штангенциркуля. Результати вимірювань товщини шкірної складки подавали за різницю вимірювання в ході експерименту та вихідних даних.

Сенсibilізацію визначали також після 10 та 20 аплікацій шляхом нанесення завершальної дози препарату на інтактний (лівий) бік тварини. Показники, які характеризують сенсibilізувальну дію досліджуваних об'єктів, а саме, товщину шкірної складки та ступінь ураження шкіри лівого боку, визначали через 24 год після нанесення розв'язувальної дози.

Клінічне випробування ефективності крему «Сапрокрем» з екстрактами сапропелю здійснили на базі Державного підприємства «Дослідне господарство

«Оброшино» Інституту сільського господарства Карпатського регіону Національної академії аграрних наук України.

Для цього відібрали 30 корів, аналогів за живою масою і продуктивністю, у яких виявлені ураження дійок: тріщини і невеличкі ранки з появою характерних ознак запальної реакції – почервоніння, набряки і больова чутливість. З піддослідних корів формували три групи – контрольну – 10 голів, дослідну № 1 – 10 голів і дослідну № 2 – 10 голів. Коровам дослідних груп застосовували: № 1 – мазь «Фітосепт»; № 2 – «Сапрокрем» (досліджуваний препарат), а тваринам контрольної групи – загальні гігієнічні процедури.

Статистичний аналіз результатів дослідження проводили відповідно до методик ДФУ 2.0, том 1, п. 5.3, с. 840-854 [232].

Висновки до розділу 2

1. На основі алгоритмічного принципу запропоновано комплексне використання сапропелю та продуктів його переробки для розробки перспективних, стабільних при зберіганні, з вираженою специфічною активністю та відсутністю токсичної дії лікарських, ветеринарних та косметичних засобів.

2. Наведено характеристику діючих та допоміжних речовин, що були використані при розробці лікарських, косметичних та ветеринарних засобів.

3. Обрано методи дослідження, необхідні для розробки складу, технології та дослідження сапропелю, його екстрактів та МЛФ на їх основі, а також оцінювання їх якості відповідно до вимог ДФУ.

4. Визначено методи фармако-технологічних, фізико-хімічних та біологічних досліджень, необхідних для розробки оптимального складу і створення раціональної технології екстрактів та лікарських засобів на їх основі.

Результати досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Струс О. Є., Половко Н. П. Методологічні підходи до розробки та стандартизації лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів його переробки. *Клінічна фармація*. 2019. Т. 23, № 4 С. 52–62.
2. Струс О. Є. Дослідження карбонових кислот сапропелю методом хромато–мас–спектроскопії. *Збірник наукових праць НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24(5). С. 228–234.
3. Струс О. Є. Дослідження амінокислотного складу сапропелю методом капілярного електрофорезу. *Вісник фармації*. 2015. № 2 (82). С. 12–16.
4. Струс О. Є., Коноваленко І. С. Перспективи використання сапропелю Шацьких озер. *Теоретичні і практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали 1-ї наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 20–21 берез. 2014 р. Харків, 2014. С. 158.
5. Strus O. E., Konovalenko I. S., Polovko N .P. Research sapropel's property in medicine. *Plants in Pharmacy & Nutrition: the Intern. Young Scientists Symp.*, Wrocław, 30 maja 2014. Wrocław, 2014. P.117.
6. Konovalenko I. S., Procopets S. V., Strus O. E., Polovko N.P. Sapropel - The perspective raw material for medicines and cosmetics. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів*: матер. Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 23 квітня 2015 р. Харків, 2015. С. 199.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ САПРОПЕЛІВ РОДОВИЩ УКРАЇНИ

В основі загальної лікувально-профілактичної дії пелоїдів закладена їх здатність стимулювати захисно-приспосувальні реакції, адаптаційні процеси, що сприяє формуванню стійкості організму до впливу несприятливих факторів ендотаж екзогенного походження [295].

Місцева дія пелоїдів полягає у комплексі біохімічних змін в організмі, що відбуваються у шкірі та слизових оболонках під час механічної взаємодії з пелоїдом [295]. Біологічна дія лікувальних грязей обумовлена температурним, механічним чинником та хімічним складом. Температурний фактор є одним з основних складових частин комплексної дії пелоїдопроцедури і визначає інтенсивність проникнення хімічних компонентів пелоїдів через шкіру [3, 4, 295].

Тепловий, механічний (спричиняє тиск і тертя) вплив, електрорушійна сила, яка виникає внаслідок різниці потенціалу між пелоїдом і шкірою після нанесення, чинить пряму подразнювальну дію на термо- і баро-механо-осморецептори шкіри, приводить до функціональної зміни механізмів терморегуляції, що, в свою чергу, зумовлює зміну кровопостачання і «дефіциту» крові як в периферичному руслі, так і в судинній системі загалом. Змінюються просвіти судин циркуляції крові, маса і об'єм крові, кількість і сила серцевих скорочень, хвилинний об'єм; підвищується інтенсивність тканинного дихання, виникають зсуви окислювально-відновних процесів, клітинного метаболізму. Під впливом пелоїдів розширюються шкірні пори і протоки потових залоз, підвищується адсорбційна здатність шкіри, що забезпечує проникнення через шкірні покриви хімічних інгредієнтів пелоїдів. До основних хімічних компонентів пелоїдів, які визначають їх біологічну дію, слід віднести сірководень, низькомолекулярні жирні кислоти, феноли, бітумні речовини, мікроелементи, воски, аміак, жири, фосфоліпіди, вуглеводи та інші біологічно активні речовини. Особливе значення має наявність гумусових кислот – високомолекулярних сполук, які утворюються з продуктів розпаду різних рослинних організмів [295].

У реалізації біологічної та лікувальної дії пелоїдів на організм фізико-хімічні властивості і компонентний склад відіграють вирішальну роль, оскільки деякі компоненти пелоїдів (гази, мікроелементи, БАР) проникають крізь шкіру і впливають на протікання обмінних процесів, імунної реактивності організму, сприяють регуляції та відновленню порушених функцій [55].

Таким чином, вивчення хімічного складу та фізико-хімічних властивостей з метою визначення перспективи використання сапропелів родовищ України у лікувальних та оздоровчих цілях, профілактики захворювань і для розробки препаратів для застосування у медицині, ветеринарній медицині та фармації є актуальним і важливим.

3.1. Дослідження складу та фізико-хімічних властивостей сапропелів

У зв'язку з тим, що склад сапропелів суттєво впливає на біологічну дію і визначає лікувально-профілактичний ефект пелоїдопроцедури, необхідно ретельно аналізувати їх хімічний склад та фізико-хімічні властивості, а також оцінювати біологічну активність кожного нового відкритого родовища лікувальних грязей.

Основними вимогами згідно з наказом Державної комісії України по запасах корисних копалин № 298 від 29.12.2004 р. «Про затвердження Інструкції із застосування Класифікації запасів і ресурсів корисних копалин державного фонду надр до родовищ лікувальних грязей», що висуваються до якості сапропелів, є такі нормативні показники:

- масова частка вологи, яка визначає їх фізичні властивості, у тому числі пластичність та консистенцію, що дає змогу грязі утримуватися на тілі людини і мати високу теплоутримувальну здатність;
- засміченість мінеральними частинками чи рослинними залишками, яка погіршує пластичність грязей, а за наявності великих включень (кристалів, уламків раковин і ін.) спричиняє опіки та ушкодження шкіри;
- напруга зсуву, що характеризує пластично-в'язкі властивості грязей і, як наслідок, їх придатність для грязевих аплікацій.

– мікробіологічні показники, що вказують на придатність грязей до лікувального застосування й забезпечують їхню епідемічну безпеку [20].

На сьогодні установою, спеціально уповноваженою центральним органом виконавчої влади з питань охорони здоров'я для проведення доклінічних і клінічних досліджень пелоїдів та преформованих засобів, є Державна установа «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса. В ДУ «УНДІ МР та К МОЗ України» використовують принцип комплексного дослідження пелоїдів, який передбачає польові дослідження на родовищах, вивчення фізико-хімічних показників пелоїдів, мікробіологічного складу, механізму дії пелоїдів у дослідженнях на тваринах і клінічних випробувань на людях-добровольцях, результати якого оформляють у вигляді медичного (бальнеологічного) висновку.

При медико-біологічному оцінюванні якості сапропелів на стадії доклінічних досліджень (польові та лабораторні дослідження, визначення перспективності використання) згідно з наказом МОЗ України № 243 від 02.06.2003 р. «Про затвердження Порядку здійснення медико-біологічної оцінки якості та цінності природних лікувальних ресурсів, визначення методів їх використання» здійснюють короткий, скорочений та повний фізико-хімічні аналізи сапропелів та їх грязевих розчинів із визначенням таких показників: *запах, колір, рН, масова частка вологи, об'ємна вага, питома об'ємна теплоємність, значення окисно-відновного потенціалу (Eh), вміст сірководню, питома вага, липкість, теплоємність, зольність, ступінь розкладу, засміченість рослинними залишками діаметром понад $0,25 \times 10^{-3}$ м, % , засміченість мінеральними частинками діаметром понад $0,25 \times 10^{-3}$ м, %, органічний вуглець (у перерахунку на повітряно-сухий стан, %), макрокомпонентний склад грязевого розчину (катіони, аніони), гранулометричний склад грязі (грязевого розчину: кристалічна частина, гідрофільний колоїдний комплекс), механічний аналіз грязі (вміст силікатних частинок різного діаметра), вміст органічних речовин (бітумні речовини, гумінові, гіматомеланові кислоти та вуглеводи) та показники безпеки тощо [1].*

З метою прогнозної оцінки родовищ сапропелів, визначення їх кондиційності та отримання бальнеологічного висновку було досліджено деякі озера Шацької групи. У результаті досліджень сапропелів 5 озер Шацького району Волинської області визначено органолептичні та фізико-хімічні показники сапропелевих відкладень, макросклад поверхневих вод та розчину пелоїдів.

За дослідженнями О. М. Нікіпелова, А. В. Мокієнко, С. І. Ніколенко, С. Г. Гущі інтервал залягання пелоїдів має важливе значення, оскільки впливає на фармакологічні властивості пелоїдів. За дослідженням відкладів озера Волове Київської області, які було представлено відкладами сапропелю різних видових складів: органо-глинистим (0,0–1,5 м) та органо-вапняковистим (1,5–3,0 м), встановлено, що основні органолептичні та фізико-хімічні показники якості пелоїдів схожі (масова частки вологи, напруга зсуву, липкість, об'ємна вага, засміченість пелоїдів частинками діаметром більше $0,25 \cdot 10^{-3}$ м, більше $5,0 \cdot 10^{-3}$ м, зольність, теплоємність, вміст сірководню, значення окислювально-відновного потенціалу Eh, pH, вмісту органічних речовин у розрахунку на органічний вуглець; концентрації в розчині пелоїдів іонів кальцію, магнію, натрію, хлорид-іонів, гідро- і карбонатних іонів).

Було встановлено наявність бактерицидної дії пелоїдів озера Волове обох інтервалів щодо кишкової палички (штам O55K59). Проте хоча досліджувані пелоїди належать до одного типу, їх біологічна активність дещо різниться. Експериментальними фізіологічними дослідженнями встановлено, що пелоїди озера Волове нешкідливі для організму при зовнішньому застосуванні, але біологічною активністю характеризуються сапропелі органно-вапняковистого типу, що досліджені в інтервалі 1,5 – 3,0 м. Пелоїди верхнього шару не впливають на ЦНС та метаболічні процеси у печінці. Пелоїди нижнього шару теж не впливають на ЦНС, але зумовлюють значну стимуляцію метаболічних процесів у печінці. Тестування нирок показало, що пелоїди верхнього шару не мають впливу на функціональний стан нирок. Пелоїди нижнього шару стимулюють функцію сечоутворення у щурів — зростає швидкість фільтрації первинної сечі у ниркових клубочках ($p < 0,001$). При цьому зменшується відсоток парціальних процесів

сечоутворення зростає добовий діурез ($p < 0,001$) [300]. Враховуючи зазначене інтервал залягання досліджуваних відкладів пелоїдів становив 2,25 – 2,80 м.

Відклади озер Пісочне та Пулемецьке представлені водоростево-зоогенними мулами, однорідними за складом, темно-зеленого кольору, з землянистим запахом і текучопластичною консистенцією. Відклади озера Світязь представлено вапняковими мулами, однорідними за складом, сірого кольору, без запаху, з грудкуватою та маслянистою консистенцією; відклади озера Олешно представлено торф'янисто-водоростевими мулами, однорідними за складом, темно-коричневого кольору, зі слабким сірководневим запахом, рідкуватої консистенції. Відклади озера Прибич - це водоростеві мули, однорідні за складом, темно-зеленого кольору, з болотним запахом, пластичні та грудкуваті за консистенцією [299].

Основні фізико-хімічні показники відкладів наведено в табл. 3.1. Відклади озер характеризуються слабкокислою (від 6,5 од. рН, озер Олешно та Пісочне) до 6,6 од. рН (озеро. Пулемецьке), нейтральною (7,0 од. рН, озеро Прибич) та слабколужною (7,2 од. рН, озеро Світязь) реакцією середовища. Досліджені сапропелі характеризуються дуже низьким значенням Ен (від – 15 мВ (озеро Світязь) до – 80 мВ (озеро Прибич)), що вказує на перевагу відновлювальних процесів [299].

У відкладах сірководень є продуктом відновлювальних процесів, які відбуваються в умовах нестачі кисню. Сапропелеві відклади характеризуються незначним вмістом сірководню: від 0,004% (озеро Світязь) до 0,006% (озера Пулемецьке та Прибич). Усі проби сапропелів належать до безсульфідних.

Сапропелеві відклади усіх досліджуваних озер відзначаються високими значеннями масової частки вологи: від 73,6% (озеро Світязь) до 96,22% (озеро Пісочне). Згідно з вимогами [302] масова частка вологи сапропелевих пелоїдів, підготовлених до процедур, повинна становити від 60% до 90%. Донні відклади усіх озер, крім озера Світязь, повинні проходити підготовку до відпуску процедур. Величина теплоємності у всіх відкладах була від 3,31 Дж/кг·К до 4,06 Дж/кг·К (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Основні фізико-хімічні показники сапропелевих відкладів досліджених озер Шацького району Волинської області

Назва озер	Показники										
	Масова частка вологи, %	pH, од. pH	Eh, мВ	Вміст H ₂ S, %	Об'ємна вага	Напруга зсуву, Па	Липкість, Па	Засміченість частинками діаметром більше 0,25·10 ⁻³ м,%	Питома теплоємність, Дж/кг·К	Зольність, %	C _{орг.} , п/с стан, %
Пісочне	96,22	6,50	-60	0,005	1,03	161,46	527,64	0,235	4,06	38,89	26,52
Світязь	73,60	7,20	-15	0,004	1,14	412,84	610,96	0,189	3,31	83,48	4,88
Пулемецьке	92,94	6,60	-55	0,006	1,04	196,20	578,56	0,269	3,95	52,58	16,82
Олешно	92,21	6,50	-75	-	1,00	208,46	518,38	0,046	3,93	15,97	43,56
Прибич	96,15	7,00	-80	0,006	1,02	294,30	606,33	0,035	4,06	10,84	29,69
Норма для сапропелевих пелоїдів	60–90	-	-	-	-	50-750	-	не більше 2	-	-	-

Об'ємна вага пелоїдів залежить від мінерального складу, пористості та масової частки води. У досліджених відкладах значення об'ємної ваги коливаються від 1,00 (озеро Олешно) до 1,14 (озеро Світязь).

Важливими характеристиками пелоїдів з бальнеологічної точки зору є липкість та напруга зсуву. За значенням липкості донні відклади озер розташовані в такому порядку: 518,38 Па (Олешно) → 578,56 Па (Пулемецьке) → 606,33 Па (Прибич) → 610,96 Па (Світязь). Значення напруги зсуву відкладів різняться залежно від ступеня гідратованості частинок та структури і в досліджуваних відкладах становить від 161,46 Па (Пісочне) до 412,84 Па (Світязь).

Засміченість мінеральними частинками діаметром більше $0,25 \cdot 10^{-3}$ м у сапропелевих пелоїдах не повинна перевищувати 2%. Досліджені сапропелі містять незначну кількість домішок: від 0,035% (Прибич) до 0,269% (Пулемецьке), що відповідає допустимим значенням засміченості при використанні сапропелів з лікувальною метою.

У відкладах озера Світязь при масовій частці води 73,6% питома теплоємність становить 3,31 Дж/кг·К, а сапропелі в озерах Прибич та Пісочне при підвищених масових частках води 96,15% та 96,22% відповідно мають більшу питому теплоємність — 4,06 Дж/кг·К. (табл. 3.1).

Досліджені сапропелеві відклади характеризуються широким інтервалом значень зольності — від 10,84% (Прибич) до 83,48% (Світязь). За цим показником сапропелі озер Олешно та Прибич можна віднести до низькозольних сапропелів органічного типу, озеро Пісочне — до середньозольних органо-мінерального типу, озеро Пулемецьке — до середньозольних мінерально-органічного типу, а відклади озера Світязь — до високозольних мінералізованого типу.

Ефективність пелоїдів певною мірою залежить від вмісту органічних речовин, велика концентрація яких є особливістю сапропелевих пелоїдів. Досліджені сапропелеві відклади містять від 4,88% (Світязь) до 43,56% (Олешно) органічних речовин.

Визначено фізико-хімічні показники досліджуваних родовищ та встановлено, що донні відклади досліджених озер відповідають вимогам, які

висувають до сапропелевих пелоїдів, крім значень масової частки вологи в озерах Пулемецьке, Олешно, Прибич та Пісочне, що потребує підготовки до відпуску лікувальних процедур.

Лікувальні грязі, якість яких у природному стані не відповідає встановленим вимогам, можуть бути доведені перед використанням до відповідних нормативних показників. Підвищену засміченість грязей можна зменшити, обробивши їх на вібростатах або розчинивши кристали прісною водою; низький опір зсуву розріджених грязей слід збільшувати шляхом часткового їх зневоднення або самоущільнення під дією сили ваги при зберіганні в басейнах глибиною до 3 м.

Високий опір зсуву переущільнених грязей знижують за допомогою додаткового механічного перемішування грязей або шляхом помірного розведення їх прісною (або мінеральною) водою.

Значення мінералізації грязевого розчину регулюють розведенням його водою різної мінералізації; величину рН сильнокислих торфів і сапропелів доводять до необхідних низьких значень (менше 2,5) шляхом аерації, мікробіологічні показники доводять до норми шляхом самоочищення грязей у родовищі завдяки поліпшенню загальної санітарної обстановки чи в процесі їхнього зберігання в басейнах [300].

Озеро Прибич належить до групи рекреаційної зони Шацьких озер, яка з 1983 р. проголошена Шацьким національним природним парком Державного агентства лісових ресурсів України, загальною площею 48977 га. Група Шацьких озер (24 водойми) розташовані у північно-західній частині Волинської області. Вони становлять єдину водну систему і належать до однієї з найбільших озерних груп Європи. На цій території та поблизу немає підприємств і заводів, які можуть негативно позначатися на екологічному стані та навколишньому середовищі, сприяти накопиченню токсичних речовин у донних відкладах групи озер, в тому числі озера Прибич. Через віддаленість від промислових і транспортних магістралей Шацькі озера донедавна загалом не зазнавали серйозного антропогенного навантаження і у зв'язку з цим значно відрізнялися від інших

водойм України екосередовищним благополуччям [302]. Проте останніми десятиріччями інтенсивність і структура природокористування в районі змінилися. Зросли темпи сільськогосподарського використання прилеглих до озер територій у результаті розпаювання земель. До цього додалось активне меліоративне будівництво, яке безпосередньо може впливати на стан озерних екосистем. Найпоширенішим видом господарського використання водойм є рибне господарство (рибальство й рибництво) — 80% загальної кількості водойм. Для водопостачання призначені близько 46% водойм. Головним видом є господарсько-побутове (52%) і сільськогосподарське (20%) водоспоживання. У рекреаційних цілях використовують до 47% водойм, у меліоративних (водоприймачі меліоративних систем) — 23% [41]. На базі Шацьких озер нині широко розвивається інфраструктура відпочинку та забудова. На території парку розташовано Волинський обласний санаторій «Лісова пісня» та пансіонат «Шацькі озера», санітарно-гігієнічний стан яких відповідає вимогам нормативних документів. У цих оздоровчих закладах використано менше 0,5% усіх запасів сапропелів групи Шацьких озер. Сапропелі озера Прибич у медичній практиці не застосовують. У зв'язку з цим було організовано комплексні гідрогеологічні, фізико-хімічні, екологічні та експериментальні дослідження сапропелю озера Прибич на лабораторних тваринах з метою використання у медицині, косметології та ветеринарній медицині.

Сапропелі є природними корисними копалинами, тому для добування необхідно мати дозвіл компетентних організацій. Перед початком добування провадять геолого-розвідувальні роботи, затверджують визначені запаси донних відкладів, отримують дозвіл на розробку та напрямки використання родовища, складають проектно-кошторисну документацію, забезпечують її екологічну експертизу [14, 16].

Геологорозвідувальні роботи, спрямовані на пошук і розвідування родовищ лікувальних грязей, належить провадити в послідовності, передбаченій Положенням про стадії геологорозвідувальних робіт на тверді корисні копалини, затвердженим наказом Комітету України з питань геології та використання надр

№ 19 від 15.02.2000 р., зареєстрованим у Мін'юсті України 02.03.2000 р. за № 124/4345, з урахуванням особливостей, притаманних лікувальним грязям [303].

У нашій державі добування сапропелю наразі на початковій стадії. Станом на 2018 рік Державна служба геології і надр надала 38 спецдозволів на користування надрами на Волині. Йдеться про такі корисні копалини, як торф, крейда, глина, пісок, питні і технічні води, сапропель, самородні руди, бурштин, базальт та ін. [12]. Добування та переробку сапропелю на території України ведуть лише декілька підприємств: видобувають сапропель в озері Синове Старовижівського району через фірму ТзОВ «Волиньсапрофос» та в озері Прибич через ТзОВ «Зендер – Україна», яке має спецдозвіл на видобуток сапропелю у двох родовищах – Біле і Прибич Шацького району Волинської області [28]. На всіх наявних об'єктах видобувають донні відклади за двома технологічними схемами: добування сапропелю гідромеханізованим способом і за допомогою грейфера – екскаватора, встановленого на понтоні. Чимало озер на Волині належить до природоохоронної зони, тож працювати там не дозволяє законодавство [11].

Видобуток сапропелевих відкладень зумовлює зміни гідрологічних показників водоймищ, приозерних територій, флори та фауни агроландшафту. Проведення робіт не повинно порушувати екосистему озера, забруднювати водовідвідні канали, сприяти повторному заболочуванню водойми. З метою оцінки впливу видобутку сапропелю на екологічний стан озер та навколишніх територій слід провадити наукові дослідження на наявних розробках родовищ та після їх завершення.

За результатами наших досліджень встановлено, що сапропель родовища Прибич володіє необхідними фізико-хімічними показниками відповідає вимогам, які висувають до лікувальних грязей. Родовище Прибич є експлуатаційним, тому було використано для наших досліджень сапропель цього родовища.

Розроблена нами методологія комплексного дослідження та використання сапропелю родовища Прибич дасть змогу застосовувати її для розробки ЛЗ, ВЗ та КЗ на основі сапропелів інших родовищ України.

3.1.1. Дослідження загальних показників хімічного складу сапропелю

Нами було визначено кількісний вміст азоту, протеїну, жиру, клітковини, золи та вологи в сапропелі озера Прибич Волинської області за допомогою методів, наведених в розділі 2. Результати представлені у табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Результати досліджень загальних показників хімічного складу сапропелю родовища Прибич ($P=95\%$; $t=2,78$; $\bar{X}$; $n=5$)

Показник	Результати аналізу, %	
	Досліджуваний зразок	У перерахунку на абсолютну суху речовину
Вміст сирого протеїну, %	5,60±0,17	21,10±0,63
Вміст азоту, %	0,89±0,03	3,37±0,10
Вміст жиру, %	0,40±0,01	1,51±0,030
Вміст сирого клітковини, %	3,80±0,11	14,33±0,29
Вміст сирого золи, %	6,20±0,12	23,37±0,47
Вміст вологи, %	73,50±0,74	—
Вміст органічної речовини, %	—	76,63±0,76

Результати досліджень, наведені в табл. 3.3, свідчать про вміст у сапропелі значної кількості речовин органічного походження (76,63% в перерахунку на суху речовину), в тому числі протеїну, жиру, клітковини (21,10; 1,51; 14,33% в перерахунку на суху речовину відповідно) [304, 305].

3.1.2. Дослідження макро- та мікроелементного складу сапропелю

Дослідження мікроелементного складу сапропелю озера Прибич Шацького району Волинської області здійснювали на базі НТУ «ХПІ», м. Харків. Спектрометричним мікро- та макроелементним аналізом сапропелю (спектрометр «ElvaX» компанії «Елватех») встановлено наявність Si, S, Ca, Cr, Fe, Co, Zn (табл. 3.4).

**Результати досліджень макро- та мікроелементного складу сапропелю
родовища Прибич (P=95%; t=2,78; $\bar{X}$; n=5)**

Ат. номер	Елемент	Інтенсивність	Концентрація
1	2	3	4
14	Si	150	0,011%
16	S	129	0,014%
20	Ca	5808	91,751%
24	Cr	703	0,659%
26	Fe	9697	7,384%
27	Co	196	0,113%
30	Zn	241	0,067%

Сапропель містить макроелементи сірку (S) – 0,014% та кальцій (Ca) – 91,751%, мікроелементи - Si, Cr, Fe, Co, Zn у кількостях 0,011%, 0,659, 7,384, 0,113 і 0,067% відповідно [308]. Найвищий вміст кальцію та заліза. Біологічна роль макро- та мікроелементів добре відома і не викликає сумнівів. Сірка бере участь в енергетичному обміні, окисно-відновних процесах, детоксикації, утворенні колагену, згортанні крові; хром регулює процеси обміну вуглеводів та синтезу білків, Si бере участь у реакції взаємодії колагену й еластину тощо. Залізо міститься у складі ферментів, бере участь у синтезі гемоглобіну й міоглобіну, каталази й пероксидази; у прямих і опосередкованих окисних процесах, забезпеченні нормального функціонування імунної системи [307, 308].

Головною функцією макроелементів є побудова тканин, підтримка стабільного осмотичного тиску, іонного та кислотно-основного складу. Мікроелементи, які входять до складу ферментів, вітамінів, гормонів і БАР приймають участь в обміні речовин, процесах розмноження, тканинного дихання, знешкодження токсичних речовин. Мікроелементи активно впливають на окисно-відновні процеси та проникність судин і тканин .[309 – 311].

3.1.3. Дослідження амінокислотного складу сапропелю

Результати визначення кількісного вмісту амінокислот сапропелю родовища Прибич та електрофореграма показані на рис. 3.2.

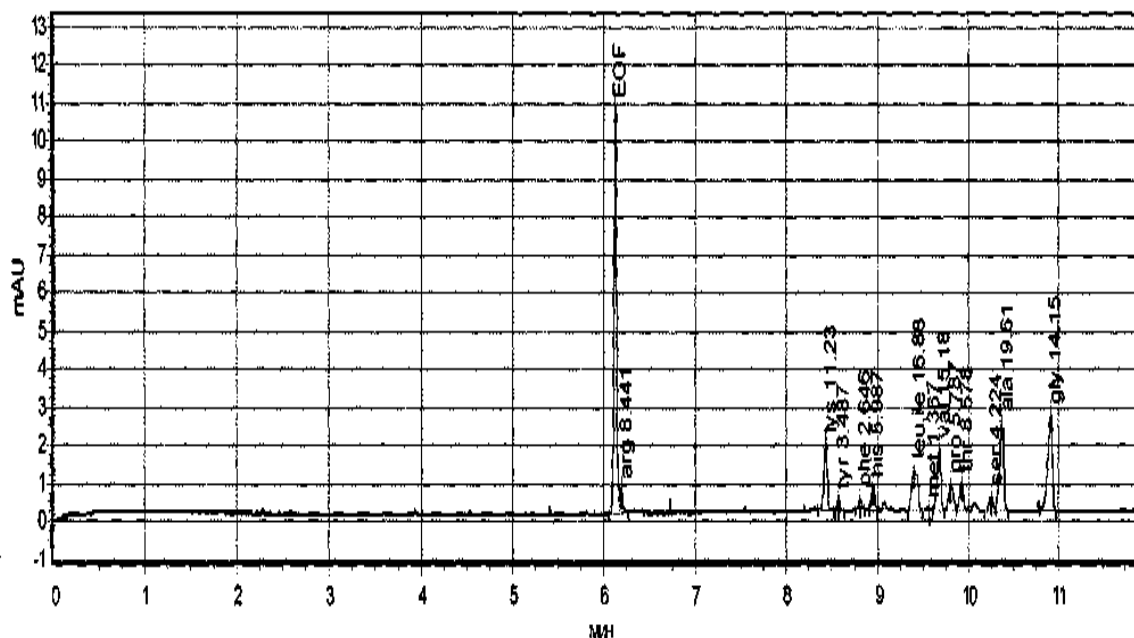


Рис. 3.2. Електрофореграма кислотного гідролізату дослідного зразка сапропелю №1 (амінокислоти в порядку виходу піків: аргінін, лізин, тирозин, фенілаланін, гістидин, лейцин+ізолейцин, метіонін, валін, пролін, треонін, серин, аланін, гліцин).

Результати дослідження, наведені в табл. 3.6, свідчать, що сапропель містить незамінні амінокислоти (валін, ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін, треонін), низку напівзамінних амінокислот (аргінін, тирозин, гістидин) та інші амінокислоти (аланін, гліцин, пролін і серин) сумарний вміст яких становить більше 2%.

Сапропель містить 1,11% незамінних амінокислот, 0,33% напівнезамінних та 0,89% інших амінокислот. У досліджуваному зразку сапропелю переважає вміст аланіну, гліцину, лейцину та ізолейцину, у незначній кількості є серин, тирозин, фенілаланін та метіонін [250].

Кількісний вміст амінокислот у сапропелі родовища Прибич **$X \pm \Delta$, %, $P = 0,95$, $n=2$**

Назва АК (позначення)	Зразок X, %	$\pm \Delta$, %	$\pm \delta$, %
Аргінін, arg	0,14	0,06	40
Лізин, lys	0,21	0,07	34
Тирозин, tyr	0,06	0,02	30
Фенілаланін, phe	0,06	0,02	30
Гістидин, his	0,13	0,07	50
Лейцин та ізолейцин, leu, ile	0,34	0,09	26
Метіонін, met	0,03	0,01	34
Валін, val	0,3	0,12	40
Пролін, pro	0,12	0,03	26
Треонін, thr	0,17	0,07	40
Серин, ser	0,09	0,02	26
Аланін, ala	0,39	0,10	26
Гліцин, gly	0,29	0,09	34

3.1.4. Дослідження вмісту карбонових кислот сапропелю

Вміст карбонових кислот досліджували методом хромато-мас-спектрометрії. За результатами досліджень карбонових кислот ($> 0,1\%$ від загальної площі піку) у сапропелі ідентифіковано 33 сполуки, серед яких 12 жирних кислот (див. табл. 3.7 та рис. 3.3).

Встановлено, що найбільшу кількість серед насичених жирних кислот становить лауринова (1024,79 мг/кг) та пальмітинова (599,03 мг/кг) кислоти.

У сапропелі містяться три ненасичені жирні кислоти: лінолева, ліноленова та олеїнова, серед яких переважає лінолева кислота, кількість якої 414,90 мг/кг.

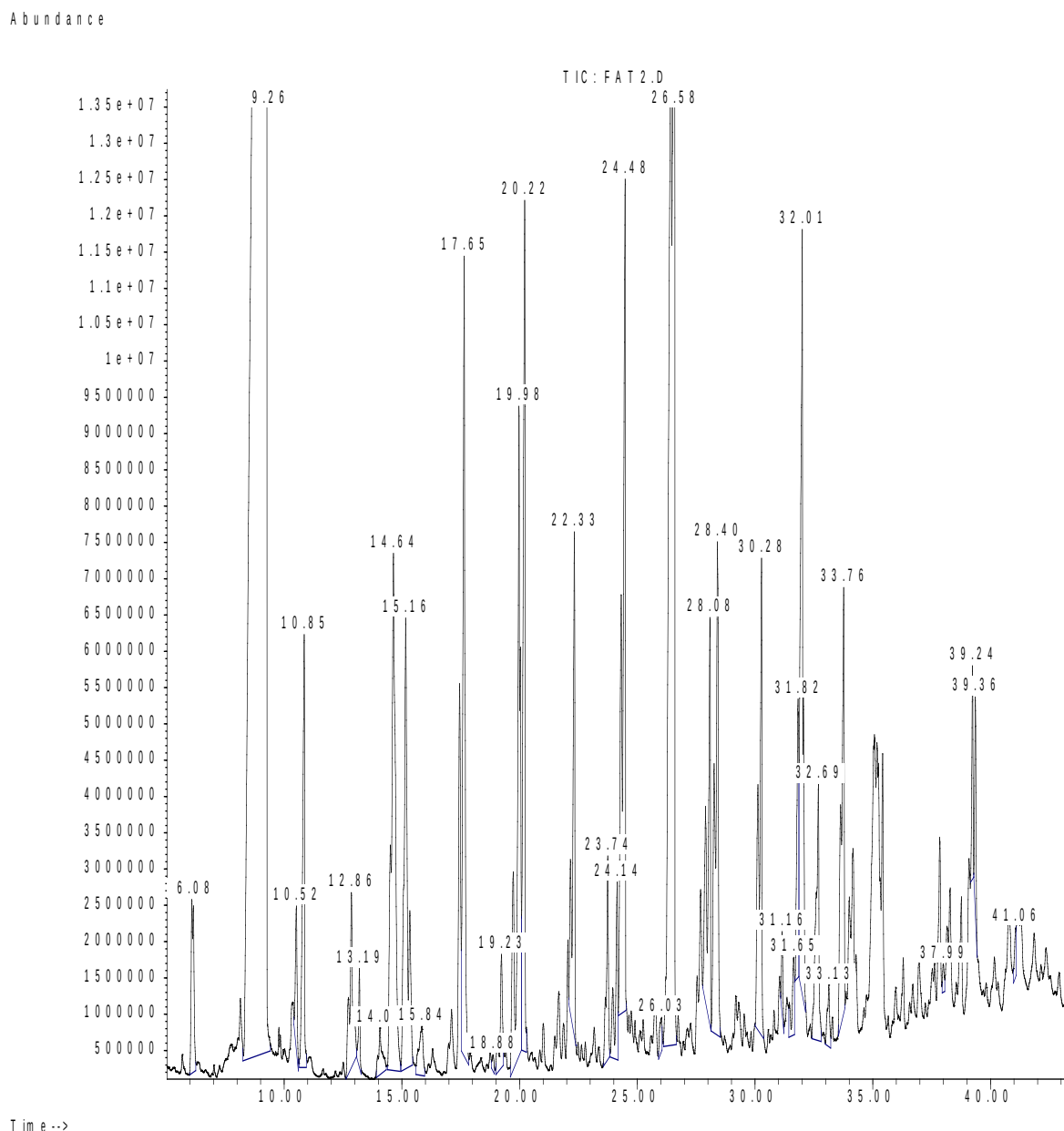


Рис. 3.3. Хроматограма жирних і органічних кислот сапропелю

Серед карбонових кислот сапропелю ідентифіковано 21 органічну кислоту (табл. 3.7). Найбільше азелаїнової кислоти (3217,28 мг/кг), яка володіє антибактеріальною дією щодо *Propionibacterium acne* – пропіонових бактерій, що сприяють появі вугрів; кератолітичною, що виражається в уповільненні процесів кератинізації і руйнуванні комедонів та депігментувальною дією, впливаючи на процес ороговіння клітин епідермісу і пригнічуючи ріст і активність аномальних меланоцитів, які зумовлюють гіперпигментацію типу мелази [312].

**Результати якісного та кількісного вмісту карбонових кислот у сапропелі
родовища Прибич, мг/кг**

Сапропель		
Назва ідентифікованих карбонових кислот	Час утримання, с	Вміст, мг/кг
Жирні кислоти		
<i>Насичені жирні кислоти</i>		
Бегенова кислота	37,994	25,16
Капронова кислота	6,077	257,59
Каприлова кислота	10,516	132,50
Лауринова кислота	19,75	1024,79
Міристинова кислота	24,141	233,71
Нонанова (пеларгонова) кислота	12,853	304,10
Пальмітинова кислота	28,078	599,03
Стеаринова кислота	31,647	104,99
Тетракозанова (лігноцеринова) кислота	41,056	48,06
<i>Ненасичені жирні кислоти</i>		
Лінолева кислота	32,69	414,90
Ліноленова кислота	33,136	77,90
Олеїнова кислота	31,826	305,64
Органічні кислоти		
Азелаїнова кислота	26,584	3217,28
Бензойна кислота	15,837	117,65
Гексацикарбонова кислота	20,223	898,22
Гептацикарбонова кислота	22,328	579,19
Декандикарбонова кислота	32,01	957,39
<i>n</i> -Кумарова кислота	39,238	139,90
Лимонна кислота	31,157	59,17
Левулинова кислота	14,643	1154,52
Малонова кислота	13,193	77,19
Октадикарбонова кислота	24,481	1260,61
Пентадеканова кислота	26,026	45,93
<i>n</i> -Оксибензойна кислота	39,355	156,94
Пентадикарбонова кислота	17,644	900,38
Саліцилова кислота	19,228	157,46
Тридекандикарбонова кислота	33,761	649,40
Ундекандикарбонова кислота	30,275	679,15
Фенілоцтова кислота	18,876	17,17
Фумарова кислота	14,058	95,64
Щавелева кислота	10,851	465,10
Яблучна кислота	23,745	220,43
Янтарна кислота	15,156	867,94

Також сапропель містить велику кількість октадикарбонової (1260,61 мг/кг) та левулинової кислот (1154,52 мг/кг), які мають антисептичні властивості [251].

Результати дослідження складу і властивостей сапропелю родовища Прибич свідчать про перспективність його використання у бальнеології та косметології як джерела біологічно активних речовин, а також як сировини для отримання субстанцій для лікарських засобів.

3.2. Дослідження технологічних властивостей сапропелю

Наступним етапом дослідження було вивчення технологічних властивостей сапропелю.

До відповідної вологості (3; 22; 36; 55%) сапропель вологістю 74% доводили в сушильній шафі при температурі 40 °С. Вологість вимірювали за допомогою вологоміра Sartorius MA-150. Форму, розмір і характер поверхні частинок порошку визначали за допомогою мікроскопа Item PB – 2610, оснащеного мікрометричною сіткою при збільшенні в 1000 разів.

Мікроскопічне дослідження показує, що сапропель є аморфною колоїдальною масою із рослинними залишками (рис.3.4).

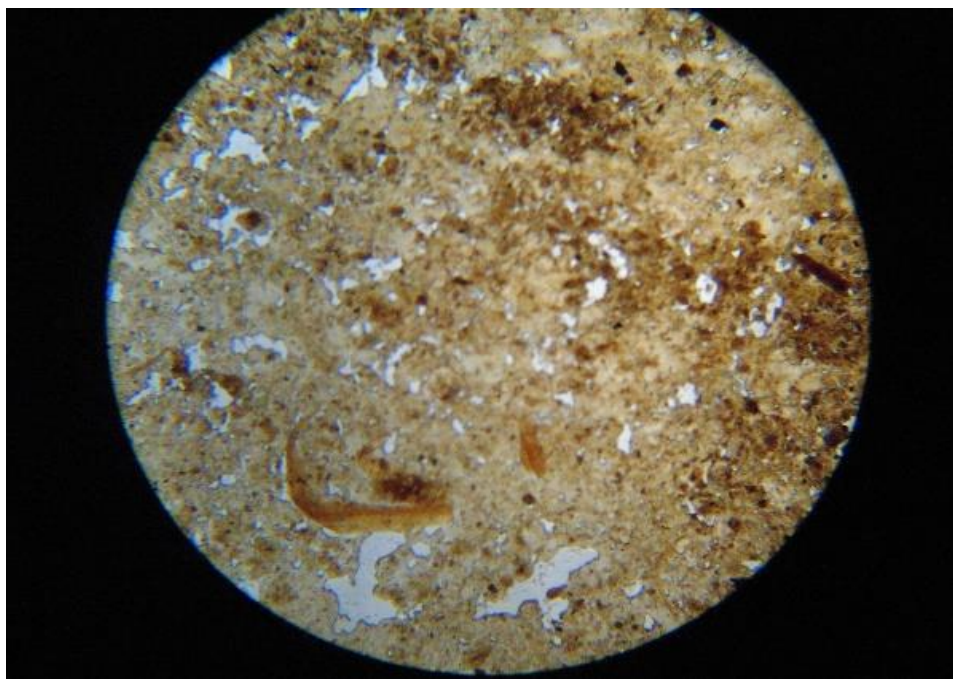


Рис. 3.4. Мікроскопічний знімок сапропелю вологістю 74%

При дослідженнях фракційного складу сапропелю з різною вологістю встановлено, що сапропель вологістю 36% повністю просіювався через сито з діаметром пор 2,0 мм, фракція, яка залишалась на ситі 1,0 мм, становила 5,24%, 0,5 мм – 57,6 5%, 0,25 мм – 20,8%, 0,1 – 5,01%. Фракція менше 0,1 мм становила 11,23%. Для сапропелю вологістю 55% фракція понад 2,0 мм становила 52,97%, понад 1,0 мм – 40,03%, 0,5 мм – 4,72%, 0,25 мм – 2,29% [313 – 315].

Для сапропелю вологістю 74% розподіл на фракції наступний: 85,17% фракція понад 2,0 мм і 14,83% понад 1,0 мм.

У технологічному процесі важливе значення має така властивість, як змочуваність. Експериментально визначено, що сировина вологістю нижче 40-45% погано змочується водою – це обмежує можливість використання її для створення порошкоподібних масок та гранул.

Визначення технологічних властивостей здійснювали для зразків сапропелю з вологістю 3; 22; 36; 55 та 74%, результати яких наведені у табл. 3.9.

Таблиця 3.9

Технологічні властивості сапропелю

Показники	Вологовміст сировини, %				
	3,0±0,1	22,1±0,1	36,1±0,2	55,0 ±0,2	74,2±0,3
Насипна маса, г/см ³	0,316 ±0,010	0,338±0,011	0,364 ±0,009	0,387±0,010	0,419±0,012
Об'ємна маса, г/см ³	0,838±0,021	0,562±0,020	0,457±0,025	0,425±0,029	0,643±0,032
Питома маса, г/см ³	1,705±0,124	2,368±0,107	4,009±0,115	4,628±0,098	4,855±0,087
Пористість сировини	0,509±0,035	0,807±0,014	0,860±0,062	0,908±0,038	0,955±0,026
Нарізність шару	0,622±0,010	0,399±0,022	0,204±0,014	0,089±0,018	0,348±0,018
Вільний об'єм шару	0,754±0,050	0,837±0,043	0,931±0,036	0,921±0,054	0,991±0,042
Кут природного укоосу, °	28-29	29-30	29-30	36-37	39-40

Отримані дані свідчать про залежність технологічних властивостей від вологості сировини. Кут природного укоосу характеризує рухливість сировини і

враховується при її транспортуванні, дозуванні, завантаженні та вивантаженні [6]. Кут природного укусу сапропелю вологістю до 40% не перевищує 29-30 °, що свідчить про хорошу, а сапропелю вологістю 55 та 74%– задовільну сипкість [313].

3.3. Дослідження антимікробних властивостей сапропелю

Результати дослідження антимікробної активності дослідних зразків нативного сапропелю та розчину сапропелю, який отримували шляхом його віджиму, представлені в табл. 3.10, вказують на незначну антимікробну активність досліджуваного сапропелю до обраних тест-культур (за винятком *Staphylococcus aureus*).

Таблиця 3.10

Антимікробна активність дослідних зразків

Дослідні зразки	Діаметри зон затримки росту, мм (n=3)					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Basillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885
Сапропель	ріст	13,4±0,3	12,7±0,2	12,4±0,2	13,7±0,3	14,0±0,2
Розчин сапропелю	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	13,7±0,1

Розчин сапропелю не виявляє антимікробної активності до досліджуваних тест-зразків, однак проявляє низьку активність до *Candida albicans*. Результати мікробіологічних досліджень показали незначну антимікробну активність сапропелю до обраних тест-культур (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Basillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653) [316, 317].

3.4. Дослідження впливу сапропелю на імунну та центральну нервову систему за нашкірного застосування сапропелю

Для визначення перспектив використання сапропелю в бальнеології, косметології та продуктів його переробки як активного фармацевтичного інгредієнта для створення ЛЗ та ВЗ обов'язковим є оцінювання ступеня його токсичності.

Дослідження з фармакології безпеки спрямовані на визначення впливу лікарського засобу на життєво важливі функції організму лабораторних тварин: серцево-судинну, дихальну та центральну нервову систему. Додатково підлягає вивченню потенційна дія на сечовидільну систему, вегетативну нервову, шлунково-кишковий тракт та ін. [318].

Токсико-біологічна характеристика сапропелю родовища Прибич групи Шацьких озер Волинської області базувалась на результатах досліджень функціонального стану імунної та центральної нервової системи, оцінюванні токсикологічного впливу сапропелю на стан внутрішніх органів експериментальних тварин при нашкірному застосуванні грязевого розчину сапропелю з метою використання сапропелю родовища Прибич у бальнеології, косметології та медицині.

Експериментальні тварини були поділені на 2 групи по 10 тварин у кожній (n=10). Курс тривав 12 діб та складався з 6 процедур з інтервалом в 1 добу.

I – інтактна група щурів (контрольна), у яких вимірювали фізіологічний рівень досліджуваних показників;

II – група щурів, яким занурювали хвости у грязевий розчин сапропелю та вимірювали рівень досліджуваних показників.

Токсико-біологічне оцінювання сапропелю родовища Прибич здійснювали згідно з Наказом МОЗ України № 243 від 02.06.2003 р «Про затвердження Порядку здійснення медико-біологічної оцінки якості та цінності природних лікувальних ресурсів, визначення методів їх використання» [1] з використанням методичних рекомендацій з методів досліджень біологічної дії природних лікувальних ресурсів

та преформованих лікувальних засобів, затверджених Наказом МОЗ України № 692 від 28.09.2009 р. [295].

Функціональний стан ЦНС оцінювали за показниками зміни поведінкових реакцій в установці «відкрите поле». Такий тест є достатнім для первинної оцінки дії природних ресурсів [295].

Реакцію імунної системи експериментальних тварин на курсове нашкірне використання грязевого розчину сапропелю оцінювали за змінами з боку *загальних показників периферичної крові*: кількістю лейкоцитів, ацидофілів, нейтрофілів, моноцитів та лімфоцитів, а також за *імунологічною реактивністю* – визначенням кількості Т- лімфоцитів, вмістом гетерофільних антитіл (ГА) і ЦК.

ЦК є маркером порушень захисної реакції імунної системи і демонструють інтенсивність специфічної імунної відповіді. Визначення рівня ЦК у крові має важливе значення у діагностиці гострих запальних процесів і є показником активності перебігу аутоімунних захворювань, алергійних реакцій III типу, при яких рівень ЦК підвищується.

ГА належать до гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму. Їх наявність є показником ступеня імунологічної зрілості організму та нормального функціонування імунної системи. При імунодефіцитних та інших патологічних станах організму титри цих антитіл можуть бути різко зниженими або навіть не виявлятися. Тому визначення природних антитіл різної специфічності є важливим для оцінки впливу на організм різних чинників.

Оцінка функціонального стану ЦНС. Для оцінки особливостей поведінки піддослідних тварин і їх реакцій на перебування в умовах хронічного емоційного стресу оцінювали психофізіологічні параметри в тесті «відкрите поле» [291]. Поведінковими показниками є: горизонтальна рухова активність (кількість перетнутих квадратів), виходи в центр, вертикальні стійки, «рефлекс нірки», дефекація та діурез, тривалість грумінгу та завмирання, виражене в секундах. Причому, дефекація і перебігання розглядалися як величини, пов'язані з проявом емоційності у гризунів.

Рух тварин у новій обстановці призводить до виникнення дослідницької мотивації, яка супроводжується формуванням пасивно-захисної поведінки. Характерним проявом цього стану вважається вегетативна реакція тварин у вигляді дефекацій (болюсів) та урінацій, а також зміна рівня рухової активності.

Грумінг (косметична поведінка тварин) є важливою характеристикою поведінки щурів у приладі «відкрите поле». Щурі значну частину часу приділяють догляду за хутром та шкірою, а в деяких випадках цей процес за тривалістю переважає рухову активність [293]. Грумінг традиційно відносять до категорії комфортної поведінки чи комфортного стану. Тривалий грумінг свідчить про хороший емоційний стан тварин. Але коли щури здійснюють короточасний грумінг і кількість його зростає, це свідчить, що тварини перебувають у стані неспокою [295].

При дослідженні поведінки протоколювали кількість виходів в центр, перетнутих квадратів, вертикальних стійок, чисток (грумінгів), зупинок, болюсів та урінацій. При обробленні результатів враховували такі сумарні показники:

- рухова активність: сума кількості виходів у центр, кількості та тривалості зупинок тварин;
- орієнтувально-дослідницька поведінка: сума кількості перетнутих квадратів, вертикальних стійок, зазирань у нірки;
- емоційна активність: сума кількості та тривалості грумінгів (чисток), урінацій, дефекацій (болюсів).

Для кожного щура тривалість тесту «відкрите поле» становила 5 хв. Отримані показники порівнювали з відповідними показниками 1 групи інтактних тварин.

Дані щодо впливу курсового нашкірного застосування сапропелю озера Прибич на функціональний стан нервової системи експериментальних щурів подано в табл. 3.11.

Відповідно до наведених у табл. 3.11 даних, у щурів, які отримували курс процедур з сапропелями озера Прибич, немає достовірних змін показників, що характеризують стан рухової активності та орієнтувально-дослідницької поведінки [319]. Винятком є незначне збільшення тривалості зупинок ($p < 0,05$), що здійснювали

тварини у приладі «відкрите поле». Емоційна активність тварин під впливом застосування сапропелів, характеризується збільшенням кількості та тривалості актів грумінгу ($p<0,01$ та $p<0,001$ відповідно), що свідчить про те, що тварини почувають себе спокійно і перебувають у хорошому емоційному стані. Встановлено незначне, але достовірне збільшення актів урінацій ($p<0,05$), яке обумовлено стимулювальним впливом на сечоутворювальну функцію нирок.

Таблиця 3.11

Результати впливу нашкірного використання грязевого розчину сапропелю на показники функціонального стану ЦНС експериментальних тварин,

$M \pm m, n=10$

Показники	1-ша група	2-га група
Кількість виходів у центр, n	$0,62 \pm 0,23$	$0,57 \pm 0,03$
Зупинки, n	$2,12 \pm 0,29$	$2,62 \pm 0,05$
Зупинки, s	$181,75 \pm 7,92^*$	$205,84 \pm 3,06^*$
Кількість перетнутих квадратів, n	$40,31 \pm 4,54$	$37,16 \pm 0,67$
Кількість стійок, n	$7,00 \pm 0,81$	$5,59 \pm 0,07$
Кількість зазирань у нірки, n	$9,69 \pm 1,24$	$9,52 \pm 0,08$
Грумінг, n	$1,94 \pm 0,23^{**}$	$2,76 \pm 0,03^{**}$
Грумінг, s	$21,37 \pm 3,59^{***}$	$36,31 \pm 0,15^{***}$
Кількість актів дефекації, n	$3,12 \pm 0,69$	$2,21 \pm 0,05$
Кількість актів урінації, n	$4,12 \pm 0,49^*$	$5,16 \pm 0,06^*$

Примітка: * - $p<0,05$, ** - $p<0,01$, *** - $p<0,001$ порівняно з групою тварин контрольної групи; n – кількість рухів тварин у приладі «відкрите поле»; s – тривалість зупинок та грумінгу.

Таким чином, зовнішнє застосування сапропелей озера Прибич не впливає на функціональну активність ЦНС, чинить незначний збуджувальний ефект на емоційний стан тварин — сприяє появі відчуття спокою у піддослідних тварин та помірно стимулює окремі вегетативні реакції.

Оцінка функціонального стану імунної системи. Зовнішнє застосування сапропелів зумовило типову реакцію з боку показників лейкоцитарної формули крові - відбувався перерозподіл співвідношення формених елементів крові (нейтрофіли/лімфоцити). Відсоток нейтрофілів дещо збільшився ($p<0,001$), а відсоток лімфоцитів – зменшився ($p<0,001$). Кількість лейкоцитів та моноцитів

залишалася без змін і не відрізнялися від цих показників порівняно з групою інтактних тварин ($p > 0,5$). Вміст ацидофілів (збільшення яких свідчить про ознаки сенсibiliзації організму) також на рівні контрольного показника і достовірно від нього не відрізняється ($p > 0,5$) [319].

Дані щодо впливу сапропелю озера Прибич на периферійну кров та показники імунної системи при зовнішньому застосуванні наведено в табл. 3.12.

Таблиця 3.12

Результати дослідження показників клітинної та гуморальної ланок імунної системи в периферійній крові щурів після наскірного застосування (6 процедур через добу) грязевого розчину сапропелю, $M \pm m$, $n=10$

Показники	1-ша група	2-га група
Показники лейкоцитарної формули крові		
Лейкоцити, $10^9/\text{л}$	$5,5 \pm 0,2$	$5,9 \pm 0,1$
Нейтрофіли, %	$12,79 \pm 0,64^{***}$	$22,8 \pm 1,59^{***}$
Ацидофіли, %	$2,25 \pm 0,23$	$1,60 \pm 0,24$
Моноцити, %	$3,72 \pm 0,21$	$2,80 \pm 0,37$
Лімфоцити, %	$81,20 \pm 0,8^{***}$	$72,80 \pm 1,59^{***}$
Показники клітинної та гуморальної ланок імунної системи		
Т-лімф. загальн., %	$47,20 \pm 0,60^{***}$	$40,60 \pm 1,29^{***}$
ЦІК, мг/мл	$5,70 \pm 0,20$	$5,76 \pm 0,16$
ГА, ум. од.	$6,00 \pm 0,80$	$7,20 \pm 0,80$

*Примітка**- $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ порівняно з групою тварин контрольної групи

З боку показників клітинної ланки імунної системи спостерігалось достовірне зниження кількості Т-лімфоцитів ($p < 0,001$) на тлі збереження у межах норми (показники інтактних тварин) показників гуморальної ланки імунітету. Визначення вмісту ГА свідчить про відсутність патологічних процесів, їх вміст не змінювався і достовірно не відрізнявся від цього показника в інтактних щурів ($p > 0,5$). Рівень ЦІК також не відрізнявся від показників контрольної групи ($p > 0,5$), тобто немає ознак запальних процесів чи алергійних реакцій, при яких рівень ЦІК підвищується.

Таким чином, при зовнішньому застосуванні сапропелів озера Прибич спостерігався достовірний перерозподіл формених елементів крові та зниження

загальних Т-лімфоцитів, що відповідає помірній фізіологічній реакції на стресогенну дію природного чинника та вказує на активацію гуморальної ланки і помірну депресію клітинної та формування адаптаційно-приспосувальних реакцій [318]. Слід зазначити, що встановлені зміни показників формули крові та гуморальної і клітинної ланок імунної системи організму інтактних щурів на дію сапропелю озера Прибич є типовою реакцією, що її спричиняють пелоїди як природні лікувальні ресурси.

Висновки до розділу 3

1. За результатами дослідження основних фізико-хімічних показників сапропелевих відкладів озер Шацького району Волинської області встановлено, що вони відповідають вимогам, які висувають до сапропелевих пелоїдів, окрім значень масової частки вологи у озерах Пулемецьке, Олешно, Прибич та Пісочне, що потребує їх підготовки до відпуску лікувальних процедур; усі вищевказані сапропелі належать до прісноводних безсульфідних: сапропелі озера Олешно і Прибич низькозольні органічного типу, озера Пісочне – середньозольні органо-мінерального типу, озера Пулемецьке – середньозольні мінерально-органічного типу та відклади озера Світязь – високозольні мінералізованого типу.

2. За результатами дослідження загального хімічного, макро- та мікроелементного складу сапропелю родовища озера Прибич встановлено наявність 76,63% речовин органічної природи в перерахунку на суху речовину, в тому числі протеїн, жир, клітковину (21,1; 1,5; 14,3% відповідно в перерахунку на суху речовину), макроелементів – сірки та кальцію у кількості 0,014 і 91,75% відповідно та мікроелементів Si, Cr, Fe, Co, Zn – 0,011, 0,659, 7,384, 0,114 і 0,067% відповідно.

3. Методом капілярного електрофорезу в сапропелі родовища Прибич встановлена наявність близько 2% амінокислот, серед яких незамінні амінокислоти (гістидин, ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін, треонін, триптофан і валін) і деякі замінні (аланін, аргінін, гліцин, пролін і серин), а при дослідженні вмісту карбонових кислот методом хромато-мас-спектрометрії ідентифіковано 33 сполуки, серед яких 12 жирних кислот (насичені – лауринова (1024,79 мг/кг) та пальмітинова

(599,03 мг/кг); ненасичені жирні кислоти – лінолева (414,90 мг/кг), ліноленова та олеїнова) та 21 органічна кислота, серед яких найбільше азелаїнової (3217,28 мг/кг), октадикарбонової (1260,61 мг/кг) та левуліної кислот (1154,52 мг/кг), які володіють антисептичними властивостями. Це свідчить про перспективність використання сапропелю родовища Прибич у грязелікуванні та косметології як джерела біологічно активних речовин та як сировини для отримання АФІ.

4. Мікробіологічними дослідженнями показано незначну антимікробну активність сапропелю до тест-культур (*E.coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. vulgaris* ATCC 4636, *C. albicans* ATCC 885/653).

5. У результаті токсико-біологічної оцінки впливу сапропелю встановлено, що курсове 6 разове зовнішнє застосування сапропелю озера Прибич сприяє розвитку хорошого емоційного (комфортного) стану у вигляді достовірного збільшення тривалості актів грумінгу ($p < 0,05$) та повільно стимулює окремі вегетативні реакції; а також спостерігається достовірний перерозподіл формених елементів крові та зниження відсотку загальних Т-лімфоцитів, що відповідає помірній фізіологічній реакції на дію природного чинника, тобто свідчить про те, що токсичного впливу сапропелю на центральну нервову та імунну систему немає.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Струс О. Є. Дослідження карбонових кислот сапропелю методом хромато-мас-спектроскопії. *Збірник наукових праць НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24(5). С. 228–234.

2. Струс О. Є. Дослідження амінокислотного складу сапропелю методом капілярного електрофорезу. *Вісник фармації*. 2015. № 2 (82). С. 12 – 16.

3. Струс О. Є., Половко Н. П. Дослідження технологічних властивостей сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика*. 2015. Вип. 24, кн.4. С. 336 – 341.

4. Strus O., Babov K., Gushcha S., Polovko N., Nasibullin B., Polshchakova T. Toxicological and biological assessment of the effect of sapropel of the Prybych lake during cutaneous application in rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020. № 10. 8(A). P. 633 – 638. URL: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.4743> (Date of access: 07.11.2020).

5. Струс О. К вопросу о стандартизации сапропеля. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции* : сб. науч. тр. 2015. Вып. 70. С. 185 – 189.

6. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Дослідження хімічного складу сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : матеріали IV наук.–практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16 – 17 жовт. 2014 р. Харків, 2014. С. 283.

7. Струс О.Е., Прокопец С.Ю., Половко Н.П. Изучение технологических свойств сапропеля. *Студенческая медицинская наука XXI века*: материалы 67 науч.-практ. конференции ВГМУ, 24-25 апр. 2015 г. Витебск, 2015. С.67.

8. Струс О. Е., Половко Н. П. Изучение фракционного состава сапропеля. *Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику* : материалы 10 науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междунар. участием, г. Душанбе, 24 апр. 2015. Душанбе, 2015. С. 362–363.

9. Струс О. Є., Половко Н. П. Визначення загальних показників хімічного складу та мікроелементів сапропелю родовища Прибич. *Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13-14 берез. 2015 р. Дніпропетровськ, 2015. С. 96 – 100.

10. Strus O. Y., Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research sapropel's property of the pribich. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали XXI міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, м. Харків, 22-23 квіт. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 93

11. Струс О. Є. Визначення токсичності сапропелю. *Актуальні питання розвитку медичних наук у XXI ст.* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Львів, 30-31 трав. 2014 р. Львів, 2014. С. 91-94.

12. Струс О. Є. Фармакологічне обґрунтування перспектив використання сапропелю, видобутого з озера Прибич Шацького району Волинської області, в медицині та косметології. *Пріоритети розвитку медичних наук у XXI столітті* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 18–19 квіт. 2014 р. Одеса, 2014. С. 19-24.

РОЗДІЛ 4

НАУКОВО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ ІЗ САПРОПЕЛЕМ

Цілющі властивості лікувальних грязей, до яких належить і сапропель, безсумнівно, обумовлені унікальним складом, а також їх властивостями, що дає змогу успішно використовувати їх у косметології [319]. Грязі сапропелеві володіють протизапальною та десенсибілізуючою дією, захищають організм від руйнівної дії вільних радикалів, сповільнюючи процеси старіння, надають шкірі пружності та еластичності, покращують клітинну регенерацію, звожують та збільшують товщину і еластичність рогового шару епідермісу [9, 320].

У косметології сапропелі використовують як маски для обличчя, тіла та волосся, а також у вигляді ванночок, обгортань, компресів та аплікацій. Маски та аплікації застосовують у косметичних цілях для покращення загального стану шкіри обличчя, відбілювання (веснянки, пігментні плями, сліди нерівномірного загару, вітіліго), зняття набряку, розгладжування зморшок та запобігання появі нових, лікування вугрового висипу та для відновлення водно-ліпідного балансу шкіри [115, 320, 321].

Сапропелі нормалізують роботу сальних залоз шкіри голови, тому їх використовують при перхоті та себорей, для зміцнення волоссяних фолікул, особливо при ранньому облісінні та при посиленому випадінні волосся [9, 320, 321].

Сапропелеві грязі дуже ефективні як засоби боротьби з целюлітом і жировими відкладеннями. Завдяки його високій теплоємності та повільній тепловіддачі, грязелікування сапропелем забезпечує глибоке прогрівання тканин. Нагріта грязь сприяє розсмоктуванню старих рубців, викликає розширення кровоносних судин, покращує обмін речовин у тканинах і органах.

Для ефективності процедур сапропелі повинні мати високе значення масової частки вологи, яка визначає пластичність, консистенцію і теплоємність сапропелів, та задовільні характеристики напруги зсуву. Що вища масова частка

вологи пелоїдів, то вищий початковий запас тепла, повільніше вони охолоджуються і вищий тепловий ефект від грязьової процедури. Пластичність пелоїдів визначає їх здатність легко намащуватися на тіло і добре на ньому утримуватися. Також не менш важливим фактором при отриманні грязевих процедур є вміст біологічно активних речовин у складі грязі.

4.1. Отримання та дослідження сапропасти

Для отримання сапропелевого продукту (сапропасти) з високими пластичними та адгезійними властивостями використовували сухий сапропель вологістю 60% та здійснювали подрібнення сировини за допомогою промислової установки – диспергатора (кавітатора) ДЕС 350/4000 (Україна) на базі ТОВ «Зендер-Україна», м. Луцьк.

Використання зневодненого сапропелю обумовлюється економічною і технологічною доцільністю, оскільки об'єм маси видобутого сапропелю при зберіганні і транспортуванні зменшується у 8 разів. Слід зазначити, що у процесі аерації сапропелевої маси у відстійниках відбувається інтенсивне розмноження спороутворювальних, гнилісних, маслянокислих бактерій і грибів, що активізують біохімічні процеси і вивільняють поживні елементи з важкодоступних сполук.

З фізичної точки зору механоактивація сировини призводить до збільшення питомої поверхні та розкриття недоступних пор. З хімічної – основний результуючий момент цього багатofакторного процесу можна описати як деформацію речовини, що призводить до зміни міжатомних і міжмолекулярних зв'язків – послаблення та розриву зв'язків і утворення активних радикалів [148].

Експериментальні зразки сапропасти отримували із зневодненого до 60% вологи сапропелю та води до вологовмісту 70-75%, методом кавітації зі швидкістю 3000 об/хв протягом 30 хв при температурі $(50 \pm 5)^\circ\text{C}$ і тиску 1 атм.

Зразки сапропасти досліджували за органолептичними показниками, рН, вмістом вологи, органічних речовин, засміченістю частинками розміром більше

0,25x10⁻³ м, реологічними показниками та липкістю. Дослідження провадили за методиками, наведеними в розділі 2. Результати подано у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Результати дослідження експериментальних зразків сапропасти

(P=95%; t=2,78; -X; n=5)

Досліджувані показники	Результат дослідження
Зовнішній вигляд	Однорідна пастоподібна пластична маса
Колір	Темно-коричневий
Запах	Специфічний ґрунтовий
Значення рН	6,6 ± 0,2
Вміст органічних речовин	77,86 ± 0,67
Вміст води, %	72,54 ± 0,72
Структурна в'язкість, η, мПа·с	4300 ± 50
Липкість, Па·с	665 ± 10
Напруга зсуву, Па	60 ± 5
Засміченість частинками діаметром більше 0,25x10 ⁻³ м, %	0,02 ± 0,01

За органолептичними показниками сапропаста є однорідною пастоподібною пластичною масою темно-коричневого кольору зі специфічним ґрунтовим запахом, значення рН якої в межах фізіологічно допустимих норм для лікувально-профілактичних засобів для наскірного застосування. Значення липкості для сапропасти 665 Па·с, що свідчить про добре зчеплення з тілом людини.

Відповідно до результатів реологічних досліджень сапропаста є пластичною масою, має здатність до певного розрідження при фізичному впливі, що підтверджує наявність колоїдної структури пасти (рис. 4.1 та 4.2) та характеризується хорошими адгезивними властивостями. На відміну від сапропелю паста при нижчому значенні напруги зсуву починає розріджуватися (60 Па порівняно з майже 300 Па для сапропелю), що сприятиме кращому нанесенню пасти на шкіру. Значення структурної в'язкості для пасти коливається в межах від 4300 при 20 об./хв (Dr 18,6 с⁻¹) до 985 при 100 об./хв (Dr 93 с⁻¹).

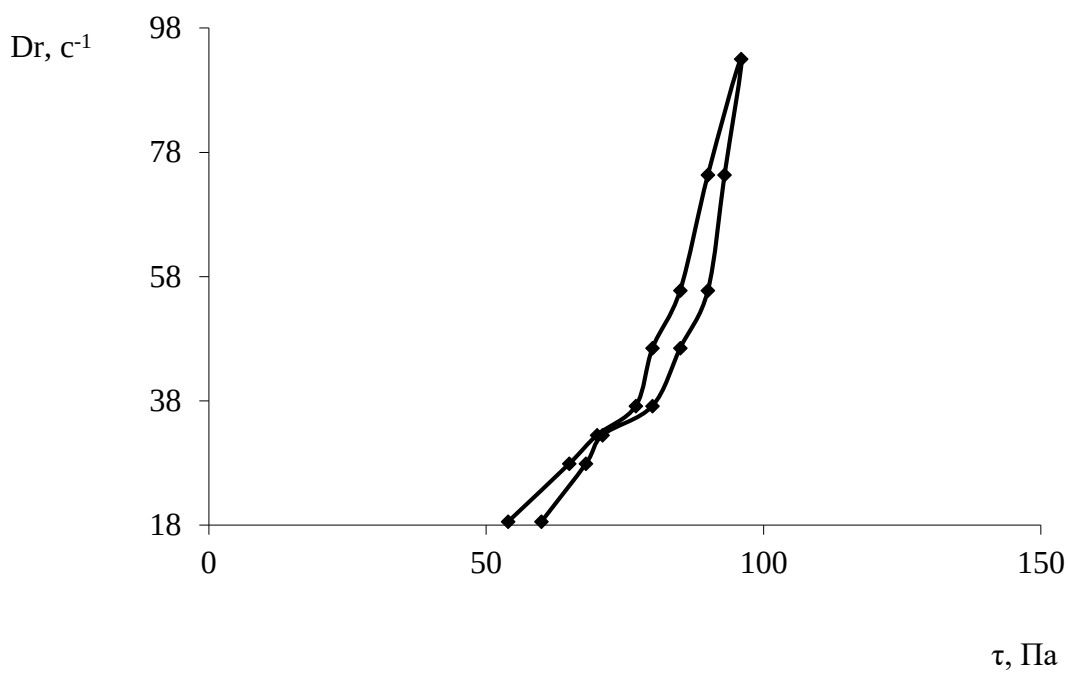


Рис. 4.1. Реограма залежності напруги зсуву (τ_r) від швидкості зсуву (Dr) сапропасти

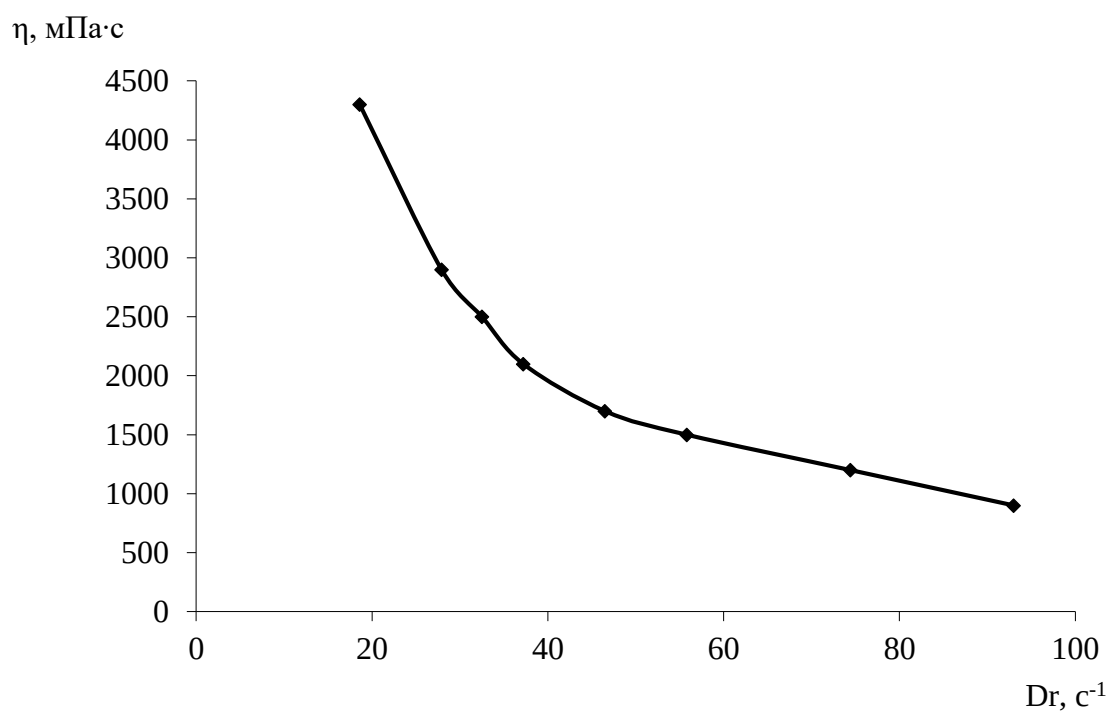


Рис. 4.2. Залежність структурної в'язкості (η , $\text{мПа}\cdot\text{с}$) сапропасти від швидкості зсуву (Dr , c^{-1})

За масовою часткою вологи, значенням напруги зсуву та засміченістю частинками діаметром більше $0,25 \cdot 10^{-3}$ м сапропаста відповідає нормативним показникам, які висувають до лікувальних грязей [20].

4.2. Обґрунтування вибору консерванта у складі сапропасту

Слід зазначити, що сапропаста є середовищем для розвитку мікроорганізмів, у тому числі анаеробних, тому метою наших досліджень було експериментально обґрунтувати вибір ефективного консерванту для подальшого використання сапропасту у косметології, бальнеології та як основи для масок і обгортань з метою забезпечення їх стабільності.

Для визначення ефективності консерванта готували експериментальні зразки сапропасту, що містили: № 1 (сапропаста); № 2 (сапропаста, 0,1% нізину); № 3 (сапропаста, 0,01% нізину, 0,8% гермабену); №4 (сапропаста, 0,01 нізину, 0,1% еуксилу К 100).

Для порівняльного вивчення ефективності консервантів експериментальних зразків сапропасту в умовах *in vitro* як тест-штами використовували еталонні штами з американської типової колекції культур мікроорганізмів: *S. aureus* ATCC 6538, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *C. albicans* ATCC 10231. Окремо досліджували ефективність консервантів щодо сульфїтвідновлювальних клостридій *Clostridium perfringens* ATCC 13124.

В експериментах використовували однодобові культури вищезазначених мікроорганізмів, вирощених на щільних живильних середовищах - м'ясо-пептонному агарі (для бактерій), середовищі Вільсона – Блера (окремо для клостридій) та агарі Сабуро (для гриба *Candida albicans*). Кожний контейнер з випробуванням зразком інокулювали суспензією, що містила один з тест-штамів, забезпечуючи мікробне навантаження від 10^5 – 10^6 КУО в 1 мл. З кожного випробуваного зразка відбирали проби безпосередньо після інокуляції і через певні інтервали, зазначені в ДФУ 2.0 : через 2 доби, 7 діб, 14 діб та 28 діб. Ефективність консервантів вивчали згідно зі стандартною методикою ДФУ 2.0 за

логарифмом зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів за визначений період після інокуляції зразків [232, 256].

Мікробіологічні дослідження показали, що зразок, який не містив антимікробних консервантів (№1), не справляв антимікробної дії, про що свідчило або підвищення кількості життєздатних клітин (гриби роду *Candida*), або підтримання на постійному рівні (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*) протягом 28 діб дослідження (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Результати дослідження ефективності консервантів досліджуваних зразків сапропасті

№ зразка	Зразки сапропасті	Тест-мікро-організм	Контроль культури	Логарифм зменшення				
				Вихідний висів	2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
1	Сапропаста	<i>S.aureus</i>	$7,7 \times 10^5$	1,01	1,01	1,01	н/з	н/з
		<i>P.aeruginosa</i>	$7,2 \times 10^5$	1,03	1,01	1,01	н/з	н/з
		<i>C.perfringens</i>	$2,80 \times 10^6$	1,16	1,03	2,52	н/з	н/з
		<i>C.albicans</i>	$1,43 \times 10^5$	1,25	1,06	1,02	0,97	0,92
2	Сапропаста, 0,1% нізину	<i>S.aureus</i>	$7,7 \times 10^5$	1,01	1,18	2,09	2,20	н/з
		<i>P.aeruginosa</i>	$7,2 \times 10^5$	1,03	1,01	1,01	1,02	н/з
		<i>C.perfringens</i>	$2,80 \times 10^6$	2,16	2,83	3,01	н/в	н/в
		<i>C.albicans</i>	$1,43 \times 10^5$	1,25	0,66	0,58	0,58	0,42
3	Сапропаста, 0,01% нізину, 0,8% гермабену	<i>S.aureus</i>	$7,7 \times 10^5$	1,01	2,01	2,15	3,20	н/з
		<i>P.aeruginosa</i>	$7,2 \times 10^5$	1,03	1,28	2,01	н/в	н/в
		<i>C.perfringens</i>	$2,80 \times 10^6$	2,10	2,93	3,21	3,49	н/в
		<i>C.albicans</i>	$1,43 \times 10^5$	1,25	2,07	2,92	н/в	н/в
4	Сапропаста, 0,01% нізину, 0,1% еуксилу К 100	<i>S.aureus</i>	$7,7 \times 10^5$	1,01	2,02	2,3	3,20	н/з
		<i>P.aeruginosa</i>	$7,2 \times 10^5$	1,23	1,48	2,23	н/в	н/в
		<i>C.perfringens</i>	$2,80 \times 10^6$	2,21	2,68	2,91	3,18	н/в
		<i>C.albicans</i>	$1,43 \times 10^5$	1,54	2,07	2,11	2,87	н/в

Примітки: н/в – життєздатні клітини тест-мікроорганізмів не виявлені; н/з – кількість життєздатних клітин мікроорганізмів не збільшується.

Введення до складу зразків консерванта нізину забезпечує ефективну антимікробну дію стосовно бактерій *S. aureus* і *Cl. perfringens*. У той же час введення нізину не забезпечує захист зразків від грибів роду *Candida albicans* і низьку ефективність щодо *P. aeruginosa* (зразок 2). Порівняльне вивчення антимікробної дії комбінацій нізину і гермабену та нізину і еуксилу К 100 показало, що практично немає різниці в прояві антимікробного ефекту (зразки 3, 4). Комбінація цих консервантів забезпечує синергічний ефект антимікробної дії щодо тест-штамів бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*) і захист від грибів роду *Candida albicans*, що запобігає мікробній контамінації та забезпечує її стабільність у процесі зберігання [322].

Таким чином, запропоновано склад сапропасти, яка містить сапропелю (вологістю 60%) – 75,0; еуксилу К 100 – 0,05 – 0,1, нізину – 0,005 – 0,01 та води очищеної – до 100,0.

4.3. Стандартизація сапропелю і сапропасти

Обов'язковою умовою можливості подальшого використання сапропелю та сапропасти є їх стандартизація. Пов'язана вона з низкою проблем, серед яких найважливішою є відсутність аналітично-нормативної документації, що регламентує якість сапропелю як сировини для виробництва лікарських препаратів. Стандартизація природної сировини є складним завданням, тому що хімічний склад залежить від умов формування сапропелю, співвідношення процесів фотосинтезу і привнесення аллохтонних органічних речовин, надходження теригенного матеріалу і утворення аутигенних залишків, деструкції органічної речовини у водній масі донних відкладів, різноманітністю рослинного і тваринного світу, фактору проточності озер і т.д. [9]. Однак віднести сапропель до лікарської рослинної сировини неможливо, бо він є органо-комплексом, що складається із залишків як рослинного, так і тваринного походження.

Обов'язковим у технологічному процесі добування сапропелю є проморожування. Воно змінює його структуру, прискорюючи процес сушіння, покращує гранулометричний склад сапропелю [148].

Сапропель нативний, підготовлений до процедур (для отримання бальнеологічного висновку) за фізико-хімічними та мікробіологічними показниками, повинен відповідати вимогам наказу ДКЗ України № 298 від 29.12.2004 р. «Про затвердження Інструкції із застосування Класифікації запасів і ресурсів корисних копалин державного фонду надр до родовищ лікувальних грязей» [20].

Специфіка використання лікувальних грязей (пелоїдів) при відпуску лікувальних процедур (аплікації на поверхні шкіри, слизовій оболонці тощо) вимагає їх суворого санітарно-мікробіологічного контролю. Основними показниками при санітарно-мікробіологічній оцінці пелоїдів є лактозопозитивні кишкові бактерії (ЛКБ), сульфатвідновлювальні клостридії, загальне мікробне число (ЗМЧ). Виявлення синьогнійної палички – *Pseudomonas aeruginosa*, патогенних стафілоkokів сигналізує про епідемічну загрозу. Виявлення термостабільних коліформних бактерій, ентероkokів підтверджує наявність свіжого фекального забруднення. За епідемічними показниками санітарно-епідеміологічна служба проводить дослідження щодо визначення патогенних ентеробактерій.

Сапропель у нативному стані за показником масової частки вологи не відповідає встановленим вимогам і може перед використанням бути доведений до відповідних нормативних показників: шляхом часткового зневоднення у межах припустимих величин вологості (60-90%) або самоущільнення під дією сили ваги при збереженні в басейнах глибиною до 3 м [20].

Результати досліджень фізико-хімічних та мікробіологічних властивостей сапропелю озера Прибич для використання в бальнеології наведені в табл. 4.3.

Таким чином, за фізико-хімічними (окрім значення вологи) та мікробіологічними показниками сапропель родовища озера Прибич відповідає

вимогам НД та після доклінічних та клінічних випробувань і отримання бальнеологічного висновку може бути використаний у грязелікуванні.

Таблиця 4.3.

**Фізико-хімічні та мікробіологічні показники сапропелю родовища Прибич
для використання в бальнеології**

Назва показника	Сапропель природний (нативний)	Наказ ДКЗ України № 298 від 29.12.2004 р.
<i>Фізико-хімічні показники</i>		
Масова частка вологи, %	96,5	60-90
Напруга зсуву, Па	294,30	50 – 750
Засміченість частинками діаметром більше $10,0 \times 10^{-3}$ м, %	Відсутні	Відсутні
Засміченість частинками діаметром більше $0,25 \times 10^{-3}$ м, %	0,035	Не більше 2
<i>Мікробіологічні показники</i>		
Загальне мікробне число (ЗМЧ) КУО/10г	5600	500000
Титр лактопозитивних кишкових паличок, КУО/10 г	13	Не нижче 10
Титр клостридій, КУО/0,1 г	0,2	Не нижче 0,1
Патогенні стафілококи КУО/10г	Відсутні	Відсутність
Синьогнійна паличка (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) КУО/10г	Відсутні	Відсутність
Термостабільні кишкові палички КУО/10г	Відсутні	Відсутність
Ентерококи КУО/10г	Відсутні	Відсутність
Індекс бактерицидності пелоїдів (ІБП) %	25	1 – 100

З метою подальшого використання сапропелю в косметології та як джерела отримання нових АФІ було досліджено фізико-хімічні та мікробіологічні показники згідно з вимогами чинної нормативної документації. Для використання сапропасти в косметології нами до її складу введено консерванти нізин і еуксил К 100. Дослідження провадили за методиками, наведеними в розділі 2. Результати визначення органолептичних та фізико-хімічних показників якості сапропелю нативного та сухого і пасти сапропелевої наведено у табл. 4.4.

Фізико-хімічні показники сапрпелью та сапропасти родовища Прибич

Показник	Сапрпель природний (нативний)	Сухий сапрпель	Паста сапрпелева (сапропаста)	НД та норма
Зовнішній вигляд	Пластичний та комкуватий за консистенцією	Неоднорідний порошок	Однорідна пастоподібна маса	ТУ У 20.12870305 538-004:2016 Неоднорідна пастоподібна маса
Колір	Темно-зелений	Темно-коричневий	Темно-коричневий	-«- Від світло-сірого до чорного
Запах	Специфічний (грунтовий)	Специфічний (грунтовий)	Специфічний (грунтовий)	-«- Специфічний (грунтовий)
Консистенція	Пастоподібна	Порошкоподібна	Пастоподібна	-«- Пастоподібна
Водневий показник, (рН)	$7,0 \pm 0,2$	$6,7 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,2$	-«- 4,5-7,5
Масова частка вологи, %	$96,5 \pm 1,2$	$59,99 \pm 0,74$	$72,54 \pm 0,93$	-«- Не більш ніж 90 Наказ ДКЗ У 298 60 – 90
Вміст органічної речовини в перерахунку на суху речовину, %,	$76,69 \pm 0,78$	$76,39 \pm 0,76$	$77,86 \pm 0,54$	ТУ У 20.12870305 538-004:2016 Не менше ніж 50
Засміченість частинками розміром понад $0,25 \cdot 10^{-3}$ м, %	$0,035 \pm 0,012$ Наказ ДКЗ України № 298	–	ТУ У 20.12870305 538-004:2016 $0,02 \pm 0,010$	Наказ ДКЗ України 298 Не більше 2
Засміченість частками розміром більше $10,0 \cdot 10^{-3}$ м, %	Відсутні	–	–	ТУ У 20.12870305 538-004:2016 Не більше 10% Наказ ДКЗ України № 298 Відсутні
Напруга зсуву, Па	$294,30 \pm 8$	–	$60,0 \pm 5$	ДКЗ України 298 50 – 750

За мікробіологічними показниками сапропаста повинна відповідати вимогам ДСТУ EN ISO 17516:2016 (EN ISO 17516:2014, IDT) «Косметика. Мікробіологія. Мікробіологічні межі» [269] і закладена в ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них» [223]. Загальні вимоги до мікробіологічних випробувань – згідно з ДСТУ ISO 21148:2010 [323].

Результати мікробіологічних досліджень наведені у табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Мікробіологічні показники сапропелю родовища Прибич для використання в косметології, внесені до ТУ У 20.1-2870305538-004:2016

Назва показника	Сапропель природний (нативний)	Сухий сапропель	Паста сапропелева (сапропаста)	Норма та АНД
Кількість МАФАМ, КУО/г (см ³)	520	520	560	1000 ДСТУ ISO 21149 [324], п.6.10 ТУ
Бактерії <i>Enterobact.</i> в 1 г (см ³)	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні ДСТУ ISO 18415 [325]
<i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г (см ³)	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні ДСТУ ISO 22718 [326]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г (см ³)	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні ДСТУ ISO 22717 [327]
Кількість дріжджів та пліснявих грибів, КУО/г (см ³)	40	40	50	100 ДСТУ ISO 16212 [328]

За усіма мікробіологічними показниками нативний та сухий сапропель, а також сапропаста відповідають вимогам ДСТУ EN ISO 17516:2016 (EN ISO 17516:2014, IDT) «Косметика. Мікробіологія. Мікробіологічні межі» і їх можна використовувати у косметології [269].

4.4 Розробка технології отримання сапропасти

Технологічний процес виробництва сапропасти передбачає такі стадії: зважування компонентів, виготовлення сапропасти, охолодження, введення консерванту, фасування сапропасти в банки, етикетування, пакування банок у ящики. Технологічна схема виробництва сапропасти показана на рис. 4. 3.

Технологічний процес виробництва сапропасти здійснюють за допомогою спеціального обладнання – диспергатора (кавітатора) ДЕС 350/4000 (Україна) зі

швидкістю 3000 об/хв протягом (35 ± 5) хв при температурі (50 ± 5) °C і надлишковому тиску 1 атм до отримання однорідної суміші.

Стадія підготовки виробництва передбачає підготовку приміщень, персоналу, устаткування й обладнання, сапропелю та ДР, пакувальних матеріалів, перевірку необхідної нормативної документації. Технологічний процес виробництва засобу повинен провадитися з дотриманням необхідних правил і вимог ДСТУ EN ISO 22716:2015 «Косметика. Належна виробнича практика (GMP)» [329].

На стадії допоміжних робіт готують приміщення, персонал, обладнання, вихідну сировину, пакування та ін. Сировину для сапропасти після проходження вхідного контролю транспортними візками передають на стадії основного технологічного процесу.

Стадія 1. Зважування компонентів. Після проходження вхідного контролю ДР та сухий сапропель вологістю 60% доставляють за допомогою транспортних візків і зважують у збірники з використанням ваг (сапропель, консервант) або відмірюють мірником (воду очищену).

Стадія 2. Виготовлення сапропасти. У збірник відважують воду очищену та суміш консервантів і завантажують у диспергатор із паровою оболонкою. Суміш у диспергаторі протягом 10-20 хв перемішують до повного розчинення консервантів. Контролюють візуально. Додають сапропель протягом 30-40 хв при постійному перемішуванні, нагрівають до температури (50 ± 5) °C при надлишковому тиску 1 атм і швидкості 3000 об/хв до утворення однорідної пластичної маси (контролюють візуально).

Стадія 3. Охолодження. Суміш у диспергаторі протягом 10-15 хв при постійному перемішуванні при швидкості обертів 3000 об/хв охолоджують до температури (25 ± 2) °C.

Стадія 4. Фасування сапропасти. Після отримання позитивних результатів контролю якості, за допомогою стиснутого повітря перекачують сапропасту із диспергатора у збірник, з якого пластичну масу подають у бункер шнекової машини і фасують по 500,0 г (1000 г) у полімерні банки. Контролюють точність

дозування, продуктивність автомату і правильність друку на пакованні (номер серії і термін придатності).

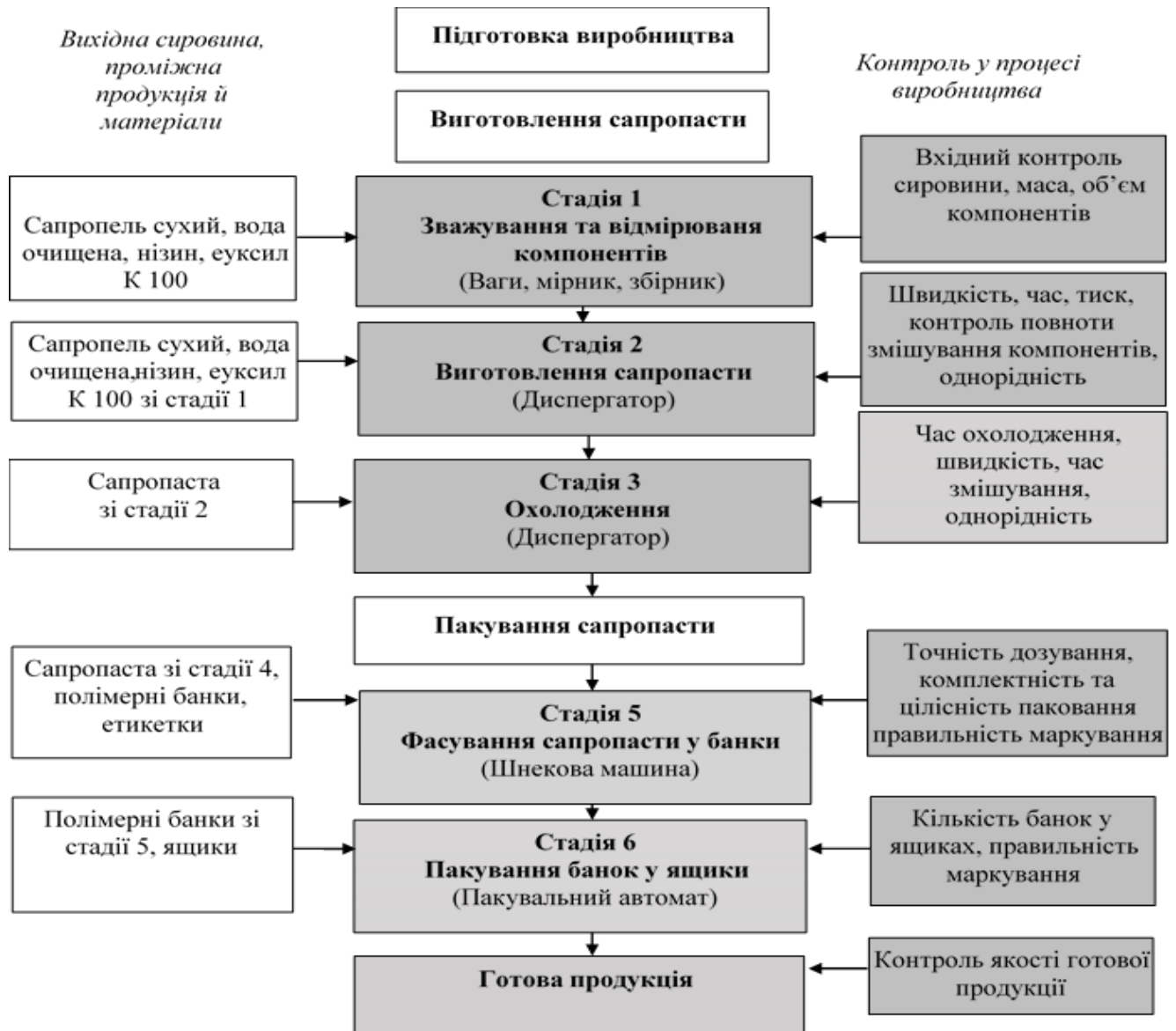


Рис. 4.3 Технологічна схема виробництва сапропасти

Стадія 5. Пакування банок у ящики. На пакувальному автоматі пакують пачки в ящики. Серію готової продукції формують із розрахунку одного завантаження диспергатора (кавітатора). Проведення стадій пакування банок у пачки і пакування пачок у коробки залежить від оснащення конкретного підприємства і безпосередньо не впливає на якість препарату. Контролюють комплектність пакування банок.

Критичними параметрами технологічного процесу виробництва є точність дозування інгредієнтів, температурний режим, кількість обертів диспергатора

(кавітатора), час і швидкість гомогенізації тощо. На завершальному етапі здійснюється фасування, пакування, маркування сапропасти, де враховують якість пакувального матеріалу, контроль герметичності пакування, правильність маркування [330, 331]. Критичні параметри на кожній стадії виробництва сапропасти наведено в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

Основні критичні параметри виробництва сапропасти

Назва технологічної стадії	Назва технологічного параметру	Показники технологічного параметру
Відважування компонентів	Маса сировини Об'єм води	Відповідно до ТУ
Виготовлення сапропасти	Час перемішування Режим роботи змішувача Температура Тиск Однорідність	(35±5) хв 3000 об./хв (50 ±5) °C 1 атм Візуально
Охолодження	Температура Час перемішування Швидкість перемішування	(25±2) °C (12±2) хв 3000 об/хв
Фасування сапропасти	Герметичність закупорювання Правильність маркування Маса сапропасти точність дозування	Відповідно до виробн. рецептури Відповідно до виробн. рецептури (500 ±5) г або (1000 ±10) г
Пакування сапропасти	Правильність маркування	Відповідно до виробн. рецептури

Для встановлення терміну придатності сапропасти досліджували зразки за різних температурних режимів протягом 27 місяців за органолептичними (опис: зовнішній вигляд, колір, запах, консистенція), фізико-хімічними (рН, вміст органічної речовини в перерахунку на суху речовину, масова частка води), і фармако-технологічними (засміченість частинками, напруга зсуву) показниками якості. Результати періодичного контролю якості сапропасти при зберіганні за різних температурних режимів наведено в табл. 4.7.

Отримані дані засвідчили, що зразки сапропасти за температурних умов (25±2) °C та (5±3) °C мали належні органолептичні, фізико-хімічні та фармакотехнологічні показники і відповідали вимогам ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 протягом усього терміну зберігання.

Результати визначення показників якості сапропасти при зберіганні в полімерних банках

Термін зберігання, місяці	Зовнішній вигляд	Колір	Запах	Консистенція	Водневий показник, (pH)	Масова частка вологи, не більше %	Вміст органічної речовини в перерахунку на суху речовину, не менше %	Засміченість частинками розміром більше $0,25 \times 10^{-3}$ м не більше ніж, %	Напруга зсуву, Па
Вимоги ТУ У 20.1-2870305538-004:2016	Однорідна пастоподібна пластична маса	Темно-коричневий	Специфічний (грунтовий)	Пастоподібна	4,5-7,5	90	50	2	50-750 Па
Зразки, що зберігалися при температурі 25 ± 2 °C									
Свіжовиготовлена сапропаста	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.	6,6 $\pm$ 0,2	72,54 $\pm$ 0,72	77,86 $\pm$ 0,67	0,02	60 $\pm$ 0,8
6	– // –	– // –	– // –	– // –	6,9 $\pm$ 0,3	72,00 $\pm$ 0,54	76,03 $\pm$ 0,54	0,02	60 $\pm$ 0,6
12	– // –	– // –	– // –	– // –	7,0 $\pm$ 0,2	71,90 $\pm$ 0,42	75,63 $\pm$ 0,14	0,02	65 $\pm$ 0,9
18	– // –	– // –	– // –	– // –	7,2 $\pm$ 0,1	70,10 $\pm$ 0,48	73,12 $\pm$ 0,54	0,02	68 $\pm$ 0,7
24	– // –	– // –	– // –	– // –	7,2 $\pm$ 0,2	68,30 $\pm$ 0,52	73,12 $\pm$ 0,24	0,02	70 $\pm$ 0,6
27	– // –	– // –	– // –	– // –	7,3 $\pm$ 0,1	68,20 $\pm$ 0,50	73,00 $\pm$ 0,56	0,02	74 $\pm$ 0,9
Зразки, що зберігалися при температурі при 5 ± 3 °C									
Свіжовиготовлена сапропаста	Відпов.	Відпов.	Відпов.	Відпов.	6,6 $\pm$ 0,2	72,54 $\pm$ 0,72	77,86 $\pm$ 0,67	0,02	60 $\pm$ 0,8
6	– // –	– // –	– // –	– // –	6,8 $\pm$ 0,3	72,02 $\pm$ 0,34	76,11 $\pm$ 0,37	0,02	60 $\pm$ 0,4
12	– // –	– // –	– // –	– // –	7,0 $\pm$ 0,1	71,14 $\pm$ 0,64	75,25 $\pm$ 0,17	0,02	60 $\pm$ 0,6
18	– // –	– // –	– // –	– // –	7,0 $\pm$ 0,2	70,20 $\pm$ 0,74	74,15 $\pm$ 0,22	0,02	65 $\pm$ 0,8
24	– // –	– // –	– // –	– // –	7,0 $\pm$ 0,1	69,20 $\pm$ 0,34	74,13 $\pm$ 0,42	0,02	67 $\pm$ 0,7
27	– // –	– // –	– // –	– // –	7,2 $\pm$ 0,2	68,50 $\pm$ 0,64	74,81 $\pm$ 0,77	0,02	69 $\pm$ 0,5

4.5. Вивчення мікробіологічної чистоти сапропасти

Мікробіологічну чистоту сапропасти вивчали протягом 2-х років через кожні 6 місяців, а після закінчення терміну ще через 3 місяці відповідно до вимог СТ-Н МОЗУ 42-3.3:2004 «Лікарські засоби. Настанова з якості. Випробування стабільності» [332].

Відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 17516:2016 (EN ISO 17516:2014, IDT) «Косметика. Мікробіологія. Мікробіологічні межі» допускається не більше 1000 життєздатних мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, КУО/г (см³), 100 дріжджів та пліснявих грибів, КУО/г (см³) та не допускається ріст ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), золотистого стафілококу (*S. aureus*) та синьогнійної палички (*P. aeruginosa*) [269]. Дослідження проводили методом прямого посіву на живильні середовища (див. розділ 2). Результати мікробіологічних досліджень наведені в табл. 4.8.

Таблиця 4. 8

Результати дослідження мікробіологічної чистоти сапропасти в процесі зберігання при температурі 25±2 °С та 5±3 °С

Час зберігання: при 5±3°C; при 25±2°C	Сапропаста				
	Кількість (МАФА М), КУО/г (см ³)	Кількість дріжджів та пліснявих грибів, КУО/г (см ³)	<i>Enterobact.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aurug.</i>
1	2	3	4	5	6
Зразки, що зберігалися при температурі 25±2°C					
Свіжовиготовлена сапропаста	560	50	Відсутність росту	Відсутність росту	Відсутність росту
Через 6 міс. зберіг.	560	55	-//-	-//-	-//-
Через 12 міс.зберіг.	580	65	-//-	-//-	-//-
Через 18 міс.зберіг.	600	75	-//-	-//-	-//-
Через 24 міс.зберіг.	660	85	-//-	-//-	-//-
Через 27 міс.зберіг.	760	95	-//-	-//-	-//-

1	2	3	4	5	6
Зразки, що зберігалися при температурі $5\pm 3^{\circ}\text{C}$					
Свіжовиготовлена сапропаста	560	50	Відсутність росту	Відсутність росту	Відсутність росту
Через 6 міс. зберіг.	560	55	-//-	-//-	-//-
Через 12 міс. зберіг.	570	60	-//-	-//-	-//-
Через 18 міс. зберіг.	585	65	-//-	-//-	-//-
Через 24 міс. зберіг.	620	70	-//-	-//-	-//-
Через 27 міс. зберіг.	650	85	-//-	-//-	-//-

За результатами досліджень сапропаста при її зберігання в режимі температур $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ і $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ протягом 2 років кількість дріжджів та пліснявих грибів в 1 г не перевищувала допустимих меж, загальна кількість МАФМ не перевищувала 800 КУО; цілком відсутні бактерії роду *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* й *Staphylococcus aureus*.

Низькі показники мікробної контамінації зразків обґрунтовуються ефективною дією консерванта та дотриманням належних санітарних умов при виготовленні та зберіганні сапропаста.

На підставі проведених досліджень запропонована серія сапропелевих масок на основі сапропаста, яка налічує такі маски косметичні: маска-обгортання для тіла «Антицелюлітна», маска для обличчя і тіла ліфтингової дії, маска грязева для проблемної шкіри та для запобігання вугревій хворобі, маска для волосся та волоссяної частини голови «Зміцнювальна», маска для волосся та волоссяної частини голови при себорей та перхоті, маска для шкіри рук та нігтів, маска грязьова для ніг «Розслабляюча».

Розроблені косметичні маски проявляють низку косметичних ефектів, а саме пом'якшувальну, зволожувальну, себорегулювальну, підсушувальну дію, уповільнюють старіння шкіри, запобігають запальним та інфекційним ураженням шкіри.

Для підсилення ефективності у маски із сапропасти можна вводити різномантні біологічно активні речовини, які широко використовують у складі косметичних засобів, у т. ч. масок, і які характеризуються різними косметичними і фармакологічними ефектами, що підтверджені численними науковими дослідженнями і досвідом практичного використання: рослинні олії (олія зародків пшениці, абрикосова, рицинова, авокадо, жожоба), ефірні олії (апельсину, грейпфруту, лимону, шавлії, розмарину, сосни, іланг-ілангу, бергамоту, чайного дерева, вербени, мирри, м'яти), екстракти (ромашки, деревію, нагідок, меліси, кропиви, плюща, какао, кінського каштану, евкаліпту, гінкго-білоба, аїру, череди, алое, хмелю, лопуха), витяжка перцю, натрію гіалуронат, протеїни пшениці, сої, триклозан, каолін, цинку оксид, гліцерин, токоферолу ацетат, D-пантенол. Приклади складів масок косметичних сапропелевих наведені у додатку Г.

Наукова новизна захищена патентами на винахід та корисну модель: «Косметична сапропелева маска» № 114262 від 27.02.2017 р. та «Косметична сапропелева маска» № 113942 від 27.02.2017 р. [333, 334].(Додаток Ж)

Розроблено та затверджено ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них» та отримано висновок державної санітарної епідеміологічної експертизи № 12.2. -18-2/30 від 02.01.2020 р. на технічні умови [223] (Додатки Е, Є).

Технологію сапропасти та масок апробовано та впроваджено в умовах промислового виробництва ТОВ «Зендер – Україна» (акт апробації від 11.05.2018 р.) (Додаток І).

4.6. Розробка складу і технології антибактеріального мила з сапропелем

На поверхні шкіри скупчуються рештки шкірного сала, поту, відмерлі клітини рогового шару епідермісу, бактерії, пил тощо. Ці нашарування забруднюють шкіру, закупорюють отвори сальних і потових залоз. Шкірне сало й органічні речовини поту, розкладаючись, спричиняють неприємний запах. На забрудненій шкірі створюються сприятливі умови для розвитку хвороботворних

бактерій, наслідком чого є різноманітні хвороби шкіри, екземи тощо. Бактерії, а також яйця глистів, що містяться на поверхні шкіри, легко можуть потрапити, особливо з шкіри рук, у ротову порожнину і спричинити важкі захворювання (дизентерію, скарлатину, черевний тиф, глистяні зараження та ін.). Більшість хвороботворних бактерій скупчується у складках шкіри [335].

Гігієнічна обробка рук є ефективним засобом, що перешкоджає поширенню транзиторної мікрофлори, та однією з найважливіших процедур для запобігання передачі інфекцій контактено-побутовим шляхом. Гігієнічна обробка рук з використанням антибактерійного мила є необхідною у багатьох випадках: у закладах громадського харчування перед роботою з продуктами, у лікувально-профілактичних закладах, під час роботи медичних сестер у школах та дитячих дошкільних закладах, для осіб зі зниженим імунітетом, у період сезонних захворювань, епідемій тощо. Однак ефективність гігієнічної обробки рук залежить не лише від старанності і регулярності процедури, а й і від якості застосовуваних засобів [336, 337].

Протягом останніх десятиліть для гігієнічної обробки рук часто використовують антибактерійні мила з вмістом антимікробних речовин, таких як хлоргексидин, триклозан, етиловий спирт, ізопропанол та n-пропанол [338].

У результаті дослідження встановлено, що антибактеріальні мила на ринку України представлені у більшості на основі синтетичних поверхнево активних речовин та з використанням таких антибактеріальних компонентів: триклозану, триклокарбану, фарнезолу, бензалконію хлориду, піроктоноламіну, іонізованого та колоїдного срібла, екстрактів (кедра, цетрарії, чистотілу, любистка, шавлії, нагідок, деревію) та ефірних олій (евкаліпту, чайного дерева, цитрусових) [339].

Відомі тверді туалетні мила з бактерицидними властивостями «Day By Day Антибактеріальне з екстрактом Алое Вера», Isana, BODY SERIES «Amway», «Шик Elixir Antibacterial» («Класичне», «З екстрактом алое», «З екстрактом ромашки»), «Сарма» з антибактеріальним ефектом, «Safeguard», «Ромашка», що призначені для щоденного використання [340 – 342].

Питання застосування антибактеріальних мил для щоденної гігієни є дискусійним, оскільки безпечність антибактеріальних компонентів, зазвичай, є нижчою, ніж очікувана користь від їх застосування. З 2 вересня 2016 року управління з контролю за продуктами харчування та лікарськими засобами (FDA) у США заборонило реалізацію антибактеріального мила з триклозаном [343]. У зв'язку з цим нині шириться нова тенденція – розробка антибактерійних мил, які містять активні речовини природного походження. Основною перевагою природних речовин є їх комплексна та м'яка дія на шкіру людини, відсутність побічних ефектів (мікробіологічного звикання, алергії, фотосенсибілізації, пересушування шкіри тощо) та протипоказань.

Тому наступним етапом роботи була розробка вітчизняного антибактеріального мийного засобу з сапропелем, який справляв би м'яку дію на шкіру з мінімальними побічними ефектами.

4.6.1. Обґрунтування складу та розрахунок компонентів основи мила

Сучасні піномийні засоби мають відповідати таким вимогам:

- бути нешкідливими (безпечними) для шкірних покривів і слизових оболонок та для організму загалом: відсутність подразливих, токсичних і сенсibiliзуювальних властивостей згідно з чинною нормативною документацією (ДСТУ і технічними вимогами на піномийні засоби, ДСанПіН 2.2.9.027-99);

- мати необхідний очищувальний (мийний) ефект, володіти помірною знежирювальною і піноутворювальною здатністю (давати стійку дрібнодисперсну піну, легко змивати бруд зі шкірних покривів);

- мати задовільні споживчі властивості: приємний колір і запах, добре розподілятися по шкірі, легко змиватися, утворювати об'ємну, стійку, кремоподібну піну у воді будь-якої жорсткості;

- характеризуватися задовільними органолептичними та фізико-хімічними показниками відповідно до вимог нормативної документації (ДСТУ «Мило тверде туалетне»);

- виявляти додаткову профілактичну і терапевтичну активність та косметичний ефект – антибактеріальну, протизапальну, репаративну, зволожувальну дію;

- бути стійкими до мікробіологічного псування, стабільним під час зберігання в обраному пакуванні при стандартних температурах, ефективними протягом заявленого терміну зберігання;

- бути економічно доступними для споживачів [335, 344].

Саме тому для надання відповідних споживчих характеристик піномийним засобам і реалізації вимог, які висувають до їх якості, необхідно обрати допоміжні компоненти, які б забезпечували одночасно знежирувальну, очищувальну дію, добру пінність, розчинність і високу біодоступність БАР, а також стабільність засобу в процесі його зберігання [335].

Споживчі властивості (мийна здатність, піноутворення, пом'якшення та зволоження шкіри) та якісні характеристики (вміст жирних кислот, титр мила, термін придатності тощо) мила на жировій основі (твердого або рідкого) закладаються на етапі розробки їх складу. Врахування жирнокислотного складу рослинних олій, дотримання певних співвідношень між складниками дає змогу отримати продукти з заданими властивостями. Якість мила також залежить від якості сировини, з якої воно виготовлено, та дотримання вимог до технологічного процесу [345].

Розрахувати кількість лугу, пережиру і води можна за допомогою «мильного» калькулятора. Останніми роками популярним стало виготовлення мила «ручної роботи». На декількох сайтах доступні в онлайн-режимі та у вигляді програм для завантаження так звані «мильні калькулятори» [346,347].

Калькулятор лугу використовують для розрахунку кількості лугу та води, яке необхідне для омилання певної кількості олій. Проте слід враховувати, що різні калькулятори можуть показувати різні результати кількості лугу для однієї і тієї ж кількості олій. Це можна пояснити тим, що у різних виробників може бути різне число омилання тих олій, які вони використовують. Тому точнішим є розрахунок за формулою. Хоча у промисловому виробництві твердого мила

використання «мильного калькулятора» для розрахунку кількості лугу є виправданим.

При розрахунку кількості лугу для виготовлення мила холодним способом кількість пережирювального компонента необхідно враховувати відразу, оскільки лише при методі холодного виливання можна з точністю сказати, що саме пішло в пережир, оскільки всі олії, незалежно від того коли додаються, вступають в реакцію омилення. Зазвичай, пережир виставляють у кількості 10% і, відповідно, кількість води - 33%. При зменшенні кількості пережиру зменшується і кількість води.

Кількість пережирювального компонента може бути різна. Для лікувально-профілактичного мила його потрібно не менше 4-10%, для господарського – 1-2%, для рідкого мила – 3% [346].

Кількість пережирювача для мила, яке виготовляють гарячим методом, розраховують окремо від загальної маси обраних олій, причому у калькуляторі лугу закладається пережир у більшій кількості, враховуючи, що число омилення однієї і тієї ж олії від різних виробників може різнитися [348].

У складі твердого мила повинні бути масла й олії, які надають милу твердості – пальмове, какао, кокосове, олія оливкова, ши та інші – до 65%; а також ті, які після омилення утворюють ПАР з високими піноутворювальними та піностабілізувальними властивостями, – кокосове, бабасу, пальмоядрове, рицинова олія – до 35%. Також до складу твердих мил додають олії та масла, які покращують стан шкіри, забезпечують зволожувальну, та пом'якшувальну дію на шкіру (олія авокадо, мигдалева, манго, макадамії, арганова, виноградних кісточок та ін.), які можуть вводитися до 25% [348, 349]. При цьому слід враховувати, що деякі олії характеризуються усіма зазначеними властивостями – рицинова, оливкова, пальмова, масла купуасу, какао, ши та інші не тільки сприяють твердості і пінності мила, а й покращують стан шкіри рук.

Дані онлайн-програми дозволяють обирати вид мила (тверде/натрієве або рідке /калійне), вміст (за масою або відсотками) різних олій, вміст води (у

відсотках). За допомогою програми автоматично розраховується необхідна кількість луку.

Особливостями таких програм є показники мила, які залежать від виду та кількості олій та жирів і розраховуються автоматично за середнім значенням жирнокислотного складу олій. До таких показників належать: твердість, очищення, кондиціонування, пухирчастість піни, кремовість піни, йодне число та збалансованість рецептури загалом. Поряд із розрахованими значеннями подаються рекомендовані межі.

Для виготовлення мила нами обрано рослинні олії: кукурудзяну, рицинову, пальмову та кокосову. Кокосова та пальмова олії – тверді рослинні масла, що є класичними компонентами основи твердих мил, які забезпечують необхідні консистентні властивості, пластичність мила під час обробки, високу розчинність і піноутворення в холодній воді. Олії кукурудзяну та рицинову – натуральні рідкі рослинні олії – використовували як компонент жирової основи мила для оптимізації жирно-кислотного складу мила.

Олія кукурудзяна містить високу кількість мононенасичених жирних кислот, токоферолів та фосфоліпідів, рицинова – 87% тригліцериду рицинової кислоти, що надає олії специфічних фізико-хімічних (не змішується з вуглеводнями, розчинна у 95% етанолі) та консистентних (загущувальна дія) властивостей. Завдяки введенню рослинних олій основа мила є більш пластичною, не сохне та не розтріскується в процесі зберігання і не пересушує шкірні покриви.

Розрахунок кількості луку, пережигу і води за числом омилення. Для того, щоб розрахувати необхідну кількість луку і води, слід знати число омилення кожного масла. Число омилення обчислюється по КОН і означає, скільки міліграм гідроксиду калію необхідно використати для омилення тригліцеридів і фосфатидів, а також для нейтралізації такої ж кількості вищих жирних кислот, скільки їх міститься в 1 г того чи іншого жиру (рослинного або тваринного).

Для виготовлення мила використовують вихідну сировину, яка відповідає вимогам чинної нормативної документації. Критичними показниками якості для олій, які використовують у миловарінні, є йодне число та число омилення.

Останнє характеризує вміст у жирах і оліях груп, здатних реагувати з лугом. Показники числа омилення кожного виду сировини наводять у паспортах якості, які надаються постачальниками. На основі чисел омилення рослинних олій розраховують кількість лугу, необхідну для одержання мила.

Кількість пережирювального компонента для мила, виготовленого гарячим методом, за даними мильного калькулятора, складає 5-15% і розраховується окремо. При використанні холодного методу її закладають разом після вибору рослинних олій для основи мила, причому кількість пережирювального компонента впливає на кількість лугу, використовуваного для омилення, – необхідно зменшити кількість лугу на відсоток пережирювального компонента.

Розрахунок кількості води. Воду вводять до складу мила від 30 до 35%, її кількість розраховують від загальної маси олій. При використанні малої кількості води дозволяється використання більшої кількості рідких олій, а ще слід зазначити, що мило тоді швидше твердне.

У табл. 4.10 наведено склад основи мила, показники чисел омилення, води та розрахунки кількості лугу, необхідного для омилення олій. Але якщо брати розраховану кількість лугу, мило буде непридатним до використання, оскільки надто пересушуватиме шкіру. Щоб його пом'якшити, кількість лугу зменшують, мило пережирюють.

Таблиця 4.10

Розрахунки компонентів основи твердого мила

Компонент основи мила	Кількість	Значення чисел омилення	Кількість NaOH для омилення
Олія кокосова	40,0 г (25%)	0,186	$40 \cdot 0,186 = 7,44$ г
Олія пальмова	70,0 г (43,8%)	0,140	$70 \cdot 0,140 = 9,80$ г
Олія кукурудзяна	10,0 г (6,2%)	0,136	$10 \cdot 0,136 = 1,36$ г
Олія рицинова	40,0 г (25%)	0,129	$40 \cdot 0,129 = 5,16$ г
Загальна кількість олій	160,0 (100%)	–	–
Загальна кількість лугу	–	–	23,76 г
Вода очищена	48 мл (30% від маси олій)	–	–

Для твердого мила, виготовленого холодним методом, концентрація пережирювального компонента становить від 4 до 10%. За використання мінімального значення розраховуємо кількість лугу: $(23,76/100) \cdot 96 = 22,1$ г.

Лугу (NaOH) для омилення 160,0 г олій необхідно 22,8 г.

Два методи розрахунків (за допомогою електронного калькулятора та з урахуванням чисел омилення олій) дають однакові результати щодо кількості лугу для омилення. На нашу думку, у промисловому виробництві твердого мила використання «мильного калькулятора» для розрахунку кількості лугу є виправданим, проте розрахунок кількості лугу з використанням формули є точнішим, оскільки враховує число омилення рослинних олій згідно з чинною нормативною документацією.

Запропонований склад жирової основи мила, яке містить пальмове (43,8%) та кокосове масло (25%), кукурудзяну (6,2%), рицинову олію (25%). Саме це співвідношення забезпечує необхідні консистентні властивості, пластичність мила, високу розчинність і піноутворення в холодній воді. Для розрахунку кількості лугу з використанням формули слід обґрунтувати кількість пережирювального компонента у складі твердого мила.

Обґрунтування вибору пережирювального компонента. Туалетне мило, що навіть не містить вільного лугу, у водному розчині має лужну реакцію і при митті знежирює шкіру і викликає її сухість. Для запобігання знежиренню шкіри в деякі сорти туалетного мила вводять піджирювачі. Останніми роками спостерігається тенденція до використання рецептур із приблизно однаковим вмістом кислот тваринного жиру і кокосової олії і з додаванням 4-10% вільних аліфатичних кислот.

Загалом пережирювальні компоненти регулюють рН і виконують захисну функцію стосовно шкіри, що компенсує знежирення і подразнювальний ефект від коротколанцюгових мил. Підвищена увага до косметичного стану шкіри після миття визначає вищий рівень вмісту в сучасному туалетному милі інших піджирювальних речовин, що пом'якшують і гідратують шкіру.

Як пережирювальний компонент нами обрано арганову олію. *Арганову олію* одержують із плодів арганового дерева (*Argania spinosa* L.), яке є ендеміком у Марокко. Містить жирні кислоти, токофероли, фенольні сполуки, каротиноїди, сквалени, вітаміни та ін. Арганова олія на 80% складається з ненасичених жирних кислот, у тому числі 35% лінолевої, яка не виробляється в організмі. Олія багата натуральними антиоксидантами – поліфенолами (56 мг/кг) і токоферолами; за вмістом токоферолів в 2,5-3 рази перевищує оливкову олію. Поліфеноли діють як протизапальний засіб, а токофероли захищають клітини від руйнування під впливом шкідливих вільних радикалів. Містить вітамін А, велику кількість стеринів, а також речовини типу антибіотиків і фунгіцидів (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Кількісний вміст основних компонентів арганової олії [237]

№ з/п	Назва компоненту	Кількісне значення
1.	Лінолева кислота (поліненасичена)	35%
2.	Олеїнова кислота (мононенасичена)	45%
3.	Токофероли	62 мг / 100 г
4.	Поліфеноли	5,6 мг / 100 г
5.	Каротин	300 мг / 100 г
6.	Стерини	160 мг / 100 г
7.	Терпенові спирти	150 мг / 100г

У запропонованому складі мила завдяки вмісту комплексу біологічно активних речовин олію використано як пережир – вона покращує стан шкіри рук та володіє регенерувальними й протимікробними властивостями. Кількісний вміст арганової олії обирали з огляду на її вплив на споживчі властивості мила. Вміст олії варіювали в межах від 4 до 10%.

Споживчі властивості оцінювали за низкою таких об'єктивних та суб'єктивних показників: мийна здатність (1), піноутворення (2), стан шкіри: сухість (3) та відчуття стягнутої шкіри (4), ефект пом'якшення (5) та зволоження шкіри (6). Зазначені показники визначали за п'ятибальною шкалою: 1 – відсутній ; 2 – виражений; 3 – чітко виражений; 4 – сильний ; 5 – дуже сильний.

Для встановлення споживчої прихильності до досліджуваних зразків було проведено анкетування серед добровольців ($n = 20$), які разово використовували зразки, заповнювали анкети та оцінювали по шкалі від 1 до 5 за такими критеріями: 1 – мийна здатність; 2 – піноутворення; 3 – відсутність сухості шкіри; 4 – відсутність стягнутої шкіри; 5 – ефект пом'якшення шкіри; 6 – ефект зволоження шкіри після застосування зразків мила. За узагальненими результатами анкетування будували діаграму сенсорного профілю мила залежно від концентрації арганової олії (рис. 4.6).

Сенсорний профіль мила залежно від концентрації арганової олії показано на рис. 4.6. Діаграма демонструє певний вплив пережирювача на піноутворювальну і мийну здатність мила. Закономірно підвищення вмісту неомиленої арганової олії знижує ці показники, однак суттєво покращує стан шкіри після його застосування, знижує відчуття стягнутості та сухості шкіри, зволожує та пом'якшує шкіру. З огляду на комплексний вплив арганової олії на властивості мильної основи обрано 7% пережирювача.

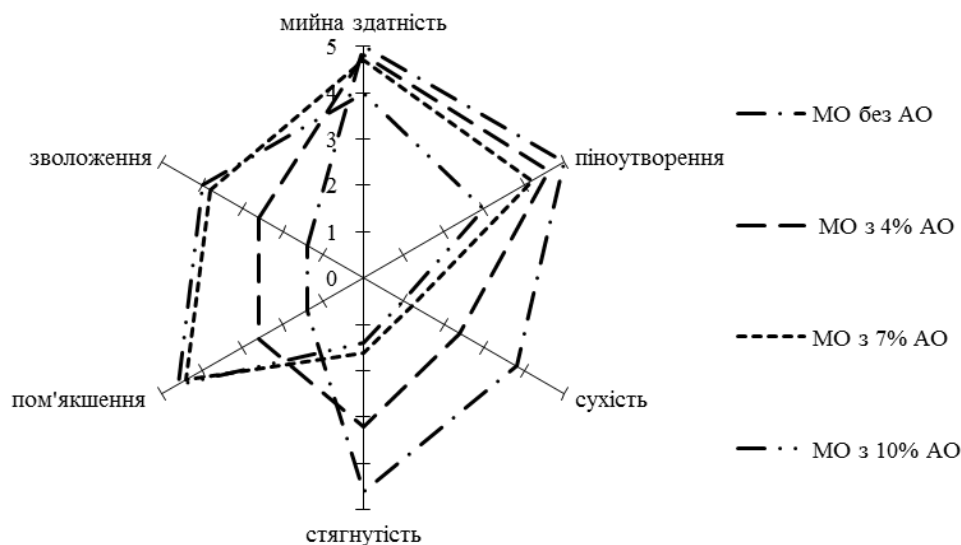


Рис. 4.6. Сенсорний профіль мила залежно від концентрації арганової олії

Для твердого мила розрахована концентрація пережирювального компонента становить 7%, відповідно кількість луку для омилення 160 г олій необхідно 22,1 г: $(23,76/100) \cdot 93 = 22,1$ г. Кінцевий склад мила наведений у табл. 4.12.

Запропонований склад основи мила, на 100,0

Склад основи мила	Кількість, г
Масло кокосове (25%)	16,57
Масло пальмове (43,8%)	29,0
Олія кукурудзяна (6,2%)	4,1
Олія рицинова (25%)	16,57
Олія арганова (+7% від маси олій)	4,6
Гідроксид натрію	9,2
Вода очищена	До 100,0

4.6.2. Обґрунтування вибору технології основи мила

В основу виготовлення мила покладена реакція омилення тригліцеридів вищих жирних кислот натрію або калію гідроксидом з утворенням гліцерину та солей вищих жирних кислот, яка відбувається під час змішування розпавленої суміші олій та водного розчину лугу [349].

Розрізняють технології гарячого, напівгарячого і холодного способів варіння мила.

У лабораторних умовах нами опрацьована технологія одержання натрійного мила із сапропелем гарячим та холодними способами.

Технологія одержання мила гарячим способом. *Підготовка жирової основи.* На водяній бані розпавляли відважені кокосове та пальмове масла, додавали рідкі олії, нагрівали до температури близько 60-70 °С.

Підготовка розчину лугу. У скляний термостійкий стакан вносили розраховану кількість води, поміщали на льодяну баню Поступово, обережно перемішуючи, додавали натрію гідроксид, до повного розчинення (екзотермічна реакція).

Омилення. До суміші олій поступово додавали при перемішуванні розчин лугу. Температура жирової основи та розчину лугу були максимально наближеними - близько 60-70 °С. Залишали на 10 хв у спокої. Далі перемішували в декілька прийомів, з перервами по 10 хв, при 30-40 об/хв змішувача, досягаючи кремоподібної консистенції, яка не розшаровувалася протягом 10 хв.

Одержану масу поміщали на киплячу водяну баню, накривали кришкою і нагрівали 1,5-2 год, перемішуючи через кожні 30 хв. Нагрівання здійснювали до одержання рН 7-8.

Знімали з бані. Охолоджували до температури 50 °С.

Додавання пережирювального компонента (арганова олія) та сапропасти. Додавали арганову олію та сапропасту (5% і 10%) і перемішували при 30-40 об./хв змішувача протягом 10-15 хв до однорідної кремоподібної маси.

Формування. Розкладали у форми для визрівання та витримували протягом доби.

Контроль якості. Якість зразків мила оцінювали за органолептичними та фізико-хімічними показниками, згідно з ДСТУ 4537:2006 за методиками, описаними в ГОСТ 790-89 [262, 263].

Технологія одержання мила холодним способом. Виготовлення твердого мила холодним способом має низку переваг, які полягають у тому, що антибактеріальний компонент і арганова олія додаються одночасно, технологічна операція омилення не потребує тривалого нагрівання (відбувається при «дозріванні» мила) і контролю рН.

Підготовка жирової основи. На водяній бані розплавляли відважені кокосове та пальмове масла, додавали рідкі олії, нагріваючи до температури близько 60-70 °С.

Підготовка розчину лугу. У скляний термостійкий стакан вносили розраховану кількість води, вміщали на льодяну баню. Поступово, обережно перемішуючи, додавали натрій гідроксид до повного розчинення (екзотермічна реакція).

Омилення. До суміші олій поступово додавали при перемішуванні розчин лугу. Температура жирової основи та розчину лугу були максимально наближеними - близько 60-70 °С. Залишали на 10 хв у спокої. Далі в декілька прийомів, з перервами по 10 хв, при 30-40 об/хв змішувача досягали однорідної кремоподібної маси, яка не розшаровувалася протягом 10 хв.

Додавання пережиру (арганова олія) та сапропасти. Додавали арганову олію та сапропасту (5% і 10%), розливали у форми, накривали спеціальним матеріалом зі теплозбережними властивостями (для проходження гелевої фази) і залишали на добу. Через добу виймали із форми і залишали «дозрівати» в добре провітрюваному приміщенні на 4-6 тижнів для завершення реакції омилення.

Контроль якості. Якість зразків мила оцінювали за органолептичними та фізико-хімічними показниками, згідно із ДСТУ 4537:2006 за методиками, описаними в ГОСТ 790-89 [262, 263].

Отримані за різними технологіями зразки мила з вмістом сапропасти 5 і 10% та зразок для порівняння, що не містив сапропасту, досліджували за органолептичними та фізико-хімічними показниками (якісне число ЯЧ, масову частку МЧ жирних кислот у перерахунку на номінальну масу куска 100 г, МЧ содопродуктів у перерахунку на Na_2O та МЧ вільного їдкого лугу, температуру застигання жирних кислот, що виділені з мила (титр), масову частку хлориду натрію). Результати досліджень наведені у табл. 4.13 та табл. 4.14. Усі зразки мила, отриманого гарячим методом не відповідають вимогам ДСТУ 4537:2006, оскільки на поверхні мила є тріщини, смуги, випоти і плями, в розрізі досліджуване мило неоднорідне. При використанні «холодного» методу за органолептичними показниками усі зразки мила відповідають вимогам нормативної документації (табл. 4.13). За фізико-хімічними показниками: «Якісне число (маса жирних кислот у перерахунку на номінальну масу куска 100 г)»; «Масова частка содопродуктів у перерахунку на Na_2O » та «Масова частка хлориду натрію» (табл. 4.13) усі зразки твердого мила, отримані холодним та гарячим методом, відповідають нормам для мила марок зазначених в ДСТУ4537:2006 «Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови», а саме: «Спеціальне» (С) з дезінфікуючими або лікувальними-профілактичними добавками (Л).

Результати досліджень органолептичних показників мила, отриманого гарячим і холодним методом

Назва показника	Норма ДСТУ 4537:2006*	Мило, отримане гарячим методом			Мило, отримане холодним методом		
		Без сапропелю	Мило з 5% сапропелю	Мило з 10% сапропелю	Без сапропелю	Мило з 5% сапропелю	Мило з 10% сапропелю
Зовнішній вигляд	У розрізі однорідне. Поверхня куска із рисунком або без рисунка. Не допустимі на поверхні мила тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп повинен бути чіткий	У розрізі неоднорідне. Поверхня куска без рисунка. На поверхні мила є тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі неоднорідне. Поверхня куска без рисунка. На поверхні мила є тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі неоднорідне. Поверхня куска без рисунка. На поверхні мила є тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. Поверхня куска без рисунка. Відсутні на поверхні мила тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній.	У розрізі однорідне. Поверхня куска без рисунка. Відсутні на поверхні мила тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. Поверхня куска без рисунка. Відсутні на поверхні мила тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній
Форма	Форма куска мила — згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г
Колір	Згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Білий	Світло-коричневий з білими включеннями	Коричневий з білими включеннями	Білий	Коричневий	Темно-коричневий
Запах	Згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній

Примітка: *Нормативний показник для мила «Спеціальне» (С) з дезінфікуючими або лікувальними-профілактичними добавками (Л).

Результати досліджень фізико-хімічних показників мила, отриманого гарячим і холодним методом

Назва показника	Норма згідно з ДСТУ 4537:2006*	Мило, отримане гарячим методом			Мило, отримане холодним методом		
		Мило без сапропелю	Мило з 5% сапропелю	Мило з 10% сапропелю	Мило без сапропелю	Мило з 5% сапропелю	Мило з 10% сапропелю
ЯЧ (маса жирних кислот у перерахунку на номінальну масу куска 100 г), г; не менше, ніж	74	80±0,3	74,2±0,1	74,3±0,2	79±0,4	74,2±0,1	74,1±0,1
МЧ содопродуктів у перерахунку на Na ₂ O, %; не більше, ніж	0,15	0,05±0,011	0,02±0,012	0,01±0,013	Відс.	0,02±0,011	0,01±0,014
Температура застигання жирних кислот, що виділені з мила, титр	35-41	37±0,7	39±0,5	38±0,4	37±0,6	39±0,3	38±0,2
МЧ хлориду натрію, %; не більше, ніж	0,4	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.

Примітка: *Нормативний показник для мила «Спеціальне» (С) з дезінфікуючими або лікувальними-профілактичними добавками (Л).

Отже, за результатами дослідження органолептичних і фізико-хімічних показників мила із вмістом сапропасти 5 та 10%, які представлені у табл. 4.13 та табл. 4.14, встановлено, що мило, отримане холодним методом, відповідає нормам для мила марок зазначених у ДСТУ4537:2006 «Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови», а саме: «Спеціальне» (С) з дезінфікуючими або лікувальними-профілактичними добавками (Л).

4.6.3. Обґрунтування концентрації сапропасти

З метою визначення концентрації сапропасти у складі піномийного засобу нами досліджено антимікробну активність дослідних зразків мила, що містить 5 % та 10% сапропасти. Протимікробну активність дослідних зразків мила вивчали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів») [252, 350].

У результаті вивчення антимікробних властивостей зразків мила стосовно різних культур мікроорганізмів встановлено, що зразки мила володіють антимікробною активністю до мікроорганізмів (табл. 4.15).

Таблиця 4.15

Антимікробна активність експериментальних зразків мила, n=3

Зразок	Культури мікроорганізмів			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Основа мила	12,3±0,2	12,5±0,2	11,8±0,2	11,7±0,3
№ 1 – 5% сапропасти	22,2±0,4	26,4±0,5	22,6±0,5	25,6±0,4
№ 2 – 10% сапропасти	26,4±0,5	29,6±0,5	24,8±0,4	26,8±0,4

Порівнюючи дослідження антимікробної активності сапропелю, представлені у розділі 3, та експериментальних зразків основи мила, можна зробити висновок, що основа мила виявляє антимікробну активність до *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* та *Candida albicans*, що може бути пов'язане з синергізмом дії основи мила і сапропасти, а також із підвищенням швидкості вивільнення завдяки наявності ПАР [351].

Слід зазначити, що бактеріальні штами, а саме грампозитивні культури *Staphylococcus aureus* і *Bacillus subtilis*, грамнегативна культура *Escherichia coli* є

чутливими до зразків мила як 5 так і 10% (діаметри зони пригнічення росту культур від $22,2 \pm 0,4$ мм до $29,6 \pm 0,5$ мм). Стосовно дріжджоподібного гриба роду кандида *Candida albicans* досліджувані зразки мила 5 і 10% проявили антифунгальну активність - діаметри зон пригнічення росту культури становлять $25,6 \pm 0,4$ і $26,8 \pm 0,4$ мм. Слід зазначити, що найбільш чутливими до дії зразків мила є культури *Bacillus subtilis* і *Candida albicans*.

При порівнянні протимікробної активності зразків мила 5 і 10% було встановлено, що зразок, який містить 10% сапропасти проявляє більшу антимікробну активність до усіх тест-культур, тому саме ця концентрація обрана для піномийного засобу «Антибактерійне мило з сапропелем» [352]. У результаті експериментальних досліджень запропоновано склад мила, наведений у табл. 4.16.

Таблиця 4.16

Запропонований склад мила, на 100,0

Компонент		Кількість, г
Склад основи мила		
Масло кокосове (25%)	100 %	16,57
Масло пальмове (43,8%)		29,0
Олія кукурудзяна (6,2%)		4,1
Олія рицинова (25%)		16,57
Олія арганова (+7% від маси олій)		4,6
Гідроксид натрію		9,2
Вода очищена		До 100,0
Склад мила		
Основа мила		90,0
Сапропаста		10,0

4.6.4. Розробка технології мила з сапропастою

Технологічний процес виробництва складається з раціонально спланованої системи взаємопов'язаних процесів з оптимально узгодженими входами і виходами кожного з них [335]. Було розраховано необхідну кількість компонентів для кожної технологічної стадії із урахуванням температури плавлення, розчинності, послідовності і поетапності змішування компонентів та інших параметрів та їх впливу на якість препарату. Технологічний процес виробництва

даного засобу передбачає дотримання необхідних правил і вимог ДСТУ EN ISO 22716:2015 «Косметика. Належна виробнича практика [332]».

Технологічний процес складається з таких стадій: відважування компонентів для приготування жирової основи, приготування розчину лугу, приготування мильного розчину, введення сапропасти та арганової олії, виливання у форми, пакування і маркування готового продукту. Технологічна схема виробництва твердого мила із сапропастою у промислових умовах показана на рис. 4.8.

Підготовка виробництва складається з підготовки приміщень, обладнання і устаткування, персоналу, сировини і матеріалів, перевірки необхідної документації. Сировину, необхідну для виробництва мила (кокосове, пальмове масло, кукурудзяну, рицинову, арганову олії, сапропасту, натрію гідроксид та воду очищену), після проходження вхідного контролю доставляють на ділянку за допомогою транспортних візків.

Стадія 1. Відважування компонентів. На вагах в окремих промаркованих чистих ємностях відважують необхідну кількість компонентів, які зазначені у рецептурі, та доставляють на ділянку за допомогою транспортних візків.

Стадія 2. Приготування жирової основи. На стадії виготовлення жирової основи в реактор з якірним змішувачем, що забезпечує ефективність процесу перемішування компонентів, завантажують розраховану кількість пальмового та кокосового масел розплавляють при температурі 60-70 °С, додають кукурудзяну та рицинову олії, перемішують до повного сплавлення при температурі близько 60-70 °С протягом 20-30 хв зі швидкістю рамного змішувача 40 об/хв.

Стадія 3. Приготування розчину лугу. Відважену кількість гідроксиду натрію розчиняють у воді очищеній в окремій ємності до повного розчинення при охолодженні розчину до 60-70 °С враховуючи, що реакція є екзотермічною.

Стадія 4. Приготування мильного розчину. Через верхній завантажувальний люк до сплаву олій при активованому рамному змішувачі 30-40 об/хв і температурі 60-70 °С дуже повільно вводять розчин лугу і перемішують протягом 20-30 хв до отримання однорідної пластичної маси.

Стадія 5. Уведення сапропасти та арганової олії. За допомогою рамного змішувача реактора при 40 об/хв і температурі 50-60 °С послідовно відважені (стадія 1) компоненти вводять у реактор через завантажувальний люк і перемішують протягом 15-25 хв зі швидкістю 40 об/хв.

Стадія 6. Формування мила. Формують мило шляхом виливання у гарячому стані у форми. Через 2-3 дні нарізають на шматочки (бруски) і залишають «дозрівати» на 4-6 тижнів.

Стадія 7. Пакування мила у коробки. Мило пакують у паперові коробки, виготовлені з матеріалів згідно з ДСТУ4537:2006 «Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови».

Стадія 8. Пакування коробок у ящики. Паперові коробки пакують у ящики вручну.

Критичні точки кожної стадії процесу виробництва антибактерійного мила із сапропастою наведено в табл. 4.17.

Таблиця 4.17

Основні критичні параметри виробництва мила

Назва технологічної стадії	Назва технологічного параметра	Показники технологічного параметра
Відважування компонентів	Маса сировини	Відповідно до НД
Приготування жирової основи	Повнота розплавлення Час перемішування Режим роботи змішувача Температура	Відповідно до виробн. рецептур. (візуально) (20±5) хв 40 об/хв (65±5)°С
Приготування розчину лугу	Повнота розчинення Температура	Відповідно до виробн. рецептур. (візуально) (65±5)°С
Приготування мильного розчину	Час перемішування Режим роботи змішувача Температура	(20±5) хв (35±5) об/хв (65±5)°С
Уведення сапропасти та арганової олії	Час перемішування Режим роботи змішувача Однорідність маси Температура	(20±5) хв 40 об/хв Відповідно з виробн. рецептур. (візуально) (55±5)°С
Фасування мила	Правильність маркування Маса вмісту пакування	(100 ±3) г

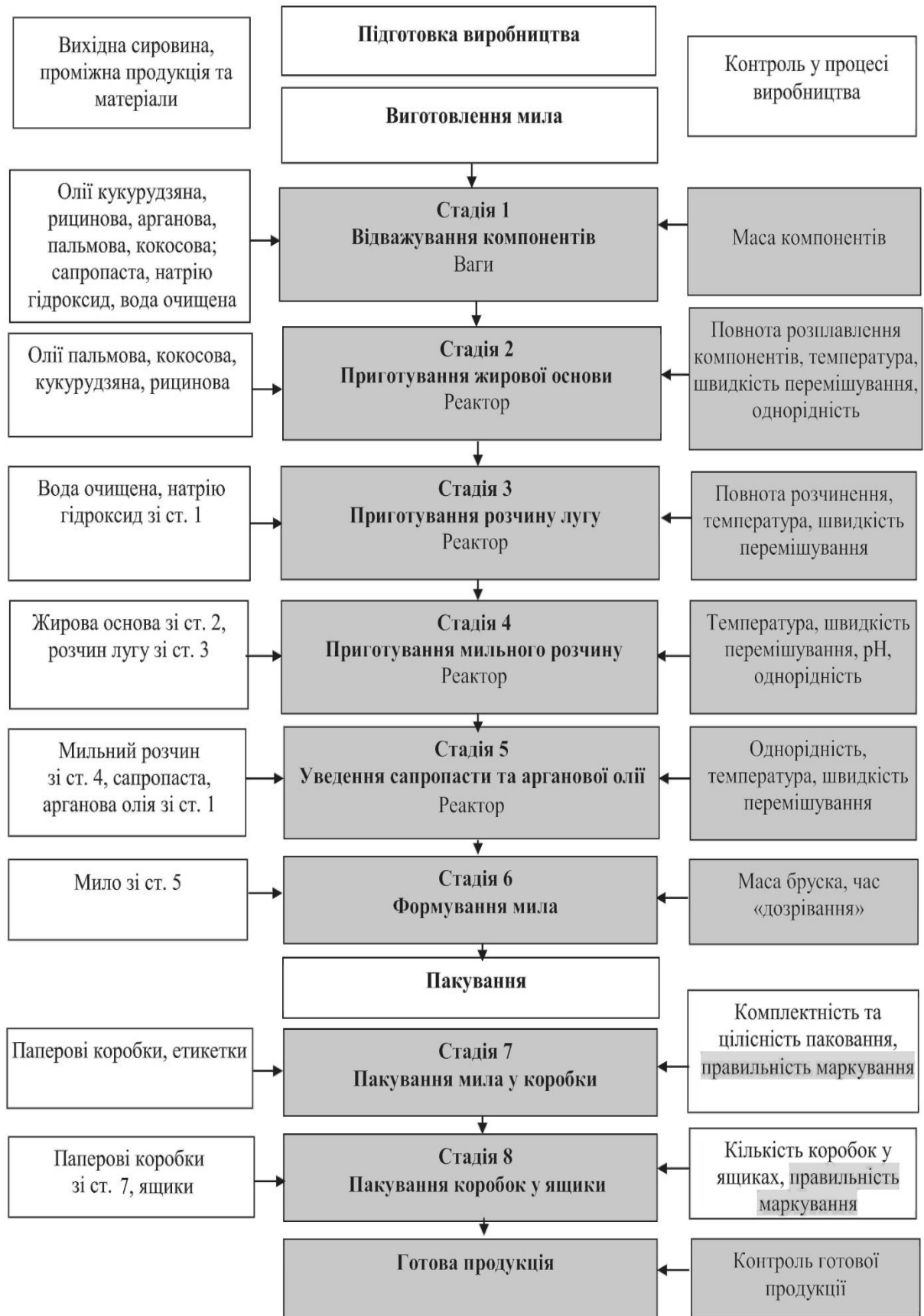


Рис. 4.8. Технологічна схема виробництва мила

На підставі проведених досліджень запропоновано склад і технологію піномийного засобу «Антибактерійне мило з сапропелем». Наукова новизна захищена патентом України на корисну модель: «Піномийний засіб «Антибактерійне мило з сапропелем»» № 127142 від 25.07.2018 р. [353]. (додаток Ж). Технологію піномийного засобу «Антибактерійне мило із сапропелем» апробовано в умовах промислового виробництва СП АТ «Фармако» (акт апробації від 05.09.2019 р.) (додаток І).

4.6.5. Дослідження показників якості та стабільності в процесі зберігання піномийного засобу з сапропастою

Як свідчать результати вивчення органолептичних і фізико-хімічних показників експериментальних зразків (табл. 4.17), мило відповідає вимогам ДСТУ 4537:2006.

З метою визначення терміну придатності піномийного антибактерійного засобу з сапропастою були закладені на зберігання у паперові коробки вмістом по 100,0 при температурах (5 ± 3) °C і (25 ± 2) °C. Стабільність досліджуваного засобу визначали на п'яти серіях кожного засобу, розфасованого у первинному пакуванні, протягом 27 місяців.

Стабільність за однією серією розробленого засобу оцінювали відразу після виготовлення та кожні 3 місяці протягом 2 років і 3 місяців зберігання за органолептичними (зовнішній вигляд, колір, запах), фізико-хімічними (ЯЧ, МЧ содопродуктів, МЧ хлориду натрію, температура застигання ЖК, що виділені з мила та початковий об'єм піни) показниками. Результати дослідження стабільності розробленого засобу наведені у табл. 4.18. Як видно з даних табл. 4.18, експериментальні зразки за органолептичними та фізико-хімічними показниками протягом 2 років зберігання при двох температурних режимах не змінювали досліджувані характеристики і відповідали вимогам ДСТУ. Результати вивчення стабільності інших чотирьох досліджуваних серій кожного розробленого засобу були ідентичними.

Результати досліджень органолептичних і фізико-хімічних показників мила із сапропастою

Назва показника	Характеристика мила		
	Норма ДСТУ 4537:2006	Результат дослідження	Метод дослідження
Зовнішній вигляд	У розрізі однорідне. Поверхня куска із рисунком або без рисунка. Не допустимі на поверхні мила тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп повинен бути чіткий.	У розрізі однорідне. На поверхні мила немає тріщин, смуг, випотів, плям. Штамп відсутній	Згідно з п. 3.1 ГОСТу 790
Форма	Форма куска мила — згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Згідно з п. 3.1 ГОСТу 790
Колір	Згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Темно-коричневий	Згідно з п. 3.1 ГОСТу 790
Запах	Згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Відсутній	Згідно з п. 3.1 ГОСТу 790
Якісне число (ЯЧ) (маса жирних кислот у перерахунку на номінальну масу куска 100 г), г; не менше, ніж	74	74,3±0,2	Згідно з п.3.2 ГОСТу 790
Масова частка (МЧ) содопродуктів у перерахунку на Na ₂ O, %; не більше, ніж	0,15	0,01±0,013	Згідно з п.3.3, 3.4 ГОСТу 790
Масова частка (МЧ) хлориду натрію, %; не більше, ніж	0,4	Відсутні	Згідно з п.3.6 ГОСТу 790
Температура застигання жирних кислот що виділені з мила (титр), °С; у межах	35—41	38±0,4	Згідно з п.3.6 ГОСТу 790
Початковий об'єм піни, см ³ ; не менше	380	395±10	Згідно з п.3 додатку 3 ГОСТу 790

Таблиця 4.18

Результати визначення показників якості зразків антибактеріального мила із сапропастою у процесі зберігання

Назва показника	Допустимі норми	Результати аналізу					
		Початкові	6 місяців	12 місяців	18 місяців	24 місяців	27 місяців
при температурі (5±3) °C							
1	2	3	4	5	6	7	8
Зовнішній вигляд	У розрізі однорідне. Поверхня куска без рисунку. Відсутні на поверхні мила тріщини, смуги, випоти, плями	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній
Форма	Форма куска мила — згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г
Колір	Згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Темно коричневий	Темно коричневий	Темно коричневий	Темно коричневий	Темно коричневий	Темно коричневий
Запах	Згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній
ЯЧ, г; не менше, ніж	74	74,3±0,2	74,3±0,2	74,2±0,1	74,1±0,1	74,1±0,1	74,1±0,1
МЧ содопродуктів у перерахунку на Na ₂ O, %; не більше, ніж	0,15	0,01±0,013	0,03±0,018	0,05±0,01	0,05±0,011	0,07±0,010	0,07±0,012
МЧ хлориду натрію, %; не більше, ніж	0,4	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.
Температура застигання жирних кислот, що виділені з мила (титр), °C; у межах	35—41	38±0,4	38±0,8	39±0,5	39±0,8	40±0,2	40±0,3

1	2	3	4	5	6	7	8
Початковий об'єм піни, см ³ ; не менше, ніж	380	395±12	395±12	393±10	392±7	392±11	391±10
при температурі (25±2) °C							
Зовнішній вигляд	У розрізі однорідне. Поверхня куска без рисунку. Відсутні на поверхні мила тріщини, смуги, випоти, плями	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній	У розрізі однорідне. На поверхні мила відсутні тріщини, смуги, випоти, плями. Штамп відсутній
Форма	Форма куска мила — згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г	Кусок мила у формі прямокутного паралелепіпеда, 100 г
Колір	Згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Темно коричневий	Темно коричневий	Темно коричневий	Темно коричневий	Темно коричневий	Темно коричневий
Запах	Згідно з технічним описом для мила конкретної назви	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній	Відсутній
ЯЧ, г; не менше, ніж	74	74,3±0,1	74,4±0,2	74,2±0,1	74,2±0,1	74,2±0,1	74,1±0,1
МЧ содопродуктів у перерахунку на Na ₂ O, %; не більше, ніж	0,15	0,01±0,013	0,01±0,018	0,01±0,011	0,09±0,010	0,1±0,013	0,12±0,011
МЧ хлориду натрію, %; не більше, ніж	0,4	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.	Відс.
Температура застигання жирних кислот що виділені з мила (титр), °C; у межах	35—41	38±0,4	38±0,8	39±0,5	39±0,8	40±0,2	40±0,3
Початковий об'єм піни, см ³ ; не менше, ніж	380	395±12	394±10	394±10	393±10	392±9	391±10

Отже, досліджувані показники мила із сапропастою протягом 2 років дослідження у паперових коробках не змінювались, що дає змогу рекомендувати термін зберігання розробленого засобу 2 роки при температурі до 25 °С.

Висновки до розділу 4

1. Досліджено органолептичні і фізико-хімічні показники нового пастоподібного продукту із сапропелю – сапропасти. Встановлено, що сапропаста володіє необхідними пластичними та адгезійними властивостями, високою масовою часткою вологи, що забезпечує їй високу теплоємність і теплопровідність, значенням рН у межах фізіологічно допустимих норм для наскірнього застосування та необхідною мікробіологічною чистотою, що дає можливість використовувати її у косметології для обгортань та як основи для косметичних масок. Налагоджено виробництво в умовах ТОВ «Зендер – Україна» (акт впровадження від 15.11.2019 р.).

2. Розроблено та затверджено ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 «Сапропель натуральні косметичні та засоби з них» на сапропель та сапропасту, в які закладені основні органолептичні, фізико-хімічні, мікробіологічні та токсикологічні показники якості та безпечності на сапропель та сапропасту.

3. Запропоновано лінію масок різного складу і призначення на основі сапропасти, новизна яких захищена патентом на винахід «Косметична сапропелева маска» № 114262 від 10.05.2017 р. та патентом на корисну модель «Косметична сапропелева маска» № 113942 від 27.02.2017 р.

4. Запропоновано склад основи твердого антибактеріального мила з сапропастою, яке містить пальмове (43,8%) та кокосове масло (25%), кукурудзяну (6,2%), рицинову олію (25%). За результатами аналізу впливу на споживчі властивості як пережирювальну речовини обрано 7% арганової олії від загальної маси олій.

5. На основі результатів дослідження антимікробної активності дослідних зразків мила обрано концентрацію сапропасти. Встановлено, що зразок, який містить 10% сапропасти проявляє більшу антимікробну активність до усіх тест-культур.

6. За результатами експериментальних досліджень з визначення впливу методу отримання на властивості мила запропонована технологія виробництва – холодний метод одержання мила. Запропонована технологічна схема виготовлення антибактерійного мила з сапропастою в умовах промислового виробництва. Проведено апробацію технологічного процесу виготовлення препарату на СП АТ «Фармако» (м. Кишинів, Республіка Молдова).

7. У результаті досліджень встановлено, що за показниками якісного числа (маса жирних кислот у перерахунку на номінальну масу куска 100 г), масової частки содопродуктів у перерахунку на Na_2O та масової частки хлориду натрію мило з 10% сапропасти, відповідає нормам ДСТУ4537:2006 «Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови» для мила марок «Спеціальне» (С) з дезінфікуючими або лікувальними-профілактичними добавками (Л). Експериментально доведено стабільність розробленого засобу протягом 27 місяців зберігання при кімнатній температурі, що дало змогу рекомендувати термін придатності – 2 роки при температурі до 25°C. Склад мила захищено патентом «Піномийний засіб «Антибактерійне мило з сапропелем»» № 127142 від 25.07.2018 (Додаток Ж).

Результати досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Струс О. Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою. *Вісник фармації*. 2016. № 3 (87). С. 51–54.

2. Струс О. Є., Половко Н. П., Філіпська А. М., Рехлецька О. В. Розробка складу і технології мила з сапропелем. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 35–41.

3. Струс О. Є., Стрілець О. П., Половко Н. П. Дослідження антимікробної активності мила з сапропелем. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук.пр. 2017. Вип. 2. С. 168–171.

4. Струс О. Є., Половко Н. П. Обґрунтування складу косметичних засобів на основі сапропелю родовища Прибич Шацьких озер. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства* : матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Одеса, 20–21 лют. 2015 р. Одеса, 2015. С. 10–13.

5. Косметична сапропелева маска : пат. (на винахід) 114262 Україна. № а 2016 07575 ; заявл. 11.07.2016; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9, 8 с.

6. Косметична сапропелева маска : пат. (на корисну модель) 113942 Україна. № у 201607573; заявл. 11.07.2016; опубл. 27.02.2017, бюл. № 4, 6 с.

7. Піномийний засіб «Антибактерійне мило з сапропелем» пат. (на корисну модель) 127142 Україна. № у 2017 09363; заявл. 25.09.2017; опубл. 25.07.2018, бюл. № 14, 4 с.

РОЗДІЛ 5

НАУКОВО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАКТІВ САПРОПЕЛЮ

5.1. Отримання та дослідження водного екстракту сапропелю

За результатами узагальнення наявних методів для виділення гумусових кислот із сапропелю встановлено, що використовують неорганічні або органічні екстрагенти, проводять екстракцію при відповідних умовах (підвищена температура, надлишковий тиск), використовують механохімічну активацію, ультразвук, хімічну модифікацію при підвищених температурах тощо. У більшості відомих технологій для виготовлення гумінових препаратів на заключному етапі використовують кислоту для осадження ГК з подальшим висушуванням або доведенням реакції розчину до нейтральної [148]. За даними літератури при розробці технологічних засад виготовлення гумінових препаратів найраціональнішим є використання гідроксиду натрію як розчинника та механохімічної активації, яка полягає в збільшенні ефективної поверхні контакту між компонентами дисперсних систем, зменшенні дифузійних взаємозв'язків за рахунок порушення морфології сировини і створенні умов для ефективного протікання хімічних перетворень речовин у високорозчинні у воді форми. Вихід ГК у результаті механохімічних перетворень зростає в 1,5 рази [148]. Ці підходи були використані для виготовлення водного екстракту сапропелю із високим вмістом гумусових кислот.

Зневоднення всіх видів сапропелю обумовлюється економічною і технологічною доцільністю, а також забезпечує високу біологічну активність сапропелю, оскільки у процесі аерації сапропелевої маси активізується життєдіяльність мікроорганізмів, що прискорюють біохімічні процеси і вивільняють поживні елементи з важкодоступних сполук, змінюються фізико-механічні властивості сапропелю: він стає структурованим, розсипчастим, добре намокає [14, 16].

Для визначення залежності виходу гумусових речовин від технологічних параметрів екстракт отримували за двома технологіями:

- перша, класична [148], за якою ВЕС (зразок 1) отримували шляхом обробки сапропелю родовища Прибич Волинської області (вологістю 60%) 0,1 н розчином гідроксиду натрію у водному середовищі при співвідношенні сапропелю і води 1:10 з рН не більше 10 з одночасною гомогенізацією отриманої суміші при 90 °С протягом 2 год, після чого випарювали в вакуум-випарному апараті (при температурі 50-60 °С) до співвідношення 1:10 до початкового об'єму;
- для покращення взаємодії гідроксидів лужних металів із сапропелем та підвищення вмісту гумусових кислот в екстракті (технологія 2, зразок 2) проводили виготовлення екстракту методом диспергування за допомогою промислової установки – диспергатора (кавітатора) ДЕС 350/4000 (Україна) зі швидкістю 3000 об/хв протягом 60 хв при температурі 50-60 °С і надлишковому тиску 1 атм до отримання однорідної суміші.

ВЕС отримували за наступною схемою : 10 кг сапропелю (вологість сапропелю 60%), попередньо подрібненого і просіяного крізь сито діаметром 1-5 мм, засипали у диспергатор; додавали луг (гідроксид натрію) (400 г) та воду (до 100 л 99600 мл) у співвідношенні сапропель:0,1 н водний розчин луку – 1:10 і проводили диспергацію. Відстоювали і фільтрували. Випарювали отриманий екстракт до 1:10 початкового об'єму у вакуум-випарному апараті (при температурі 50-60°С).

Отримані витяги зливали і відстоювали 1 добу. Після відстоювання рідку фракцію зливали і відбирали зразки для проведення реакцій ідентифікації та кількісного визначення вмісту сумарної частки ГК згідно з методом, описаним у розділі 2. «Визначення сумарної частки гумінових кислот» [264].

Вміст сумарної частки ГК у ВЕС, отриманому методом кавітації склав $83,8 \pm 0,12$ мг/г, що свідчить про збільшення виходу ГК порівняно з класичним методом на 7,61 мг/г (майже на 9 %) [354] (табл. 5.1).

Технологічна схема виробництва ВЕС показана на рис. 5.1.

Таблиця 5.1

Результати кількісного визначення сумарної кількості ГК у досліджуваних екстрактах

Назва показника	Екстракти	
	Зразок 1 ВЕС (класичний метод)	Зразок 2 ВЕС (кавітація)
Вміст ГК, мг/г	76,19 ±0,26	83,8 ±0,12

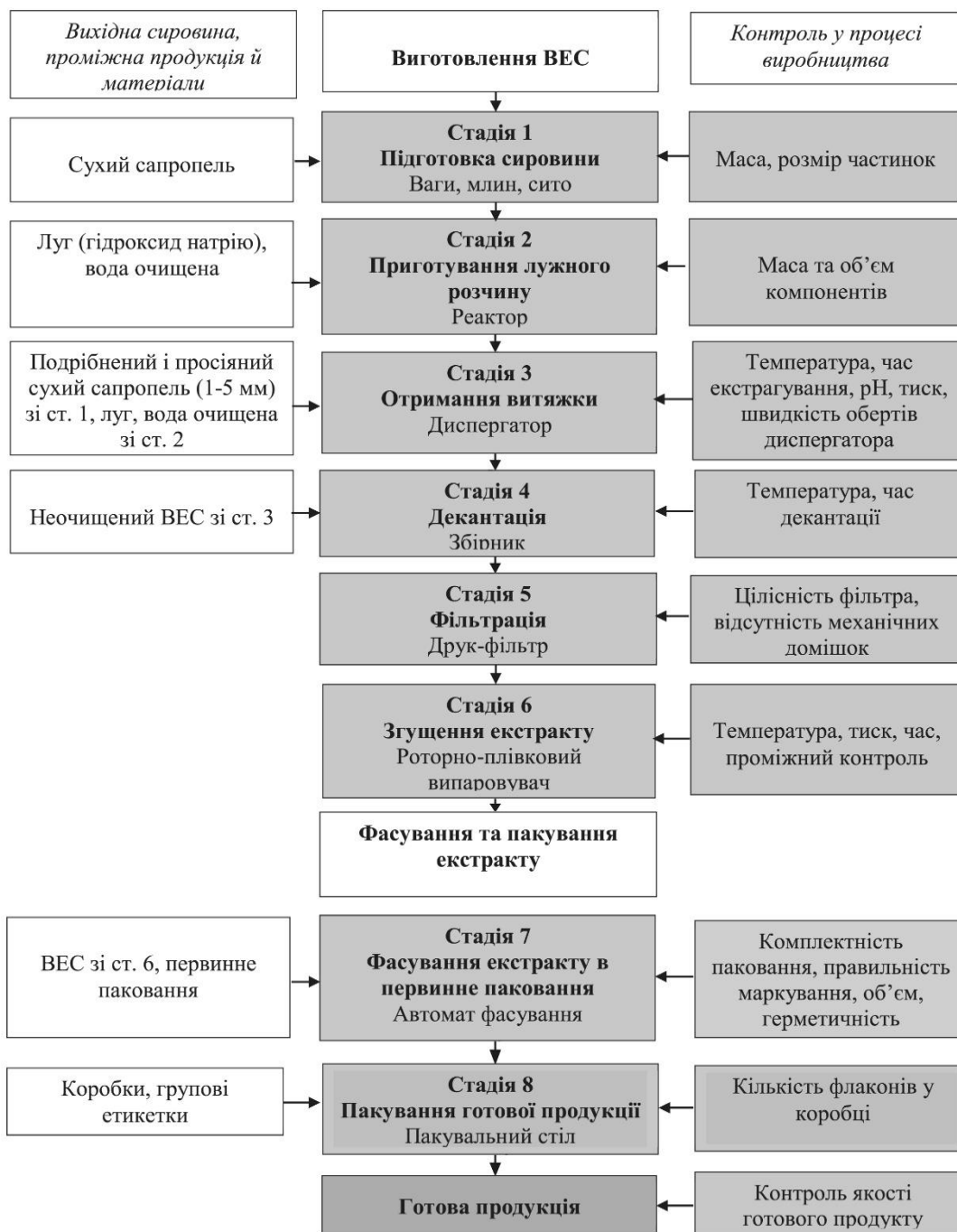


Рис. 5.1. Технологічна схема виробництва ВЕС

Технологічний процес передбачає такі стадії: підготовка сировини та екстрагента, екстрагування, відстоювання, фільтрування і випарювання.

Стадія 1. Підготовка сировини. Сапропель сухий згідно з ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 (вологістю 60%) у мішках, які пройшли вхідний контроль, доправляють на ділянку зі складу за допомогою транспортних візків.

Сапропель сухий подрібнюють на млині та просіюють через сито для отримання фракції (1-5) мм. Просіяну сировину зважують на електронних вагах і збирають у мішки, на які прикріплюють ідентифікаційні етикетки і передають на стадію 3 «Отримання екстракту».

Стадія 2. Приготування лужного розчину. Лужний розчин гідроксиду натрію одержують шляхом змішування 400 г гідроксиду натрію та 99600 мл води очищеної для отримання 0,1 н розчину і передають на стадію 3 «Отримання екстракту».

Стадія 3. Отримання витягу. Подрібнену та просіяну сировину зі стадії 1 завантажують у диспергатор, додають 0,1 н лужний розчин натрію гідроксиду у співвідношенні 1:10 і диспергують протягом 60 хв при швидкості обертів диспергатора 3000 об./хв, при температурі 50-60 °C та надлишковому тиску 1 атм.

Після завершення екстрагування та охолодження ВЕС до кімнатної температури, його зливають у збірник. Відпрацьовану сировину вивантажують і відтискають за допомогою фільтр-пресу у збірник, отриманий екстракт об'єднують з основною порцією ВЕС і рідину передають на стадію 4 «Декантація».

Стадія 4. Декантація. Декантацію проводять у збірнику, що обладнаний оболонкою для охолодження. Лужний витяг декантують при температурі 3-5 °C не менше однієї доби для отримання прозорої рідини.

Після відстоювання витяг передають за допомогою вакуума на стадію фільтрації.

Стадія 5. Фільтрація. Фільтрують за допомогою вакуумного фільтра (друк-фільтр). Залишок ВЕС зі збірника очищають від механічних домішок за допомогою фільтр-пресу.

Стадія 6. Загущення екстракту. Випарюють у роторному випарнику під вакуумом при температурі 60-70 °С до 1:10 від початкового об'єму. Після цього одержаний концентрат передають на стадії фасування та пакування.

Стадія 7. Фасування екстракту у первинну упаковку. За допомогою вакууму екстракт зі збірника переносять до бункера фасувального автомата. Процес фасування ВЕС у флакони та їх закупорювання відбувається на автоматичній фасувальній лінії, наклеювання етикеток – на напіваавтоматі. Фасування ВЕС здійснюють по 500 або 1000 мл у полімерні флакони з полімерними корками.

Закупорені флакони з ВЕС подають транспортером до етикетувального автомата, за допомогою якого наклеюють на їх поверхні самоклеючі етикетки. На етикетці вказується назва ВЕС, об'єм, назва і адреса підприємства-виробника, номер серії, термін придатності, умови зберігання. Флакони з ВЕС передають на стадію пакування їх у коробки.

Стадія 8. Пакування готової продукції. На пакувальному столі вручну пакують флакони з ВЕС у коробки (вторинне пакування).

Контроль якості готової продукції (у лабораторії відділу контролю якості) здійснюють згідно з ТУ У 20.1-2870305538-004:2016.

У табл. 5.2 наведено критичні параметри і стадії, які безпосередньо контролюються.

Контроль якості розробленого ВЕС за вимогами ТУ «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них» проводили за показниками: опис (зовнішній вигляд, колір, запах, консистенція), ідентифікація ГК, значення рН, масова частка сухого залишку, вміст органічної речовини, мікробіологічна чистота та кількісне визначення сумарної частки ГК.

Основні критичні параметри виробництва ВЕС

Назва технологічної стадії	Назва технологічного параметра	Показники технологічного параметра
Підготовка сировини і екстрагента	Розмір сировини Вологість сировини Маса сировини Маса і об'єм екстрагенту	1 - 5 мм Відповідно до ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 Відповідно до виробничої рецептури Відповідно до виробничої рецептури
Отримання витягу	Температура екстракції Час екстракції Значення pH Швидкість кавітації Тиск	$(55 \pm 5)^\circ \text{C}$ $60 \pm 5 \text{ хв}$ 9 ± 2 $(3000 \pm 50) \text{ об/хв}$ $(1 \pm 0,1) \text{ атм}$
Відстоювання і фільтрування	Температура відстоювання Час відстоювання Відсутність механічних домішок	$(25 \pm 2)^\circ \text{C}$ 24 год Візуально

Дослідження водного екстракту сапропелю. У результаті проведеного спектрометричного мікро- та макроелементного аналізу сапропелю на базі НТУ «ХП», м. Харків (спектрометр «ElvaX» компанії «Елватех») встановлено, що серед макроелементів є сірка, натрій та кальцій, причому вміст натрію у сухому залишку складає 81,273%, а кальцію – 17,73%. Серед мікроелементів - Si, Cr, Fe, Co, найвищий вміст заліза – 0,78% (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Результати досліджень макро- та мікроелементного складу ВЕС

(P=95%; t=2,78; -X; n=5)

Ат. номер	Елемент	Інтенсивність	Концентрація
14	Si	1941	0,022%
16	S	69	0,001%
19	Na	36085	81,273%
20	Ca	10762	17,730%
24	Cr	649	0,189%
26	Fe	4914	0,780%
27	Co	43	0,005%

5.2 Стандартизація водного екстракту сапропелю

Для контролю якості розробленого ВЕС були обрані такі показники: опис, ідентифікація гумінових кислот, значення рН, вміст органічної речовини, масова частка сухого залишку, мікробіологічна чистота, кількісне визначення сумарної масової частки ГК [355].

Методи контролю досліджуваного екстракту наведено у розділі 2 та ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 зі змінами «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них» (Додаток).

Для стандартизації діючих речовин у ВЕС здійснювали ідентифікацію та кількісне визначення ГК. Для визначення сумарної масової частки ГК використовували метод І.В. Тюріна в модифікації Б. А. Нікітіна і титрування сіллю Мора [264].

Ідентифікація. ГК ідентифікують після вилучення з ВЕС лужним гідролізом за методикою кількісного визначення. Після подальшого осадження концентрованим розчином сульфатної кислоти ГК мають характерне темно-коричнєве забарвлення.

Гумінові кислоти (ГК) – темно-коричневого забарвлення, розчинні в слабких лугах, слабо розчинні у воді.

Кількісне визначення сумарної масової частки гумінових кислот у водному екстракті сапропелю. Проведено вилучення ГК із наважки ВЕС, осаджування ГК, окиснення ГК і титрування сіллю Мора згідно з методикою, розробленою на основі ДСТУ 7083:2009 . Визначено, що сумарна масова частка ГК у зразку ВЕС $83,8 \text{ мг/г} \pm 0,12\%$.

Специфічність цієї аналітичної процедури доводили шляхом визначення кількості міліграм суми гумінових кислот у досліджуваному ВЕС сапропелю методом об'ємного титрування. Для підвищення специфічності редокс-методики паралельно здійснювали контрольний дослід.

Критерієм прийнятності запропонованої методика є лінійна залежність між концентрацією сумарної масової частки ГК від маси наважки ВЕС. Результати наведені в табл. 5.4 і показані на рис. 5.2.

Таблиця 5.4

Лінійна залежність між концентрацією сумарної масової частки ГК від маси наважки ВЕС

Робоча концентрація, %	Наважка ВЕС, г	Сумарна масова частка ГК, мг
80	1,6003	67,85
85	1,7011	72,94
90	1,7981	77,61
95	1,9008	81,60
100	2,0012	85,26
105	2,1001	88,62
110	2,2014	93,94
115	2,3019	98,82
120	2,4017	103,33

Спостерігається лінійна залежність концентрації сумарної масової частки ГК від маси наважки ВЕС з коефіцієнтом кореляції 0,9986 ($\geq 0,9981$), кутовий коефіцієнт лінійної залежності (b) дорівнює 1,01, вільний член лінійної залежності (a) – $0,80 \leq 2,60$. Дослідження прецизійності та правильності проводили на дев'яти визначеннях у діапазоні концентрацій від 80% до 120% за обраною методикою. Отримані результати наведені в табл. 5.5 і свідчать, що методика прецизійна, оскільки значення відносного довірчого інтервалу менше від критичного значення для збіжності результатів: $\Delta\% = 1,41 \leq 1,60$ і виконується критерій незначущості систематичної похибки $\delta = 0,51$.

Результати експериментальних досліджень кількісного визначення сумарної масової частки ВЕС у 6 серіях ВЕС і метрологічні характеристики середнього результату наведено в табл. 5.6.

Мікробіологічні показники ВЕС досліджували відповідно до вимог ДФУ 2.0., т.1., п.2.6.12, п.2.6.13. Результати дослідження мікробіологічних показників наведено в табл. 5. 7.

Таблиця 5.7

Мікробіологічні показники ВЕС

Найменування показника	Норма	Результати аналізу
Кількість мезофільних аеробних та факультативно-аеробних мікроорганізмів (МАФАМ)*, КУО в 1 см ³ продукції, не більше ніж	100	80
Бактерії род. <i>Enterobactereaceae</i> в 1 см ³	Відсутні	Відсутні
<i>Staphylococcus aureus</i>	Відсутні	Відсутні
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Відсутні	Відсутні
Кількість дріжджів та пліснявих грибів, КУО в 1 см ³ , не більше ніж	10	5

*Примітка: МАФАМ – мезофільні аеробні та факультативно-аеробні мікроорганізми

Для вивчення стабільності ВЕС були закладені на зберігання декілька серій полімерних флаконів по 500 мл із темного скла при температурі (5±3) °С та (25±2) °С. Дослідження основних показників якості проводили протягом 27 місяців через кожні 3 місяці спостереження. Отримані результати (табл. 5.8) показали, що протягом усього терміну спостереження ВЕС за органолептичними та фізико-хімічними показниками, кількісним вмістом змінювались поступово, але не виходили за межі вимог, передбачених у ТУ У 20.1-2870305538-004:2016. Зміни в кількісному вмісті ГК не перевищували 1% порівняно з початковими показниками. Мікробіологічна чистота ВЕС відповідала вимогам ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 [223].

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Значення рН	7-11	10,0±0,2	10,1±0,1	10,2±0,1	10,3±0,3	10,3±0,3	10,3±0,4	10,4±0,1	10,4±0,4	10,5±0,1	10,5±0,2
Вміст органічної речовини в перерахунку на суху речовину, %	Не менше 20	40,2±0,41	40,0±0,52	39,4±0,28	39,0±0,12	38,4±0,74	38,4±0,85	38,0±0,95	37,2±0,81	36,3±0,75	36,0±0,12
Масова частка сухого залишку, %,	Не менше 5	10,14±0,23	10,05±0,18	10,0±0,32	9,74±0,57	9,42±0,34	9,13±0,25	9,04±0,81	8,94±0,15	8,74±0,23	8,5±0,32
Кількісне визначення Вміст ГК, мг/г оксидиметрично	Сумарний вміст ГК не менше 82,5	83,8±0,12	83,5±0,26	83,2±0,22	83,8±0,43	83,3±0,15	82,8±0,16	82,7±0,10	82,8±0,22	82,8±0,10	82,7±0,10
(5±3) °C (25±2) °C	Результати дослідження мікробологічної чистоти ВЕС у процесі зберігання при температурі (5±3) °C та (25±2) °C										
Мікробологічна чистота	МАФАМ* не більше, ніж 100 КУО	<100 <100	<100 <100	<100 <100	<100 <100	<100 <100	<100 <100	<100 <100	<100 <100	<100 <100	100 100
	Дріжджів та пліснявих грибів не більше, ніж 10 КУО	<10 <10	<10 <10	<10 <10	<10 <10	<10 <10	<10 <10	<10 <10	<10 <10	<10 <100	<10 <10
	Відсутність бактерій родин <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні	Відсутні Відсутні

Примітка: МАФАМ – мезофільні аеробні та факультативно-аеробні мікроорганізми

Результати експерименту підтвердили стабільність розробленого ВЕС протягом усього терміну спостереження (2 роки і 3 місяці). Специфікація та результати дослідження наведено в табл. 5.9.

Таблиця 5.9

Специфікація та результати дослідження показників якості ВЕС

Показник	Допустимі норми	Результати аналізу
Опис	Однорідна рідина, темно-коричневого кольору, зі слабким специфічним запахом, характерним для сировини.	Відповідає
Ідентифікація ГК	Після підкислення розчину сірчаною кислотою до рН 2-3 утворюється темно-коричневий осад ГК (осадження ГК)	Відповідає
Водневий показник (рН)	7-11	10±0,2
Вміст органічної речовини в перерахунку на суху речовину, %	Не менше 20	40,2±0,41
Масова частка сухого залишку, %,	Не менше 5	10,14±0,23
Мікробіологічна чистота	В 1 см ³ ВЕС допускається не більше, ніж 1000 КУО МАФАМ*; не більше, ніж 100 КУО дріжджів та пліснявих грибів, відсутність бактерій родин <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Відповідає
Кількісне визначення Сумарний вміст ГК, мг/г,	82,5-85,0	83,8±0,12
Маса вмісту пакування, г	(500 ±5) г (1000 ±10) г	Відповідає
Пакування	По 500 або 1000 г у полімерних флаконах. Пачки вміщують у групову тару	
Маркування	Згідно з оригінал-макетом пакування	
Зберігання	В оригінальному пакуванні при температурі до +25 °С	
Термін придатності	2 роки	

Примітка: МАФАМ – мезофільні аеробні та факультативно-аеробні мікроорганізми

За результатами дослідження ВЕС розроблено та затверджено Технічні умови ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 (Додаток 3) [223].

5.3. Отримання та дослідження спиртового екстракту сапропелю

Спиртовий екстракт сапропелю (СЕС) отримували методом перколяції 40% етанолом. Екстракцію здійснювали в лабораторному фільтраційному екстракторі. В екстрактор завантажували 50 г сухого сапропелю, подавали екстрагент до «дзеркала» і настоювали протягом 24 год. Після настоювання проводили перколяцію зі швидкістю 3–4 мл/хв з одночасним подаванням екстрагента. Отриману витяжку випарювали у вакуум-випарному апараті при температурі 50–60 °С до 1:10 від початкового об'єму.

Дослідження хімічного складу спиртового екстракту сапропелю. Для ідентифікації використовували метод хромато-мас-спектроскопії [356, 357]. Результати визначення вмісту карбонових кислот ($> 0.1\%$ від загальної площі піку) у СЕС наведені в табл. 5.10 та показані на рис. 5.3.

Таблиця 5.10

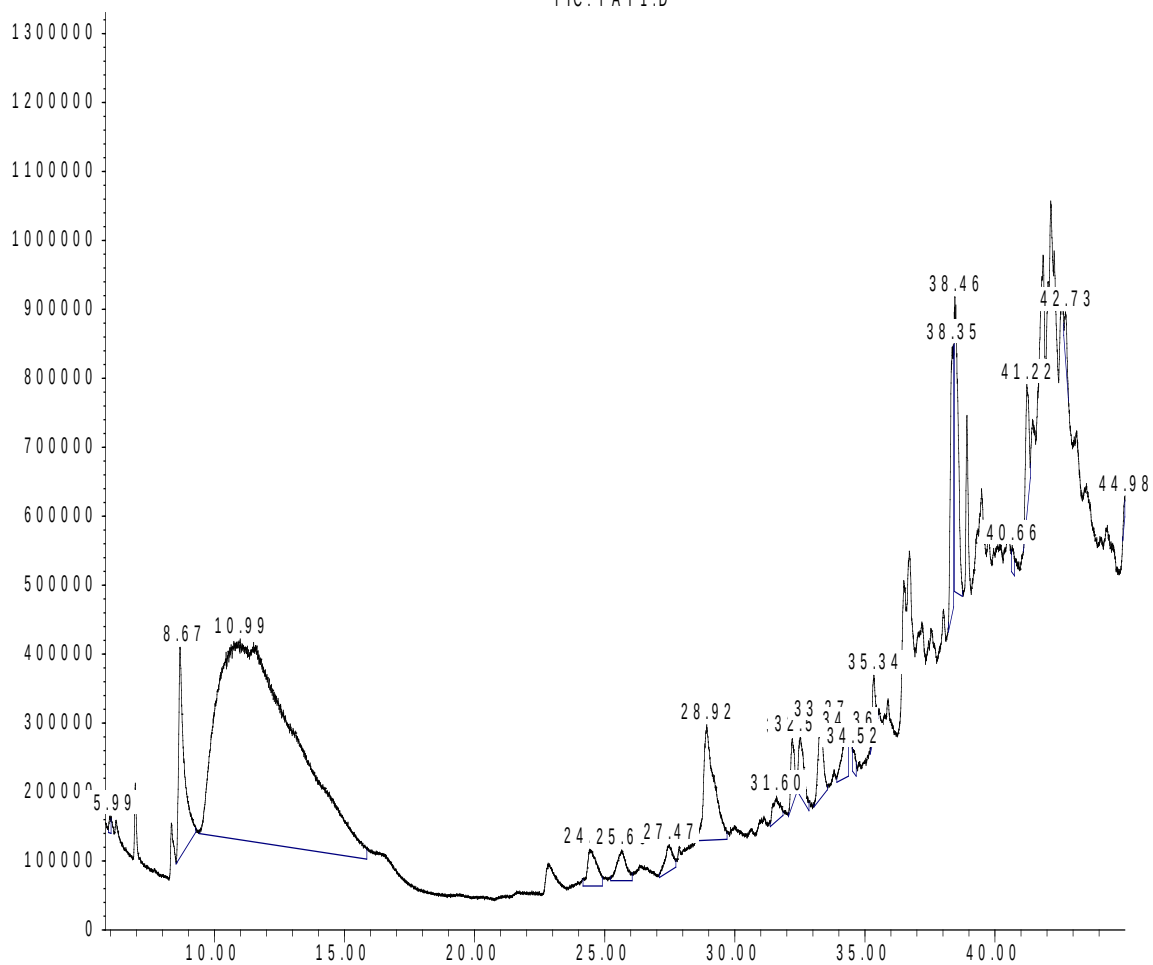
Результати дослідження якісного та кількісного вмісту карбонових кислот у СЕС

Назва ідентифікованих карбонових кислот	Час утримання, с	Вміст, мг/кг
1	2	3
Жирні кислоти		
<i>Насичені жирні кислоти</i>		
Арахінова кислота	35,345	14,04
Бегенова кислота	38,351	57,05
Гексакозанова кислота (церотинова)	44,982	13,62
Капронова кислота	5,988	2,07
Міристинова кислота	25,658	20,62
Пальмітинова кислота	28,92	97,33
Стеаринова кислота	32,211	18,32
Тетракозанова (лігноцеринова) кислота	41,223	30,85
<i>Ненасичені жирні кислоти</i>		
Лінолева кислота	33,27	29,17
Ліноленова кислота	34,358	20,14
Олеїнова кислота	32,517	23,73

1	2	3
Органічні кислоти		
Азелаїнова кислота	27,476	15,24
Ванілінова кислота	34,519	4,49
Гентизинова кислота	40,66	4,33
ρ -Кумарова кислота	38,457	76,27
Лимонна кислота	31,597	12,05
2-оксипропанова кислота (піровиноградна)	8,67	83,83
Ферулова кислота	42,729	8,48
Яблучна кислота	24,425	25,52

Abundance

TIC: FAT1.D



Time -->

Рис. 5.3. Хроматограма жирних і органічних кислот СЕС

У результаті дослідження вмісту карбонових кислот у СЕС методом хромато-мас-спектрометрії ідентифіковано 19 сполук, з них 11 жирних кислот, серед яких найбільше пальмітинової (97,33 мг/кг) та бегенової (57,05 мг/кг) кислот. У СЕС містяться три ненасичені жирні кислоти: лінолева, ліноленова та олеїнова; переважає лінолева кислота, кількість якої 29,17 мг/кг.

Серед карбонових кислот СЕС ідентифіковано 8 органічних кислот (табл. 5.10). Найбільша кількість піровиноградної (83,83) та *p*-кумарової кислот (76,27 мг/кг). Також є азелаїнова, ванілінова, гентизинова, лимонна, ферулова та яблучна кислоти [358].

У складі СЕС ідентифіковано високий вміст карбонових кислот, що зумовлено природою розчинника і вказує на перспективність використання екстракту для створення лікарських, косметичних та ветеринарних засобів антиоксидантної, протизапальної і ранозагоювальної дії.

5.4. Стандартизація спиртового екстракту сапропелю

Для контролю якості розробленого СЕС були обрані такі показники: опис, ідентифікація ГК, значення рН, вміст органічної речовини в перерахунку на суху речовину, масова частка сухого залишку, мікробіологічна чистота та кількісне визначення сумарної масової частки ГК.

Визначення органолептичних показників (зовнішній вигляд, колір, запах, однорідність) здійснювали відповідно до вимог ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 [223]. У результаті аналізу встановлено, що СЕС – це однорідна рідина світло-коричневого кольору зі специфічним запахом, характерним для сировини та екстрагента. Значення рН варіювалося в межах 6,8–7,2. Масова частка сухого залишку становила $5,7 \pm 0,12\%$. Сумарний вміст ГК – $11,3 \pm 0,17$ мг/г.

Методи контролю досліджуваного екстракту наведено у розділі 2 та ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них». Специфікація та результати дослідження наведено в табл. 5.11.

**Специфікація та результати дослідження СЕС згідно з
ТУ У 20.1-2870305538-004:2016**

Назва показника	Характеристика і норма	Результати дослідження
Зовнішній вигляд	Однорідна рідина	Однорідна рідина
Колір	Світло-коричневий	Світло-коричневий
Запах	Специфічний запах, характерний для сировини та екстрагента	Специфічний запах, характерний для сировини та екстрагента
Консистенція	Рідка	Рідка
Ідентифікація <i>Гумінові кислоти</i>	Після підкислення розчину сірчаною кислотою до рН 2-3 утворюється темно-коричневий осад гумінових кислот (осадження ГК)	Відповідає
Водневий показник, (рН)	7,0 – 11,0	7 ±0,2
Масова частка сухого залишку, %	Не менше 1,0	5,7±0,12
Кількісне визначення <i>Сумарний вміст ГК, мг/г</i>	<i>Сумарний вміст ГК, мг/г, не менше 10,0 мг/г</i>	11,3±0,17

5.5. Отримання та дослідження олійного екстракту сапропелю

Важливу роль у формуванні біологічної активності сапропелю відіграють: гумінові кислоти (ГК) і фульвокислоти (ФК), ліпіди, ферменти типу пероксидази, поліфенолоксидази, дегідрогенази, каталази; вітамінний комплекс (аскорбінова кислота, вітаміни В, Р та ін.).

Ліпіди, які є продуктами життєдіяльності синьо-зелених водоростей, проявляють бактеріостатичну і бактерицидну активність, мають протизапальну, знеболювальну, імуномодулювальну дію, позитивно впливають на тонус вегетативної нервової системи [359-361].

З огляду на подальшу перспективу створення м'яких лікарських форм (МЛФ) і розширення номенклатури протизапальних і репаративних засобів, необхідно розробити технологію олійного екстракту сапропелю (ОЕС), як джерела біологічно активних речовин для МЛФ зовнішнього застосування.

Для отримання ОЕ застосовуються різні технологічні методи: мацерація і ремацерація; екстрагування протиплинне, циркуляційне, зрідженими газами, органічними розчинниками, із застосуванням РПА та ін. [362, 363]. Олійна екстракція дає змогу отримувати насичені екстракти без попереднього випаровування і висушування витягу [362].

У технології ОЕ застосовують широкий асортимент рослинних олій, які вирізняються жирнокислотним складом і, відповідно, характеризуються різними властивостями. Олії легко проникають через тканини шкіри і є активними носіями АФІ при нашкірному застосуванні [364, 365]. Олії не піддаються деструкції і випаровуванню при нагріванні, тому при отриманні ОЕ за рахунок підвищеної температури можна корелювати повноту вивільнення БАР і час екстрагування [366].

Кукурудзяна олія є традиційною вітчизняною рослинною олією, яку отримують у промислових масштабах, оскільки Україна володіє значною сировинною базою. Враховуючи особливості жирнокислотного складу, а також доступність сировини, в наступних експериментальних дослідженнях використовували як екстрагент кукурудзяну олію, отриману методом холодного пресування [363, 367].

Для інтенсифікації переходу ліпідного комплексу із сировини доцільно забезпечити зневоднення сапропелю. При попередньому зневодненні сировини розчинником відбувається посилення дифузійних процесів між сировиною та олійним екстрагентом. Як наслідок, полегшується проникнення олійного розчинника всередину сировини, посилюється десорбція як гідрофільних, так і ліпофільних БАР сировини [368].

При отриманні олійного екстракту сапропель зневоднювали. Для зневоднення нативний сапропель обробляли 95% етанолом у співвідношенні 1:2 до вмісту вологості близько 60%. Час зневоднення сапропелю становив 2 год [369]. Вологість вимірювали на вологомірі марки Sartorius MA-150.

Для вибору більш раціональної технології олійного екстракту використовували два методи. Перший – екстрагування зневодненого нативного сапропелю кукурудзяною олією, яка згідно з літературними джерелами є кращим екстрагентом для отримання олійних екстрактів [369], а другий – постадійною (двофазною) екстракцією зневодненого нативного сапропелю з використанням двох екстрагентів – спирту етилового 90% і олії кукурудзяної. Вибір концентрації етанолу залежить від фізико-хімічних властивостей БАР, які необхідно вилучити. Дослідженнями встановлено, що найбільш повно відбувається екстракція каротиноїдів та різних пігментів сапропелю при концентрації спирту етилового 90% [370]. Зниження концентрації спирту у спиртово-водній суміші зменшує екстракцію каротиноїдів та хлорофілів із сапропелю. Тому ми обрали 90% етанол як екстрагент, оскільки він добре змочує сапропель і в меншій мірі ніж 95% етанол зумовлює денатурацію баластних речовин.

За першою технологією використовували однофазну екстракцію зневодненого сапропелю (до 60% вологості) кукурудзяною олією у співвідношенні сировина екстрагент: 1:5 при нагріванні до 50-60 ° С і при перемішуванні протягом 2-3 год. За другою технологією використовували двофазну екстракцію зневодненого сапропелю (до 60% вологості) спиртом етиловим 90% у співвідношенні сировина екстрагент 1:5 при нагріванні до 50 °С протягом 1 год. Вміст екстрактора випарювали у вакуумі до 1:3 від початкового об'єму у колбі зі зворотним холодильником. Додавали кукурудзяну олію у співвідношенні 1:5 і продовжували екстракцію при температурі 50-60 °С протягом 2-3 год [371, 372].

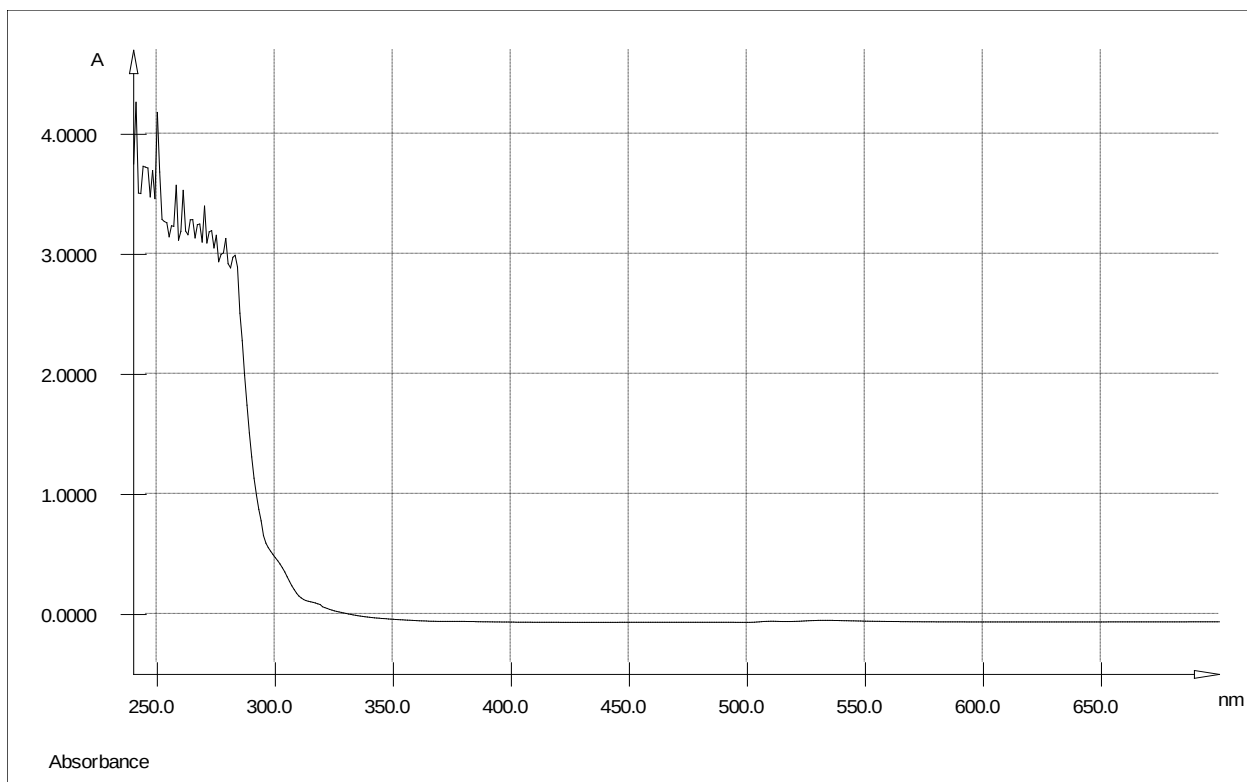
Отримані екстракти відокремлювали від домішок, фільтрували у вакуумі та визначали органолептичні (колір, запах, однорідність, прозорість), фізико-хімічні показники (кислотне і йодне число), ідентифікували та кількісно визначали діючі речовини. Результати дослідження екстрактів, екстрагента та їх абсорбційні спектри наведено в табл. 5.12. та показано на рис. 5.4.

Результати дослідження екстрагента та екстрактів сапропелю

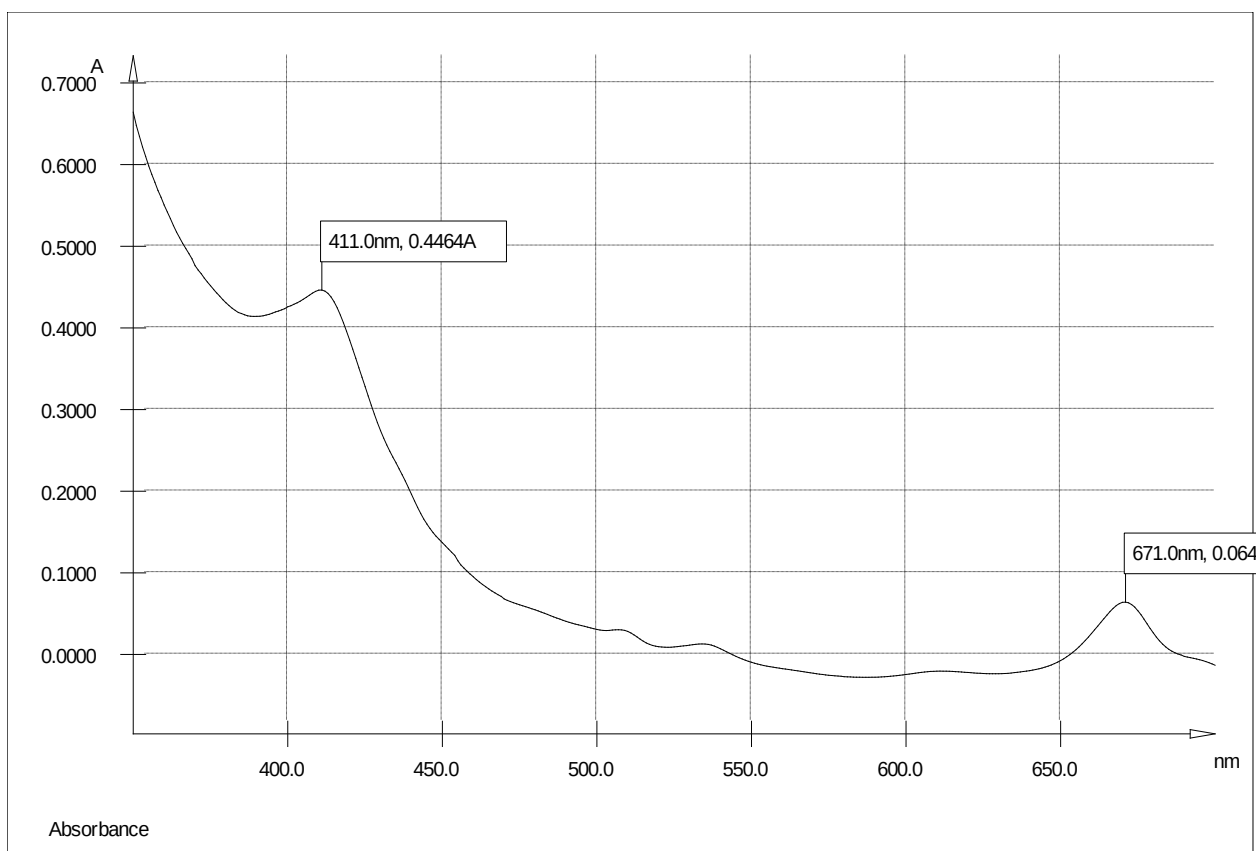
Досліджува ний зразок	Органолептичні показники	Фізико-хімічні показники		Ідентифікація каротиноїдів і хлорофілу	Кількісний вміст, хлорофілів мг /%
		КЧ*	ЙЧ**		
Кукурудзяна олія	Прозора олійна рідина світло- жовтого кольору зі слабким характерним запахом	1,0±0,1	110±5,0	Не ідентифіковано	—
Олійний ЕС (зразок 1)	Прозора олійна рідина жовтого кольору із специфічним слабким запахом	1,1±0,1	115±3,0	Абсорбційний спектр поглинання має максимум	0,2145±0,0126
Спиртово- олійний ЕС (зразок 2)	Прозора олійна рідина жовто- коричневого кольору із специфічним слабким запахом	0,9±0,1	113±2,0	поглинання за довжини хвилі 670±2 нм (671 max) (хлорофіл) і 410±2 нм (411 max) (каротиноїди)	0,2651±0,0126

Примітка: * - кислотне число; ** - йодне число

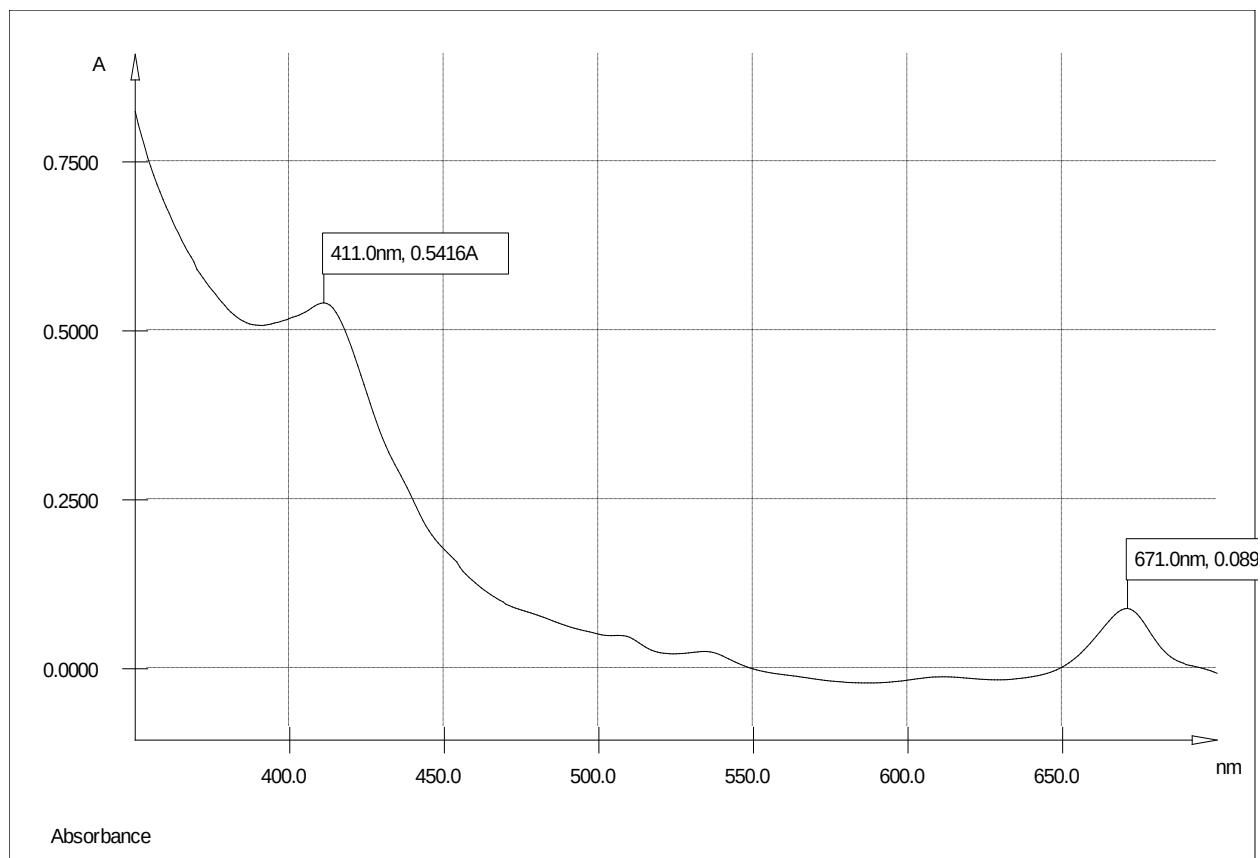
Абсорбційні спектри поглинання гексанових розчинів олії кукурудзи (екстрагента), розчинів олійних екстрактів у гексані, отриманих за двома різними технологіями, у ділянці від 250 нм до 700 нм показані на рис. 5.4. Установлено (рис 5.4 б, в), що електронні спектри поглинання гексанових розчинів олійних екстрактів, виготовлених за різними технологіями, у ділянці від 350 нм до 800 нм характеризуються наявністю максимумів поглинання при довжині хвилі 411 та 671 нм. Необхідно відмітити, що інтенсивність спектрів вища в екстракті, отриманого за другою технологією, а у екстрагента вони відсутні (рис. 5.4).



a)



b)



в)

Рис. 5.4 Абсорбційні спектри поглинання: а - розчину кукурудзяної олії у гексані; б - розчину олійного екстракту (зразок №1) у гексані; в - розчину олійного екстракту (зразок №2) у гексані

Результати дослідження свідчать, що для отримання ОЕС доцільно використовувати поетапну двохфазну екстракцію етанолом 90% і кукурудзяною олією. Двофазна екстракція забезпечує більш ефективне вилучення БАР [373].

Для подальшого дослідження та виготовлення МЛЗ використовували ОЕС, виготовлений за 2 технологією.

Технологічний процес виробництва передбачає такі основні стадії: підготовка сировини та екстрагента, зневоднення сапропелю, екстрагування, декантація, фільтрація. Технологічна схема виробництва ОЕС зображена на рис. 5.5.

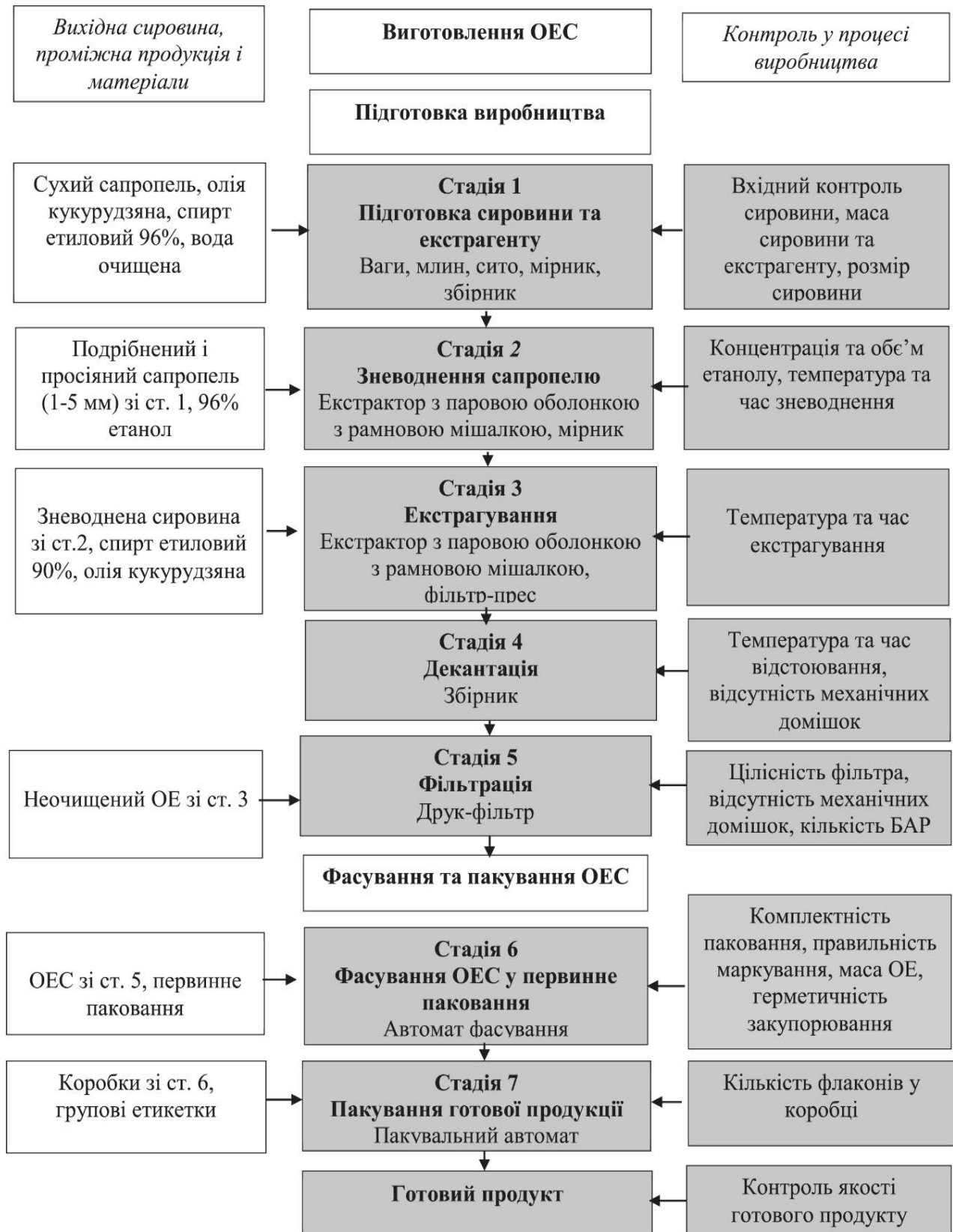


Рис. 5.5. Технологічна схема промислового виробництва ОЕС

Стадія 1. Підготовка сировини та екстрагента. Сапропель сухий вологістю 60% згідно з ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 у мішках або ящиках, які пройшли вхідний контроль, доправляють на ділянку зі складу за допомогою транспортних візків. Сапропель подрібнюють та просіюють через набір сит для отримання фракції 1–5 мм. Просіяний сухий сапропель зважують на електронних вагах і збирають у мішки, на які прикріплюють ідентифікаційні етикетки і передають на стадію 2 «Зневоднення сапропелю». Необхідну кількість кукурудзяної олії з розрахунку 1:5 зважують на електронних вагах у збірник і передають на стадію «Екстрагування».

Стадія 2. Зневоднення сапропелю. Подрібнений сухий сапропель зі стадії 1 завантажують у екстрактор із паровою оболонкою, який обладнаний рамним змішувачем. Сировину зневоднюють 96% етанолом у співвідношенні 1:2 до вологості 60%, перемішуючи для рівномірного розподілу рідини і залишають при кімнатній температурі протягом 2 год.

Стадія 3. Екстрагування. В екстрактор із сапропелем за допомогою вакууму подають спирт етиловий 90% у співвідношенні 1:5. До оболонки екстрактора подають гарячу воду і нагрівають уміст до температури $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$. У процесі нагрівання перемішують суміш сапропелю і екстрагента за допомогою рамного змішувача. Після досягнення заданої температури екстракцію здійснюють протягом 1 год при періодичному перемішуванні. Отриманий спиртовий витяг загущують у вакуумі до 1:3 початкового об'єму, після чого в екстрактор подають кукурудзяну олію у співвідношенні 1:5. Екстракція відбувається при температурі $(55 \pm 5)^\circ\text{C}$ протягом 2-3 год при періодичному перемішуванні.

Після завершення екстрагування та охолодження до кімнатної температури спиртово-олійний витяг зливають у збірник. Відпрацьовану сировину вивантажують і відтискають за допомогою фільтр-пресу у збірник, отриманий екстракт об'єднують з основною порцією екстракту (далі ОЕС) і передають на стадію 4 «Декантація».

Стадія 4. Декантація. Декантацію ОЕС проводять у збірнику при температурі (25 ± 2) °С. Вистояють протягом 24 год. Після цього освітлену частину ОЕС передають за допомогою вакуума на стадію фільтрації.

Стадія 5. Фільтрація. Освітлений ОЕС фільтрують за допомогою вакуумного фільтра (нутч-фільтр). Залишок ОЕС з відстійника очищають від механічних домішок за допомогою фільтр-пресу. Дві порції очищеного ОЕС об'єднують, і передають на ділянку фасування, пакування і маркування продукції.

Стадія 6. Фасування ОЕС у первинне пакування. Фасування ОЕС у флакони та їх закупорювання здійснюють на автоматичній фасувальній лінії, наклеюють етикетки за допомогою напівавтомата. У вакуумі екстракт зі збірника переносять до бункера фасувального автомата. Фасування ОЕС здійснюють по 100 г у флакони з темного скла, закупорюють полімерними корками і кришками з гвинтовою горловиною. Закупорені флакони з ОЕС подають транспортером до етикетувального автомата, за допомогою якого наклеюють на їх поверхні самоклеючі етикетки. На етикетці вказана назва ОЕС, маса, назва і адреса підприємства-виробника, номер серії, термін придатності, умови зберігання. Флакони з ОЕС передають на стадії пакування їх у коробки.

Стадія 7. Пакування готової продукції. На пакувальному автоматі флакони з ОЕС пакують у коробки чи пачки (вторинне пакування).

У табл. 5.13 наведено критичні параметри і стадії, які безпосередньо контролюють.

Таблиця 5.13

Основні критичні параметри виробництва ОЕС

Назва технологічної стадії	Назва технологічного параметра	Показники технологічного параметра
1	2	3
Підготовка сировини і екстрагента	Розміри сировини Маса сировини Вологість сировини Маса екстрагента	1-5 мм Відповідно до виробн.рецептури Відповідно до ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 Відповідно до виробн.рецептури

1	2	3
Зневоднення сировини	Концентрація етанолу Об'єм етанолу Температура зневоднення Час зневоднення	96% 2 частини від маси сапропелю (25±2) °C 2 год
Екстрагування	Концентрація етанолу Об'єм етанолу Температура екстракції Маса кукурудзяної олії Температура екстракції Час екстракції	90% 1:5 55±5 °C 1:5 (55±5) °C (2-3) год
Вистоювання і фільтрування	Температура відстоювання Час відстоювання Відсутність механічних домішок	25±2 °C 24 год Візуально

5.6. Стандартизація олійного екстракту сапропелю

Для контролю якості розробленого ОЕС були обрані показники: опис, ідентифікація природних пігментів, розчинність, густина, кислотне, йодне і перекисні числа, мікробіологічна чистота, кількісне визначення суми природних пігментів і хлорофілів.

Опис. Визначення органолептичних показників ОЕС (прозорість, колір, запах) здійснювали відповідно до вимог ДФУ 2.0 [232]. У результаті аналізу зразків препарату встановлено, що ОЕС – це прозора рідина, жовто-коричневого кольору, зі слабким запахом, характерним для сировини і екстрагента.

Ідентифікація. Для ідентифікації та кількісного визначення вмісту природних пігментів застосовували метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці спектру з використанням різних розчинників, таких як ацетон і гексан. Встановлено, що і в ацетоні, і в гексані спостерігаються максимуми поглинання за довжин хвиль близько 409 нм, плече близько 500 нм і максимум у гексановому вилученні близько 530 нм, що може свідчити про наявність речовин каротиноїдної будови, максимуми при 668 нм (рис. 5.11) і 671 нм (рис. 5.9) що, відповідно, може означати наявність хлорофілів.

Для визначення каротиноїдів використовували реакцію окиснення полієнових вуглеводнів концентрованою сульфатною кислотою, у результаті якої з'являлось зеленкувате забарвлення, що швидко зникало і перетворювалося на сірувато-буре.

Для підтвердження наявності речовин каротиноїдної будови використовували метод ТШХ у порівнянні зі стандартним розчином β -каротину.

При виявленні в УФ-випромінюванні на хроматограмах випробовуваного розчину ОЕС мають спостерігатися дві плями жовтої флюоресценції, які мають збігатися з плямами на хроматограмі розчину порівняння (ФСЗ β -каротину) з R_f близько 0,60 і 0,80. Хроматографічний профіль розчину олійного екстракту після обробки хроматограм розчином фосфорномолібденової кислоти і висушування у сушильній шафі: дві сірі плями з $R_f=0,09$ та $R_f=0,14$, сині плями $R_f=0,27$; $R_f=0,36$; $R_f=0,67$; $R_f=0,80$. Також на хроматограмі випробовуваного розчину можуть спостерігатися інші зони (рис. 5.6).

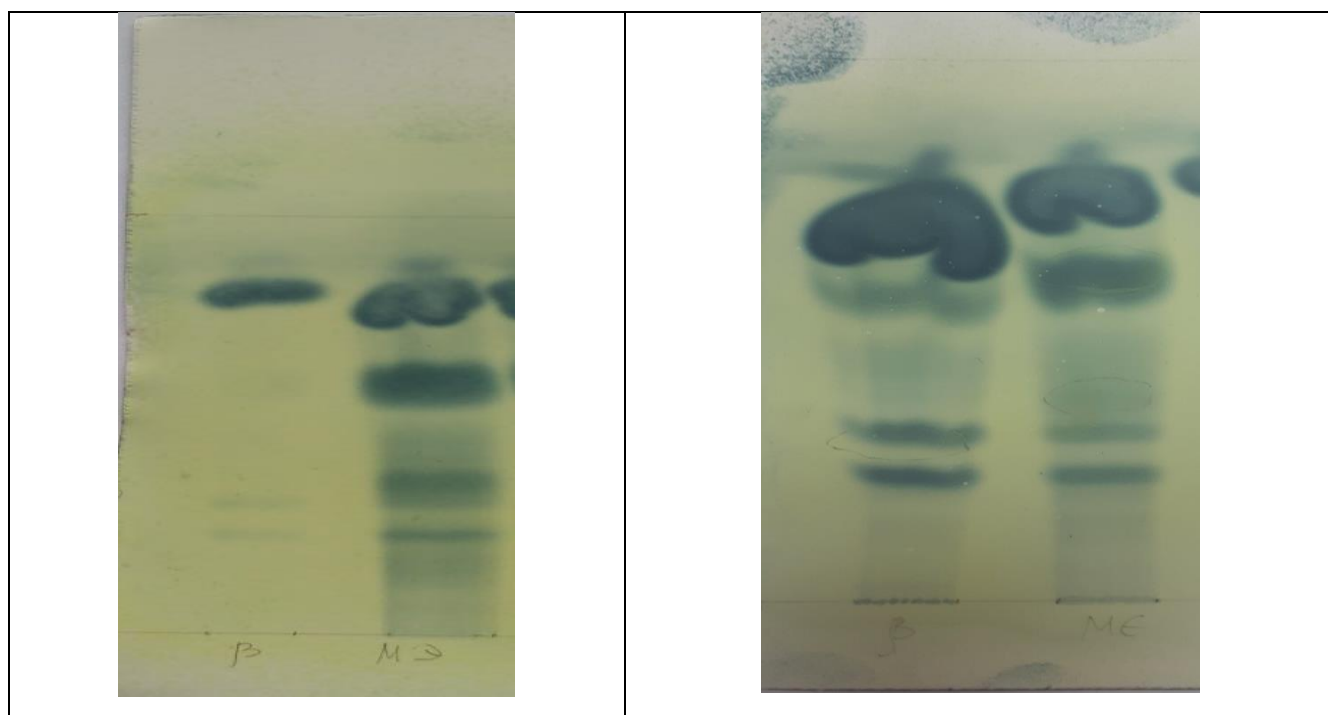


Рис. 5.6 Хроматограма випробовуваного розчину і розчину для порівняння в об'ємах проб, що наносяться 5 мкл і 10 мкл відповідно

Розчинність. Властивість ОЕС розчиняється у різних розчинниках визначали за методикою ДФУ 2.0, том 1, с. 33 [232].

Відносну густину ОЕС визначали з використанням ареометра відповідно до методики ДФУ 2.0, том.1, п. 2.2.5, с. 54 [232]. Густина екстракту становила $0,918 \pm 0,002$. На підставі отриманих даних до проєкту МКЯ на ОЕС вимоги до значення густини внесено у межах $(0,9150-0,927)$ г/см³.

Кислотне число (КЧ) визначали за методикою ДФУ 2.0, том 1, п. 2.5.1, с. 211. У результаті експериментальних досліджень значення КЧ становило 0,9. КЧ не має перевищувати 3,0 [232].

Йодне число відповідно до ДФУ 2.0, т. 1, п. 2.5.4, с. 212 повинно варіюватися в межах 110–130. Значення йодного числа для ОЕС становило 113 [232].

Мікробіологічна чистота. Дослідження здійснювали відповідно до вимог ДФУ 2.0, т. 1, п. 2.6.12 с. 251, 2.6.13 с. 258 [232].

Кількісне визначення вмісту хлорофілу в олійному екстракті сапропелю спектрофотометричним методом. ДФУ 2.0, т. 1, п. 2.2.25, с. 76 [232].

Характеристична смуга поглинання за довжини хвилі при 671 нм обумовила визначення суми хлорофілів у ОЕС (рис. 5.4 в).

Специфічність цієї аналітичної процедури доводили, визначаючи кількість міліграм суми хлорофілів у досліджуваному ОЕС шляхом визначення впливу екстрагента (олія кукурудзи) на характер абсорбційного спектра поглинання олійного екстракту сапропелю. Абсорбційний спектр поглинання гексанового розчину олії кукурудзи у ділянці від 250 нм до 700 нм показаний на рис. 5.4 а.

Установлено (рис. 5.4 а), що екстрагент у ділянці від 400 нм до 700 нм практично не поглинає світло і вплив екстрагента δ становить 0,12%.

Результати розрахунку суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл *a* в олійному екстракті сапропелю і отримані метрологічні характеристики наведені у табл. 5.14.

**Метрологічні характеристики середнього результату розрахунку суми
хлорофілів у перерахунку на хлорофіл *a* в ОЕС**

№ серії	Вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл <i>a</i> , мг/100 г	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\epsilon}, \%$	$\epsilon, \%$
1	0,2554	0,0001	0,0094	0,0038	0,0241	0,0098	3,71	9,10
2	0,2518							
3	0,2723							
4	0,2747							
5	0,2665							
6	0,2699							

Таким чином, вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл *a* в олійному екстракті сапропелю становить 0,2651 мг/100 г.

На підставі отриманих даних запропоновано ввести до проєкту МКЯ на ОЕС методику кількісного визначення вмісту хлорофілу. Визначення проводити за н методикою, наведеною в розділі 2.

Вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл *a* в ОЕС повинен бути не менше 0,25 мг/100 г.

Методика кількісного визначення природних пігментів. Характеристичні смуги поглинання в абсорбційному спектрі ацетонового розчину ОЕС (рис. 5.7) дають змогу для стандартизації отриманого ОЕС визначати суму пігментів за формулами Lichtenthaler.

Результати розрахунку суми природних пігментів у ОЕС і отримані метрологічні характеристики наведені у табл. 5.15.

На підставі отриманих даних запропоновано ввести до проєкту МКЯ на ОЕС методику кількісного визначення вмісту суми природних пігментів. Вміст суми природних пігментів у ОЕС повинен бути не менше 0,45 мг/л.

За результатами дослідження ОЕС визначено показники якості, які закладені у проєкт методик контролю якості (МКЯ) (табл. 5.16).

Таблиця 5.15

Метрологічні характеристики середнього результату розрахунку суми природних пігментів у ОЕС

№ серії	Вміст суми природних пігментів, мг/л	S ²	S	S _{x̄}	Δx	Δx̄	ε, %	ε, %
1	0,4909	0,0002	0,0133	0,0054	0,0343	0,0140	2,99	7,32
2	0,4612							
3	0,4528							
4	0,4758							
5	0,4627							
6	0,4705							

Показники якості ОЕС, що внесені до проекту МКЯ

Показник	Допустимі норми	Результати аналізу
Опис	Однорідна прозора рідина, світло-коричневого кольору, зі слабким специфічним запахом, характерним для сировини і екстрагента	Відповідає
Ідентифікація <i>Каротиноїди</i> <i>Хлорофіли</i>	<i>Метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці</i> На спектрі наявні піки, що відповідають α - і β -каротиноїдам (420 ± 2 нм) і хлорофілу (670 ± 2 нм) <i>Метод ТШХ</i> порівняно зі стандартним розчином β -каротину При виявленні в УФ-світлі на хроматограмах мають спостерігатися дві плями жовтої флюоресценції, які мають збігатися з плямами на хроматограмі розчину порівняння (ФСЗ β -каротину) з R_f близько 0,60 і 0,80 <i>Реакція окиснення</i> полієнових вуглеводнів концентрованою сульфатною кислотою, у результаті якої з'являлось зеленкувате забарвлення, що швидко зникало і перетворювалось на сірувато-буре	Відповідає Відповідає Відповідає Відповідає
Розчинність	Практично не розчинний у воді очищеній, 96% етанолі, легко розчинний у хлороформі.	
Відносна густина, г/см³	0,9150 - 0,927	0,918 $\pm$ 0,002
Кислотне число, мгКОН/г	Не більше 3	0,90 $\pm$ 0,02
Йодне число	110 – 130	113 $\pm$ 2,0
Мікробіологічна чистота	У 1 г ОЕС допускається загальна кількість життєздатних непатогенних мікроорганізмів (не > 100 аеробних бактерій і грибів сумарно), відсутність бактерій родин <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	Відповідає
Маса вмісту пакування, г	97,5 - 102,5	Відповідає
Кількісне визначення <i>Сума природних пігментів</i> <i>Сума хлорофілів</i>	Вміст суми природних пігментів у ОЕС повинен бути не менше 0,45 мг/л Уміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл <i>a</i> повинен бути не менше 0,25 мг/100 г	0,4689 $\pm$ 0,0068 мг/л 0,2651 $\pm$ 0,0087 мг/100 г

Олійні екстракти мають специфічні фізико-хімічні властивості, тому потребують відповідних умов зберігання, оскільки на відкритому повітрі можуть легко піддаватися окисненню. Зберігають олійні екстракти у прохолодному, захищеному від світла місці при температурі (5 ± 3) °C або при кімнатній температурі (25 ± 2) °C.

Для вивчення стабільності ОЕС були закладені на зберігання декілька серій флаконів із темного скла при температурі (5 ± 3) °C і (25 ± 2) °C. Основні показники якості досліджували протягом 27 місяців через кожні 3 місяці спостереження. Результати вивчення стабільності зразків ОЕС при температурі 5 ± 3 °C і 25 ± 2 °C за показниками проєкту МКЯ наведено в табл. 5.17.

При зберіганні досліджуваних зразків ОЕС за температури 25 ± 2 °C органолептичні показники, розчинність, ідентифікація АФІ не змінилися і відповідали вимогам МКЯ. Значення показників відносної густини змінювались поступово, але не виходили за межі вимог, передбачених у МКЯ. Спостерігаємо зміни показників кислотного та йодного числа, мікробіологічної чистоти (кількість перевищує допустимі норми), а також зміни у кількісному вмісті АФІ.

Отримані результати показали, що протягом усього терміну спостереження за температури (5 ± 3) °C експериментальні зразки ОЕС за органолептичними показниками, розчинністю, ідентифікацією АФІ не змінилися і відповідали вимогам МКЯ. Зміни в кількісному вмісті АФІ не перевищували 1% порівняно з початковими показниками. Фізико-хімічні властивості ОЕС, такі як відносна густина, кислотне, перекисне та йодні числа змінювались поступово, але не перевищували межі вимог, передбачених у МКЯ.

Мікробіологічна чистота ОЕС відповідала вимогам ДФУ 2.0, що передбачені для ЛЗ для нашкірного застосування. Результати експерименту підтвердили стабільність розробленого ОЕС за температури (5 ± 3) °C протягом усього терміну спостереження (2 роки і 3 місяці).

Результати вивчення стабільності ОЕС у процесі зберігання при температурі 5±3 °С та 25±2 °С

Показник	Вимоги МКЯ	Термін зберігання, міс									
		Початкові	3	6	9	12	15	18	21	24	27
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
При температурі 5±3 °С											
Опис	Однорідна прозора рідина, світло-коричневого кольору, зі слабким специфічними запахом, характерним для сировини і екстрагента										
Ідентифікація <i>Каротиноїди</i> <i>Хлорофіли</i> Метод абсорбційної спектрофотометрії <i>Каротиноїди</i> Метод ТІХХ порівняно зі стандартним розчином β-каротину <i>Хлорофіли</i> Реакція окиснення полієнових вуглеводнів концентрованою сульфатною кислотою	Наявні піки, що відповідають α- і β-каротиноїдам (420±2 нм) і хлорофілу (670±2 нм) Дві плями жовтої флюоресценції, які мають збігатися з плямами розчину порівняння (ФСЗ β-каротину) з R_f близько 0,60 і 0,80 Поява зеленкуватого забарвлення, що швидко зникало і перетворювалося на сірувато-буре										
Розчинність	Практично не розчинний у воді очищеній, 96% етанолі, легко розчинний у хлороформі										
Відносна густина, г/см³	0,9150-0,927	0,918±0,002	0,918±0,003	0,918±0,004	0,920±0,002	0,920±0,002	0,920±0,002	0,921±0,002	0,921±0,002	0,921±0,001	0,922±0,001
Кислотне число	Не більше 3,0	0,90±0,02	0,95±0,02	1,01±0,02	1,08±0,02	1,21±0,02	1,86±0,02	1,94±0,08	2,01±0,07	2,05±0,04	2,17±0,01
Йодне число	110 – 130	113±2,0	113±2,0	113±2,0	113±1,0	112±1,0	112±1,0	112±2,0	112±1,0	112±1,0	112±1,0

[illegible]

Продовження таблиці 5.17

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Відносна густина, г/см ³	0,9150 - 0,927	0,918±0,002	0,918±0,003	0,918±0,004	0,920±0,002	0,920±0,002	0,920±0,004	0,921±0,003	0,922±0,003	0,923±0,001	0,924±0,001
Кислотне число	Не більше 3,0	0,90±0,02	0,98±0,02	1,03±0,02	1,13±0,02	1,23±0,02	2,36±0,02	2,54±0,08	2,87±0,07	3,01±0,05	3,19±0,02
Йодне число	110 - 130	113±2,0	113±2,0	112±1,0	112±2,0	110±1,0	110±2,0	108±2,0	106±1,0	104±1,0	100±2,0
Кількісне визначення <i>Сума природних пігментів</i>	Вміст суми природних пігментів не менше 0,45 мг/л	0,4689±0,0068	0,4689±0,0072	0,4682±0,0071	0,4678±0,0075	0,4670±0,0069	0,4669±0,0065	0,465±0,005	0,4660±0,0071	0,4658±0,0068	0,4655±0,006
<i>Сума хлорофілів</i>	Уміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл <i>a</i> не менше 0,25 мг/100 г.	0,2651±0,0087	0,2651±0,0083	0,2650±0,0075	0,2645±0,0071	0,2644±0,0083	0,2640±0,0087	0,2635±0,0081	0,2635±0,012	0,2570±0,0082	0,2511±0,0076
Результати дослідження мікробіологічної чистоти ОЕС у процесі зберігання											
Мікробіологічна чистота (5±3) (25±2) °C	МАФАМ* не більше, ніж 100 КУО	< 100 < 100	< 100 < 100	< 100 < 100	< 100 < 100	< 100 < 100	< 100 < 100	< 100 < 100	<100 100	<100 120	<100 140
	Дріжджів та пліснявих грибів не більше, ніж 10 КУО	< 10 < 10	< 10 < 10	< 10 < 10	< 10 < 10	< 10 10	< 10 10	< 10 < 10	< 10 < 10	< 10 10	10 30
	Відсутність бактерій родин <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	відсутні відсутні	відсутні відсутні	відсутні відсутні	відсутні відсутні	відсутні відсутні	відсутні відсутні	відсутні відсутні	відсутні відсутні	відсутні відсутні	відсутні відсутні

Примітка: *МАФАМ – мезофільні аеробні та факультативно-аеробні мікроорганізми

5.7. Дослідження біологічних властивостей екстрактів сапропелів

Для оцінки **антимікробної активності водного екстракту сапропелю** у відповідності до рекомендацій ДФУ 2.0 використовували тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653 [232].

Результати дослідження антимікробної активності ВЕС представлені в табл. 5.18.

Таблиця 5.18

Антимікробна характеристика ВЕС, n = 5

Діаметр зон затримки росту, мм					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885
15±0,5	16±0,1	12,6±0,7	13,8±0,5	18,7±0,6	17,4±0,6

Експериментально встановлено, що досліджуваний зразок ВЕС володіє антимікробною активністю щодо *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 653/885; і слабкою антимікробною активністю стосовно *Proteus vulgaris* ATCC 4636 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 [358, 374].

Дослідження протизапальних та репаративних властивостей екстрактів сапропелю. Як об'єкти дослідження використовували ОЕС, СЕС і препарат порівняння – аерозоль «Пантенол» (ТОВ «Мікрофарм», м. Харків, серія 310620).

Протизапальну активність об'єктів вивчали на моделі термічного запалення лапи у нелінійних статевозрілих білих мишей обох статей масою 18-20 [275]. Тварини були поділені на 4 групи по 5 особин у кожній: 1 – контроль – неліковані тварини з відтвореною патологією, 2 – дослідні тварини, яких на тлі патології лікували ОЕС, 3 – СЕС, 4 – препаратом порівняння аерозолем «Пантенол».

Вплив екстрактів на перебіг ранового процесу з переважаючими альтеративними змінами вивчали на моделі УФ-еритеми у мурчаків [270]. Про поліпшення регенеративних процесів епітеліальних тканин судили за динамікою регенерації шкірних покривів, набряклістю, наявністю опіків, гіперемій та інтенсивністю епітелізації епідермісу.

Результати експерименту представлено в табл. 5.19.

Таблиця 5.19

ПЗА досліджуваних препаратів на моделі термічного опіку в мишей

Умови досліджу	Кіл-ть тварин у групі	Різниця набряклої та ненабряклої лапи, мг	Протизапальна активність, %
Контроль (неліковані тварини)	5	18,8±1,16	-
СЕС	5	14,6±0,75*	22,34
ОЕС	5	11,4±0,93**	39,36
Аерозоль «Пантенол»	5	8,2±0,58**	56,38

Примітки: * – відхилення достовірне щодо контрольної патології, $P \leq 0,05$;

** – відхилення достовірне щодо контрольної патології, $P \leq 0,01$.

Отримані дані свідчать про вплив ОЕС та СЕС на ексудативну фазу запалення. Пригнічення набряку, викликаного термічним опіком, аерозолем «Пантенол» становить 56,38%, ОЕС – 39,36%, СЕС – 22,34% [375].

Вивчення протизапальної та репаративної активності ОЕС та СЕС на моделі експериментальної еритеми у мурчаків. Патогенетичною основою ультрафіолетового ураження шкіри є гостре запалення з переважанням процесів альтерації, в основі якого лежить активація процесів перекисного окиснення ліпідів мембран і зміна їх морфологічної структури. Орієнтуючись на ці дані, доцільно було вивчити вплив ОЕС та СЕС порівняно з аерозолем «Пантенол» на перебіг ультрафіолетової еритеми шкіри у мурчаків [275].

Експериментальний дерматит відтворювали на мурчаках масою 360-480 г. Тварини були поділені на чотири групи по 5 особин у кожній: 1 – контроль – неліковані тварини з відтвореною патологією, 2 – дослідні тварини, яких на тлі патології лікували олійним екстрактом сапропелю, 3 – спиртовим екстрактом сапропелю, 4 – аерозолем «Пантенол». Депільовані ділянки шкіри тварин опромінювали УФ-світлом. Про важкість розвитку дерматиту судили за загальним

станом й поведінкою тварин. Дослідні екстракти та аерозоль «Пантенол» застосовували місцево, шляхом нанесення на шкіру 2 рази у добу в дозі 0,5 г на 1 тварину. Лікування починали відразу після опромінення до цілковитого загоєння ран. Контрольних тварин не лікували. Регенеративні властивості оцінювали за зміною площі рани й швидкістю її загоєння.

УФ-опромінення ділянки шкіри в експериментальних тварин спричинило пошкодження, що характеризується гіперемією і набряком. Відновлення шкірного покриву у мурчаків групи контрольної патології в експерименті тривало 14 днів. Отримані результати вказують на виражені протизапальні та репаративні властивості ОЕС та СЕС (табл. 5.20).

Таблиця 5.20

**Репаративна активність ОЕС, СЕС та аерозолі «Пантенол» на моделі
УФ – еритеми у мурчаків (n=5)**

Доба	Площа ран, мм ²						
	Контроль	Тварини, ліковані СЕС	Активність, %	Тварини, ліковані ОЕС	Активність, %	Тварини, ліковані аерозолем «Пантенол»	Активність, %
Почат- кові	241,00±4,28	237,80±3,41	-	235,20±2,82	-	235,80±3,63	-
3	221,80±4,57	197,60±3,53*	10,91	178,40±2,94**	19,57	123,40±3,19***	44,36
5	213,60±3,16	156,00±4,359***	26,97	125,60±2,71***	41,20	30,40±1,93***	85,77
7	182,40±3,46	106,80±2,08***	41,45	35,40±2,29***	80,59	-	-
9	135,20±6,61	31,00±1,76***	77,07	-	-	-	-
11	48,40±2,87	-	-	-	-	-	-
14	15,80±1,24	-	-	-	-	-	-

Примітка: * – відхилення достовірне щодо контрольної патології, $P \leq 0,05$; ** – відхилення достовірне щодо контрольної патології, $P \leq 0,01$; *** – відхилення достовірне щодо контрольної патології, $P \leq 0,001$.

На 3 добу після УФ-опромінення під впливом ОЕС, СЕС та аерозолю «Пантенол» спостерігалось зниження інтенсивності ушкодження порівняно з групою контрольної патології на 19,57; 10,91 і 44,36% відповідно, на 5 добу – на 41,2; 26,97 і 85,77% відповідно [375]. У дослідній групі тварин, яких лікували аерозолем «Пантенол», останні дані свідчать про цілковите загоєння УФ-еритеми. На 7 добу під впливом ОЕС, СЕС зниження інтенсивності ушкодження порівняно з групою контрольної патології було на рівні 80,59 і 41,45% відповідно (табл .5.20).

У групі тварин, яких лікували ОЕС, цілковите загоєння відбувалось на 7 добу (80,59%), а в групі тварин, яких лікували СЕС, – на 9 добу (77,07%) (табл. 5.20). Це підтверджують і результати макроскопічного обстеження експериментальних тварин: під впливом ОЕС та СЕС на 3 добу знижувалася набряклість пошкоджених ділянок, на 5 добу – починалося лущення, а на 7 та 9 добу – наставало повне загоєння. У групі тварин, яких лікували препаратом порівняння аерозолем «Пантенол», на 3 добу знижувалася набряклість та починалося лущення, а цілковите загоєння наставало на 5 добу, тоді як у контрольних тварин набряк зменшувався на 6 добу, а повне загоєння наставало на 14 день.

Таким чином, ОЕС та СЕС проявили виражені протизапальні та репаративні властивості на моделі запалення шкіри з перевагою альтерації – УФ-еритеми, до 7 і 9 доби, відповідно, у експериментальних тварин спостерігалася повна епітелізація і загоєння еритеми.

Аналіз отриманих результатів на цій моделі дає змогу зробити висновки про те, що ОЕС та СЕС виявляють виражену протизапальну дію, сприяючи грануляції (утворенню сполучної тканини на місці ранової поверхні /загоєнню) і епітелізації (відновленню шкірної поверхні або слизової оболонки) ран за рахунок мембраностабілізуючої дії, обумовленої наявністю в їх складі неферментативних антиоксидантів цинку, селену, вітамінів Е, С, Р, каротину, а також наявності антимікробних властивостей.

Отже, на моделі запалення шкіри з переважним альтеративним механізмом – ультрафіолетової еритеми у мурчаків – ОЕС та СЕС проявили виражені протизапальні та репаративні властивості, які дещо поступалися за активністю референс-препарату аерозолі «Пантенол».

Дослідження показників гострої токсичності екстрактів сапропелю.
Результати досліджень представлені в табл. 5.21.

Таблиця 5.21

**Вивчення гострої токсичності екстрактів сапропелю на щурах при
нашкірному нанесенні, n=6**

Група	Стать	Доза, мг/кг	Кількість тварин у групі		Результат дослідження
			Загиблих	Живих	
Інтактний контроль	Самці	2810	0	6	Шкірний покрив без змін
	Самиці	2810	0	6	Шкірний покрив без змін
ОЕС	Самці	2810	0	6	Шкірний покрив без змін
	Самиці	2810	0	6	Шкірний покрив без змін
СЕС	Самці	2810	0	6	Шкірний покрив без змін
	Самиці	2810	0	6	Шкірний покрив без змін
ВЕС	Самці	2810	0	6	Шкірний покрив без змін
	Самиці	2810	0	6	Шкірний покрив без змін

При спостереженні за тваринами протягом двох тижнів не було зафіксовано загибелі жодної з тварин та не зафіксовано проявів інтоксикації. Шкірні покриви і рефлекторна збудливість у всіх тварин після одноразового нанесення екстрактів сапропелю не зазнали змін. Результати проведеного дослідження свідчать про відсутність токсичного впливу досліджуваних екстрактів сапропелю при одноразовому нашкірному нанесенні щурам.

Таким чином, за результатами досліджень відповідно до загальноприйнятої класифікації К. К. Сидорова [296] досліджувані екстракти сапропелю належать до IV класу малотоксичних речовин ($LD_{50} > 2810$ мг/кг).

Дослідження хронічної токсичності водного екстракту сапропелю. Дослідження впливу тридцятиденного уведення ВЕС на основні біохімічні та гематологічні показники крові клінічно здорових щурів здійснювали на двох групах тварин ($n = 7$): 1 – контрольна, яка отримувала воду, і 2 – дослідна, якій споживали замість води ВЕС з розрахунку 2 мл/кг ваги протягом 30 діб.

Дослідження показників білкового та енергетичного обмінів за застосування водного екстракту сапропелю. У результаті визначення вмісту загального білка у сироватці крові досліджуваних щурів встановлено, що тридцятиденне введення ВЕС клінічно здоровим щурам не зумовлювало як гіпер-, так і гіпопротеїнемії (табл. 5.22). Значення показника залишилось у межах фізіологічної норми (62,9-79,2 г/л). Проте в дослідній групі тварин вона була на 11,4% вищою порівняно з контролем [376].

Таблиця 5.22

Вміст загального білка у сироватці крові щурів за застосування ВЕС; $n=7$

Показник	Концентрація протеїну, г/л		
	Контрольна група	Дослідна група	Фізіологічна норма
$M \pm m$	69,3 $\pm$ 6,4	77,2 $\pm$ 2,0	-
lim	62,9-75,7	75,2-79,2	60-80

Примітка: різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично достовірною при: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Однак дослідження вмісту білкових фракцій у сироватці крові щурів показало, що застосування ВЕС призвело до ймовірних змін у білковому спектрі (табл. 5.23).

Так, у тварин, яких поїли досліджуваним ВЕС, вміст гамма-глобулінів був вищий на 4,5% ($p < 0,05$), тоді як вміст бета-глобулінів, навпаки, зменшився на 4,4% ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Таблиця 5.23

Вміст фракцій білків у сироватці крові щурів за застосування ВЕС; $M \pm m$, $n=7$

Показник	Вміст білкових фракцій, %			
	Альбумін	Глобуліни		
		α-	β-	γ-
Контрольна група				
M±m	57,2±3,2	10,9±3,6	11,9±2,9	20,6±1,4
lim	54– 60,4	7,3 – 14,5	9– 14,8	19,2–22,0
Дослідна група				
M±m	55,0±4,7	9,5±2,1	7,5±2,3*	25,1±1,6*
lim	50,3–59,7	7,4–11,6	5,2–9,8	23,5 – 26,7

Примітка: різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично достовірною при: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Таким чином, враховуючи те, що показники вмісту загального білка та альбуміну на змінилися можна припустити, що ВЕС не впливає на імунну систему, а зменшення вмісту бета-глобулінів порівняно з контролем може свідчити про те, що ВЕС має імуностимулювальну дію [376].

До ключових ензимів, які характеризують білковий обмін в організмі і функціональний стан органів, пов'язаних з ним, належать аланінамінотрансфераза (АЛТ), аспартатамінотрансфераза (АСТ) та гамма-глутамілтранспептидаза (ГГТ).

Для встановлення впливу екстракту сапропелю на функціональний стан внутрішніх органів, зокрема печінки, вивчали активність АСТ, АЛТ і ГГТ. Результати досліджень представлені у табл. 5.24.

Таблиця 5.24

Активність ензимів у сироватці крові щурів за застосування ВЕС; $M \pm m$, $n=7$

Група	Показник	Активність ензимів, Од/л		
		АСТ	АЛТ	ГГТ
Контрольна	$M \pm m$	80,3 $\pm$ 4,7	73,1 $\pm$ 2,4	1,5 $\pm$ 0,1
	lim	75,6-85,0	70,7-75,5	1,4-1,6
Дослідна	$M \pm m$	63,0 $\pm$ 5,2*	63,8 $\pm$ 1,3**	1,2 $\pm$ 0,1*
	lim	57,8-68,2	62,5-65,1	1,1-1,3
Фізіологічна норма	lim	55-89	63-75	1,0-1,6

Примітка: різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично достовірною при: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Встановлено, що після 30-тиденного введення екстракту сапропелю у сироватці крові піддослідних щурів активність АСТ, АЛТ і ГГТ залишилась в межах фізіологічної норми. Так, величини значень вищезазначених показників були достовірно нижчими порівняно з контрольною групою тварин на 21,5% ($P<0,05$), 12,7% ($P<0,01$) і 20%, ($P<0,05$) відповідно. Слід зазначити, що в контрольній групі в усіх піддослідних тварин активність досліджених ензимів була на верхній межі фізіологічних значень, а у дослідній - у межах норм на нижній межі фізіологічних значень. Зважаючи на це, можна зробити висновок, що досліджуваний екстракт не тільки не спричиняє холестатичних явищ, а й виявляє мембранопротекторну активність, що може свідчити про його можливу гепатопротекторну дію [376].

У результаті досліджень встановлено, що як у контрольній, так і дослідній групах концентрація креатиніну у сироватці крові містилася в межах фізіологічних коливань – 69,3-85,9 ммоль/л, а значення досліджуваного показника ймовірно не відрізнялося між групами (табл. 5.25).

Таблиця 5.25

Вміст креатиніну, активність лужної фосфатази та креатинкінази у сироватці крові щурів за застосування ВЕС; $M \pm m$, $n=7$

Показник	Контрольна група	Дослідна група	Фізіологічна норма
	Концентрація креатиніну, ммоль/л		
$M \pm m$	76,5 $\pm$ 7,2	79,6 $\pm$ 6,3	-
lim	69,3-83,7	73,3-85,9	68-104
Активність лужної фосфатази, Од/л			
$M \pm m$	321,7 $\pm$ 10,7	349,8 $\pm$ 8,9*	-
lim	311-332,4	340,9-358,7	320-365
Активність креатинкінази, Од/л			
$M \pm m$	171,7 $\pm$ 10,7	199,8 $\pm$ 8,9	-
lim	161-182,4	190,9-208,7	170-220

Примітка: різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично вірогідною при: * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$.

Отримані результати свідчать про те, що застосування екстракту сапропелю не впливає на функціональний стан нирок і енергетичний метаболізм у м'язовій тканині.

Важливим показником функціонального стану печінки і, відповідно, білкового обміну є лужна фосфатаза (ЛФ). Крім того, активність ензиму є показником порушення мінерального обміну, зокрема кальцію і пов'язаного з цим патогенезу кісткової тканини.

Встановлено, що в сироватці крові тварин, яким протягом тридцяти діб вводили екстракт сапропелю, активність ЛФ була на 8,7% ($P < 0,05$) вища порівняно з контрольною групою (табл. 5.25). Проте значення показника не перевищувало фізіологічної норми у всіх без винятку тварин. Отже, застосування екстракту сапропелю не спричиняє порушень остеосинтезу.

Результати дослідження активності КК у сироватці крові щурів за застосування екстракту сапропелю протягом тридцяти діб продемонстрували, що величина значення показника КК тенденційно зростає (на 16,4%) порівняно з контролем, однак не перевищувала верхньої межі фізіологічної норми в усіх піддослідних тварин (190,9-208,7 Од/л), що підтверджує відсутність токсичного впливу екстракту сапропелю на енергетичний метаболізм у м'язовій тканині (табл. 5.25).

Крім того, отримані результати підтверджують відсутність гепатотоксичного ефекту ВЕС.

Вивчення ензиматичної ланки антиоксидантного захисту та інтенсивності окисних процесів за застосування екстракту сапропелю. Супероксиддисмутаза (СОД) належить до класу оксидоредуктаз і є ключовим ензимом системи антиоксидантного захисту, який локалізується як у клітинах, так і в позаклітинному просторі та каталізує реакцію дисмутації високоактивного супероксиданіонрадикалу в гідроген пероксид і кисень. Зниження активності СОД під впливом різноманітних факторів, що зумовлюють оксидативний стрес, може призводити до збільшення вмісту продуктів пероксидного окиснення ненасичених

жирних кислот ліпідів мембранних структур унаслідок активації генерації активних форм оксигену за умов порушення окисних процесів [288].

Встановлено, що цільна кров клінічно здорових щурів характеризується активністю СОД – $2,71 \pm 0,21$ МО/ мг гемоглобіну (табл. 5.26).

У щурів, яким вводили протягом 30 діб екстракт сапропелю, виявлена тенденція до зниження (на 4,4%) активності ензиму.

Ключовим ензимом глутатіонової ланки антиоксидантного захисту є глутатіонпероксидаза (ГПО). Тому її розглядають як основний регуляторний ензим фізіологічних рівнів вмісту активних форм кисню [377]. Активність ГПО в еритроцитах є високоінформативним показником при вивченні стану антиоксидантної системи і може слугувати маркером ефективності фармакологічних засобів та їх токсичності для організму [299].

Таблиця 5.26

Активність СОД, ГПО та КАТ в цільній крові щурів за застосування ВЕС;

$M \pm m$, $n=7$

Показник	Контрольна група	Дослідна група
Активність СОД, МО/ мг гемоглобіну		
$M \pm m$	$2,71 \pm 0,21$	$2,59 \pm 0,07$
lim	2,50 – 2,92	2,52 – 2,66
Активність ГПО, мкмоль/хв × мг гемоглобіну		
$M \pm m$	$0,45 \pm 0,028$	$0,60 \pm 0,023^{**}$
lim	0,42 – 0,48	0,58 – 0,62
Активність КАТ, мкмоль/хв × мг гемоглобіну		
$M \pm m$	$1,82 \pm 0,07$	$1,90 \pm 0,09$
lim	1,75 – 1,89	1,81 – 1,99

Примітка: різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично достовірною при: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Так, активність ензиму в цільній крові щурів контрольної групи становила – $0,45 \pm 0,028$ мкмоль/хв × мг гемоглобіну (табл. 5.26). У дослідній групі після тридцятиденного введення екстракту сапропелю значення показника достовірно зросло на 33% ($P < 0,01$) в усіх піддослідних тварин.

При дослідженні активності каталази отримані аналогічні результати (табл. 5.26). Активність ензиму нижча в контрольній групі тварин ($1,82 \pm 0,07$ мкмоль/хв $\times$ мг гемоглобіну) порівняно з дослідною ($1,90 \pm 0,09$ мкмоль/хв $\times$ мг гемоглобіну), хоча ймовірної різниці не встановлено.

Виявлені особливості активності досліджуваних антиоксидантних ензимів у крові щурів підтверджує вивчення вмісту проміжних (дієнових кон'югатів і гідропероксидів) та кінцевих (ТБК-активних) продуктів пероксидного окиснення ліпідів, до яких належить малоновий діальдегід та інші альдегіди.

Встановлено, що вміст первинних продуктів ліпопероксидації ліпідів у тварин дослідною групи був на рівні контрольної ($34,7 \pm 2,72$ нмоль/мл) (табл. 5.27).

Аналогічні зміни виявлені у вмісті гідропероксидів ліпідів в плазмі крові щурів після введення їм екстракту сапропелю протягом 30 діб (табл. 5.27). Величина значення показника також не збільшилась в усіх піддослідних тварин.

Кінцевою ланкою пероксидного окиснення ліпідів є утворення альдегідів, у кількісному відношенні серед яких переважає малоновий діальдегід (ТБК-активні продукти) [376, 380].

Таблиця 5. 27

Вміст дієнових, гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів кон'югатів у плазмі крові щурів за застосування ВЕС; $M \pm m$, $n=7$

Показник	Контрольна група	Дослідна група
	Вміст дієнових кон'югатів, нмоль/мл	
$M \pm m$	$34,7 \pm 2,72^*$	$36,5 \pm 3,11^*$
lim	31,98-37,44	33,39-39,61
Вміст гідропероксидів ліпідів, одЕ ₄₈₀ /мл		
$M \pm m$	$6,08 \pm 0,99$	$6,02 \pm 0,71$
lim	5,09 – 7,07	5,31 – 6,73
Вміст ТБК-активних продуктів, нмоль/мл		
$M \pm m$	$5,11 \pm 0,78^*$	$5,72 \pm 0,17$
lim	4,33-5,89	5,55-5,89

Примітка: різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично вірогідною при: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Концентрація ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів як контрольної, так і дослідної групи не відрізнялась (табл. 5.27). Значення показника варіювалося у межах – 4,74-6,04 нмоль/мл.

Таким чином, результати вивчення активності ензиматичної ланки антиоксидантного захисту та інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів свідчать про відсутність токсичної дії ВЕС. Після застосування ВЕС реєстрували активацію ГПО та КАТ, що, в свою чергу, оптимізує інтенсивність окисних процесів, оскільки рівень продуктів ліпопероксидації залишається без змін [374].

Дослідження гематологічних показників крові щурів за застосування екстракту сапропелю. До основних показників стану еритропоезу належить концентрація гемоглобіну, кількість еритроцитів та гематокрит – частка (%) від загального об'єму крові, яку становлять еритроцити, тобто це об'ємне відношення еритроцитів до плазми крові.

Результати дослідження основних показників еритропоезу показали, що у щурів, яким вводили протягом тридцяти діб екстракт сапропелю, концентрація гемоглобіну, гематокриту та кількості еритроцитів не перевищувала межі фізіологічних коливань (табл. 5.28).

Таблиця 5.28

Гематологічні показники крові щурів за застосування ВЕС; $M \pm m$, $n=7$

Показник		Контрольна група	Дослідна група	Фізіологічна норма
1		2	3	4
Гемоглобін, г/л	$M \pm m$	121,5 $\pm$ 11,2	149,8 $\pm$ 6,8*	-
	lim	110,3-132,7	143,0-156,6	117-155
Гематокрит, %	$M \pm m$	45,8 $\pm$ 0,7	46,5 $\pm$ 0,4	-
	lim	45,1-46,5	46,1-46,9	43-48
Еритроцити, $10^{12}/л$	$M \pm m$	7,9 $\pm$ 0,4	8,1 $\pm$ 0,3	-
Еритроцити, $10^{12}/л$	lim	7,5-8,3	7,8-8,4	7,9-8,3
Лейкоцити, $10^9/л$	$M \pm m$	6,5 $\pm$ 0,3*	6,6 $\pm$ 0,5	-
	lim	6,2-6,8	6,1-7,1	6,0-7,3
Лімфоцити, %	$M \pm m$	59,2 $\pm$ 0,9	60,8 $\pm$ 0,4	-
	lim	58,3-60,1	60,4-61,2	54-63
MID (еозинофіли, моноцити), %	$M \pm m$	4,6 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,3*	-
	lim	4,4-4,8	4,4-5,0	4,5-5,3

1		2	3	4
Ретикулоцити, %	M±m	24,5±0,7	24,9±0,5*	
	lim	23,8-25,2	24,4-25,4	23-25
Гранулоцити, %	M±m	37,5±1,4*	37,7±2,3	-
	lim	36,1-38,9	35,4-40,0	33-41
Тромбоцити, 10 ⁹ /л	M±m	532,5±10,6	539,7±12,1	-
	lim	521,9-543,1	527,6-551,8	520-550

Примітка: різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично достовірною при: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

При цьому вміст гемоглобіну ймовірно збільшився на 23,3% (P<0,05) порівняно з контрольною групою тварин, а гематокрит та кількість еритроцитів не змінилися [376, 380].

Дослідження кількості лейкоцитів і вмісту їх окремих фракцій показало, що тридцятиденне споживання ВЕС клінічно здоровими щурами не призвело до ймовірних або тенденційних змін значень цих показників. Вміст клітинних елементів крові залишився у межах фізіологічних норм і не відрізнявся від контролю.

Отже, отримані результати свідчать, що досліджуваний ВЕС не справляє токсичної або алергенної дії, не спричиняє порушень в імунному статусі та системі кровотворення організму.

Висновки до розділу 5

1. Експериментально обґрунтовано технологію ВЕС. Показано, що інтенсифікація класичного методу отримання ГК з додатковим використанням диспергування (кавітації) підвищує вихід ГК порівняно з класичним методом з 76,19 % до 83,80%, що складає майже 9%.

2. Розроблено та валідовано методики ідентифікації та кількісного визначення сумарної кількості ГК у ВЕС. Доведена стабільність ВЕС у процесі зберігання при температурі (25±2) °C протягом 2 років. За результатами

дослідження ВЕС розроблено та затверджено Технічні умови ТУ У 20.1-2870305538-004:2016.

3. Отримано та досліджено СЕС. Методом хромато-мас-спектрометрії у складі СЕС ідентифіковано 19 сполук, з них 11 жирних кислот, серед яких найбільше насичених жирних кислот - пальмітинової (97,33 мг/кг) та бегенової (57,05 мг/кг), та 8 органічних кислот, серед яких переважає піровиноградна (83,83 мг/кг) та р-кумарова кислоти (76,27 мг/кг). Виявлені ненасичені жирні кислоти: лінолева, ліноленова та олеїнова, а також азелаїнова, ванілінова, гентизинова, лимонна, ферулова та яблучна кислоти.

4. За результатами дослідження з вибору технології ОЕС показана доцільність використання постадійної двофазної екстракції 90% етанолом і кукурудзяною олією, яка забезпечує підвищення виходу хлорофілів на 24% з 0,2145 мг /% до 0,2651 мг /%. Розроблено технологію виробництва ОЕС, складено технологічну схему виробництва екстракту, яку апробовано в умовах НВФК «ЕЙМ».

5. Досліджено показники якості ОЕС, розроблено та валідовано методики кількісного визначення суми природних пігментів та хлорофілів в ОЕС. За результатами дослідження показників якості ОЕС у процесі зберігання обрано умови зберігання і термін придатності – 2 роки в умовах холодильника.

6. Експериментально встановлено, що ВЕС антимікробною активністю щодо *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 653/885; і слабкою антимікробною активністю до *Proteus vulgaris* ATCC 4636 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

7. Встановлено, що на моделі УФ-еритеми у мурчаків ОЕС та СЕС проявили виражені протизапальні та репаративні властивості, які дещо поступалися за активністю референс-препарату аерозолію «Пантенол»: пригнічення набряку, викликаного термічним опіком, за застосування аерозолію «Пантенол» становить 56,38%, ОЕС – 39,36% і СЕС – 22,34%.

8. Визначено, що при одноразовому нанесенні ВЕС, СЕС та ОЕС на шкірні покриви досліджуваних тварин у дозі 2810 мг/кг протягом двох тижнів не виявлено проявів токсичної дії і не зафіксовано загибелі тварин, що дає змогу віднести їх відповідно до загальноприйнятої класифікації К.К. Сидорова до IV класу малотоксичних речовин ($LD_{50} > 2810$ мг/кг).

9. Результати дослідження впливу тридцятиденного уведення ВЕС на основні біохімічні та гематологічні показники крові клінічно здорових щурів свідчать, що він не справляє токсичної і алергенної дії, не спричиняє порушень остеосинтезу, імунного статусу та системи кровотворення, не впливає на функціональний стан нирок і енергетичний метаболізм у м'язовій тканині; не зумовлює гепатотоксичний ефект. ВЕС має імуностимулювальну, гепатопротекторну і мембранопротекторну дію; оптимізує інтенсивність окисних процесів.

10. Отримані результати підтверджують вираженість фармакологічної дії, ефективність та нетоксичність ОЕС, СЕС та ВЕС, що дає змогу рекомендувати їх для подальших досліджень та використання як БАР для створення лікарських, ветеринарних та косметичних засобів.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Струс О. Є., Половко Н. П., Малоштан Л. М., Яценко Е. Ю. Дослідження протизапальних та репаративних властивостей екстрактів сапропелю родовища Прибич. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*. 2014. Вип. 23, кн. 4. С. 392–398.

2. Струс О. Є., Половко Н. П., Малоштан Л. М., Осолодченко Т. П. Дослідження властивостей сапропелю родовища Прибич. *Проблеми медичної та екологічної генетики і клінічної імунології* : зб. наук. пр. 2014. №3(123). С. 169–173.

3. Струс О. Є., Половко Н. П. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 26. С. 266–271.

4. Strus O. Y. Study of sapropel extracts from Prybych natural deposits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015. № 7(6). P. 133–137.

5. Strus O., Polovko N. Study of the sapropel extract influence on the main biochemical and hematological blood indices of rats. *The Pharma Innovation*. 2019. № 8 (7). P. 47–52.

6. Струс О. Є. Исследования по разработке масляных экстрактов сапропеля. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 50–58.

7. Струс О. Є., Половко Н. П. Визначення гематологічних показників крові щурів при дослідженні показників токсичності екстракту сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : вид-во НФаУ, 2016. С. 582–585.

8. Strus O. Y., Polovko N. P. Study of antibacterial activity of sapropel extract from Prybych deposits. *Looking towards the future, honoring the past: abstract book of 3rd International conference on pharmaceutical sciences*, Tbilisi, May 29–31 2015. Tbilisi, 2015. P. 152.

9. Струс О. Є., Половко Н. П. Стандартизація водного екстракту сапропелю. *Аналітична хімія у фармації*: матеріали Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 19-20 берез. 2015. Харків, 2015. С. 102-103.

РОЗДІЛ 6

НАУКОВО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКАРСЬКОГО ТА ВЕТЕРИНАРНОГО ЗАСОБІВ З ЕКСТРАКТАМИ САПРОПЕЛЮ

6.1. Теоретичне обґрунтування актуальності фармацевтичної розробки дерматотропного засобу з екстрактом сапропелю

Однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини є питання лікування ранового процесу. Спостерігається тенденція до збільшення кількості побутових та виробничих травм [381], дорожньо-транспортного травматизму [382], зростання кількості хворих з гнійними захворюваннями шкіри і м'яких тканин, а також післяопераційних ускладнень, поранень, отриманих унаслідок природних катастроф і військових конфліктів [381 – 383].

Загоєння ран – це складний та динамічний комплекс подій, пов'язаний з відновленням пошкоджених та втрачених клітинних структур, тканинних шарів. Обробка ранового ложа прискорює самовільне загоєння рани та посилює ефективність використання інших терапевтичних заходів [384]. На сучасному етапі лікування дерматологічних захворювань шкіри та ранового процесу найчастіше здійснюється з використанням м'яких лікарських засобів (МЛЗ), що зумовлено необхідністю місцевої дії препарату на поверхні шкіри [385].

Препарати для зовнішнього застосування мають певні переваги, серед яких простота у застосуванні та моніторинг лікування. До того ж більшість з цих препаратів не потрапляють до системного кровотоку та, відповідно, не спричиняють ускладнень в організмі. Також нечасто спостерігається взаємодія з іншими лікарськими засобами [386].

Для створення якісного, ефективного і безпечного МЛЗ необхідно обґрунтувати методологічний підхід до ФР з урахуванням медико-біологічних вимог до ЛЗ, особливостей проникнення діючих речовин крізь шкіру та шляхом експериментальних досліджень довести, що кількісний вміст діючих та

допоміжних речовин у складі ЛЗ та лікарська форма є оптимальними для його передбачуваного застосування, а технологічний процес та пакування забезпечують високу якість виготовленого засобу в процесі зберігання та використання.

Терапевтична активність місцевих ЛЗ залежить від низки взаємопов'язаних факторів, головними з яких є активність діючих речовин стосовно ушкоджених тканин, а також їх взаємодія з основою-носієм, яка забезпечує повноцінну фармакологічну активність. Власне тому головним завданням при створенні нового ЛЗ є вибір ефективних і безпечних діючих та допоміжних речовин, які б повною мірою впливали на терапію захворювання [387].

Не менш важливим при створенні МЛФ є вибір основи, яка є носієм лікарських речовин і забезпечує об'єм і потрібні фізико-технологічні властивості мазі та дає можливість регулювати вивільнення й біодоступність АФІ. Основа, окрім того, повинна бути індиферентною, нетоксичною, володіти оптимальними реологічними властивостями, фізико-хімічною та мікробіологічною стабільністю, легко наноситися й видалятися та мати нейтральну реакцію, тобто сприяти збереженню фізіологічного значення рН шкіри або слизової оболонки [387].

За даними Державного реєстру лікарських засобів України, станом на червень 2020 року, серед групи D03 дерматологічних засобів для лікування ран та виразкових уражень (D03AX Інші препарати, що сприяють загоєнню ран) переважають мазі – 36% (рис. 6.1) [224, 225]. Гелі складають 7% дерматологічних засобів для лікування ран. Серед них «Солкосерил» (Легасі Фармасьютікалз Світселенд ГмбХ, Швейцарія), 1 г якого містить депротейнізований гемодериват з крові телят (Bos Taurus), який застосовується у 1 фазі ранового процесу для активізації грануляції, та гель Пантестин-Дарниця («Дарниця», Україна; містить декспантенол і мірамистин) для лікування ран різної локалізації і генезу в II фазі ранового процесу [224]. Також зареєстровані «Куріозин», який належить до групи D10AX та «Контрактубекс» (Мерц Фармасьютікалс ГмбХ, Німеччина), який є комбінованим ЛЗ, що містить рідкий екстракт цибулі, гепарин натрію, алантоїн та використовується для лікування рубців після загоєння ран. Препарат справляє

антипроліферативну, протизапальну, пом'якшувальну і розгладжувальну дію на тканину рубця.

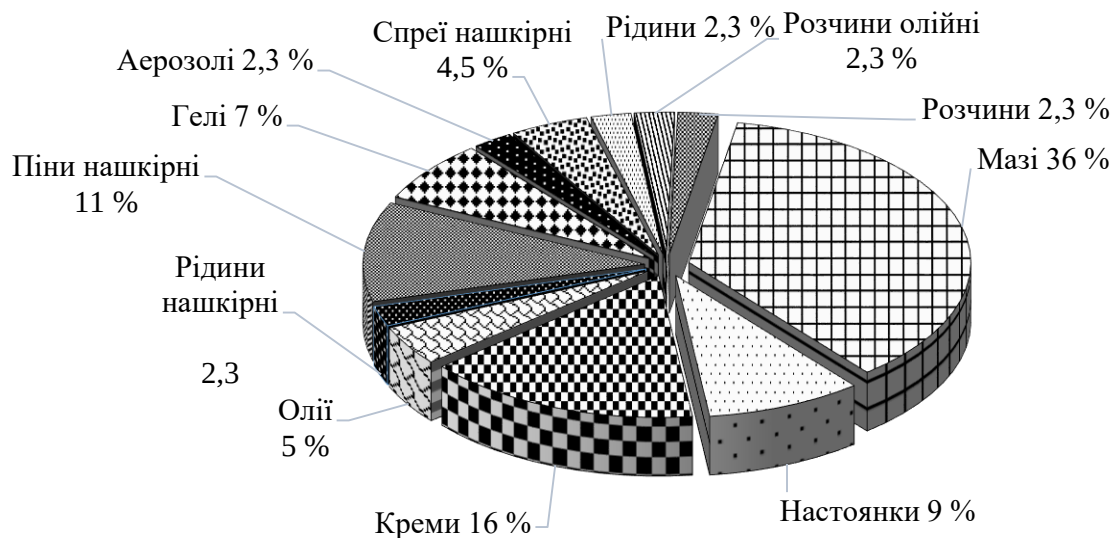


Рис. 6.1. Розподіл дерматологічних лікарських засобів для лікування ран та виразкових уражень (D03) за лікарськими формами [224]

Гелі мають низку переваг порівняно з іншими МЛФ, а саме: їх легко наносити і розподіляти на поверхні, вони швидко всмоктуються в шкіру, що обумовлює високу біодоступність активних речовин, забезпечуючи належне проникнення діючих речовин. Гелі не забруднюють і не залишають жирного блиску, прості в приготуванні [260, 388, 389].

На актуальність пошуку нових високоефективних засобів природного походження впливає ресурсний фактор, оскільки у сучасних ринкових умовах доступність сировини визначає попит на пропонований препарат.

Основною групою БАР у сапропелях є гумусові (гумінові) кислоти. Вони мають виражену біологічну активність, пригнічують розвиток злоякісних пухлин, мають протівірусну, ранозагоювальну і протизапальну активність [151, 171 – 190, 390 – 395]. Для фізіологічної дії ефективні дуже малі концентрації цих кислот. ГК характеризуються біологічною активністю, високою сорбційною здатністю, бактеріологічною та біостимулювальною активністю [149, 171, 395].

Рана (vulnus) – механічне пошкодження тканин або органів, що супроводжується порушенням цілісності їх покривів [396]. Відомі кілька

класифікації фаз загоєння ран. Проте найбільш визнаною є класифікація, за якою процес загоєння поділяють на три головні фази: запалення, тривалістю 5 діб від моменту утворення рани; регенерації (проліферації, грануляції), яка триває з 6 до 14 доби від утворення травми, і фазу ремоделювання (епітелізації, утворення й реорганізації рубця), яка починається з 15 доби і триває до повного закриття ранового ложа [396].

Препарати, наявні на ринку України, впливають лише на одну із фаз загоєння ран. Деякі автори вважають, що саме застосування високоефективних препаратів, які діють на декілька фаз ранового процесу можуть удосконалити процес місцевого лікування і розширити асортимент ранозагоювальних препаратів на ринку України [397, 398].

У зв'язку з високими темпами еволюції ранової мікрофлори та резистентності до антибактеріальних препаратів для терапії ранової інфекції, окрім традиційних засобів, використовують дерматотропні препарати, спрямовані на усунення специфічного захворювання, а також посилення захисту від дії факторів зовнішнього середовища та запобігання втраті білків, електролітів та води [399].

Слід зазначити, що мікробна контамінація суттєво змінює перебіг ранового процесу. Разом з механічним пошкодженням тканин, продукти життєдіяльності бактерій можуть уповільнити первинні фази загоєння, підвищується осмотичний тиск та ацидоз у тканинах, порушується мікроциркуляція, що призводить до розвитку вторинних некрозів [400].

Показано, що ГК підсилюють шкірне загоєння ран, загоєння ран у ротовій порожнині та виявляють антибактеріальні властивості [181]. Вплив пелоїдів на життєдіяльність і персистентні особливості бактерій підтверджено експериментально [393]. Навіть слабкобактерицидні пелоїди пригнічують здатність патогенних бактерій інактивізувати комплемент, лізоцим і бактерицидний компонент препарату інтерферону, а також знижують гідрофобність бактеріальних клітин. На користь того, що пелоїди мають бактерицидну дію, свідчать позитивні результати грязелікування відкритих

інфікованих ран, грибкових виразках шкірних покривів, спричинених дерматофітами [82].

Експериментально встановлено, що ВЕС антимікробно ефективний щодо *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Basillus subtilis*, *Candida albicans* та незначно щодо *Proteus vulgaris* і *Pseudomonas aeruginosa* [358, 374].

Незначний асортимент на фармацевтичному ринку України вітчизняних лікарських засобів з дерматотропною дією на основі природних сполук з широким спектром біологічної активності, які не тільки запобігають інфікуванню рани, а й прискорюють загоєння раневої поверхні завдяки протизапальній активності і низькому рівню токсичності, обумовлюють актуальність розробки МЛЗ у формі гелю з ВЕС, що містить ГК. Вони виявляють протизапальну активність за рахунок активації процесів грануляції і епітелізації, мембраностабілізуючої дії та антимікробних властивостей.

6.2 Розробка складу лікарського засобу з екстрактом сапропелю у формі гелю

6.2.1 Розробка складу гелевої основи

Метою першого етапу дослідження була розробка складу дерматотропного лікарського засобу з ВЕС у формі гелю для лікування 2 фази ранового процесу.

Як гелеутворювач нами обрано синтетичний полімер карбопол марки Ultrez 10, оскільки ця ВМС має необхідні технологічні характеристики (швидко розчинна у воді, навіть, кімнатної температури). Основи з карбополом Ultrez 10 відповідають вимогам для препаратів місцевої дії, а саме: мають помірну осмотичну активність, хорошу адгезійну здатність тощо. Враховуючи лужне середовище екстракту (рН в діапазоні 10-11), є ймовірність нейтралізації карбомеру екстрактом без додаткового введення нейтралізовального агента.

Згідно з літературними джерелами гелі з необхідними показниками в'язкості утворюються при концентрації карбополу від 0,5 до 2,0% залежно від складу препарату [260, 389]. Нами були виготовлені зразки гелевих основ, що

містили карбопол Ultrez 10 у вказаному діапазоні концентрацій. Для дослідження впливу екстракта, враховуючи його лужне значення рН 10-11 до кожного зі зразків гелевих основ додавали ВЕС (1:10) у концентрації від 10 до 20%. Склад експериментальних гелевих зразків наведено в табл. 6.1.

Таблиця 6.1

Склад експериментальних зразків гелевих основ

№ зразка	Карбопол, г	ВЕС, г	Вода очищена, г
1	0,5	10,0	до 100,0
2		15,0	
3		20,0	
4	0,75	10,0	
5		15,0	
6		20,0	
7	1,0	10,0	
8		15,0	
9		20,0	
10	1,25	10,0	
11		15,0	
12		20,0	
13	1,5	10,0	
14		15,0	
15		20,0	
16	1,75	10,0	
17		15,0	
18		20,0	
19	2,0	10,0	
20		15,0	
21		20,0	

Реологічні дослідження експериментальних зразків (структурну в'язкість, механічну стабільність (МС), коефіцієнт динамічного розрідження) здійснювали при температурі 20 °С на віскозиметрі типу Брукфільда. Значення рН, запах та однорідність експериментальних гелевих основ визначали згідно з ДФУ 2.0.

Зразки гелевих основ були однорідними коричневого або темно-коричневого кольору, без запаху. Результати вимірювання значення рН, структурної в'язкості гелів, їх МС і коефіцієнта динамічного розрідження наведено в табл. 6.2.

Результати дослідження експериментальних зразків гелевих основ (n=5, P=95%)

Показник	Дослідні зразки						
	1	2	3	4	5	6	7
Значення рН	6,9 ± 0,1	7,6 ± 0,2	9,9 ± 0,2	6,5 ± 0,1	7,2 ± 0,2	9,3 ± 0,2	6,2 ± 0,1
η, мПа·с (20 об/хв, 20 °С)	800 ± 30	1980 ± 40	1800 ± 30	1950 ± 50	3180 ± 70	3600 ± 80	3340 ± 80
МС	0,99	0,97	1,03	1,09	1,05	1,08	1,19
K _d	64,3	70,2	73,1	64,3	70,2	73,1	72,4
Показник	Дослідні зразки						
	8	9	10	11	12	13	14
Значення рН	6,6 ± 0,1	8,7 ± 0,1	5,9 ± 0,1	6,8 ± 0,1	8,4 ± 0,1	5,6 ± 0,1	6,6 ± 0,1
η, мПа·с (20 об/хв, 20 °С)	4300 ± 90	5100 ± 90	5100 ± 110	6200 ± 100	7100 ± 120	6800 ± 110	9300 ± 100
МС	1,05	1,21	1,15	1,10	1,08	1,11	1,08
K _d	70,3	71,6	65,8	68,5	70,2	65,8	68,5
Показник	Дослідні зразки						
	15	16	17	18	19	20	21
Значення рН	7,8 ± 0,1	5,3 ± 0,1	6,4 ± 0,1	7,3 ± 0,1	4,8 ± 0,1	5,3 ± 0,1	5,8 ± 0,1
η, мПа·с (20 об/хв, 20 °С)	12100 ± 120	7100 ± 110	11400 ± 100	15500 ± 120	-	-	-
МС	1,07	1,11	1,08	1,07	-	-	-
K _d	70,2	65,8	68,5	70,2	-	-	-

Відзначено, що при підвищенні концентрації гелеутворювача до 2%, відбувається часткова нейтралізація карбополу ВЕС у концентрації від 10 до 20%, - на це вказує значення рН менше 6, що потребує підвищення кількості ВЕС або додаткового введення нейтралізувального агента. Враховуючи той факт, що гелеві основи з 1,5–1,75% карбополу та 15-20% ВЕС (№15,17,18) мають занадто щільну консистенцію і за показниками в'язкості значно перевищують межі реологічного оптимуму для гелів (2000-10000 мПа·с при 20 об./хв), [410, 402] яка відповідає швидкості зсуву D_T 18,6 с⁻¹, та 20 °С, зразки гелевих основ з 2% карбополу були вилучені з дослідження.

МС характеризує ступінь руйнування структури в процесі незворотної деформації. Оптимальним значенням МС є 1 [259, 260]. Усі зразки, за винятком № 1 та № 2, характеризувалися значенням МС, близьким до оптимального – від 1,033 до 1,091. Невисокі значення показників МС свідчать про незначний ступінь

руйнування структури гелю і дають змогу припустити наявність коагуляційних зв'язків, які після руйнування системи можуть відновлюватися. Ця здатність до відновлення структури має важливе значення у виробництві ЛФ із пружно-пластичним дисперсійним середовищем. Вона вказує на можливість витримувати механічну дію в процесі змішування і гомогенізації, а також передбачити стабільність при тривалому зберіганні [401].

Коефіцієнти динамічного розрідження (K_d) досліджуваних гелевих основ мають показники в межах 64,3–70,3. Для зразків гелевих основ № 3,6,7,9 коефіцієнт динамічного розрідження варіюється в межах 71,6–73,1, що перевищує аналогічні коефіцієнти інших гелевих основ. Високі значення K_d свідчать про можливість якісного нанесення ЛЗ при механічному розтиранні, характеризують краще розрідження в режимі перемішування, більш якісний розподіл внесених в основу ЛР і полегшене заповнення туб. Проте зразки № 3, 6, 7, 9 мають надто високі показники в'язкості (показник K_d більше 71), що знижує їх технологічну і споживчу привабливість. Реограми плинущотриманих гелів показано на рис. 6.2.

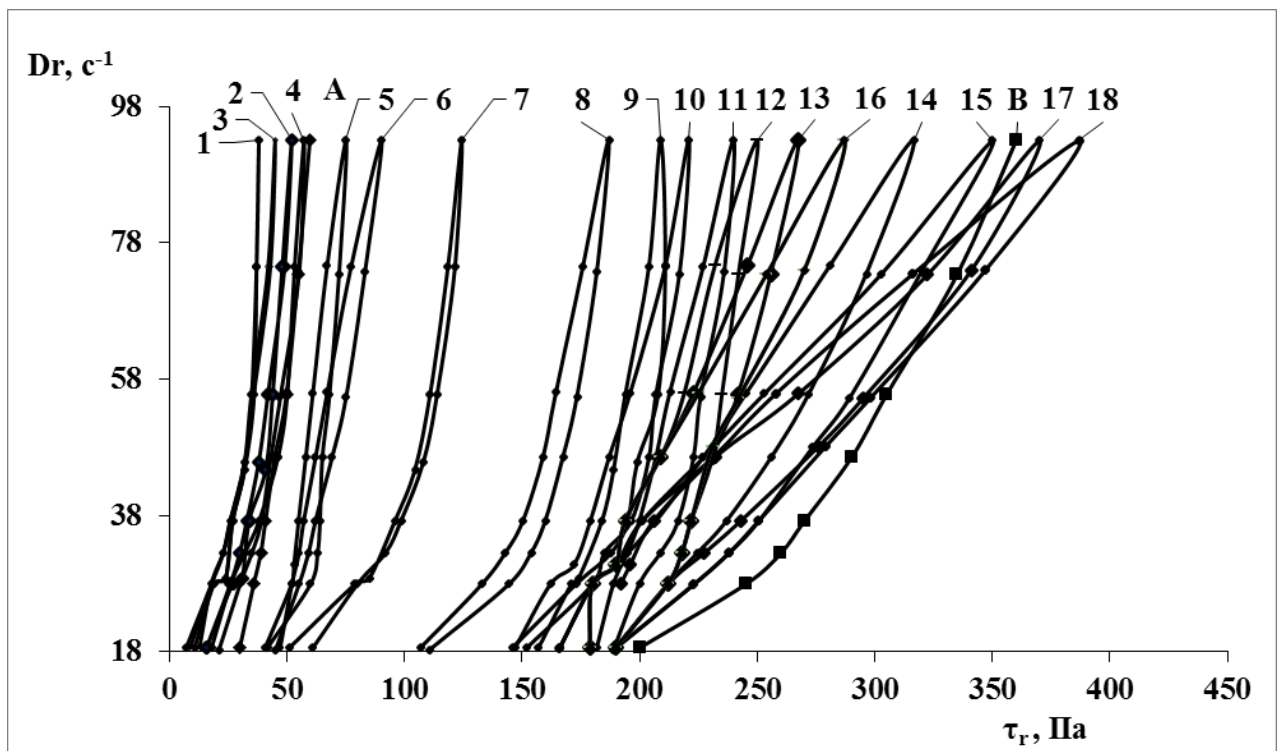


Рис. 6.2. Реограми плинущотриманих гелів, де номер відповідає номеру зразка в табл. 6.1; А – нижня межа; В – верхня межа реологічного оптимуму

Як свідчать отримані результати, екстракт сапропелю виконує роль нейтралізувального агента, бо має значення рН близько 10-11, що обумовлено умовами його виготовлення.

Відзначено, що при зростанні вмісту ВЕС закономірно підвищується значення рН та підвищується в'язкість отриманого гелю (табл. 6.2). Як видно із рис. 6.2, гелі з 0,5% карбомеру мають низькі показники в'язкості, псевдопластичний тип течії, тому що системи починають текти під впливом низької напруги зсуву. Окрім того, підвищення концентрації екстракту в даних гелях призводить до зростання значення рН, а при 20% - до зниження показників в'язкості, тому використання гелевих основ з 0,5% карбополу не забезпечує належних споживчих та консистентних властивостей МЛФ. Гелі з вмістом 0,75% карбополу та 10% екстракту також мають незадовільні консистентні властивості (рис. 6.2.).

Підвищення вмісту екстракту до 20% хоч і сприяє зростанню консистентних властивостей, але має лужне значення рН.

Закономірність підвищення в'язкості при зростанні вмісту гелеутворювача та екстракту також спостерігається в діапазоні концентрацій карбомеру від 1 до 1,75%. При введенні 10% ВЕС не відбувається повної нейтралізації гідроксильних груп акрилового полімеру, про що свідчить подальше зростання в'язкості при підвищенні вмісту ВЕС та зниження значення рН (від 1800 мПа·до 3600 мПа·с для 0,75% гелю; від 3300 мПа·до 5600 мПа·с для 1,0% гелю та від 6100 мПа·до 8900 мПа·с для 1,25% гелю при 20 об/хв). Особливо суттєве зростання в'язкості при збільшенні вмісту екстракту характерно для гелів, що містять 1,5 % та 1,75 % гелеутворювача. І, навпаки, несуттєве зростання в'язкості та значне підвищення рН до близько 9 при збільшенні концентрації екстракту з 15 % до 20 % для 1 % та 1,25% гелів може негативно вплинути на шкірні покриви при використанні МЛЗ.

Наявність межі плину на реограмах зразків гелів 5-18 свідчить про те, що для утвореної системи не характерна самовільна течія. Зростання межі плину, площі петлі гістерезису (рис. 6.2) і значення в'язкості спостерігається при підвищенні вмісту гелеутворювача та введенні екстракту. Значення площі петлі

гістерезису характеризує тиксотропні властивості системи, тобто здатність до відновлення структури після механічного руйнування [383].

Таким чином, за результатами досліджень експериментальних зразків гелів, визначення закономірностей впливу концентрації гелеутворювача та екстракту для подальшої оптимізації складу дерматотропного засобу з екстрактом сапропелю обрано зразки, що містять 1,0 % – 1,25 % гелеутворювача та 10 % – 20 % ВЕС.

6.2.2 Фармакологічне обґрунтування концентрації водного екстракту сапропелю у складі гелю

Для обґрунтування вибору концентрації ВЕС у складі гелю досліджували місцеву протизапальну дію на моделі гострого фотодинамічного запалення у щурів (УФ-еритема). На даному етапі дослідження обрано основу з 1,25% вмістом гелеутворювача.

За результатами фармакологічного дослідження встановлено, що зразок з 5% ВЕС виявляв нижчу протизапальну дію ніж зразок з 10% ВЕС, і значно поступався активності референс-зразка – мазі «Пантенол», виробництва Хемофарм АД, Сербія [403].

На другу добу після УФ-опромінення протизапальна активність гелів з 10% та 15% ВЕС була на 47,62 і 33,33% ($p < 0,05$) вищою, ніж мазі «Пантенол» (рис. 6.3). На 3 добу ПЗА досліджуваних препаратів з 10 і 15% ВЕС складала 66,67 і 76,19% відповідно, причому була на 38,10 і 47,62% ($p < 0,05$) вищою від референс-зразка (рис. 6.3).

Слід зазначити, що на 6-7 добу експерименту референс-зразок за показником ПЗА поступався гелям з 10 і 15% ВЕС на 38,9–50,0% (рис. 6.3).

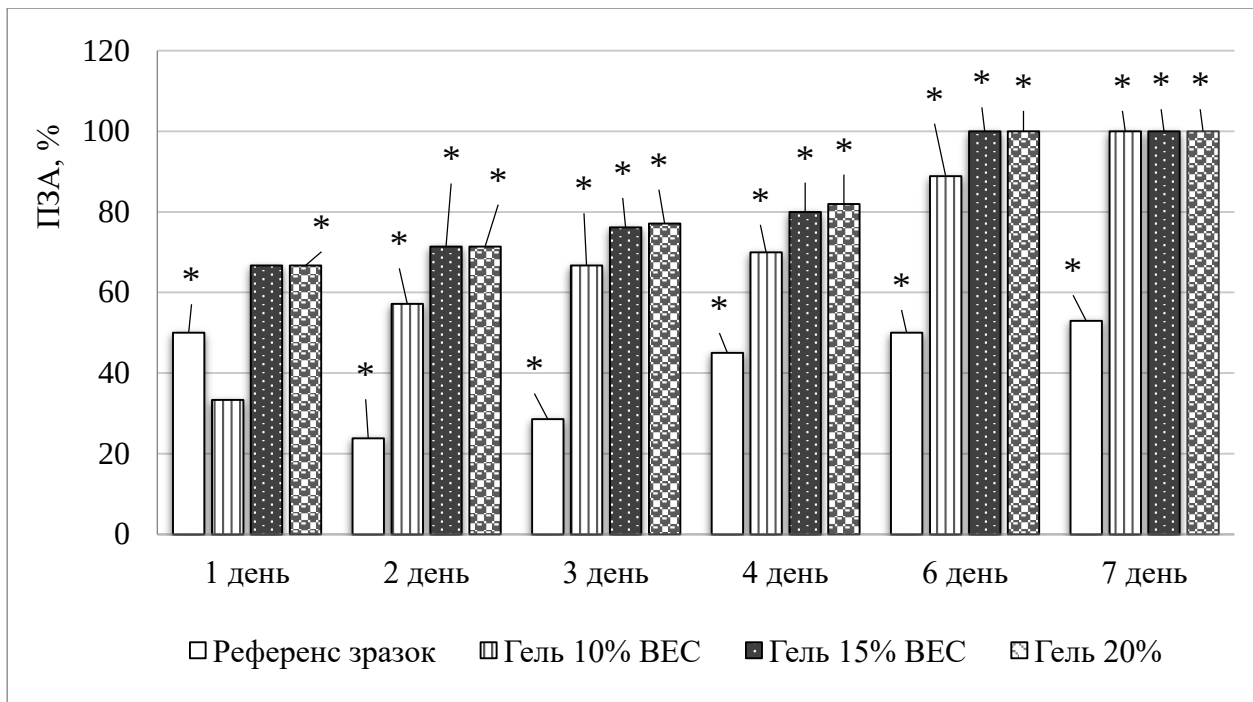


Рис. 6.3. Результати дослідження ПЗА дослідних зразків гелів на моделі гострого фотодинамічного запалення шкіри у щурів, % (n=6)

Примітка * – відмінності достовірні щодо значень 1 групи (контрольна патологія), $p < 0,05$.

Гель з 20 % ВЕС мав незначно більшу протизапальну активність порівняно з гелем з 15% ВЕС на 3-4 день експериментального дослідження – вона становила 77,14 % та 82 % і була на 0,95 і 2 % відповідно ($p < 0,05$) вищою. Протизапальна активність гелю з 20 % ВЕС на 1-2 дні та 6-7 була на рівні гелю з 15 % ВЕС.

Таким чином за результатами фармакологічних досліджень на моделі фотодинамічного запалення обрано концентрацію ВЕС у складі гелю, яка становить 15% [403].

Опис експерименту та результати дослідження інтенсивності запального процесу в шкірі щурів, ПЗА досліджуваних зразків гелю та товщини шкірної складки щурів наведено у табл. 7.4-7.6 розділу 7. «Обговорення результатів біологічних досліджень м'яких лікарських форм з екстрактами сапропелю» дисертаційної роботи.

6.2.3. Обґрунтування вибору консерванта у складі гелю

МЛФ, особливо гелі, є сприятливим середовищем для росту і розмноження мікроорганізмів. Мікроорганізми псують продукт і, що особливо небезпечно, можуть спровокувати розвиток запальних і алергічних реакцій на шкірі. Від мікробіологічної чистоти залежать ефективність, безпека і споживчі властивості кінцевого продукту. Згідно з вимогами, які висувають до консервантів, вони повинні бути ефективними проти широкого спектра мікроорганізмів; мати низьку токсичність, хорошу розчинність; зберігати стабільність у широкому діапазоні рН і температур; бути сумісними з іншими компонентами пропису і паковальними матеріалами. У складі ЛЗ найчастіше використовують парабени, формальдегідовмісні консерванти, феноксиетанол, бензойну кислоту, її ефіри і солі, сорбіонову кислоту, її солі та ін. [260, 388, 389, 404, 405].

Як консерванти, які рекомендуються при розробці ЛЗ, використовували натрію бензоат, калію сорбат та ніпагін у середньоефективних, рекомендованих виробником концентраціях.

Антимікробна дія даних консервантів спрямована безпосередньо на клітини мікроорганізмів як грибів, так і бактерій і полягає в інгібуванні активності ферментної системи та руйнуванні клітинних оболонок. Бензоат натрію чинить антимікробну дію, в першу чергу, на дріжджі і плісняві гриби, пригнічує в клітинах активність ферментів, відповідальних за окиснювально-відновні реакції, а також ферментів, що розщеплюють жири і крохмаль. Механізм дії калію сорбату пов'язаний з тим, що він блокує роботу ферментів і за рахунок цього пригнічує ріст дріжджів, пліснявих грибів, бактерій. Ніпагін як представник парабенів має широкий спектр дії, порушує проникність цитоплазматичної мембрани клітин мікроорганізму, в результаті чого змінюється транспортна функція мембрани, що призводить до загибелі клітини.

При дослідженнях використовували методику оцінки ефективності антимікробних консервантів, наведену в ДФУ 2.0, 5.1.3 (с. 773-775) [232]. Для аналізу антимікробної ефективності консервантів досліджували зразки гелів з 15%

екстракту сапропелю, де зразок № 1 додатково містив натрію бензоат 0,3%; зразок № 2 – калію сорбат 0,2%; зразок № 3 – ніпагін 0,2%, зразок № 4 не містив консервантів.

До кожного зразка гелю, що досліджується з різними антимікробними консервантами, вносили суспензію із вмістом тест-мікроорганізмів з навантаженням 10^8 КУО в 1 мл. У самому зразку мікробне навантаження мало становити від 10^5 КУО/мл до 10^6 КУО/мл.

Зразки лікарської форми гелю з екстрактом сапропелю без консервантів були також інокульовані культурами мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885653, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 і зберігались 28 діб. Після інокуляції мікроорганізмами зразків гелів (навантаження 10^5 КУО/мл – 10^6 КУО/мл), ретельно перемішували для рівномірного розподілення мікроорганізмів у зразку, з кожного зразка відбирали проби: відразу після обсіменіння та через певні інтервали часу (2, 7, 14 і 28 діб), методом прямого посіву висівали на агаризовані живильні середовища на чашки Петрі для визначення кількості життєздатних мікроорганізмів і розрахунку логарифму зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів. Результати досліджень наведені у табл. 6.3.

Отримані експериментальні дані (табл. 6.3) свідчать про те, що зразки гелю з екстрактом сапропелю без консерванта не відповідають вимогам ДФУ 2.0, тому що логарифм зменшення числа життєздатних мікроорганізмів бактерій (*Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*) менше 2,0 і 3,0 через 2 доби і 7 діб відповідно.

Для клітин грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* на 14-у добу lg зменшення числа життєздатних клітин у зразках за вимогами ДФУ 2.0 повинен бути не менше 2,0, а у зразках №4 спостерігаємо 1,80 (*Candida albicans*) і 1,75 (*Aspergillus brasiliensis*), що також не відповідає вимогам. На 7 добу зберігання усі зразки мали характерний ріст мікроорганізмів і були контаміновані, логарифм зменшення кількості життєздатних клітин мікроорганізмів, як бактерій, так і грибів, не відповідав вимогам ДФУ 2.0. Таким чином отриманий результат показав, що гель потребує додавання антимікробних консервантів (табл. 6.3).

**Антимікробна ефективність консервантів у досліджуваних зразках гелів
з екстрактом сапропелю**

Тест-культури мікроорга- нізмів	Консервант (концентрація, %)	Мікробне навантаженн я 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>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Зразок без консерванту	5,70	2/1,51	3/2,45	2,70	3,10
	Натрію бензоат 0,3%	5,74	2/1,93	3/3,20	НВ	НЗ/НВ
	Калію сорбат 0,2%	5,90	2/3,32	3 /3,44	НВ	НЗ/НВ
	Ніпагін 0,2%	5,66	2/3,0	3/НВ	НВ	НЗ/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Зразок без консерванту	5,60	2/0,95	3/1,20	1,55	2,10
	Натрію бензоат 0,3%	5,82	2/1,65	3/3,03	3,44	НЗ/НВ
	Калію сорбат 0,2%	5,80	2/2,74	3/4,05	НВ	НЗ/НВ
	Ніпагін 0,2%	5,90	2/3,03	3/4,39	НВ	НЗ/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653 Різне у всіх розділах	Зразок без консерванту	5,54	0,90	1,45	2/1,80	2,20
	Натрію бензоат 0,3%	5,54	0,98	2,85	2/3,70	НЗ/НВ
	Калію сорбат 0,2%	5,90	1,49	3,12	2/НВ	НЗ/НВ
	Ніпагін 0,2%	5,74	2,85	3,70	2/НВ	НЗ/НВ
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Зразок без консерванту	5,90	0,95	1,25	2/1,75	1,95
	Натрію бензоат 0,3%	5,90	1,35	1,63	2/2,22	НЗ/НВ
	Калію сорбат 0,2%	5,70	1,45	2,49	2/НВ	НЗ/НВ
	Ніпагін 0,2%	5,40	2,81	3,20	2/НВ	НЗ/НВ

Примітка: НВ – не виявляються мікроорганізми; НЗ – не спостерігається збільшення числа мікроорганізмів

За результатами даних, наведених в табл. 6.3, можна зробити висновок, що досліджувані зразки гелю з ВЕС з консервантами 0,2% калію сорбату і 0,2% ніпагіну повністю відповідають вимогам ДФУ (критерій класу «А») як щодо клітин мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, так і грибів *Candida albicans* ATCC 885-653 і *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Відзначено, що після 2 діб зберігання інокульованих зразків гелів з різними консервантами (калію сорбат 0,2% і ніпагін 0,2%) логарифм зменшення числа життєздатних мікроорганізмів для культури *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 становив 3,32 і 3,0 відповідно; для культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 логарифм зменшення числа життєздатних мікроорганізмів склав для зразків гелю з консервантом калію сорбат 0,2% – 2,74; для зразків гелю з ніпагіном 0,2% – 3,03. Усі отримані значення логарифма були не менше 2,0, що відповідає вимогам ДФУ. Для зразків гелю з екстрактом сапропелю з консервантом натрію бензоат 0,3% логарифм зменшення числа життєздатних мікроорганізмів після 2 діб зберігання склав для культури *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 – 1,93, для культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 – 1,65, що не відповідає вимогам ДФУ (логарифм зменшення числа життєздатних клітин бактерій менше 2).

На 7 добу життєздатні клітини мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 у зразках гелів з консервантом ніпагін 0,2% не виділялися (за вимогами ДФУ логарифм зменшення повинен бути не менше 3,0). Водночас логарифм зменшення числа життєздатних клітин *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 для зразків гелів з консервантами калію сорбат 0,2% і натрію бензоат 0,3% становив 3,44 і 3,20 відповідно, що відповідає вимогам ДФУ (не менше 3,0). Для культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 логарифм зменшення числа життєздатних клітин у зразках з консервантом натрію бензоат 0,3% дорівнював 3,03, у зразках з калію сорбат 0,2% – 4,05, і у зразках з ніпагіном 0,2% – 4,39. Усі отримані значення логарифма були не менше 3,0, що відповідає вимогам ДФУ 2.0 [232].

На 14 та 28 добу інкубації в зразках гелів з консервантами натрію бензоат 0,3%, калію сорбат і ніпагін по 0,2% життєздатні мікроорганізми бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 653 не були виявлені. Для культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 на 14 добу зберігання інокульованих зразків з консервантом натрію бензоат 0,3% логарифм зменшення життєздатних клітин бактерій становив 3,44, на 28 добу зберігання життєздатні клітини у всіх зразках з консервантами натрію бензоат 0,3%, калію сорбат і ніпагін по 0,2% не були виявлені, що відповідає вимогам.

Для клітин грибів *Candida albicans* ATCC 885-653 на 14 добу lg зменшення числа життєздатних клітин у зразках гелів з консервантом натрію бензоат 0,3% становив 3,70. У той же час у зразках гелів з калію сорбат і ніпагін по 0,2% життєздатні клітини грибів *Candida albicans* ATCC 885-653 не виявлено. Для культури *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 на 14-у добу lg зменшення числа життєздатних клітин у зразках з консервантом натрію бензоат 0,3% становило 2,22, а у зразках гелю з консервантами калію сорбат і ніпагін по 0,2% життєздатні клітини грибів не були виявлені. Усі отримані значення логарифму як для культури *Candida albicans* ATCC 885-653, так і *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 були не менше 2,0, що відповідає вимогам ДФУ [232].

На 28 добу зберігання інокульованих зразків гелів з усіма консервантами натрію бензоатом 0,3%, калію сорбатом і ніпагіном по 0,2% життєздатні клітини грибів *Candida albicans* ATCC 885-653 і *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 не виділено в жодному із зразків.

За результатами досліджень встановлено, що зразок гелю з натрію бензоат 0,3% не відповідає вимогам ДФУ за показником «Антимікробна ефективність консервантів» (логарифм зменшення числа життєздатних мікроорганізмів для культури *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 менше 2,0) [406].

Гелі з ВЕС із консервантами калію сорбатом і ніпагіном у концентрації 0,2% за ефективністю відповідають критерію «А» за вимогами ДФУ 2.0 для ЛЗ

для нашкірного застосування, тому до складу гелю як консервант нами обрано калію сорбат в концентрації 0,2%.

6.2.4 Експериментальне обґрунтування введення неводних гідрофільних розчинників до складу гелевої основи

Необхідними допоміжними речовинами гелевих основ є неводні гідрофільні розчинники (НГР) – гліцерин, пропіленгліколь, сорбітол, поліетиленгліколь 400 тощо. НГР змочують природні ВМС (натрію альгінат, камеді та ін.) і значно прискорюють їх набухання, сприяють розчинності гідрофобних БАР (фітостероли, каротиноїди, хлорофіл та ін.), запобігають випаровуванню води під час технологічного процесу і застосування препарату, забезпечують рівномірне вивільнення та глибше проникнення БАР у структури шкіри [407]. Проте концентрація НГР у складі гелів не повинна перевищувати 10%, оскільки ці речовини у більшій кількості обумовлюють утворення на поверхні шкіри неприємної липкої плівки, спричиняють осмотичні явища і пересушують шкіру [232, 408]. Враховуючи вищевикладене, доцільним є вивчення впливу НГР на фізико-хімічні, реологічні і біофармацевтичні властивості гелевої основи.

Наступним етапом досліджень стало визначення впливу на реологічні властивості гелю пропіленгліколю (ПГ) та гліцерину в концентрації, в якій найчастіше НГР вводяться до складу МЛФ, – 10% та калію сорбату 0,2%, для якого підтверджено ефективність консервувальної дії в даному складі [406]. ВЕС вводили в концентрації 15%. Склад та властивості зразків наведено в табл. 6.4 та 6.5.

Аналізуючи результати, отримані при дослідженні зразків гелів, які наведені в табл. 6.5 та показані рис. 6.4, відзначаємо, що для всіх зразків характерний пластичний тип плинності системи, оскільки структурна в'язкість змінюється залежно від швидкості зсуву.

Склад експериментальних зразків гелів

№ зразка	Карбопол, г	ВЕС, г	Калію сорбат	НГР, 10%	Вода очищена
8.0	1,0	15,0	-	-	до 100,0
8.1			0,2	-	
8.2				гліцерин	
8.3				ПГ	
11.0	1,25		—	—	
11.1			0,2	—	
11.2				гліцерин	
11.3				ПГ	

Властивості експериментальних зразків гелів

Показник	Дослідні зразки							
	8.0	8.1	8.2	8.3	11.0	11.1	11.2	11.3
Значення рН	6,6±0,1	7,0±0,2	7,0±0,2	7,1±0,1	6,8±0,1	7,3±0,2	7,4±0,1	7,4±0,1
η, мПа·с (20 об./хв, 20 °С)	4300±9 0	4980±4 0	5600±3 0	4550±5 0	6200±10 0	7600±8 0	8740±80	7100±90
МС	1,05	1,07	1,02	1,09	1,10	1,10	1,06	1,11
K _d	70,3	70,2	73,1	67,3	68,5	71,1	74,4	69,3

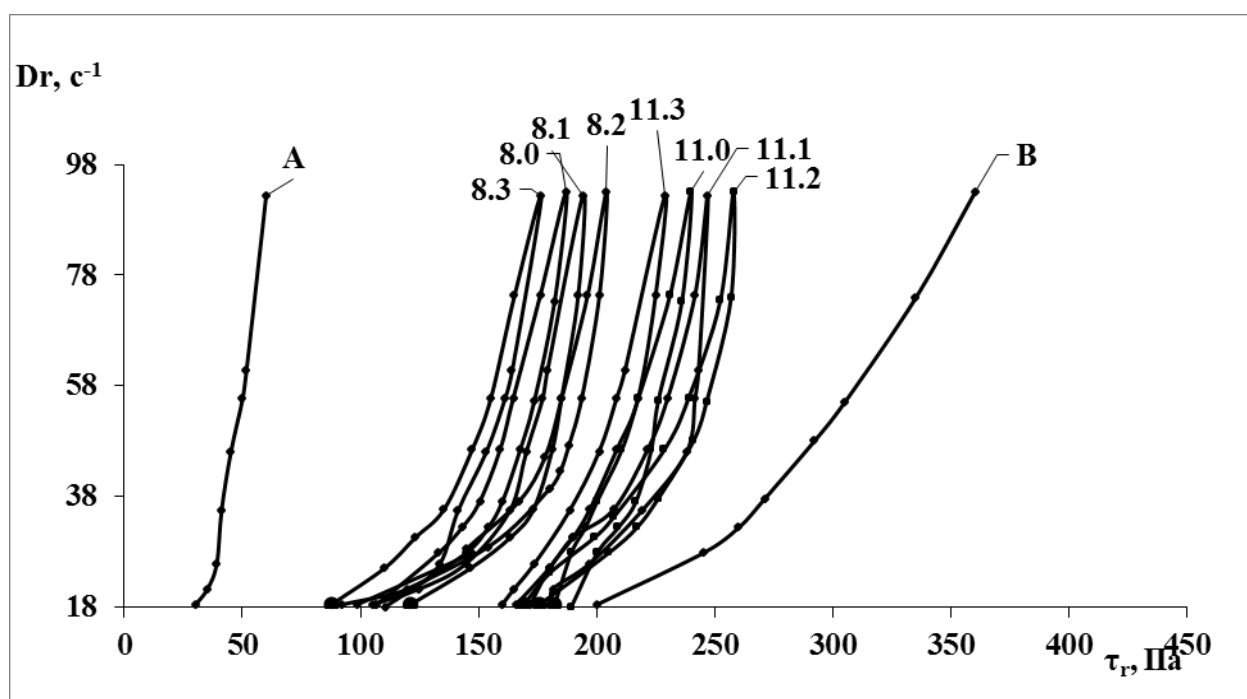


Рис. 6.4. Реограми плинності дослідних зразків гелів

Пропіленгліколь (ПГ) і гліцерин по-різному впливають на поведінку системи при деформації. Так, введення 10% гліцерину підвищує структурну в'язкість гелю. В'язкість залишається на достатньому рівні з урахуванням того, що до складу введено речовину, яка буде підсилювати penetрацію дії гумінових кислот екстракту сапропелю. Додавання 10% пропіленгліколю дещо зменшує в'язкість гелю. Таким чином, введенням до гелю пропіленгліколю та гліцерину можна коригувати їх в'язко-пружні властивості.

На реограмі плинущих зразків гелю видно, що введення до основи ПГ та гліцерину трохи знижує межу (точку) плинущості і зменшує площу петлі гістерезису порівняно зі зразком без НГР (рис. 6.4).

Межа плинущості вказує на межу між властивостями твердого і в'язко-пластичного тіла або на те зусилля, яке необхідно прикласти до об'єкта для його плинущості (наприклад, зусилля видавлювання з туби). Наявність межі плинущості свідчить про те, що для системи не характерна самовільна течія.

Слід зазначити, що введення калію сорбату до гелевої основи також приводить до зростання напруги зсуву і структурної в'язкості (табл. 6.5) [409]. Найбільш стійкими до руйнування є зразки гелю 8.2 і 11.2 із вмістом гліцерину.

Під впливом високої напруги зсуву структура гелів руйнувалась, а при зниженні напруги зсуву система відновлювалась і структурна в'язкість зростала. «Висхідні» криві петель гістерезису вказували на зниження структурної в'язкості після руйнування структури гелів, а «низхідні» криві відображали оптимальний стан рівноваги, в якому перебували системи після руйнування. Наявність петель гістерезису свідчить, що всі зразки гелів мають певні тиксотропні властивості.

За даними, що наведені в табл. 6.5, показники механічної стабільності модельних зразків вказують на незначний ступінь руйнування гелевих систем. Коефіцієнти динамічного розрідження дослідних зразків 8.2-11.2 свідчать про можливість більш ефективного нанесення гелю при механічному розтиранні, розрідження в режимі гомогенізації та легшого заповнення туб.

Як було зазначено, НГР значно прискорюють набухання ВМС, запобігають випаровуванню води під час технологічного процесу і застосування препарату,

забезпечують рівномірне вивільнення та глибше проникнення БАР у структури шкіри [407]. Проте НГР у складі гелів не повинні обумовлювати утворення на поверхні шкіри неприємної липкої плівки, сприяти високій осмотичній активності і завдяки цьому пересушувати шкіру [232, 408, 409]. Тому необхідно вивчити впливу НГР не тільки на реологічні, а й на осмотичні властивості та вологоутримувальну здатність гелевої основи.

Вологоутримувальну здатність гелів вивчали ваговим експрес-методом за ДФУ 2.0 шляхом висушування інфрачервоним випромінюванням на вологомірі торсійних терез ВТ-500 (методика описана в розд. 2). Як свідчать результати експерименту (рис. 6.5), при уведенні НГР гелі повільніше і в меншій кількості втрачають вологу порівняно з основою 8.1 та 11.1 (зразки без НГР). Найвищою вологоутримувальною здатністю володіють гелі, що містять 10% гліцерину (основи 8.3 і 11.2). Цей показник незначно підвищується при збільшенні вмісту гелеутворювача.

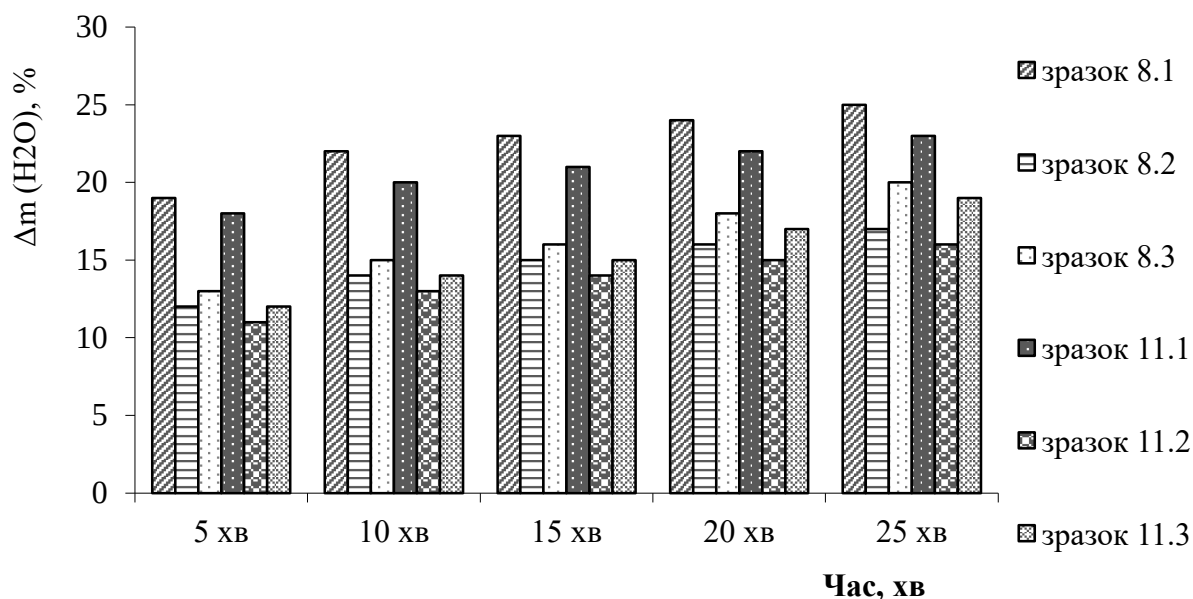


Рис. 6.5. Дослідження вологоутримувальної здатності гелів: 8.1, 11.1 – без НГР; 8.2, 11.2 – із гліцерином; 8.3, 11.3 – із пропіленгліколем

Вміст НГР також обґрунтовували за результатами визначення їх впливу на осмотичні властивості дослідних зразків гелю. Осмотичну активність вивчали

методом діалізу через напівпроникну целофанову мембрану. Вимірювання маси внутрішнього циліндра діалізатора з наважкою гелів, яка становила 10,0, проводили через кожну годину, протягом доби (діаграму будували за значеннями, отриманими через 4, 8, 12 та 24 год дослідження). Кількість рідини, що поглинає гель, виражали у відсотках до маси досліджуваного зразка.

Результати дослідження осмотичних властивостей показано на рис. 6.6. При порівнянні експериментальних зразків, що містять НГР, і контролем (зразки 8.1 та 11.1 – без НГР) встановлено, що гелі проявляли невисоку осмотичну активність. Здатність абсорбувати воду через напівпроникну мембрану найвища у зразків з пропіленгліколем (8.3 і 11.3)

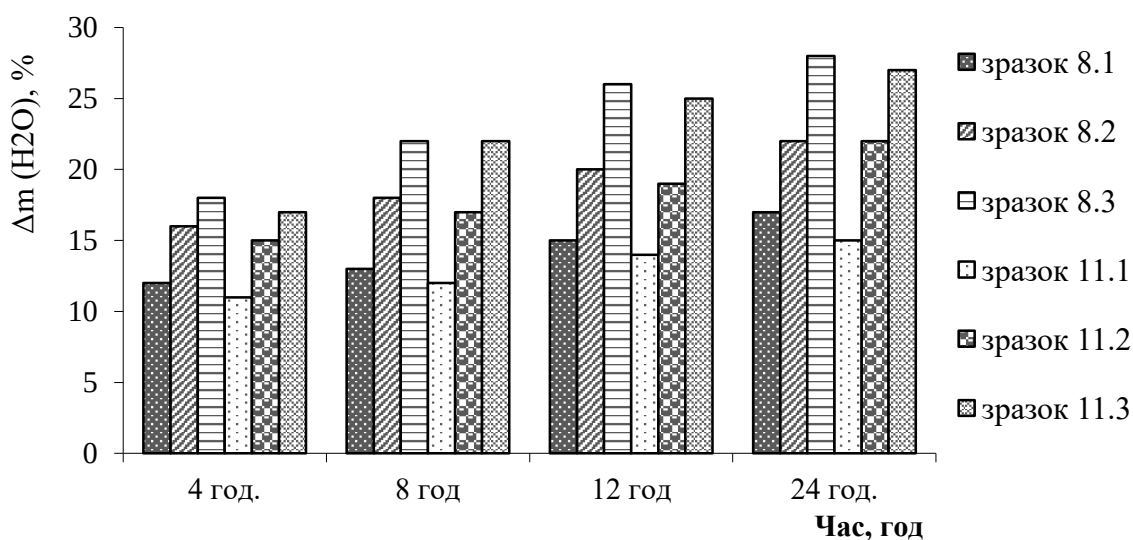


Рис. 6.6. Кінетика абсорбції води досліджуваних зразків гелів

Спираючись на результати вивчення вологоутримувальної здатності та осмотичної дії зразків, обрано основу, що містить 10% гліцерину, бо введення цього ГНР сприяє стабілізації гелю в процесі зберігання, істотно не змінює реологічні властивості, а також не пересушуватиме шкіру при застосуванні ЛЗ.

Таким чином, за результатами визначення фізико-хімічних та реологічних властивостей дослідних зразків, ґрунтуючись на результатах фармакологічних досліджень, запропоновано склад гелю, під умовною назвою «Сапрогель», що містить ВЕС (1:10) у кількості 15 мл, карбопол марки Ultrez 10 у кількості 1,0 ,

гліцерин – 10,0 та воду очищену до 100,0. На основі результатів мікробіологічних досліджень як консервант обрано калію сорбат, який додається у кількості 0,2 г [405].

На склад гелю отримано патент на корисну модель «Протизапальний засіб у вигляді гелю з екстрактом сапропелю» № 139685 від від 10.01.2020 р. [4103, 406] (додаток Ж).

6.3 Розробка технології гелю з екстрактом сапропелю

Для забезпечення належних фізико-хімічних і реологічних властивостей, стабільності в процесі зберігання, нами було опрацьовано технологію виготовлення «Сапрогелю» у промислових умовах і складено блок-схему технологічного процесу виробництва [387].

Технологічний процес виробництва гелю складається зі стадій: підготовки сировини, технологічного процесу виробництва, фасування, пакування і маркування готового продукту. Технологічну схему виробництва гелю під умовною назвою «Сапрогель» у промислових умовах зображено на рис. 6.7.

Технологічний процес виробництва гелю з екстрактом сапропелю передбачає дотримання необхідних правил і вимог настанови СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» [412].

На стадії допоміжних робіт забезпечують підготовку приміщень, персоналу, обладнання, лікарських та допоміжних речовин, пакування та ін. Усі стадії основного технологічного процесу (стадії 1-4) та пакування проводять у класі чистоти D. Сировину для виготовлення гелю після проходження вхідного контролю транспортними візками передають на стадії основного технологічного процесу.

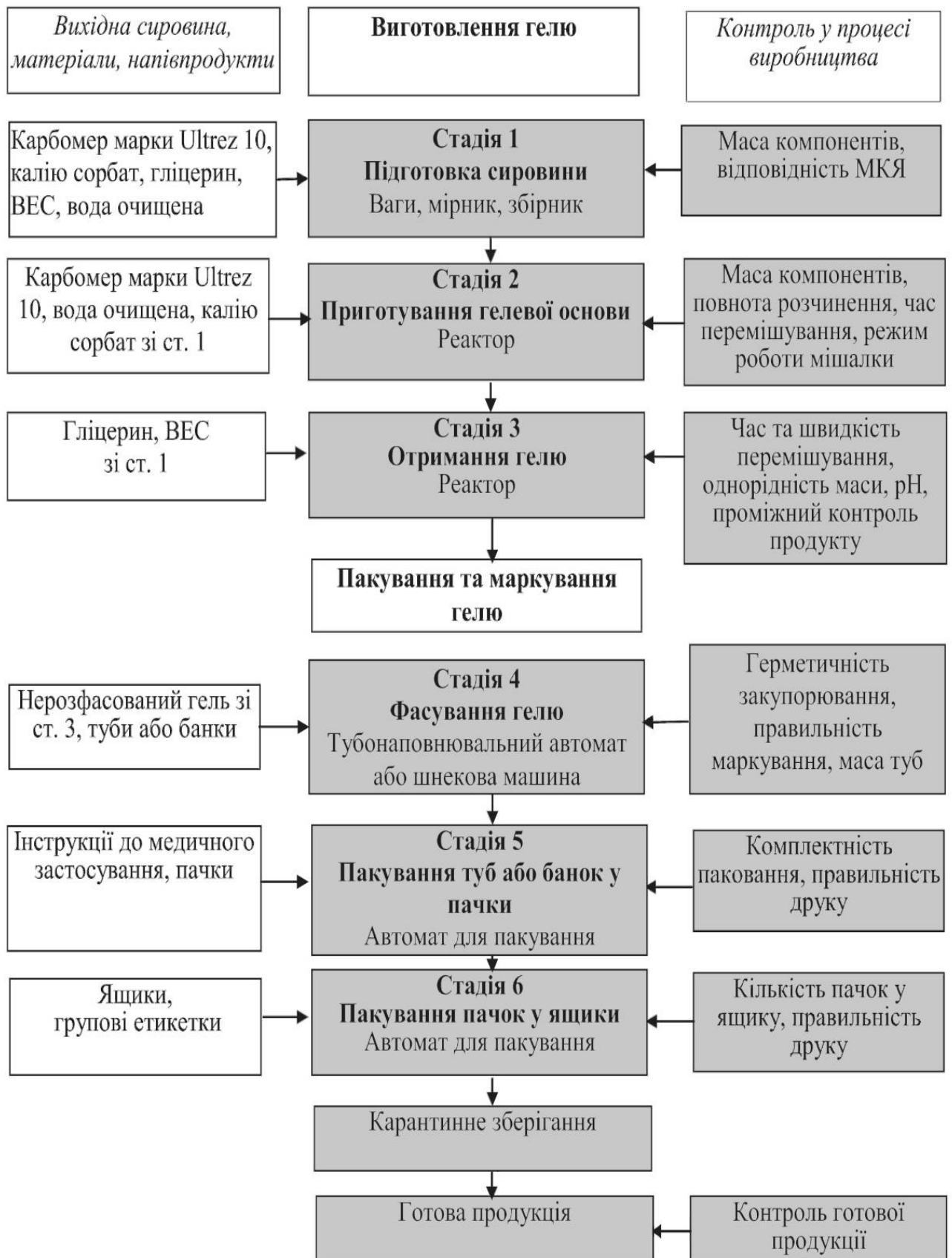


Рис. 6.7. Технологічна схема виробництва гелю «Сапрогель»

Стадія 1. Підготовка сировини. У збірниках на вагах зважують та відмірюють необхідну кількість усіх компонентів, що зазначено у виробничій рецептурі: ВЕС, карбопол, гліцерин, калію сорбат та воду очищену.

Стадія 2. Приготування гелевої основи. У реактор-гомогенізатор завантажують відважену необхідну кількість карбополу та воду очищену (стадія 1). Отриману масу перемішують лопатевим змішувачем зі швидкістю обертання 45 об./хв протягом 30 хв. до отримання однорідної набухлої дисперсії карбополу. Додають необхідну кількість калію сорбату і розчиняють при працюючому змішувачі до утворення однорідної прозорої в'язкої маси (контролюють візуально).

Стадія 3. Отримання гелю. У реактор-гомогенізатор із гелевою основою (стадія 2) по чергово завантажують гліцерин і ВЕС. Отриману суміш гомогенізують зі швидкістю обертання 15-20 об./хв із використанням рамного змішувача і вакууму до отримання однорідної маси.

З отриманого гелю відбирають пробу для проведення контролю якості проміжної продукції та передають до відділу контролю якості. Проміжний контроль здійснюють за такими показниками: якісний та кількісний вміст гумінових кислот і рН. Після отримання результатів про відповідність показникам якості гель відвантажують у збірник за допомогою стиснутого повітря під тиском 0,5-0,7 МПа та передають на стадію дозування гелю у туби або банки.

Стадія 4. Фасування гелю. Гель «Сапрогель» транспортують порціями в бункер тубонаповнювального автомата (або шнекової машини для фасування) при кімнатній температурі і дозують по 100 г у туби алюмінієві для медичних цілей з мембраною та латексним кільцем за ТУ У 28.7-25463020-006-2003, виробництва ТОВ «Тубний завод», м. Харків (або полімерні непрозорі банки). Періодично на вагах із ціною поділки 0,05 г контролюють масу гелю.

Стадія 6. Пакування туб (або банок) у пачки. Кожну тубу (банку) разом з інструкцією до медичного застосування вкладають у пачки з картону. Перевіряють комплектність пакування (туба і бушон або банка з кришкою,

інструкція до медичного застосування), а також правильність, відповідність і чіткість маркування.

Стадія 7. Пакування в групову тару. Лікарський засіб у вторинному пакуванні (у пачках) пакують у групове пакування вручну. Серію готового продукту формують з одного завантаження реактора-гомогенізатора.

Стадія 6. Пакування у пачки. Туби / банки з інструкцією до застосування пакують у пачки на відповідному автоматі. Контролюють комплектність пакування .

Стадія 7. Пакування пачок у групову тару. На столі для пакування здійснюють пакування пачок у коробки вручну. Серію готового продукту формують з одного завантаження реактора-гомогенізатора.

Критичні параметри кожної стадії виробничого процесу гелю наведено в табл. 6.6.

Таблиця 6.6

Основні критичні параметри виробництва «Сапрогелю»

Назва технологічної стадії	Назва технологічного параметру	Показники технологічного параметру
Отримання гелевої основи	Повнота розчинення Час перемішування Режим роботи змішувача	Відповідно до виробн. рецептур. (візуально) 30±5 хв 45±5 об./хв
Отримання гелю	Час перемішування Режим роботи змішувача Однорідність маси рН	20±5 хв 20 об./хв Відповідно до виробн. рецептури (візуально) 7,0±0,05
Фасування гелю	Герметичність закупорювання Правильність маркування Маса вмісту пакування	Відповідно до виробн. рецептур. (візуально) 100±2,5 г

6.4 Дослідження показників якості та стабільності в процесі зберігання гелю

Для підтвердження якості розробленого гелю під умовною назвою «Сапрогель» нами проведені дослідження за показниками: опис, ідентифікація ГК, однорідність, рН, кількісне визначення ГК, мікробіологічна чистота, маса вмісту контейнера. Їх здійснювали на основі загальноприйнятих методик і положень ДФУ 2.0 [232].

Визначення органолептичних, фізичних та реологічних показників якості гелю.

Опис. Прозорий гель темно-коричневого кольору, без запаху і видимих включень. Не повинен мати стороннього запаху, а також ознак фізичної нестабільності (сенерезису та ін.).

Оцінка органолептичних показників була експрес-тестом якості і не потребувала використання додаткового обладнання, тому проводилася на першому етапі випробувань. Усі лабораторні зразки гелю відповідали наведеному опису.

Визначення запаху згідно з методикою ДФУ 2.0 2.3.4 - від 0,5 до 2,0 г гелю розподіляли тонким шаром на склі. Через 15 хв визначали запах. Досліджувані зразки гелю не мали специфічного запаху.

Однорідність. Гель повинен бути однорідним. Визначали це за методикою ДФУ 2.0 (2.9.40), яка наведена в розділі 2. При перегляді неозброєним оком на відстані 30-40 см від очей усі проби гелю не містили видимих часток та сторонніх включень і були однорідними.

рН визначали потенціометрично відповідно до методики ДФУ 2.0, п. 2.2.3, яка описана в розділі 2. рН усіх серій гелю відповідало заявленому критерію - від 6,8 до 7,2. У процесі зберігання рН становило $7,4 \pm 0,2$. Тому до специфікації було закладено межі від 6,5 до 8,0.

Окрім обов'язкових показників, що нормуються ДФУ 2.0 для МЛФ, визначали *структурну в'язкість* ЛЗ на ротаційному віскозиметрі типу Брукфільда за методикою ДФУ 2.0, описаною в розділі 2. Структурна в'язкість гелю після

Гумінові кислоти (ГК) мають темно-коричнє забарвлення, розчинні в слабких лугах, слабо розчинні у воді.

Ідентифікація. ГК ідентифікували після вилучення з гелю лужним гідролізом за методикою кількісного визначення. Після подальшого осадження концентрованим розчином сульфатної кислоти, гумінові кислоти мали характерне темно-коричнєве забарвлення.

Кількісне визначення. У досліджуваному гелі визначали наявність ВЕС за сумарною масовою часткою ГК. Для визначення сумарної масової частки ГК використовували методику, описану в літературі, після окиснення ГК за методом І.В. Тюріна в модифікації Б.А. Нікітіна і титрування сіллю Мора [264].

Результати кількісного визначення сумарної масової частки ГК у 6 зразках гелю з ВЕС і метрологічні характеристики середнього результату наведено в табл. 6.7.

Таблица 6.7

Метрологічні характеристики середнього результату кількісного визначення сумарної масової частки ГК у гелі з ВЕС

№ серії	Вміст сумарної масової частки гумінових кислот, мг	S ²	S	S _{x̄}	Δx	Δx̄	ε, %	ε, %
1	13,28	0,0429	0,2073	0,0846	0,5329	0,2176	1,67	4,10
2	12,80							
3	12,92							
4	13,05							
5	13,23							
6	12,81							

Критерієм прийнятності запропонованої методики є лінійна залежність між концентрацією сумарної масової частки ГК від маси наважки гелю з ВЕС. При визначенні лінійності титрували кожену наважку в концентрації від 80% до 120% від обраної не менше трьох разів.

Результати наведені в табл. 6.8 і показані на рис. 6.8.

Таблиця 6.8

Розрахунок параметрів лінійності методики кількісного визначення масової частки ГК

% від робочої концентрації	Маса наважки гелю, г	Сумарна масова частка ГК, мг
80	4,0007	9,92
85	4,2508	10,70
90	4,5011	11,39
95	4,7492	11,84
100	5,0027	12,57
105	5,2513	13,23
110	5,5009	13,84
115	5,7504	14,39
120	6,0015	15,16

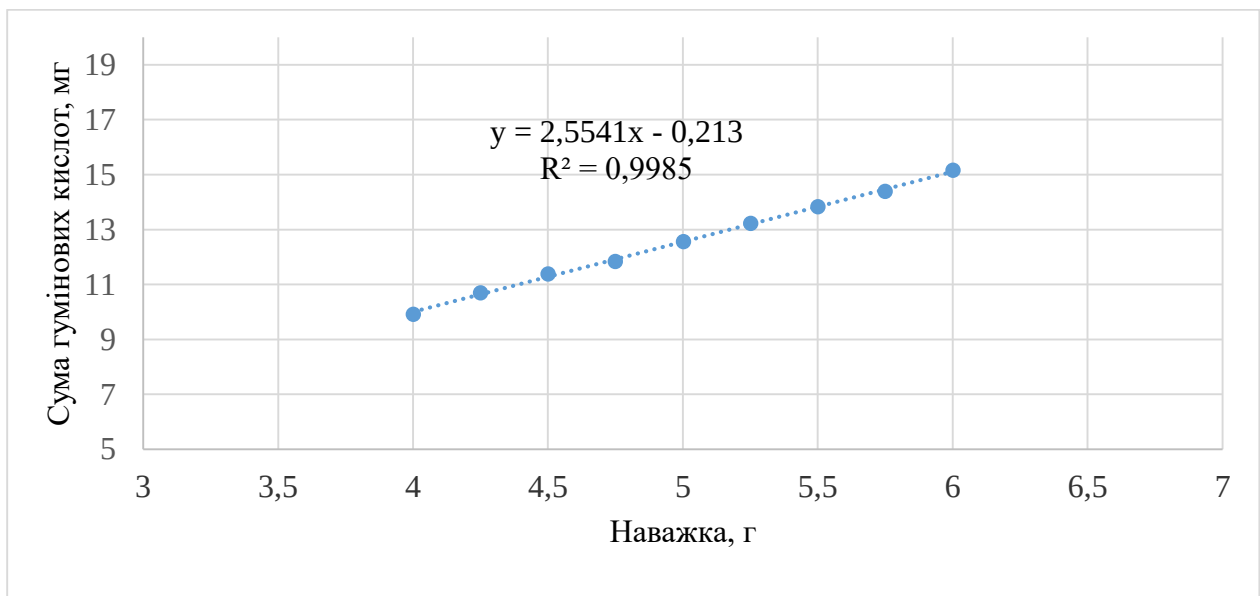


Рис. 6.8. Залежність концентрації сумарної масової частки ГК від маси наважки досліджуваного гелю

Нами встановлено, що спостерігається лінійна залежність між концентрацією сумарної масової частки ГК від маси наважки концентрованого водного екстракту сапропелю з коефіцієнтом кореляції 0,9985 ($\geq 0,9981$), кутовий коефіцієнт лінійної залежності (b) дорівнює 1,02, вільний член лінійної залежності (a) – $1,66 \leq 2,60$.

Прецизійність та правильність досліджували на дев'яти визначеннях у діапазоні концентрацій від 80 до 120% за обраною методикою (табл. 6.9).

Таблиця 6.9

**Результати дослідження прецизійності методики
кількісного визначення сумарної масової частки ГК**

Параметри		Значення	Критерій 1	Критерій 2	Висновок
Прецизійність	ΔZ	1,27	$\leq 1,60$		Витримується за першим критерієм

Отримані результати, наведені в табл. 6.9, свідчать, що методика прецизійна, оскільки значення відносного довірчого інтервалу менше від критичного значення для збіжності результатів: $\Delta\% = 1,27 \leq 1,60$ і виконується критерій незначущості систематичної похибки $\delta=0,51$. У результаті проведеного аналізу кількісного визначення встановлено, що сумарна масова частка ГК у зразках гелю з ВЕС становить 1,302%.

На підставі отриманих даних запропоновано до проєкту МКЯ лікарського засобу ввести вимоги до кількісного вмісту сумарної масової частки ГК не менше 1,25%.

Мікробіологічна чистота. Випробовування мікробіологічної чистоти розробленого гелю проводили згідно з методом, наведеним в статті 2.6.13 [232].

Для дослідження виготовляли та закладали на зберігання по п'ять зразків гелю в різній тарі за двох температурних режимів, а саме в полімерних тубах і банках при температурі $5\pm 3^\circ\text{C}$ і $25\pm 2^\circ\text{C}$. Мікробіологічну чистоту перевіряли кожні 6 місяців протягом 2 років, а потім ще після 3 місяців зберігання.

Відповідно до вимог ДФУ 2.0 статті 5.1.4 «Мікробіологічна чистота нестерильних ЛЗ та субстанцій для фармацевтичного застосування» для лікарських засобів для наскірного застосування критеріями прийнятності мікробіологічної чистоти є такими: ТАМС КУО/г – 10^2 , ТУМС КУО/г – 10^1 , не допускається ріст золотистого стафілококу (*Staphylococcus aureus*) і синегнійної палички (*Pseudomonas aeruginosa*) – відсутність *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г [232]. Дослідження проводили методом прямого посіву на живильні середовища «методом колодязів» (див. розділ 2). З метою уникнення помилок експериментально встановили, що гель у розведенні 1:10 не виявляє антимікробної дії. Результати проведених мікробіологічних досліджень свіжовиготовлених зразків та зразків гелю «Сапрогель», які зберігали протягом 27 місяців при різних температурних режимах, наведено в табл. 6.10.

Таблиця 6.10

Результати дослідження мікробіологічної чистоти «Сапрогелю»

Час зберігання: при $5\pm 3^\circ\text{C}$; при $25\pm 2^\circ\text{C}$	Гель з ВЕС			
	Загальна к-сть м/о в 1 г гелю		Мікроорганізми	
	Бактерії	Гриби	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i> .
Свіжо виготовлений ЛЗ	10	<10	Відсутність росту	Відсутність росту
Через 6 міс. зберіг.	10	<10	-//-	-//-
	20	<10	-//-	-//-
Через 12 міс. зберіг.	20	<10	-//-	-//-
	30	<10	-//-	-//-
Через 18 міс. зберіг.	20	<10	-//-	-//-
	40	<10	-//-	-//-
Через 24 міс. зберіг.	20	<10	-//-	-//-
	50	10	-//-	-//-
Через 27 міс. зберіг.	30	<10	-//-	-//-
	60	10	-//-	-//-

Як свідчать результати мікробіологічних досліджень, наведені в табл. 6.10, у свіжовиготовлених зразках та при їх зберіганні при температурі $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ і $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ протягом 2 років загальна кількість бактерій в 1 г гелю не перевищувала 60 і загальна кількість грибів не перевищувала 10 монокультур; відсутні бактерії *Pseudomonas aeruginosa* й *Staphylococcus aureus*.

Низькі показники мікробної контамінації зразків досліджуваного ЛЗ обумовлені певною антимікробною активністю гелю, ефективною дією консерванту та дотриманням належних санітарних умов при виготовленні та зберіганні.

Отже, експериментально підтверджено, що за показником мікробіологічної чистоти препарат «Сапрогель» відповідає вимогам ДФУ 2.0, що висувають до ЛЗ для нашкодженості застосування [232].

Для встановлення терміну придатності гелю «Сапрогель» досліджували зразки гелю за різних температурних режимів протягом 27 місяців за органолептичними (опис), фізико-хімічними (ідентифікація, рН, кількісне визначення АФІ), фармако-технологічними (структурна в'язкість, однорідність) показниками якості. Результати періодичного контролю якості гелю при зберіганні за різних температурних режимів наведено в табл. 6.11.

Одержані дані свідчать, що досліджувані зразки за умов прохолодної та кімнатної температури мають належні фізико-хімічні показники, якісний і кількісний склад діючих речовин, рН та відповідають вимогам МКЯ протягом усього терміну зберігання.

Отже, нами запропоновано зберігати розроблений гель при температурі, що не перевищує 25°C , в захищеному від світла місці у полімерних банках (або тубах). За таких умов зберігання термін придатності препарату становить 2 роки.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ідентифікація ГК	Метод осадження ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК
pH	Від 6,5 до 8,0	7,0±0,2	7,1±0,2	7,2±0,1	7,2±0,2	7,2±0,2	7,3±0,2	7,5±0,1
Однорідність	Препарат повинен бути однорідним. В 3 із 4 проб не повинно бути видимих часток	Однорідний	Однорідний	Однорідний	Однорідний	Однорідний	Однорідний	Однорідний
Кількісне визначення Уміст ГК, мг/ 1г	В 1 г препарату не менше 12,5 мг	13,02±0,22	12,98±0,15	12,90±0,18	12,88±0,25	12,80±0,20	12,78±0,12	12,75±0,15
У полімерних тубах при температурі +25±2°C								
Опис:	Прозорий гель темно-коричневого кольору без запаху	Прозорий однорідний гель темно-коричневого кольору без запаху	Прозорий однорідний гель темно-коричневого кольору без запаху	Прозорий однорідний гель темно-коричневого кольору без запаху	Прозорий однорідний гель темно-коричневого кольору без запаху	Прозорий однорідний гель темно-коричневого кольору без запаху	Прозорий однорідний гель темно-коричневого кольору без запаху	Прозорий однорідний гель темно-коричневого кольору без запаху
Ідентифікація ГК	Метод осадження ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК	Темно-коричневий осад ГК
pH	Від 6,5 до 8,0	7,0±0,2	7,0±0,3	7,2±0,2	7,5±0,2	7,5±0,4	7,6±0,3	7,7±0,2
Однорідність	Препарат повинен бути однорідним. В 3 із 4 проб не повинно бути видимих часток	Однорідний	Однорідний	Однорідний	Однорідний	Однорідний	Однорідний	Однорідний
Кількісне визначення Уміст ГК, мг/ 1г	В 1 г препарату не менше 12,5 мг	13,02±0,22	13,02±0,18	13,0±0,15	12,98±0,25	12,96±0,18	12,88±0,18	12,78±0,10

У табл. 6.12 наведено показники якості, які внесені до проекту МКЯ на «Сапрогель».

Таблиця 6.12

Специфікація на препарат «Сапрогель»

Показник	Допустимі норми	Методи аналізу
Опис	Гель коричневого кольору без запаху	МКЯ, п.1, ДФУ, ст. «М'які лікарські засоби для наскірного застосування»
Ідентифікація ГК	Після підкислення розчину сірчаною кислотою до рН 2-3 утворюється темно-коричневий осад ГК (осадження ГК)	МКЯ, п.2
Однорідність	Препарат має бути однорідним. У 3 із 4 проб не має бути видимих частинок	МКЯ, п. 3, ДФУ, 2.9.40
рН	6,5-7,5	МКЯ, п. 4, ДФУ, 2.2.3
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – 10^2 КУО/г. Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) – 10^1 КУО/г. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г.	МКЯ, п. 5, ДФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4
Кількісне визначення Уміст сумарної масової частки ГК	Уміст ГК має бути не менше 12,5 мг/ 1г	МКЯ, п.6
Пакування	По 100 г у тубу пластмасову у пачці. Пачки поміщають у групову тару.	
Маркування	Згідно з оригінал-макетом пакування	
Зберігання	В оригінальному пакуванні при температурі не вище 25 ± 2 °С.	
Термін придатності	2 роки	

6.5. Теоретичне обґрунтування актуальності фармацевтичної розробки ветеринарного засобу з екстрактами сапропелю у формі крему

Виробництво фармацевтичної продукції, призначеної для потреб ветеринарної медицини (ВМ), зокрема для лікування та профілактики захворювань сільськогосподарських тварин, є необхідною передумовою ефективного функціонування галузі тваринництва.

На жаль, конкурентоспроможність ВП вітчизняного виробництва невисока, технологічний рівень українських виробників порівняно з іноземними компаніями є досить низьким, чим і пояснюється незначний обсяг виробництва вітчизняних ВП. До того ж розробка та впровадження нових оригінальних ВП майже не ведуться, виробництво субстанцій в Україні також практично не налагоджене [127].

Зважаючи на те, що ураження шкіри сосків вимені дійних корів можуть призводити до маститу, а це найбільш поширене захворювання у корів, яке, окрім економічних збитків, становить небезпеку для споживачів молочної продукції, актуальною є проблема впровадження на ринок доступних, ефективних та безпечних ЛЗ для лікування та профілактики мікротравм, ерозій та тріщин діжок вимені корів, які знижують ризик утворення маститів [127].

Превентивні заходи запобігання маститу у продуктивних тварин є актуальними, оскільки застосування антимікробних засобів призводить до виникнення резистентних штамів мікроорганізмів, особливо до антибіотиків, в результаті чого знижується терапевтична ефективність протимаститних препаратів на їх основі. Крім того, після лікування наявні залишкові кількості антибіотиків у молоці, у зв'язку з чим воно стає технологічно непридатним та шкідливим для здоров'я людей [413].

У багатьох європейських країнах ветеринарні лікарські засоби представлені відповідно до системи ATCvet у каталогах лікарських засобів, а система використовується органами охорони здоров'я як адміністративний інструмент. Оскільки багато речовин застосовують як у гуманній, так і у ветеринарній медицині, можливість пов'язувати класифікаційні системи для двох сфер має велике значення. Таким чином, система ATCvet розробляється в тісній залежності від системи АТС [414].

Серед дерматологічних препаратів реєстру ветеринарних препаратів на сайті інформаційного ресурсу Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів [415] згідно з ATCvet класифікації групи QD03AX Інші препарати, які сприяють загоєнню (рубцюванню) ран серед дерматологічних препаратів для лікування ран та виразкових уражень,

станом на червень 2020 року [414] зареєстровано розчин для зовнішнього застосування Антисептик-стимулятор «Дорогова фракція 2» (АСД®-2Ф, ООО «АВЗ С-П», Російська Федерація), мазь живильна (ПрАТ «ВНП «Укрзооветпромпостач», Україна), мазь «Живосепт» (Приватне підприємство «О.Л. KAR-АгроЗооВет-Сервіс», Україна), мазь «Ветмеколь» (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) та суспензія «Алюспрей» (Ветоквінол С.А., Франція) (рис. 6.9).



Рис. 6.9. Розподіл дерматологічних ВП групи QD03AX Інші препарати, які сприяють загоєнню (рубцюванню) ран за лікарськими формами

Переважають ВП українських виробників (60%), а 40% – виробники Франції і Російської Федерації [145].

Мазь «Ветмеколь» містить левоміцетин та метилурацил, застосовується для лікування інфікованих ран у коней, собак та котів. Мазь живильна містить живицю, екстракти полину та ромашки і володіє антисептичною, протизапальною, ранозагоювальною та імуномодулювальною діями. Мазь «Живосепт» містить екстракт квітів ромашки, жир норковий, прополіс, віск бджолиний, живицю соснову та використовується для лікування тріщин шкіри; механічних ушкоджень, абсцесів, асептичних та інфікованих ран на шкірі вух і шиї; тріщин сосків; різаних ран вимені; маститат та ін. Обидві

призначені для лікування ВРХ, а також свиней, собак, котів та інших видів тварин [145, 414].

Тому одним із актуальних завдань фармацевтичної технології та ВМ є пошук нових дерматологічних засобів м'якої форми випуску для догляду за шкірою діжок та вим'ям ВРХ, що мають ранозагоювальну дію.

6.6. Розробка складу і технології ветеринарного засобу з екстрактами сапропелю у формі крему

МЛФ широко застосовують у ветеринарній практиці, оскільки 60% ринку ветеринарних препаратів виготовляють саме у формі мазей. У формі кремів представлені ветеринарні препарати з групи протимаститних засобів. Завдяки якісно новому рівню наукових досліджень та досягнень у галузі створення емульсійних систем, а також розширенню асортименту ДР та використанню нового сучасного обладнання можливе розширення асортименту ВЛЗ м'якої форми випуску [416, 417].

Найбільш прийнятною основою, яка легко усмоктується, не залишаючи жирного блиску, і водночас забезпечує живильну, захисну і зволожувальну дію на верхні шари шкіри, є, безумовно, емульсія першого роду. Серед переваг емульсійних кремів слід відзначити можливість розчинення активних і допоміжних речовин як у внутрішній, так і в зовнішній фазі без уведення додаткових розчинників. Це дає змогу уводити як гідрофільні, так і гідрофобні АФІ та розширяти спектр фармакотерапевтичної дії [260, 388, 389, 418 – 421].

Щоб уникнути можливого подразливого ефекту, обирають декілька емульгаторів, що дає змогу знизити загальну суму ПАР і не призводить до порушення бар'єрних функцій і водного балансу шкіри. До недоліків цього типу основи належить їх фізична нестабільність, яку усувають правильним підбором системи емульгаторів та підвищенням в'язкості дисперсійного середовища, що можливо за допомогою як ПАР (формування структурно-механічного бар'єра в об'ємі дисперсійного середовища), так і загущувальних добавок різної природи [232, 409, 421].

Опрацювання оптимального складу м'яких ЛКЗ передбачає науково обґрунтований підбір АФІ та допоміжних речовин. Вибір основи ЛФ із пружно-пластичним дисперсійним середовищем слід здійснювати з урахуванням місця нанесення, глибини впливу на тканини шкіри і тривалості аплікації. Здатність МЛФ забезпечувати належне вивільнення лікарських речовин залежить від технології виготовлення, складу (АФІ і ДР).

Раціональне поєднання компонентів ЛКЗ забезпечує його високу терапевтичну ефективність при знижених дозах АФІ. Швидкість вивільнення і penetрації АФІ із м'яких ЛФ залежить від виду основи, структурно-механічних властивостей, значення рН, наявності активаторів всмоктування, солюбілізаторів, від ступеня дисперсності АФІ, а також від технології виготовлення препарату [223, 408, 420]. Таким чином, терапевтичний ефект м'якої ЛФ безпосередньо залежить від оптимальної комбінації АФІ і допоміжних речовин та раціональної технології.

Емульсійні креми, оскільки вони не обтяжують шкіру, зручні у нанесенні, за необхідності легко змиваються після аплікації.

6.6.1 Розробка складу крему з екстрактами сапропелю

На першому етапі експериментальних досліджень необхідно було опрацювати склад емульсійної основи крему з екстрактами сапропелю.

Сучасна фармацевтична промисловість пропонує необмежену кількість емульсійних основ-носіїв різного складу, проте всі емульсії об'єднані спільною ознакою – складаються з гідрофільної та гідрофобної фаз, що рівномірно розподілені одна в одній за допомогою емульгаторів чи поверхнево-активних речовин (ПАР). Тому розробка емульсійних основ-носіїв передбачає підбір раціонального співвідношення олійної та водної фаз, а також природи та концентрації ПАР [422-424].

Гідрофобні компоненти у складі основ виконують наступні функції: технологічні (формоутворювачі, загущувачі, розчинники, солюбілізатори, емульгатори), біофармацевтичні (рослинні олії, жири і воски здатні проникати в тканини шкіри і є активними носіями АФІ), споживчі

(забезпечують відповідну консистенція, намащувальну здатність, зручність вивільнення з тари), біологічні (пом'якшення, підтримання або відновлення водно-ліпідного балансу, живлення та регенерація тканин шкіри) [232, 425, 426]. Гідрофобні рідини, крім формоутворювальної функції, є розчинниками, виконують роль емоментів (пом'якшувальна дія) та утримують вологу, перешкоджаючи надмірному висушуванню шкіри [426-428].

Носії емульсійних основ типу о/в чи в/о/в містять незначну частку гідрофобних компонентів, серед яких завжди є рослинні олії чи мінеральні масла.

У фармацевтичній технології використовують різні рослинні олії, такі як соняшникова, кукурудзяна, оливкова, мигдалева, рицинова та ін. [232, 330, 429]. Кожна олія володіє низкою специфічних позитивних властивостей. Кукурудзяна олія містить ненасичені жирні кислоти, високу концентрацію токоферолу (антиоксидант) та фосфоліпиду лецитину (емульгувальна і регенерувальна дія), тому фітосубстанція стійка при зберіганні й легко емульгується [423].

Вибір концентрації кукурудзяної олії в складі основи крему обґрунтовували, враховуючи дані інформаційних джерел і власні експериментальні дослідження [430-433].

Вибір емульгаторів є важливим завданням при розробці емульсійної основи крему, оскільки слід враховувати їх стабілізувальну дію, токсичність, рН, хімічну сумісність з АФІ. Хімічна природа і властивості емульгатора визначають стабільність, однорідність, а отже, якість ЛЗ із пружно-пластичним дисперсійним середовищем [364, 434]. Крім стабілізувальної дії, емульгатори здатні підвищувати проникність АФІ, тому що виконують функцію активаторів всмоктування [434, 435]. Хімічна природа ПАР, їх кількісний уміст, особливості взаємодії з компонентами ЛЗ у кожному конкретному випадку по-різному впливають на біодоступність крему [437].

Проте, надлишкова концентрація ПАР в емульсійних ЛФ може руйнувати ліпіди поверхневого шару шкіри, в результаті чого порушується баланс функціонування сальних залоз, запускаються патофізіологічні механізми, що здатні прискорювати процеси старіння шкіри. Тому важливим

завданням при розробці емульсійних ЛЗ є забезпечення їх стабільності при застосуванні низької концентрації ПАР [232, 364, 438], чого можна досягти шляхом підбору комплексного емульгатора I і II-го роду, оскільки при поєднанні стабілізаторів із різними значеннями ГЛБ утворюється більш стабільна емульсія, ніж при застосуванні одного емульгатора.

Як емульгатори нами обрано економічно доступні емульгатори : комплексний емульгатор №1 для отримання стабільних емульсій 1 роду, який широко використовується у фармацевтичній промисловості та цетилстеариловий спирт (ЦСС) – емульгатор 2 роду, структуроутворювач та загусник.

З метою розробки складу крему з екстрактами сапропелю були приготовлені модельні зразки емульсійних основ: як олійну фазу використовували кукурудзяну олію в концентрації 15 та 20%; комплексний емульгатор № 1 в концентраціях 4, 6, 8 та 10%. Для підвищення показників в'язкості до складу основи крему додатково додавали ЦСС у концентрації 1% та 2%. Склад модельних основ наведено в табл. 6.13.

Таблиця 6.13

Склад модельних емульсійних основ крему

Назва компонента № з/п	Кількість компонента, г											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Кукурудзяна олія	15	15	15	15	15	15	15	15	15	20	20	20
Емульгатор №1	4	4	4	6	6	6	8	8	10	6	6	8
ЦСС	-	1	2	-	1	2	-	1	-	-	1	-
Вода очищена	До 100,0											

Дослідні зразки емульсійних основ виготовляли методом інверсії фаз. Емульгатори з кукурудзяною олією сплавляли при температурі $(75 \pm 5)^\circ\text{C}$. Окремо нагрівали воду до цієї ж температури і частину (приблизно 10%) додавали в олійну фазу.

Емульгували з використанням гомогенізатора Polytron PT 3100 D «Kinematica AG» (Швейцарія) упродовж 10 хв зі швидкістю 3000 об./хв і

отримували емульсію типу в/м. При температурі $(60 \pm 5)^\circ\text{C}$ додавали залишок водної фази тієї ж температури, відбувалася інверсія фаз, перемішування продовжували до охолодження емульсії до кімнатної температури.

Дослідні зразки оцінювали за органолептичними (зовнішній вигляд, запах, колір) і споживчими властивостями, показниками термічної і колоїдної стабільності (наявність чи відсутність коалесценції, розшарування, агрегації часток, коагуляції), значенням рН, структурної в'язкості та дисперсності. Також визначали залежність структурно-механічних властивостей основи від концентрації масляної фази та емульгувальної суміші.

У дослідженнях використовували методики ДФУ 2.0 Т.1. «М'які лікарські засоби для наскірного застосування» та ДСТУ 4765:2007 «Креми косметичні. Загальні технічні умови»), наведені в розділі 2.

Результати визначення показників якості модельних зразків емульсійних основ подано в табл. 6.14. Досліджувані зразки були однорідні за зовнішнім виглядом, білого кольору, характерного запаху кукурудзяної олії; основи мали значення рН 6,1-7,06 у межах норми щодо ЛФ для наскірного застосування [431, 432]. За результатами досліджень відзначено, що всі дослідні зразки є термічно та колоїдно стабільними, мають нейтральне значення рН та консистенцію, яка залежить від вмісту олійної фази та емульгувальної суміші. Так, зразки з 15% кукурудзяної олії та 4 і 6% емульгатора №1 мають низькі показники в'язкості (зразки № 1, № 2, № 4), а зразок № 9 із вмістом емульгатора 10% має досить щільну консистенцію. Зразки з 20% олійної фази (№ 10-12) мають незадовільні органолептичні властивості.

Як свідчать результати визначення показників в'язкості та наведені реограми (рис. 6.10–6.12) при збільшенні концентрації олійної фази, комплексного емульгатора та введенні ЦСС спостерігається підвищення показників в'язкості.

Результати дослідження показників якості модельних зразків емульсійних основ крему (n = 5, P = 95%)

№ зразка	Органолептичні показники	Термостабільність	Колоїдна стабільність	pH 10% вилучення	Структурна в'язкість (η) мПа·с (20об/хв)
1	Рідка консистенція, легко розподіляється та поглинається, не залишає жирного блиску	стабільний	стабільний	6,10±0,1	1980±10
2	Рідка кремоподібна консистенція, легко розподіляється та поглинається, не залишає жирного блиску	стабільний	стабільний	6,3±0,2	2880±10
3	Кремоподібна консистенція, легко розподіляється та поглинається, не залишає жирного блиску, на початку нанесення на шкіру мається білий слід	стабільний	стабільний	6,32±0,1	3240±10
4	Рідка кремоподібна консистенція, легко розподіляється по шкірі, легко поглинається, не залишає білої плівки та жирного блиску	стабільний	стабільний	6,3±0,2	5850±30
5	Кремоподібна консистенція, легко розподіляється та поглинається, не залишає білої плівки та жирного блиску	стабільний	стабільний	6,5±0,2	6900±20
6	Кремоподібна консистенція, легко розподіляється та поглинається, не залишає жирного блиску, на початку нанесення на шкіру мається білий слід	стабільний	стабільний	6,6±0,1	7400±30
7	Кремоподібна консистенція, легко розподіляється по шкірі, легко поглинається, не залишає білої плівки та жирного блиску	стабільний	стабільний	6,90±0,1	7120±20
8	Кремоподібна консистенція, легко розподіляється по шкірі, легко поглинається, не залишається білий слід після нанесення та немає жирної плівки	стабільний	стабільний	6,9±0,2	7520±20
9	Консистенція густого крему, легко розподіляється по шкірі, легко поглинається, не залишає жирного блиску, на початку нанесення утворює білий слід	стабільний	стабільний	7,0±0,1	8400±30
10	Кремоподібна консистенція, легко розподіляється та поглинається, залишається білий слід після нанесення та жирна плівка	стабільний	стабільний	7,02±0,2	6100±10
11	Кремоподібна консистенція, легко розподіляється та поглинається, залишається білий слід після нанесення та жирна плівка	стабільний	стабільний	7,05±0,1	6800±30
12	Кремоподібна консистенція, легко розподіляється та поглинається, залишається білий слід після нанесення та жирна плівка	стабільний	стабільний	7,06±0,2	7400±30

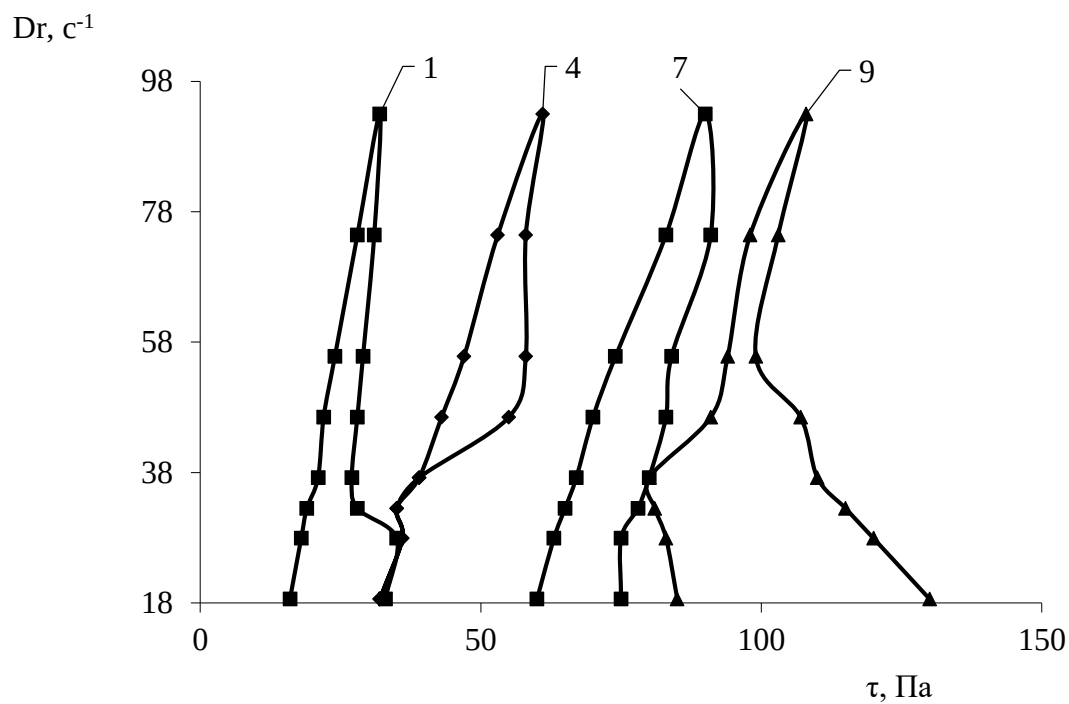


Рис. 6.10. Реограма залежності напруги зсуву (τ_r) від швидкості зсуву (D_r) дослідних зразків кремів № 1, 4, 7, 9, склад яких наведено в табл. 6.1

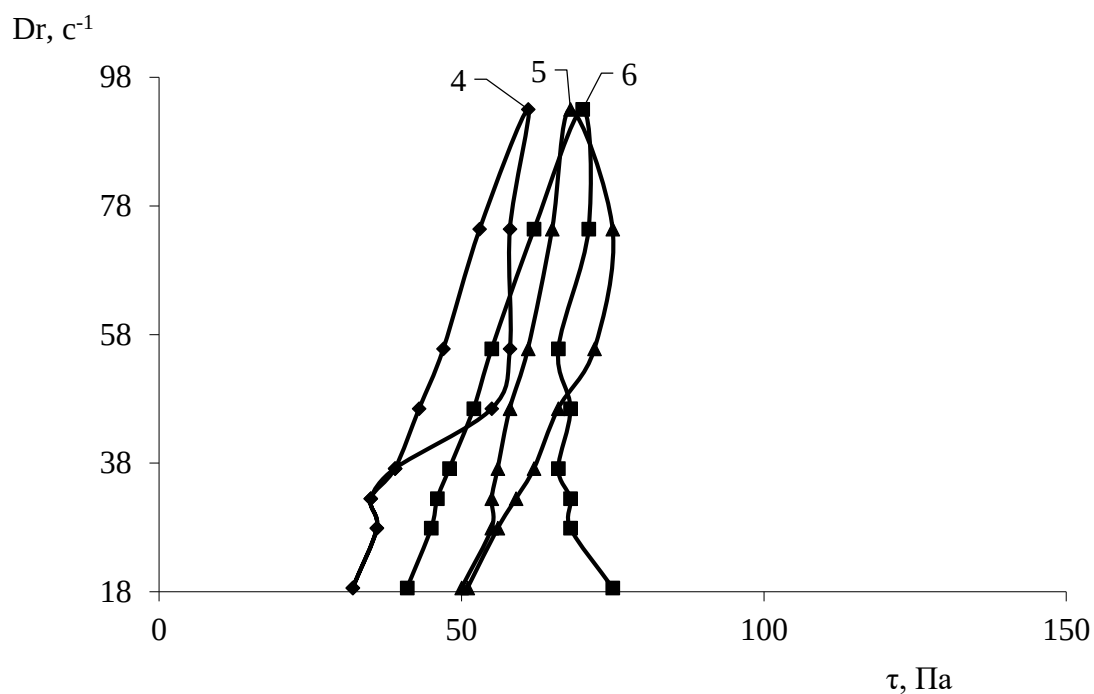


Рис. 6.11. Реограма залежності напруги зсуву (τ_r) від швидкості зсуву (D_r) дослідних зразків кремів № 4, 5, 6, склад яких наведено в табл. 6.1

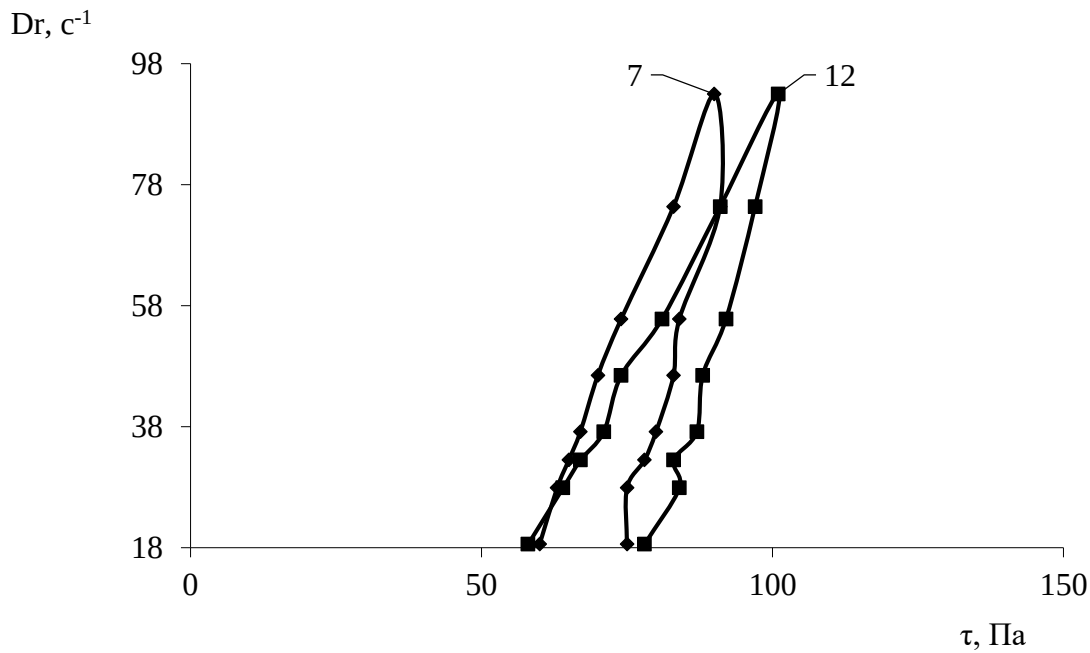


Рис. 6.12. Реограма залежності напруги зсуву (τ_r) від швидкості зсуву (D_r) дослідних зразків кремів, склад яких наведено в табл. 6.12

Наведені реограми вказують про те що, дослідні зразки є неньютонівськими рідинами з пластичним типом плинну, характеризуються достатньою тиксотропністю, про що свідчить наявність петель гістерезису на реограмах плинну.

З огляду на отримані результати для подальших досліджень обрано зразки № 5 (№2) та № 8 (№3), що містили 15% олійної фази, 1% ЦСС та 6 і 8% емульгатора №1 відповідно. Так як зразок з 4% емульгатора мав низькі показники в'язкості та розшаровувався при зберіганні, було приготовлено основу з 5% емульгатора №1 та 1% ЦСС (№1). Цей зразок мав показники в'язкості 2250 (η) мПа·с /20 об/хв, значення рН 6,9, за показниками термічної та колоїдної стабільності був стабільним [431, 432].

Результати мікроскопічних досліджень модельних зразків емульсійних основ показано на рис. 6.13.

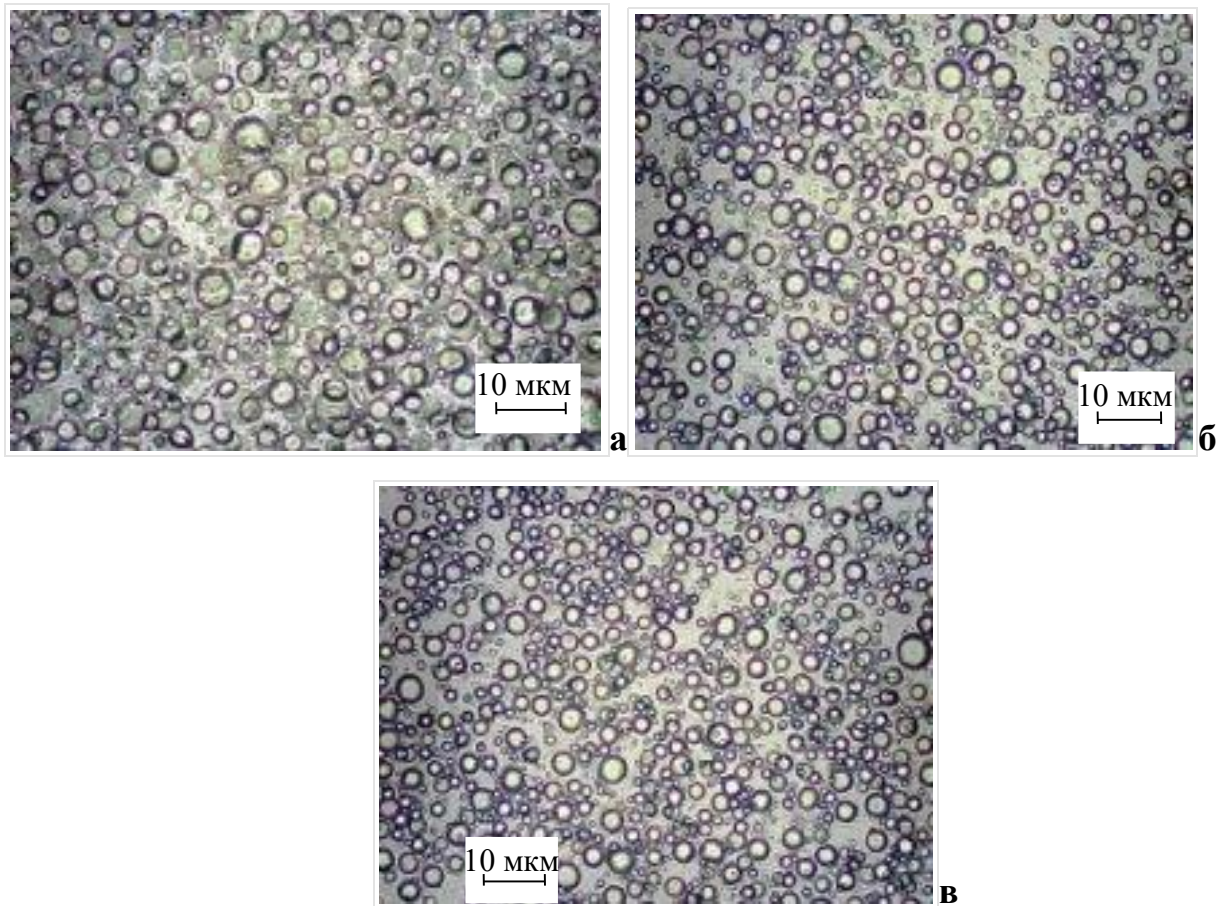


Рис.6.13. Дисперсність частинок олійної фази *(збільшення у 100 р.): зразок з 15% кукурудзяної олії, 1% ЦСС та: а – 5%, б – 6%, в – 8% емульгатора №1

Зразок з 5% емульгатора №1 має неоднаковий розмір крапель - від 0,001 мкм до 0,02 мкм, що свідчить про зменшення ступеня дисперсності емульсії і побічно характеризує низький ступінь в'язкості структури та прояви агрегативної нестабільності системи, що може призвести до розшарування емульсійної системи в процесі зберігання. У зразку № 3 форма крапель деформована, тобто можна стверджувати про високу концентрацію дисперсної фази. У зразку № 2 спостерігається монодисперсна і рівномірна округлість крапель, що свідчить про стабільність системи.

Таким чином, враховуючи результати досліджень з розробки складу крему з екстрактом сапропелю, обрано зразок, що містить 15% кукурудзяної олії, 1% ЦСС та 6% емульгатора № 1. Підвищення вмісту емульгатора до 8% недоцільне з огляду на можливість прояву місцевопоздразнювальної дії та підвищення собівартості продукції [431, 432].

6.6.2. Дослідження з вибору концентрації активних фармацевтичних інгредієнтів

Наступним етапом дослідження було визначення впливу ВЕС на властивості емульсійної основи. З огляду на хімічний склад ВЕС, наявність гумусових речовин, лужне середовище екстракту рН в межах 10-11, основа повинна зберігати свої консистентні властивості, бути стабільною та, насамперед, запобігати утворенню нерозчинних гумінових кислот, які випадають в осад в межах від 2,0 до 3,5 одиниць рН. Тому перед введенням до складу емульсійних основ до ВЕС додавали 10% розчин лимонної кислоти до рН 7,0. З метою вивчення впливу екстракту на стабільність та значення рН розробленої основи були приготовлені зразки з 5, 10, 15 та 20% ВЕС [430, 433].

Дослідні зразки кремів із ВЕС отримували за вищенаведеною технологією, екстракт додавали до охолодженої емульсійної основи. Дослідні зразки оцінювали за органолептичними (зовнішній вигляд, запах, колір) і споживчими властивостями, показниками термічної і колоїдної стабільності, значенням рН та структурної в'язкості. Крім того, визначали залежність структурно-механічних властивостей крему від концентрації ВЕС. Результати досліджень наведені у табл. 6.15.

За результатами експериментальних досліджень визначено вплив ВЕС на фізико-хімічні та реологічні властивості емульсійної основи. Відзначено, що збільшення кількості ВЕС в емульсійній основі призводить до незначного підвищення рН та зниження в'язкості крему. Дослідні зразки із різним кількісним вмістом ВЕС в емульсійній основі сапропелю є термічно та колоїдно стабільними, мають задовільні органолептичні властивості [430].

Проведені дослідження показали, що структурна в'язкість при 20 об/хв і 20 °С для експериментальних основ була в межах : 6290 ± 20 – 6900 ± 10 мПа·с. Усі основи характеризувались неньютонівським типом течії і тиксотропними властивостями (рис. 6.14).

**Результати дослідження показників якості експериментальних зразків крему
з ВЕС (n=5, P = 95%)**

Вміст ВЕС у кремі, %	Органолептичні показники	Термоста- більність	Колоїдна стабіль- ність	pH 10% вилучення	Структурна в'язкість (η) мПа·с /20 об/хв
0	Однорідний крем, білого кольору без запаху, кремоподібної консистенції	стабільний	стабільний	6,5±0,2	6900±10
5	Однорідний крем, кремового кольору без запаху, кремоподібної консистенції	стабільний	стабільний	6,7±0,1	6810±10
10	Однорідний крем, світло коричневого кольору, без запаху, кремоподібної консистенції	стабільний	стабільний	6,9±0,2	6700±10
15	Однорідний крем, коричневатого кольору, із специфічним (грунтовим) запахом, кремоподібної консистенції	стабільний	стабільний	7,0±0,1	6540±10
20	Однорідний крем, коричневого кольору із специфічним (грунтовим) запахом, кремоподібної консистенції	стабільний	стабільний	7,1±0,2	6290±20

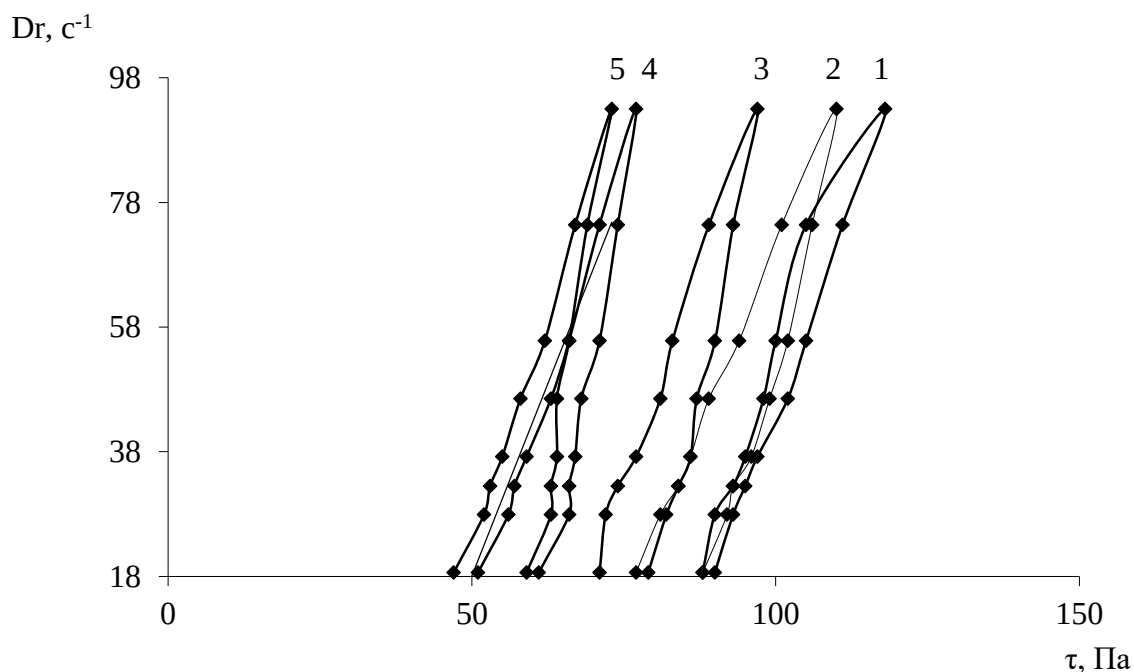


Рис. 6.14. Реограма залежності напруги зсуву (τ_r) від швидкості зсуву (D_r) дослідних зразків крему при 20° С, де 1 – емульсійна основа; 2 – зразок з 5% ВЕС; 3 – зразок з 15% ВЕС; 4 – зразок з 10% ВЕС; 5 – зразок з 20% ВЕС

Наведені реограми залежності напруги зсуву (τ_r) від швидкості зсуву (D_r) демонструють здатність ВЕС у незначній мірі розріджувати основу, однак при цьому вона зберігає структурно-механічні властивості – пластичний тип плинності та незначні тиксотропні властивості, що дає можливість використовувати розроблену основу без додаткової корекції складу при введенні ВЕС у концентрації до 20%.

6.6.3. Фармакологічне обґрунтування концентрації екстрактів сапропелю у складі крему

Для обґрунтування вибору концентрації екстрактів сапропелю у складі крему досліджували місцеву протизапальну дію на моделі гострого фотодинамічного запалення у щурів (УФ-еритема) [403]. З цією метою було виготовлено зразки кремів з різним вмістом ВЕС та ОЕС. Концентрація ВЕС становила від 5 до 10%. Для підвищення ПЗА розроблюваного засобу, до зразків кремів з 5 % та 10 % ВЕС вводили ОЕС замість кукурудзяної олії у кількості 15% [403].

За результатами фармакологічного дослідження встановлено, що досліджуваний зразок крему з 5% ВЕС не мав ПЗА [403]. Крем з 10% ВЕС виявляв ПЗА, нижчу від препарату порівняння мазі «Пантенол» («Хемофарм» АД, Сербія). Крем з 5% ВЕС та 15% ОЕС гоїв рани так само, як препарат порівняння, а крем з 10% ВЕС та 15% ОЕС володів високою ПЗА (рис. 6.15).

На основі результатів фармакологічних досліджень на моделі фотодинамічного запалення обрано концентрацію ВЕС та ОЕС у складі крему, яка становить 10 і 15% відповідно.

Схема експерименту та результати дослідження інтенсивності запального процесу в шкірі щурів, протизапальної активності досліджуваних зразків крему та товщини шкірної складки щурів наведено у табл. 7.4-7.6 розділу 7. «Обговорення результатів біологічних досліджень м'яких лікарських форм з екстрактами сапропелю» дисертаційної роботи.

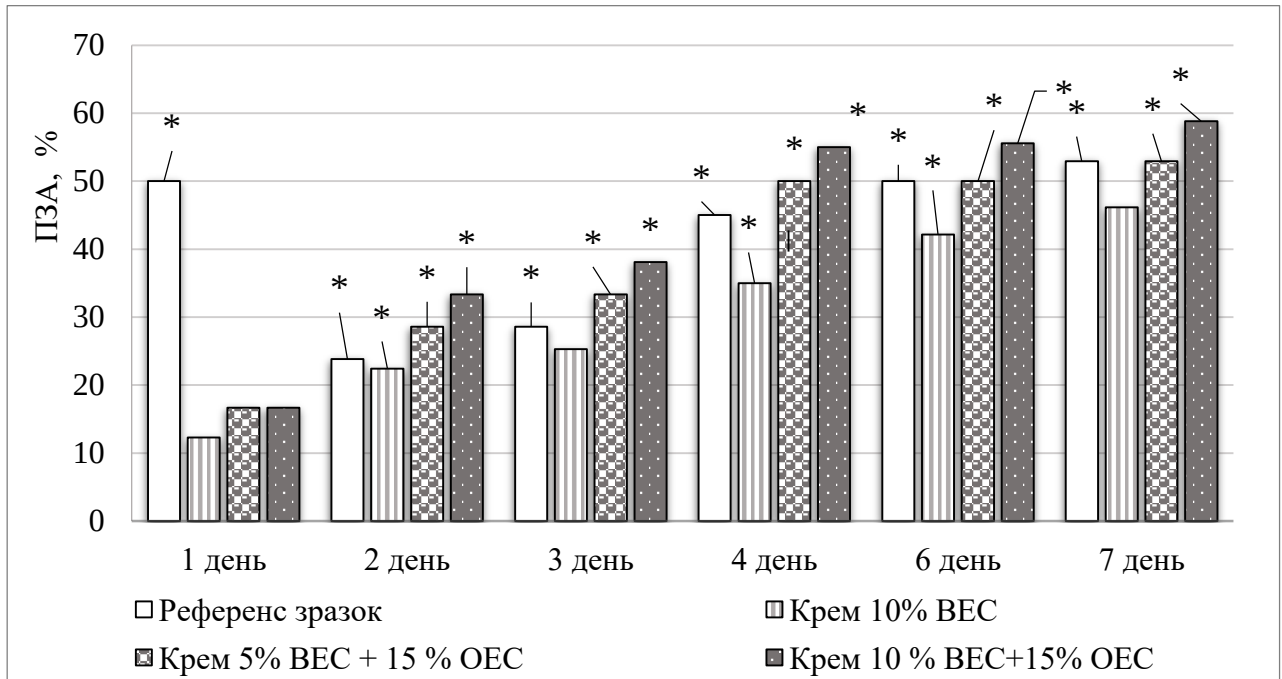


Рис. 6.15. Результати дослідження ПЗА дослідних зразків кремів на моделі гострого фотодинамічного запалення шкіри у щурів, % (n=6).

Примітка* – відмінності достовірні щодо значень I групи (контрольна патологія), $p < 0,05$.

6.6.4. Обґрунтування вибору консерванта у складі крему з екстрактами сапропелю

Наступним етапом досліджень було обґрунтування вибору консерванту для дослідних зразків крему *in vitro* відповідно до методу ДФУ 2.0 [232], який полягає в контамінації досліджуваного зразка відповідною культурою мікроорганізму і визначенні її кількості через певні проміжки часу шляхом висівання на живильні середовища. Вирощування культур мікроорганізмів і приготування інокуляту здійснювали відповідно до методики ДФУ 2.0, яка описана в розділі 2.

З метою вибору ефективного консерванту нами було виготовлено експериментальні зразки крему з екстрактами сапропелю (ЕС) з використанням наступних консервантів: зразок № 2 містив нізин в концентрації 0,01%; зразок № 3 – нізин 0,01% та гермабен II – 0,8%, зразок № 4 – гермабен 0,8%, зразок № 5 – нізин 0,01% та еуксил К 100 – 0,1%; зразок № 6 – еуксил К 100 0,1%. Зразок № 1 не містив консерванту [430, 439].

Досліджувані серії розважували по 10 г у стерильні пеніцилінові флакони (по 5 флаконів у кожній серії), контамінували монокультурами вищезазначених

бактерій (10^6 КУО/г) і грибів (10^5 КУО/г). Герметично закупорені флакони зберігали у темному місці протягом 28 діб при температурі (20-25) °С [232].

Для встановлення числа життєздатних клітин тест-культур мікроорганізмів посіви проводили через 2, 7, 14 і 28 діб після контамінації та здійснювали розрахунки, як описано в розділі 2.

Результати вивчення ефективності консервантів у досліджуваних зразках крему наведено в табл. 6.16.

Таблиця 6.16

Вивчення ефективності антимікробних консервантів у складі експериментальних зразків крему з екстрактами сапропелю

№ зразка	Зразки сапропелів	Тест-мікро-організм	Контроль культури	Логарифм зменшення				
				Вихідний висів	2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
1	Крем з ЕС	S.aureus	$7,7 \times 10^5$	1,01	0,96	0,85	н/з	н/з
		P.aeruginosa	$7,2 \times 10^5$	1,23	1,02	0,98	н/з	н/з
		A.brasiliensis	$2,80 \times 10^6$	2,06	1,49	1,42	0,82	0,83
		C.albicans	$1,43 \times 10^5$	1,23	0,99	0,94	0,62	0,62
2	Крем з ЕС + 0,01% нізину	S.aureus	$7,7 \times 10^5$	1,01	1,30	2,54	2,58	н/з
		P.aeruginosa	$7,2 \times 10^5$	2,03	1,48	2,13	н/в	н/в
		A.brasiliensis	$2,80 \times 10^6$	2,26	2,78	3,11	н/в	н/в
		C.albicans	$1,43 \times 10^5$	3,10	0,86	0,83	0,74	0,74
3	Крем з ЕС + 0,01% нізину та 0,8% гермабену	S.aureus	$7,7 \times 10^5$	2,01	2,31	3,10	н/в	н/в
		P.aeruginosa	$7,2 \times 10^5$	2,13	2,48	н/в	н/в	н/в
		A.brasiliensis	$2,80 \times 10^6$	1,36	2,01	2,34	2,58	н/в
		C.albicans	$1,43 \times 10^5$	1,22	2,12	2,82	н/в	н/в
4	Крем з ЕС + 0,8% гермабену	S.aureus	$7,7 \times 10^5$	2,00	2,28	3,02	н/в	н/в
		P.aeruginosa	$7,2 \times 10^5$	2,11	2,40	3,28	н/в	н/в
		A.brasiliensis	$2,80 \times 10^6$	1,21	2,00	2,29	2,25	н/в
		C.albicans	$1,43 \times 10^5$	1,18	2,03	2,61	н/в	н/в
5	Крем з ЕС + 0,01% нізину, 0,1% еуксилу K100	S.aureus	$7,7 \times 10^5$	2,01	2,35	3,32	н/з	н/в
		P.aeruginosa	$7,2 \times 10^5$	1,1	2,48	н/в	н/в	н/в
		A.brasiliensis	$2,80 \times 10^6$	1,58	2,17	2,31	2,72	н/в
		C.albicans	$1,43 \times 10^5$	1,53	2,12	2,68	н/в	н/в
6	Крем з ЕС + 0,1% еуксилу K100	S.aureus	$7,7 \times 10^5$	2,01	2,31	3,16	н/з	н/в
		P.aeruginosa	$7,2 \times 10^5$	1,1	2,31	н/в	н/в	н/в
		A.brasiliensis	$2,80 \times 10^6$	1,58	2,17	2,35	2,46	н/в
		C.albicans	$1,43 \times 10^5$	1,53	2,07	2,72	н/в	н/в

Примітка: НВ – не виявлені життєздатні клітини тест-мікроорганізмів; НЗ – не збільшується число життєздатних клітин мікроорганізмів.

Експериментально доведено, що зразок №1, який не містить антимікробних консервантів, не має високого рівня антимікробної дії, про що свідчить утримування практично на постійному рівні числа їх життєздатних клітин (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus brasiliensis*, гриби роду *Candida*) протягом 28 діб дослідження.

Введення до складу зразка крему з ЕС консерванта нізину забезпечує ефективну антимікробну дію щодо бактерій *Staphylococcus aureus* і низьку ефективність до *Pseudomonas aeruginosa*, в той же час не забезпечує захист експериментальних зразків крему від грибів роду *Candida* та *Aspergillus* (зразок №2). Порівняльне вивчення антимікробної дії комбінацій нізину і гермабену та нізину і еуксилу К 100 засвідчило, що практично немає різниці в прояві антимікробного ефекту (зразки № 3 та № 5). Комбінація цих консервантів забезпечує синергічний ефект антимікробної дії до тест-штамів бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) і захист від грибів роду *Candida* та *Aspergillus*.

Слід зазначити, що використання гермабену та еуксилу К 100 також забезпечує ефективну антимікробну дію стосовно дослідних штамів мікроорганізмів. Незважаючи на те, що для цих зразків логарифми зменшення кількості бактерій були дещо нижчими порівняно з комбінацією консервантів, вони відповідали вимогам ДФУ 2.0.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що зразки крему, який містить гермабен, еуксил К 100 та їх комбінацію з нізином, відповідають критерію «А», відповідно до вимог ДФУ 2.0 для нестерильних лікарських засобів для наскірного використання. Однак аналіз логарифмів зменшення числа життєздатних клітин мікроорганізмів свідчить, що максимальне зменшення кількості мікроорганізмів спостерігається при використанні як консерванту еуксилу К 100 та нізину (зразок №4) [430].

Проведені комплексні експериментальні дослідження дали можливість обґрунтувати кінцевий склад крему з екстрактами саропелю під умовною назвою «Сапрокрем» (табл. 6.17) [440, 441].

Склад крему з ВЕС та ОЕС для нашкірного використання

Назва компоненту	Маса, г
Водний екстракт сапропелю (1:10)	10,0
Олійний екстракт сапропелю	15,0
Емульгатор № 1	6,0
Цетилстеариловий спирт	1,0
Еуксил К 100	0,1
Нізин	0,01
Розчин лимонної кислоти 10%	до рН 7,0 (1-5 мл)
Вода очищена	до 100,0

Співвідношення компонентів «Сапрокрему» підібрані таким чином, щоб забезпечити необхідну фармакологічну дію, а також належні споживчі властивості (запах, зручність нанесення, безпечність при нашкірному застосуванні, стійкість при зберіганні).

6.6.5. Розробка технології крему з екстрактами сапропелю

Метою подальших досліджень було обґрунтування технологічних параметрів виробництва крему з екстрактами сапропелю та розробка технологічної схеми його виробництва.

Одним із найважливіших факторів, що впливає на якість МЛФ та активність діючих речовин, є технологія їх виготовлення. Технологічний процес виробництва МЛЗ на основі емульсій передбачає такі технологічні операції: нагрівання, змішування, емульгування, гомогенізацію, охолодження та ін. [260, 330, 405]. Найважливішим є порядок змішування водної та масляної фаз, температура, швидкість та час емульгування. До найбільш розповсюджених методів отримання емульсій у фармацевтичній практиці належать пряме емульгування (додавання внутрішньої фази до зовнішньої); зворотне емульгування або метод інверсії фаз (додавання зовнішньої фази до внутрішньої).

При отриманні емульсії 1 роду методом прямого емульгування окремо готують водну і олійну фази, а потім поступово додають дисперсну фазу до дисперсійного середовища і емульгують до одержання емульсії з необхідним ступенем дисперсності. При використанні даного методу спостерігається постійне кількісне переважання дисперсійного середовища, що забезпечує отримання емульсії необхідного типу. Метод інверсії фаз також дає змогу одержувати дрібнодисперсні емульсійні системи. При використанні цього методу для отримання емульсії 1 роду нагріту водну фазу частинами додають до олійної фази [442].

Температурний режим виробництва емульсійних засобів впливає на фізико-хімічні та реологічні параметри МЛЗ, їх стабільність та собівартість.

У процесі розробки крему зразки досліджували за органолептичними показниками (зовнішній вигляд та споживчі властивості), визначали колоїдну, термічну стабільність, структурно-механічні параметри та робили мікроскопічний аналіз.

Експериментальні зразки емульсійних основ були отримані за різною технологією (прямим методом і методом інверсії фаз) з використанням різних швидкостей емульгування. Емульгатори з урахуванням температури плавлення розплавляли при температурі $(70 \pm 5)^\circ \text{C}$ додавали ОЕС і витримували до отримання однорівного сплаву. Окремо нагрівали воду до цієї ж температури і додавали масляну фазу. Емульгували з використанням гомогенізатора Polytron PT 3100 D «Kinematica AG» (Швейцарія) упродовж 10 хв зі швидкістю 2000, 3000, 5000 та 10000 об/хв. При отриманні емульсії методом інверсії фаз окремо нагрівали воду до температури олійної фази. До олійної фази додавали приблизно 10% водної [433, 443]. Емульгували упродовж 20 хв з зазначеною швидкістю і отримували емульсію типу в/м. При температурі $60 \pm 5^\circ \text{C}$ додавали залишок водної фази тієї ж температури, відбувалася інверсія фаз, перемішування продовжували до охолодження емульсії до кімнатної температури. Властивості модельних основ наведені в табл. 6.18. Дослідні зразки крему, отримані при 10000 об/хв з використанням прямого методу та методу інверсії фаз, були кремоподібної

консистенції, стабільні, проте з наявністю значної кількості повітря всередині, що свідчить про недоцільність використання такої швидкості змішування.

Таблиця 6.18

Властивості експериментальних зразків емульсійних основ, n=5

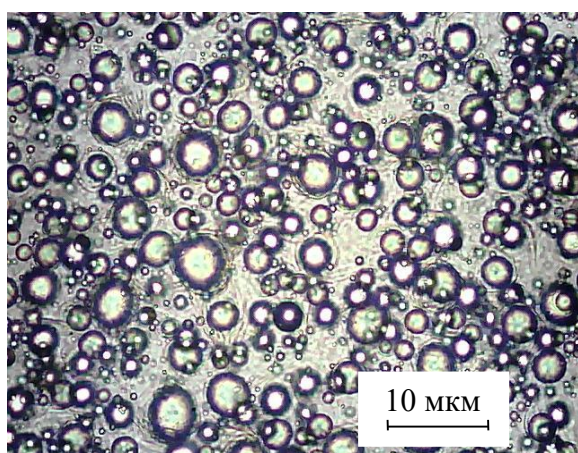
Швидкість емульгування/метод	Органолептичні показники	Термостабільність	Колоїдна стабільність	Структурна в'язкість (η) мПа·с при 20 об/хв
2000 прямий	Кремоподібна консистенція з ознаками розшарування в процесі зберігання	стабільний	нестабільний	-
2000 інверсії фаз	Кремоподібна консистенція	стабільний	стабільний	5730±40
3000 прямий	Кремоподібна консистенція	стабільний	стабільний	6040±10
3000 інверсії фаз	Кремоподібна консистенція	стабільний	стабільний	6700±20
5000 прямий	Кремоподібна консистенція	стабільний	стабільний	6100±40
5000 інверсії фаз	Кремоподібна консистенція	стабільний	стабільний	6990±30
10000 прямий	Кремоподібна консистенція з наявністю бульбашок повітря	стабільний	стабільний	5940±50
10000 інверсії фаз	Кремоподібна консистенція з наявністю бульбашок повітря	стабільний	стабільний	6150±20

Зразки, отримані при 3000 об/хв та 5000 об/хв прямим і методом інверсії фаз, за даними табл. 6.18 є стабільними, метод отримання не впливає на показники колоїдної та термічної стабільності, показники в'язкості досліджуваних зразків.

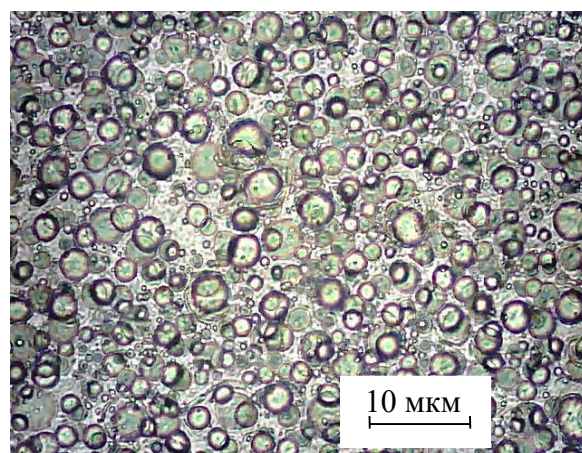
Експериментально встановлено, що метод інверсії фаз є більш раціональним, про що свідчить стабільність емульсії, отриманої при 2000 об./хв на відміну від зразка, який отримано при такій самій швидкості емульгування введенням масляної фази в водне дисперсійне середовище.

Мікроскопічні дослідження зразків, що отримані методом інверсії фаз при 2000 об/хв та 3000 об/хв, показали, що вони мають неоднаковий розмір

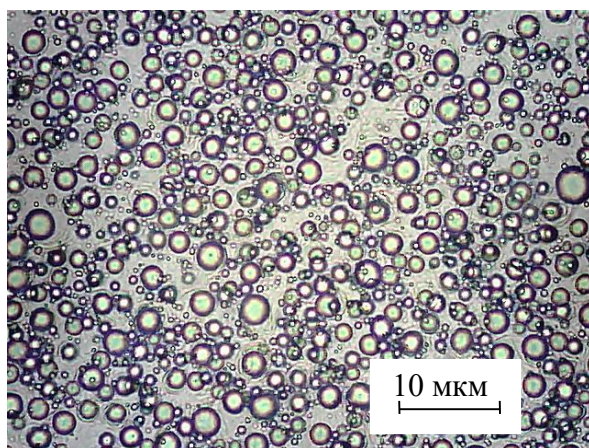
крапель від 3 мкм до 10 мкм, що свідчить про зменшення ступеня дисперсності емульсії і побічно є проявом агрегативної нестабільності системи, - це може призвести до розшарування емульсійної системи в процесі тривалого зберігання. Розмір і форма крапель зразка, отриманого при 5000 об./хв монодисперсні і рівномірні, більшість з них розміром в діапазоні від 2-3 мкм, що свідчить про стабільність системи (рис. 6.16 в). Зразок, отриманий при 10000 об./хв, має значну кількість бульбашок повітря, що в подальшому може призвести до розшарування емульсії [443].



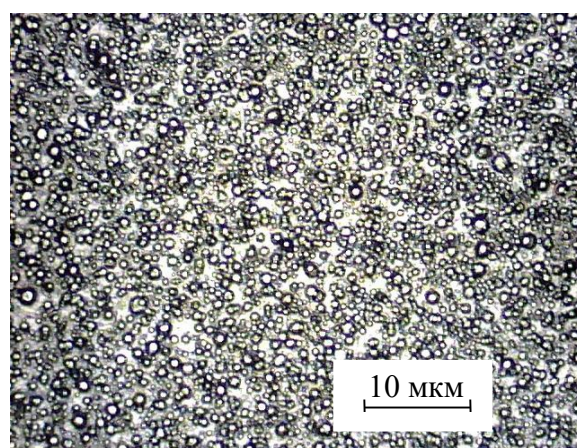
а)



б)



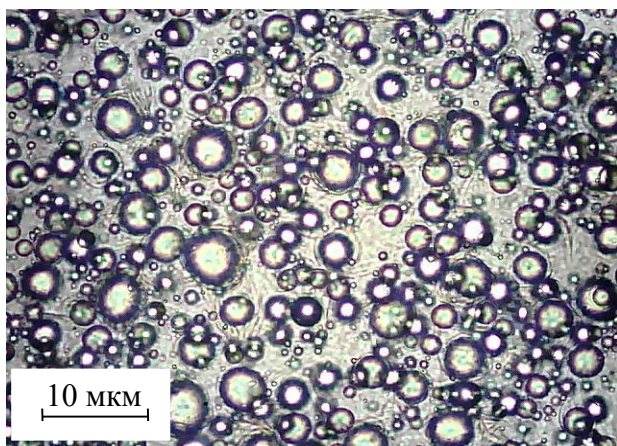
в)



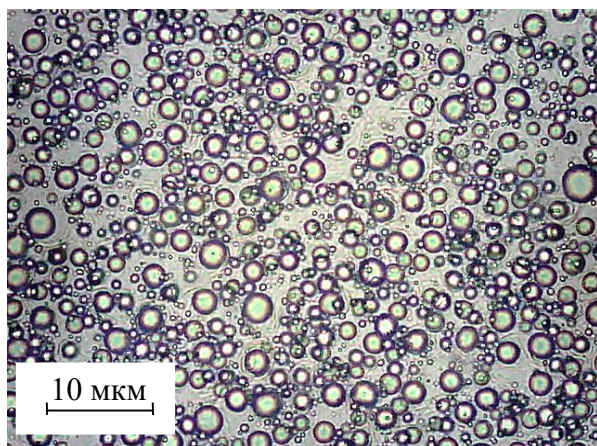
г)

Рис.6.16. Мікроскопічні знімки зразків крему, отримані прямим методом залежно від швидкості емульгування, де: а) 2000 об./хв, б) 3000 об./хв, в) 5000 об./в, г) 10000 об./хв

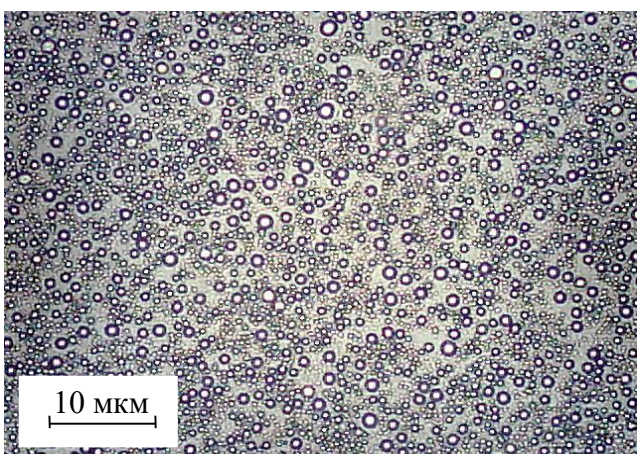
Мікроскопічні дослідження зразків, що отримані прямим методом при 3000 об./хв, показали що вони мають неоднаковий розмір крапель від 3 мкм до 10 мкм, що свідчить про зменшення ступеня дисперсності емульсії і побічно є проявом агрегативної нестабільності системи, що може призвести до розшарування емульсійної системи в процесі тривалого зберігання. Розмір і форма крапель зразку, отриманого при 5000 об./хв монодисперсна і більш рівномірна, більшість яких знаходиться в діапазоні від 2-3 мкм, що свідчить про стабільність системи (рис.6.17 в). Зразки, отримані при 2000 та 10000 об./хв прямим методом не досліджували, оскільки перший був нестабільним, а другий з наявністю бульбашок повітря всередині.



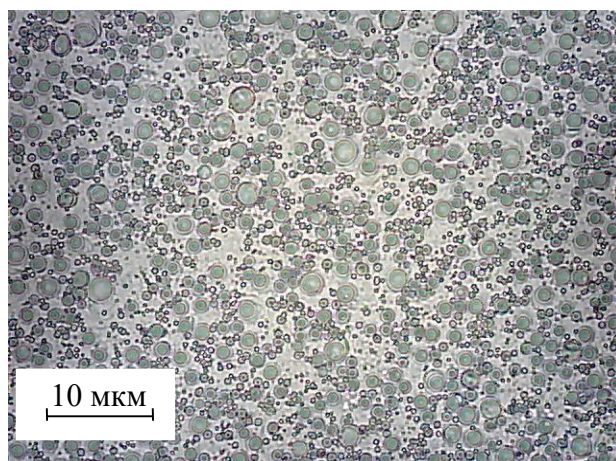
а)



б)



в)



г)

Рис.6.17. Мікроскопічні знімки зразків крему отримані методом інверсії фаз залежно від швидкості емульгування, де: а) 2000 об./хв, б) 3000 об./хв, в) 5000 об./хв, г) 10000 об./хв

Результати мікроскопії вказують, що метод інверсії фаз є більш раціональним при виготовленні крему з сапропелем.

Дослідження структурно-механічних властивостей зразків, отриманих за різних умов емульгування, показало, що зростання швидкості емульгування від 2000 до 3000 призводить до підвищення в'язкості зразка, що також сприяє стабілізації системи. При перевищенні швидкості емульгування 5000 об/хв спостерігається певне зниження в'язкості крему (рис. 6.18).

Таким чином, при виробництві крему доцільним є використання методу інверсії фаз, емульгування необхідно проводити при 5000 об/хв [443].

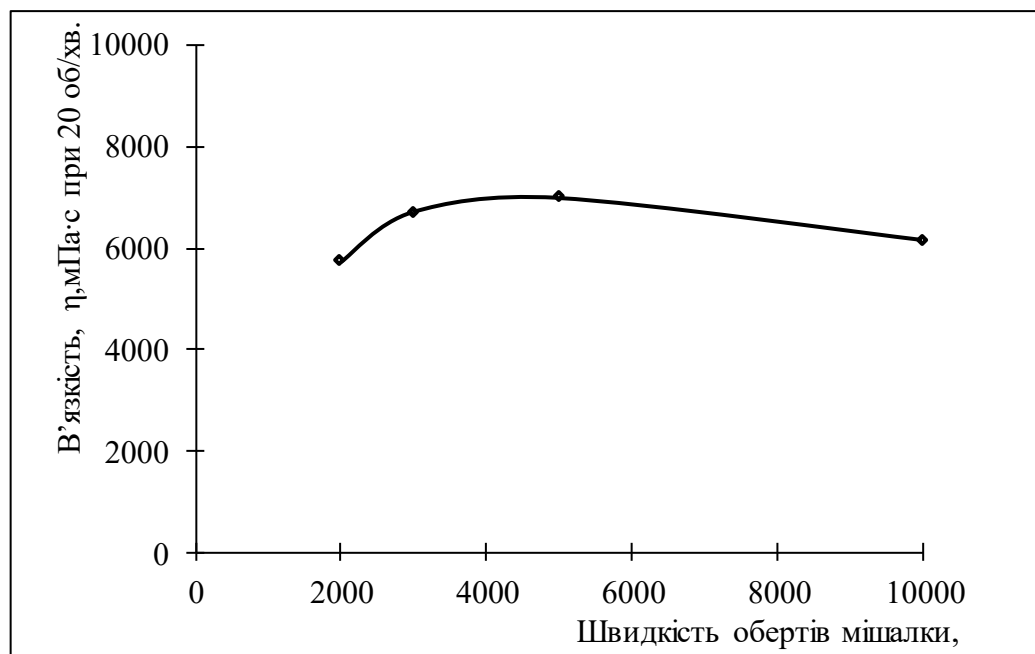


Рис. 6.18. Залежність структурної в'язкості крему від швидкості емульгування

Важливим технологічним параметром є час емульгування, який впливає на розмір часток олійної дисперсної фази, консистенцію та стабільність емульсійних кремів (рис. 6.19). Оптимальна дисперсність олійної фази в емульсійних кремах становить 1-2 мкм [443].

Як показують результати дослідження, необхідна дисперсність олійної фази (1-2 мкм) утворюється при емульгуванні протягом 20-25 хв. Подальше

емульгування не призводить до суттєвого зменшення діаметра крапель масляної фази, однак підвищує енергозатрати та собівартість продукту.

Отже, на підставі результатів експериментальних досліджень для виробництва крему з екстрактами сапропелю обрано метод інверсії фаз, та оптимальну швидкість перемішування – 5000 об/хв і час гомогенізації – 20 хв.

Результати досліджень були використані при розробці промислової технології крему з екстрактами сапропелю.

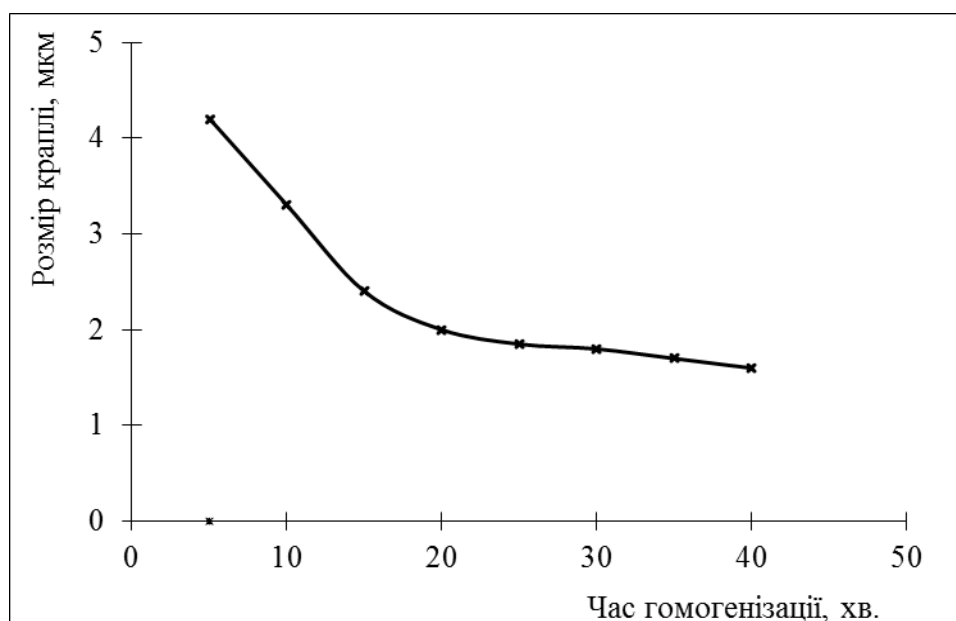


Рис. 6.19. Вплив часу гомогенізації на середній розмір крапель олійної фази крему

Технологічний процес виробництва м'яких ЛЗ на емульсійній основі здійснюють за допомогою такого спеціального обладнання: реактори-змішувачі з паровою оболонкою, обладнані різними змішувачами (якірного, планетарного типу) у поєднанні з лопатевими шкребками; гомогенізатори різного типу, оснащені колоїдними, роторно-статорними, роликowymi млинами тощо [330].

Технологічний процес виробництва крему передбачає наступні стадії: приготування водної фази, приготування олійної фази, емульгування, фасування крему у туби, пакування туб у пачки, пакування пачок у коробки [443]. Технологічна схема виробництва крему з екстрактами сапропелю показана на рис. 6.20.

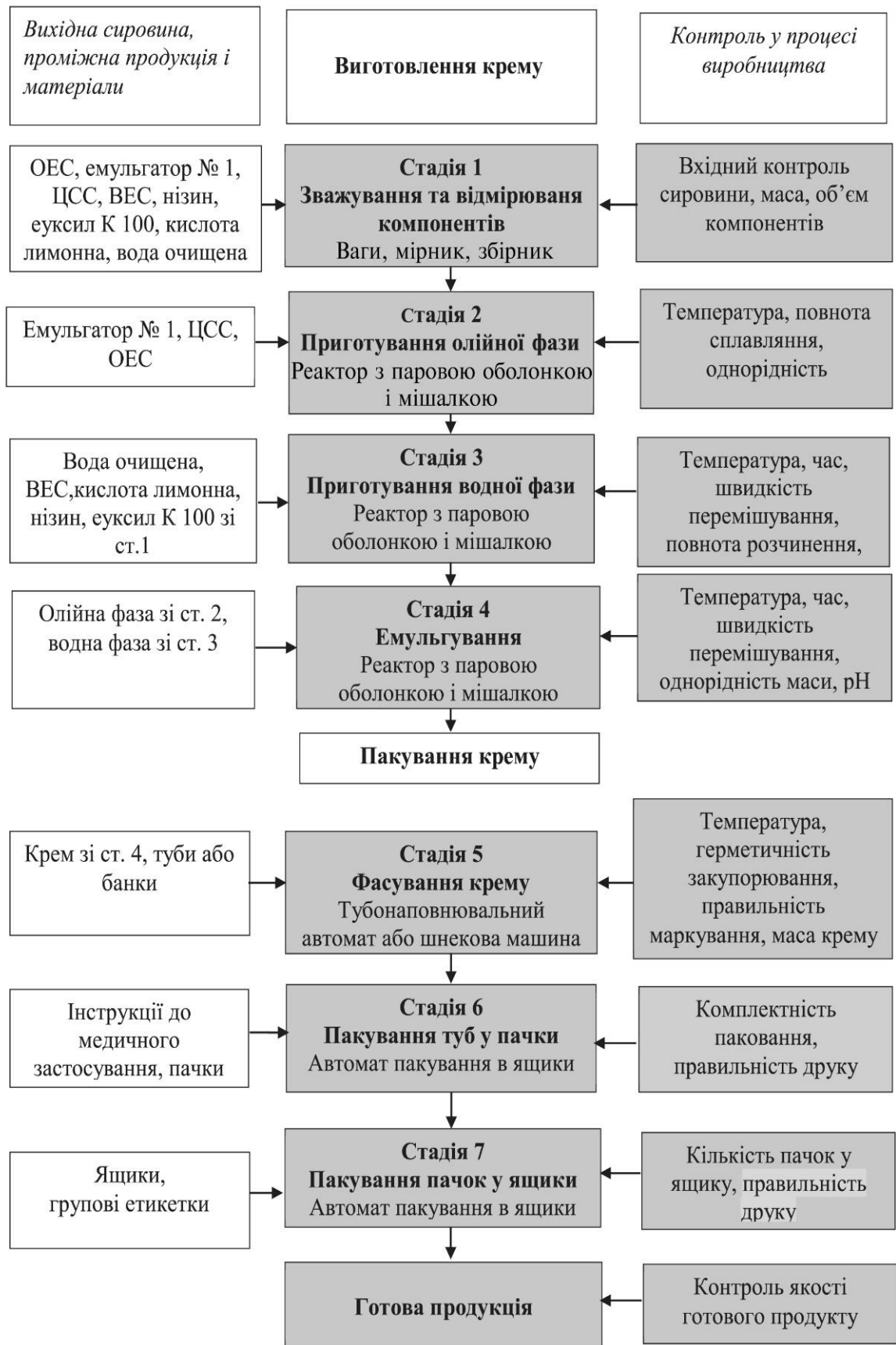


Рис. 6.20. Технологічна схема виробництва крему з екстрактами сафрорелю

Стадія підготовки виробництва охоплює підготовку приміщень, персоналу, устаткування й обладнання, АФІ та ДР, пакувальних матеріалів, перевірки необхідної нормативної документації. Технологічний процес виробництва крему слід проводити з дотриманням необхідних правил і вимог настанови СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» [412].

На стадії допоміжних робіт здійснюють підготовку приміщень, персоналу, обладнання, лікарських та допоміжних речовин, пакування та ін. Всі стадії основного технологічного процесу (стадії 1-4) та пакування мають відбуватися у класі чистоти D. Сировину для виготовлення крему після проходження вхідного контролю транспортними візками передають на стадії основного технологічного процесу.

Стадія 1. Зважування компонентів. Після вхідного контролю ДР та АФІ доставляють за допомогою транспортних візків і зважують у збірники з використанням ваг (ОЕС, ВЕС, емульгатор №1, ЦСС, еуксил К 100, нізин, лимонна кислота) або відмірюють мірником (вода очищена).

Стадія 2. Приготування олійної фази. У збірник до необхідної кількості відважують емульгатор № 1, ЦСС і у необхідній масі завантажують у реактор із паровою оболонкою. Суміш у реакторі Р-1 при постійному перемішуванні нагрівають до температури $(75\pm 2)^{\circ}\text{C}$ до повного сплавлення інгредієнтів. До сплаву емульгаторів додають ОЕС і продовжують перемішувати при сталій температурі до утворення однорідної рідкої масляної фази (контролюють візуально).

Стадія 3. Приготування водної фази. Необхідну кількість води очищеної нагрівають у реакторі Р-2 із паровою оболонкою до температури $(75\pm 2)^{\circ}\text{C}$, розчиняють ВЕС, нізин, еуксил К, лимонну кислоту.

Стадія 4. Емульгування . У реактор Р-1 до олійної фази під тиском з реактора Р-2 передають частину гарячої водної фази $(75\pm 2)^{\circ}\text{C}$ при безперервному перемішуванні зі швидкістю 5000 об/хв протягом (15 ± 5) хв до утворення однорідної емульсійної системи. Далі поступово при безперервному перемішуванні протягом (15 ± 5) хв додають залишок водної фази. Контролюють однорідність і рН.

Стадія 5. Фасування крему. Після отримання позитивних результатів контролю якості, за допомогою стиснутого повітря перекачують крем із реактора у

збірник, з якого масу подають у бункер тубонаповнювального автомату (або шнекової машини для фасування) і фасують крем по 100,0 г у полімерні туби з бушонами. Контролюють точність дозування, продуктивність автомату і правильність друку на пакованні (номер серії і термін придатності).

Стадія 6. Пакування туб у пачки. Туби пакують у пачки на автоматі пакування туб у пачки. Контролюють комплектність пакування (туба і бушон , інструкція до медичного застосування).

Стадія 7. Пакування пачок у ящики. На пакувальному автоматі пачки пакують в ящики. Серію готової продукції формують із розрахунку одного завантаження реактора-гомогенізатора. Стадії пакування туб у пачки і пакування пачок у коробки залежать від оснащення конкретного підприємства і безпосередньо не впливають на якість препарату.

Критичні параметри на кожній стадії виробництва крему з екстрактами сапропелю наведено в табл. 6.19.

Таблиця 6.19

Основні критичні параметри виробництва крему з екстрактами сапропелю

Назва технологічної стадії	Назва технологічного параметру	Показники технологічного параметру
Приготування олійної фази	Повнота сплавлення Температура	Відповідно до виробн. рецептури (візуально) (75±2) °C
Приготування водної фази	Повнота розчинення Час перемішування Режим роботи змішувача Температура нагрівання pH	Відповідно до виробн. рецептури (візуально) (20±5) хв 60-100 об./хв (75±2) °C 6,6±0,1
Емульгування	Температура Швидкість перемішування Час гомогенізації Однорідність pH	(75±2) °C 5000 об./хв (30±5) хв Відповідно до виробн. рецептури (візуально) 6,6±0,1
Фасування крему	Температура фасування Герметичність закупорювання Правильність маркування Маса крему	45±5 °C Відповідно до виробн. рецептури 100±2,5 г

Критичними параметрами технологічного процесу виробництва є точність дозування інгредієнтів робочого пропису, температурний режим, метод змішування фаз, час і швидкість гомогенізації тощо [330, 331, 423]. На завершальному етапі здійснюють фасування, пакування, маркування готового ЛЗ, де враховують якість пакувального матеріалу, контроль герметичності пакування, правильність маркування.

6.7. Дослідження показників якості крему з екстрактами сапропелю та його стабільності в процесі зберігання

Згідно з вимогами ДФУ 2.0 до специфікації на крем з екстрактами сапропелю під умовною назвою «Сапрокрем» додано розділи: «Опис», «Ідентифікація» (ідентифікація ГК методом осадження і специфічні реакції на каротиноїди), «рН», «Кількісне визначення», «Мікробіологічна чистота», «Структурна в'язкість», «Маса вмісту пакування». Також до специфікації введено розділи, які регламентують вимоги до пакування, умов зберігання та терміну придатності розробленого препарату.

Відповідно до вимог ДФУ 2.0, ЛЗ для наскірного застосування контролюють за такими показниками якості: опис, ідентифікація, маса вмісту контейнера, мікробіологічна чистота, кількісне визначення АФІ [232]. За потреби контролюють однорідність, рН, кислотне і перекисне числа, колоїдну і термостабільність, структурну в'язкість, герметичність контейнера та ін. [444].

Для підтвердження якості розробленого крему нами проведені дослідження за такими показниками якості: опис, ідентифікація АФІ, однорідність, колоїдна і термостабільність, рН, кількісне визначення АФІ, мікробіологічна чистота. Дослідження проводили на основі загальноприйнятих методик і положень ДФУ 2.0.

Опис. Крем світло-коричневого кольору, без видимих включень, без запаху, кремоподібної консистенції. Не повинен мати запаху згірклої олії, а також ознак фізичної нестабільності (розшарування, агрегація часток, коагуляція,

коалесценція та ін.). За результатами досліджень усі зразки крему відповідали наведеному опису.

Визначення запаху згідно з методикою ДФУ 2.0 2.3.4 – від 0,5 до 2,0 г крему розподіляли тонким шаром на склі. Через 15 хв визначали запах. Встановлено, що зразки крему не мали специфічного запаху.

Однорідність. Крем повинен бути однорідним. Визначення проводили за методикою ДФУ 1.0, яка наведена в розділі 2. Усі зразки були однорідними.

Колоїдну стабільність і термостабільність крему вивчали відповідно до стандартних методик, описаних в розділі 2. Встановлено, що модельні зразки всіх серій крему витримували тест на колоїдну- та термостабільність.

pH крему визначали потенціометрично відповідно до методики ДФУ 2.0, п. 2.2.3, яка описана в розділі 2. Слід зазначити, що при розробці ВП для догляду за вименем ВРХ значну увагу приділяють усім чинникам, що можуть вплинути на «здоров'я вимені» [127]. Одним з таких чинників є pH препарату. При визначенні pH крему встановлено, що значення pH всіх серій крему відповідає фізіологічним межам, і становить $6,5 \pm 0,5$ завдяки чому крем сприятливо впливає на шкіру вимені тварин. Таким чином, на підставі експериментальних даних встановлені межі pH від 6,0 до 7,0.

Структурну в'язкість ВП визначали на ротаційному віскозиметрі при градієнті швидкості зсуву $18,0 \text{ с}^{-1}$ та температурі $(20,0 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$ за методикою ДФУ 2.0, що описана в розділі 2. Структурна в'язкість крему після приготування становила $6990 \pm 30 \text{ мПа}\cdot\text{с}$.

Маса вмісту пакування. Це випробування пов'язано з тим, що негерметичність контейнера може призвести до втрати препарату, його мікробного забруднення, а також зниження стабільності під впливом факторів зовнішнього середовища.

Герметичність контейнера визначали за методикою ДФУ I вид., с. 511, витримуючи необхідну кількість туб з кремом (10) у термостаті при температурі $60 \pm 3 ^\circ\text{C}$ протягом 8 год.

Було визначено масу вмісту пакування згідно з методикою ДФУ 1.1, с. 86. Усі випробувані зразки ветеринарного крему під умовною назвою «Сапрокрем» відповідали проекту АНД на препарат.

6.7.1. Опрацювання методів ідентифікації й кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів препарату

Ідентифікація. У досліджуваному кремі визначали наявність ОЕС шляхом ідентифікації речовин каротиноїдної будови і хлорофілів та водного екстракту сапропелю за кількісним визначенням сумарної масової частки гумінових кислот.

Для ідентифікації речовин каротиноїдної будови використовували метод ТШХ порівняно зі стандартним розчином β -каротину.

Хроматографічний профіль ацетонового витягу з крему має збігатися з хроматографічним профілем розчину порівняння (ФСЗ β -каротину): дві плями жовтої флюоресценції з R_f близько 0,60 і 0,80 (виявлення А); дві сірі плями з $R_f=0,09$ та $R_f=0,14$, сині плями $R_f=0,27$; $R_f=0,36$; $R_f=0,67$; $R_f=0,80$. Також на хроматограмі випробовуваного розчину спостерігаються інші зони (рис. 6.21).

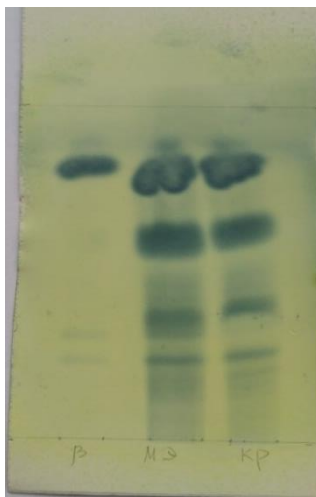
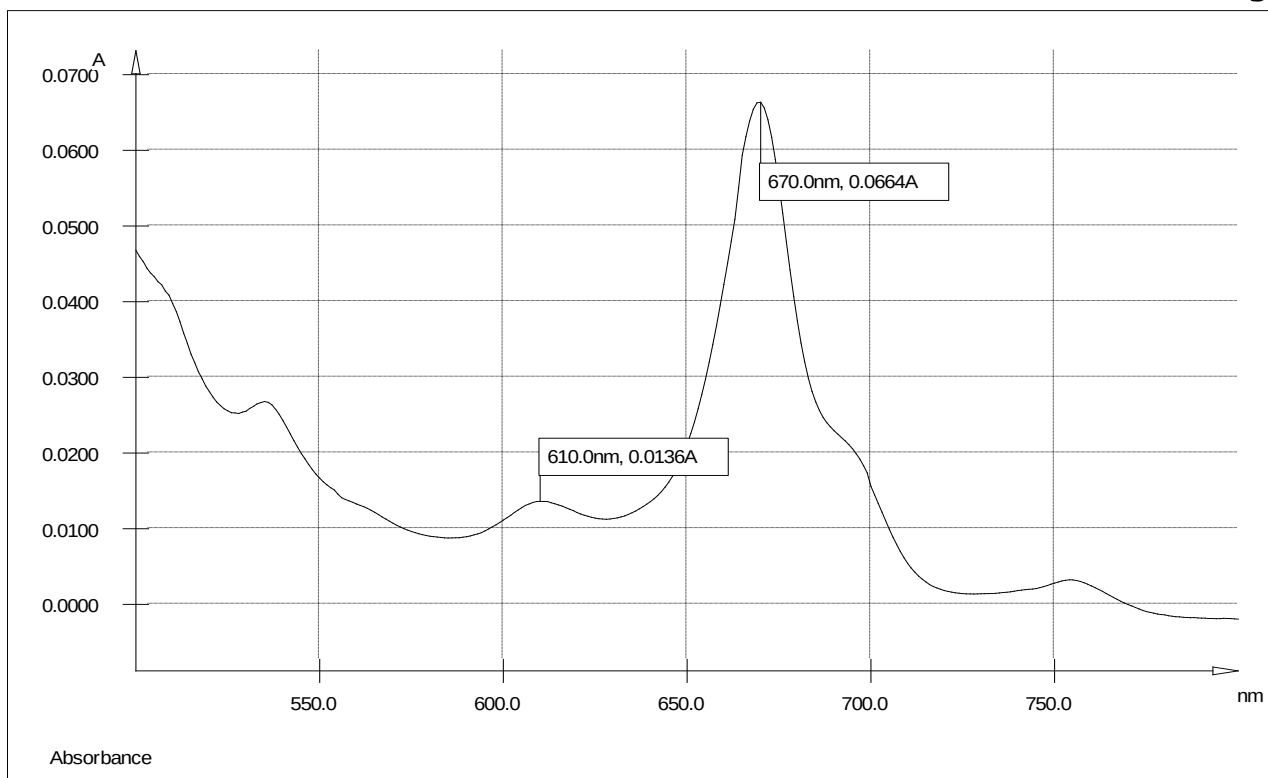
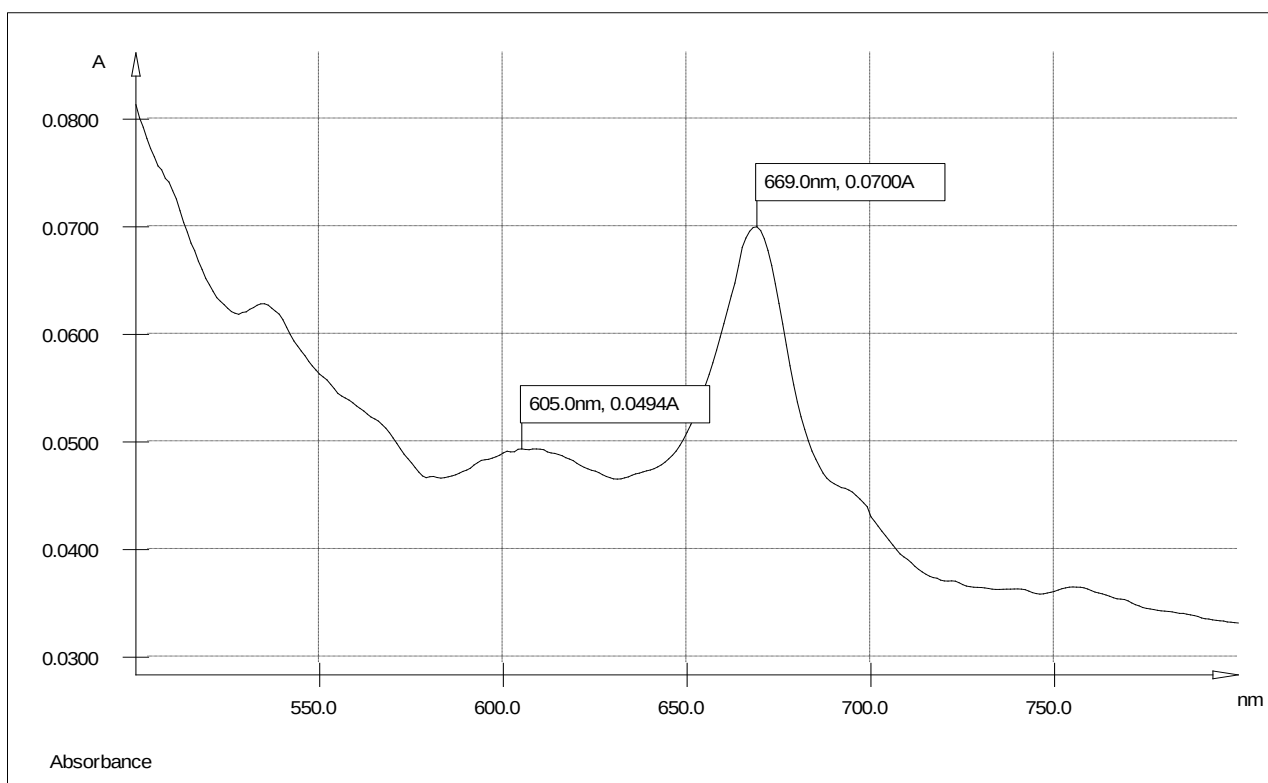


Рис. 6.21. Хроматограма випробовуваного розчину і розчину порівняння

Для ідентифікації хлорофілів ОЕС використовували метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці. Абсорбційний спектр поглинання гексанового вилучення з крему в ділянці від 500 нм до 750 нм повинен мати максимум поглинання за довжини хвилі 670 ± 2 нм (рис. 6.22 А), який збігається з максимумом поглинання гексанового розчину ОЕС (рис. 6.22 Б).



а)



б)

Рис. 6.22. Абсорбційний спектр поглинання а) гексанового випромінювання з кремню і б) гексанового розчину ОЕС

Результати кількісного визначення сумарної масової частки ГК у шести зразках крему і метрологічні характеристики середнього результату наведено в табл. 6.20.

Таблиця 6.20

Метрологічні характеристики середнього результату кількісного визначення сумарної масової частки ГК у кремі з екстрактами сапропелю

№ серії	Вміст сумарної масової частки гумінових кислот, мг	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$	$\varepsilon, \%$
1	8,10	0,0495	0,2225	0,0908	0,5719	0,2335	2,82	6,90
2	8,27							
3	8,03							
4	8,66							
5	8,37							
6	8,27							

Специфічність даної аналітичної процедури доводили шляхом визначення кількості міліграм суми ГК у досліджуваних лікарській формі із ВЕС методом об'ємного титрування. Результати наведені в табл. 6.21 і показані на рис. 6.23.

Таблиця 6.21

Розрахунок параметрів лінійності методики кількісного визначення масової частки ГК

Робоча концентрація, %	Наважка крему, г	Сумарна масова частка ГК, мг
80	4,0009	6,41
85	4,2513	6,81
90	4,5017	7,17
95	4,7501	7,67
100	5,0009	8,10
105	5,2518	8,35
110	5,5003	8,72
115	5,7511	9,21
120	6,0005	9,65

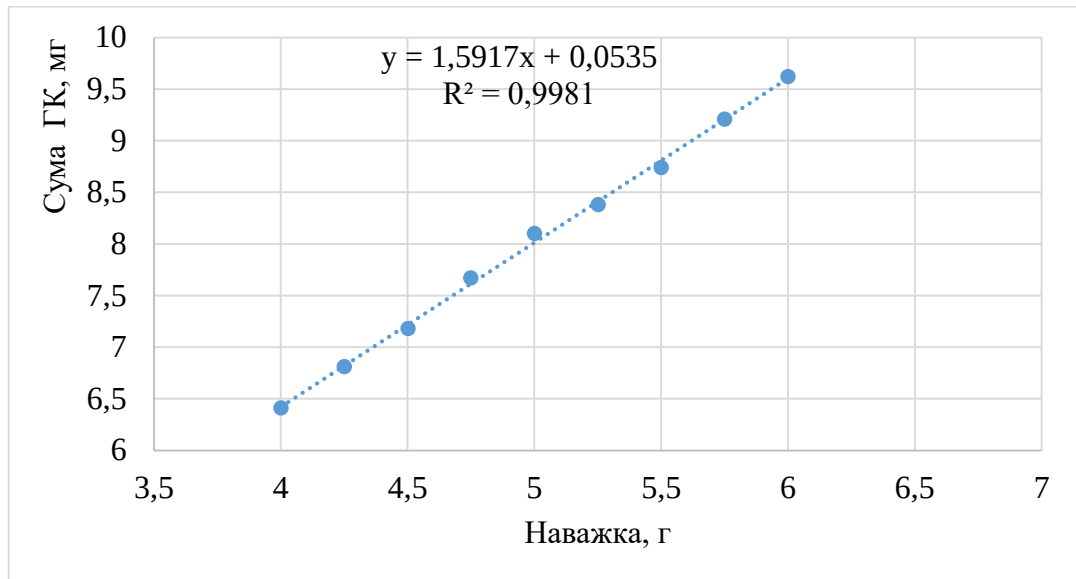


Рис. 6.23. Залежність концентрації сумарної масової частки ГК від маси наважки досліджуваного крему

Установили, що спостерігається лінійна залежність між концентрацією сумарної масової частки ГК від маси наважки ВЕС з коефіцієнтом кореляції 0,9981 ($\geq 0,9981$), кутовий коефіцієнт лінійної залежності (b) дорівнює 0,99, вільний член лінійної залежності (a) – $0,30 \leq 2,60$.

Дослідження прецизійності та правильності здійснювали на дев'яти визначеннях у діапазоні концентрацій від 80% до 120% за обраною методикою (табл. 6.22).

Таблиця 6.22

**Результати дослідження прецизійності методики
кількісного визначення сумарної масової частки ГК у кремі**

Параметри		Значення	Критерій 1	Критерій 2	Висновок
Прецизійність	ΔZ	1,34	$\leq 1,60$		Витримується за першим критерієм

Отримані результати свідчать, що методика прецизійна, оскільки значення відносного довірчого інтервалу менше від критичного значення для збіжності результатів: $\Delta\% = 1,34 \leq 1,60$ і виконується критерій незначущості систематичної похибки $\delta = 0,51$.

У результаті аналізу кількісного визначення встановлено, що сумарна масова частка ГК у зразках крему з екстрактами сапропелю становить 0,828 %.

На підставі отриманих даних запропоновано до проєкту МКЯ лікарського засобу ввести вимоги до кількісного вмісту сумарної масової частки ГК не менше 0,8%.

6.7.2. Контроль мікробіологічної чистоти

Обов'язковим показником за яким контролюють якість ЛЗ, є мікробіологічна чистота. Перевірка мікробіологічної чистоти особливо важлива для ЛЗ, що містять АФІ природного походження, оскільки останні є середовищем для розвитку мікроорганізмів.

Важливим аспектом, що обумовлює необхідність визначення мікробіологічної чистоти, є специфіка і об'єкт застосування розробленого засобу. До ВП для догляду за ділками вимені корів додатково висуваються такі специфічні вимоги, як захист соскового каналу від патогенних мікроорганізмів

При вивченні мікробіологічної чистоти розробленого крему використовували методику ДФУ 2.0 розділу 5.1.4 для ЛЗ для нашкірного застосування [232].

Для оцінки результатів з метою уникнення помилок, способом прямого висівання «методом колодязів» експериментально встановили, що крем у розведенні 1:10 не виявляє антимікробної дії.

Під час експерименту визначали мікробіологічну чистоту зразків відразу після виготовлення та в процесі зберігання. Для цього було виготовлено та закладено на зберігання п'ять зразків крему в пластмасових непрозорих банках, які утримували при двох температурних режимах – $(5\pm3)^\circ\text{C}$ і $(25\pm2)^\circ\text{C}$. Мікробіологічну чистоту визначали кожні 6 місяців протягом 2 років та 3 місяців. Досліджували її методом прямого посіву на живильні середовища (див. розділ 2).

Відповідно до вимог ДФУ 2.0 розділу 5.1.4 для ЛЗ для нашкірного застосування [232] встановлено наступні критерії прийнятності мікробіологічної чистоти:

- загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – 10^2 КУО/мл;
- відсутність *Staphylococcus aureus* в 1 мл (г);
- відсутність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 мл (г);
- загальне число дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС) – 10^1 КУО/мл

Як свідчать результати мікробіологічних досліджень, наведені в табл. 6.23, у свіжовиготовлених зразках та при їх зберіганні при температурі $(5\pm 3)^\circ\text{C}$ і $(25\pm 2)^\circ\text{C}$ протягом 2 років загальна кількість бактерій в 1 г крему не перевищувала 50 і загальна кількість грибів не перевищувала 20 монокультур; відсутні бактерії *Pseudomonas aeruginosa* й *Staphylococcus aureus* [227].

Таблиця 6.23

**Результати дослідження мікробіологічної чистоти препарату
«Сапрокрем»**

Час зберігання: при $5\pm 3^\circ\text{C}$; при $25\pm 2^\circ\text{C}$	Крем з екстрактами сапропелю			
	Загальна к-сть м/о в 1 г крему		Мікроорганізми	
	Бактерії	Гриби	<i>S. aureus</i>	<i>P. aerugin.</i>
Свіжовиготовлений ВЗ	10	<10	Відсутність росту	Відсутність росту
Через 6 міс. зберіг.	10	<10	-/-	-/-
	30	<10	-/-	-/-
Через 12 міс. зберіг.	20	<10	-/-	-/-
	30	<10	-/-	-/-
Через 18 міс. зберіг.	20	<10	-/-	-/-
	40	<10	-/-	-/-
Через 24 міс. зберіг.	20	<10	-/-	-/-
	40	<10	-/-	-/-
Через 27 міс. зберіг.	30	<10	-/-	-/-
	50	10	-/-	-/-

Низькі показники мікробної контамінації зразків досліджуваного ВЛЗ обумовлені ефективною дією комплексу консервантів нізину та еуксилу К 100 та дотриманням належних санітарних умов при виготовленні та зберіганні.

Таким чином, експериментально підтверджено, що за показником мікробіологічної чистоти препарат «Сапрокрем» відповідає вимогам ДФУ 2.0 які висувають до ЛЗ для нашкірного застосування.

6.7.3. Вивчення стабільності крему в процесі зберігання

М'які ЛЗ на емульсійній основі є порівняно нестабільними системами, оскільки можливі явища розшарування фаз під впливом коливань температури і механічних чинників, природні жири олійної фази здатні гіркнути, водна фаза є середовищем для розвитку мікроорганізмів тощо [227, 364]. Відповідно, важливим етапом досліджень є визначення терміну зберігання крему, за час якого показники якості ВЗ відповідатимуть вимогам, закладеним у МКЯ.

Було проведено дослідження стабільності та мікробіологічної чистоти ВП згідно з вимогами ДФУ [232]. При вивченні мікробіологічної чистоти розробленого крему використовували методику ДФУ 2.0 [232]. Для оцінки результатів із метою уникнення помилок, експериментально «методом колодязів» установили, що ВЗ у розведенні 1:10 не проявляв антимікробної дії.

Стабільність крему та мікробіологічну чистоту вивчали на п'яти серіях препарату за різних температурних режимів (в кімнатних умовах (5 ± 3) °C і (25 ± 2) °C здійснювали протягом перших 3 місяців, а потім кожні 6 місяців протягом 2 років і 3 місяців. Визначали органолептичні (опис), фізико-хімічні (ідентифікацію, рН, однорідність, колоїдну- і термостабільність, кількісне визначення БАР) показники якості та мікробіологічну чистоту досліджуваних зразків крему. Результати досліджень стабільності крему наведені в табл. 6.24.

У результаті експерименту встановлено, що усі серії зразків препарату «Сапрокрем» витримували випробування на термо- та колоїдну стабільність.

Таблица 6.24

Результати визначення показників якості та мікробіологічної стабільності крему «Сапрокрем»

[illegible]

[illegible]

[illegible]

Гарантія якості ВП для застосування у ветеринарії є важливим показником, адже зменшення кількісного вмісту АФІ в препараті вказує на його нестабільність. Одержані дані свідчили про стабільність ветеринарного крему «Сапрокрем».

Згідно з вимогами ДФУ 2.0, у ЛФ для нашкірного застосування допускається не більше 100 життєздатних аеробних мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно), не допускається ріст ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*), *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* [232]. Дослідження проводили методом прямого посіву на поживні середовища (див. розд. 2).

За результатами досліджень у свіжовиготовлених зразках «Сапрокрему» при їх зберіганні в полімерних банках у режимі температур $(5\pm 3)^\circ\text{C}$ і $(25\pm 2)^\circ\text{C}$ протягом 2 років загальна кількість бактерій у 1 г крему не перевищувала 50 і загальна кількість грибів не перевищувала 10 монокультур; відсутні бактерії родини *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* і *S. aureus*. (табл. 6.24).

Опрацювання методів контролю якості є важливим завданням у процесі розробки нового ЛЗ, тому що гарантує його якість і ефективність протягом передбаченого терміну зберігання. Встановлено, що за вимогами ДФУ 2.0 та показниками згідно з розробленим проєктом МКЯ (табл. 6.25) крем з екстрактами сапропелю під умовною назвою «Сапрокрем» був стабільним від початку виготовлення до 27 місяців зберігання в полімерних тубах за температури $(25\pm 2)^\circ\text{C}$.

Таблиця 6.25

Показники якості крему, включені до проєкту МКЯ

Найменування показника	Допустимі норми	Результати аналізу
1	2	3
Опис	Крем світло-коричневого кольору, без видимих включень, без запаху, кремоподібної консистенції	Відповідає
Ідентифікація	ТШХ. Хроматографічний профіль ацетонового витягу з крему має співпадати з хроматографічним профілем розчину порівняння (ФСЗ β -каротину)	Відповідає
Каротиноїди	Метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій ділянці	
Хлорофіл	Абсорбційний спектр поглинання гексанового вилучення повинен мати максимум поглинання за довжини хвилі 670 ± 2 нм в ділянці від 500 нм до 750 нм	

Продовження табл 2.25

1	2	3
Однорідність	Має бути однорідним	Однорідний
pH	6,0–7,0	6,6±0,1
Колоїдна стабільність	Має бути стабільним	Стабільний
Термостабільність	Має бути стабільним	Стабільний
Маса вмісту пакування	Не менше 100,0 г	100,5±0,1
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – 10^2 КУО/мл. Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) – 10^1 КУО/мл. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 мл Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 мл	Відповідає
Кількісне визначення Сумарної масової частки ГК, мг/г	Вміст суми ГК має становити не менше 8,0 мг/г препарату.	8,28±0,1

Висновки до розділу 6

1. Аналіз асортименту вітчизняних лікарських та ветеринарних засобів, які сприяють загоєнню (рубцюванню) ран серед дерматологічних препаратів для лікування ран та виразкових уражень продемонстрував актуальність розробки лікарського засобу у формі гелю, який володіє протизапальними, ранозагоювальними та антибактеріальними властивостями, а також крему для догляду за шкірою діток та вим'ям ВРХ з ранозагоювальною дією.

2. Фармакологічними дослідженнями на моделі фотодинамічного запалення обрано концентрацію ВЕС у складі гелю 15%. За результатами біофармацевтичних та мікробіологічних досліджень обґрунтовано склад основи, що містить 1,0% карбополу, 10% гліцерину, 0,2%, консерванту калію сорбату та воду очищену. Показано, що ВЕС і калію сорбат карбопол без додаткового введення нейтралізувального компонента. На склад гелю з умовною назвою «Сапрогель» отримано патент на корисну модель «Протизапальний засіб у вигляді гелю з екстрактом сапропелю» № 139685 від 10.01.2020 р. Опрацьовано

технологію виготовлення «Сапрогелю», складено технологічну схему виробництва гелю, яку апробовано в умовах ТОВ «Зендер – Україна », СП АТ «Фармако», ПАТ ХФЗ «Червона зірка».

3. Досліджені показники якості гелю «Сапрогель», розроблено та валідовано методику визначення вмісту сумарної масової частки ГК за допомогою якої встановлено кількісний вміст ГК, який складає 1,275%. Експериментально підтверджено, що за показником мікробіологічної чистоти препарат «Сапрогель» відповідає вимогам ДФУ 2.0 що висувають до ЛЗ для нашкірного застосування. За результатами визначення показників якості гелю в процесі зберігання встановлено термін придатності розробленого гелю при температурі, що не перевищує 25 °С в захищеному від світла місці протягом 2 років.

4. За результатами органолептичних, фізико-хімічних, структурно-механічних та біологічних досліджень обрано склад емульсійної основи та розроблено крем, що містить 15% ОЕС, 10% ВЕС, 6% емульгатора №1, 1% цетилстеарилового спирту, консерванти Еуксил К 100 0,1, нізин 0,01 лимонну кислоту (до рН 7,0) та воду очищену до 100,0. Склад крему, під умовною назвою «Сапрокрем», захищено патентом на винахід №121449 «Лікувально–профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин» від 25.05.2020 р. та патентом на корисну модель №138026 «Лікувально–профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин» від 11.11.2019 р.

5. За результатами дослідження параметрів технологічного процесу встановлено, що при виробництві крему доцільним є використання методу інверсії фаз, при емульгуванні за швидкості 5000 об/хв протягом 20 хв. Опрацьовано технологію виготовлення «Сапрокрему», складено технологічну схему виробництва крему, яку апробовано в умовах СП АТ «Фармако».

6. Досліджено показники якості «Сапрокрему», розроблено методики ідентифікації каротиноїдів методом ТШХ, хлорофілу методом абсорбційної спектрофотометрії та визначення вмісту сумарної масової частки ГК у кремі. Здійснено валідацію запропонованої методики. За результатами визначення

показників якості крему в процесі зберігання встановлено термін придатності розробленого засобу при зберіганні в полімерних банках при температурі, що не перевищує 25 °С в захищеному від світла місці протягом 2 років.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Струс О.Є., Половко Н.П., Стрельников Л.С. Вивчення ефективності антимікробних консервантів у гелях з екстрактом сапропелю. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. №4(61). С. 4 – 8. URL: <https://doi.org/10.24959/ubphj.19.240>.
2. Strus O. Y. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147.
3. Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25.
4. Strus O. Y. Justification of composition of the cream with sapropel extract. *International Journal of Green Pharmacy*. 2019. № 13(1). P. 42–47.
5. Strus O., Polovko N. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. № 9 (3). P. 209–224.
6. Струс О. Е., Половко Н. П. Изучение влияния метода и скорости эмульгирования на стабильность крема с экстрактом сапропеля. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации* : материалы респуб. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 379–381
7. Струс О. Є., Половко Н. П. Опрацювання технології крему з екстрактом сапропелю. *Науково–технічний прогрес і оптимізація технологічних*

процесів створення лікарських препаратів : матеріали 6-ої наук.-практ.конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль, 2016. С.157.

8. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Обґрунтування введення консерванту в крем з екстрактом сапропелю. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали 2-ої Міжнар. наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. Харків, 2016. С.232.

9. Струс О. Є., Половко Н. П. Розробка складу основи крему з екстрактом сапропелю. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку*: матеріали 1-ої наук.-практ. інтернет–конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24–25 берез. 2016 р. Харків, 2016. С.84.

10. Струс, О. Є. Розробка складу крему із екстрактом сапропелю. *Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13-16 верес. 2016 р. Харків, 2016. С. 283.11.

11. Лікувально–профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин : пат. (на винахід) 121449 Україна. № 201906003 ;заяв. 31.05.2019; опубл. 25.05.2020, бюл. № 10, 4 с.

12. Лікувально-профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин: пат. (на корисну модель) 138026 Україна. № u 2019 06004; заяв. 31.05.2019; опубл. 11.11.2019, бюл. № 21, 4 с.

13. Протизапальний засіб у вигляді гелю з екстрактом сапропелю : пат. (на корисну модель) 139685 Україна. № u 201907612; заявл. 08.07.2019; опубл. 10.01.2020, бюл. № 1, 4 с.

РОЗДІЛ 7

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ М'ЯКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ З ЕКСТРАКТАМИ САПРОПЕЛЮ

Цей розділ експериментальних досліджень присвячений біологічним дослідженням розроблених засобів. Низка біологічних досліджень, зокрема токсико-біологічна оцінка сапропелю, наведена в експериментальному розділі 3, оскільки визначає перспективність досліджуваної субстанції (сапропелю) і можливість використання його для подальших розробок. Біологічні дослідження екстрактів сапропелю наведені в розділі 5 з метою визначення доцільності їх використання для розробки лікарських засобів. Обґрунтування вмісту АФІ, підтверджені фармакологічними дослідженнями, наведені в експериментальних розділах дисертації, оскільки обґрунтовують склад препаратів, які розробляли.

7.1. Дослідження протизапальної та ранозагоювальної дії гелю з екстрактом сапропелю на моделі площинно-вирізованих ран у щурів

За результатами досліджень В.В. Руденко та ін. (2013) встановлено, що для місцевого лікування ран у II фазі ранового процесу оптимальними за клініко-економічними показниками визначено МЛФ, у складі яких є засоби, що покращують регенерацію клітин і сприяють загоєнню рани, а також препарати, яким притаманна протимікробна і протигрибкова активність. Обґрунтовано доцільність здійснення наукових досліджень з розробки технологічних аспектів промислового виробництва сучасних ранозагоювальних засобів для ефективного лікування ран на різних етапах перебігу ранового процесу в умовах вітчизняної фармацевтичної промисловості [445].

Створений нами гель, що містить ВЕС, є засобом з дерматотропними властивостями завдяки гуміновим речовинам, які є основною групою біологічно активних речовин у сапропелях, виявляють антибактеріальний ефект, мають

низьку токсичність, володіють вираженою ранозагоювальною та протизапальною активністю [316, 375, 376, 403].

Препарати, які містять гумінові речовини, використовували протягом століть для лікування захворювань, пов'язаних із запаленнями, що свідчить про те, що це може бути безпечною альтернативою для лікування та/або профілактики захворювань, пов'язаних із запаленням [154].

Встановлений нами антибікробний ефект екстракту сапропелю, його протизапальна та репаративна дія на моделі УФ еритеми, спонукає до подальших експериментально-клінічних досліджень для підтвердження фармакологічної активності нового дерматотропного препарату «Сапрогель» з ВЕС для лікування механічних пошкоджень м'яких тканин.

На даному етапі фармакологічного дослідження необхідно було дослідити ефект та механізм дії гелю «Сапрогель» на загоєння повношарових вирізаних площинних ран шкіри у щурів та про-/антиоксидантну рівновагу в сироватці крові.

Групи щурів були наступними:

I – група інтактних щурів, у яких вимірювали фізіологічний рівень досліджуваних показників (n=10);

II – група контрольних щурів, у яких моделювали вирізану площинну рану, та у яких загоєння відбувалось самостійно без лікування (n=40);

III – дослідна група щурів, у яких моделювали повношарову вирізану площинну рану, яку обробляли основою гелю – 1,0% гелем карбополу марки Ultrez 10 (n=40);

IV – дослідна група тварин з експериментальними повношаровими вирізаними площинними ранами, у яких на уражену ділянку наносили розроблений гель, під умовною назвою «Сапрогель», що містить 15% ВЕС (n=40);

V – дослідна група тварин з експериментальними повношаровими вирізаними площинними ранами, яким на уражену ділянку наносили референс-зразок гелю «Пантестин-Дарниця» (n=40).

Об'єктом дослідження була сироватка крові експериментальних щурів, відібрана на 3, 7, 14 день ранового процесу та в день повного загоєння площинно-

вирізаної рани. Сироватку крові щурів отримували з цільної крові [281]. В сироватці крові щурів визначали вміст дієнових кон'югатів, шифових основ, вміст ТБК-активних сполук, активність супероксиддисмутази, каталази; вміст продуктів окисної модифікації білків та рівень сульфгідрильних груп згідно з методиками, описаними в розділі 2.

Як видно з табл. 7.1, в якій наведена динаміка зміни площі рани і відсоток зменшення площі ранового ложа, в процесі загоєння повношарових вирізаних площинних ран у всіх експериментальних групах площа ран поступово зменшувалась, але тривалість повного закриття рани була різною. Повне закриття ранового ложа у тварин без лікування відбувалося за $24,1 \pm 0,8$ днів. Обробка ранового ложа гелем з карбополом не впливала на тривалість загоєння ранової поверхні, яка становила $23,8 \pm 1,2$ дні.

Таблиця 7.1

Динаміка зміни площі (S) і відсотка зменшення площі (ВЗП) ран при лікуванні ранового процесу у різні фази ($M \pm m$, $n=7$)

Препарати	Параметри	Початок лікування	3 доба	7 доба	14 доба
Самозагоєння (контроль)	S рани (мм ²)	$100,0 \pm 1,52$	$121,0 \pm 1,12$	$88,2 \pm 3,23$	$49 \pm 1,15$
	ВЗП (%)		0	27,1	44,4
Основа - гель карбополу	S рани (мм ²)	$100,0 \pm 2,14^*$	$100,0 \pm 1,25^*$	$81,0 \pm 3,13$	$50,4 \pm 2,21^*$
	ВЗП (%)		0	19,0	37,7
Препарат «Сапрогель»	S рани (мм ²)	$100,0 \pm 3,21$	$73,1 \pm 5,13^*$	$37,2 \pm 6,15^*$	$17,6 \pm 2,51$
	ВЗП (%)		26,9	49,1	52,7
Гель «Пантестин-Дарниця»	S рани (мм ²)	$100,0 \pm 2,61$	$100,0 \pm 2,25$	$50,4 \pm 2,61$	$25,6 \pm 2,11^*$
	ВЗП (%)			49,6	49,2

Застосування препарату «Сапрогель» зменшувало тривалість загоєння ранового процесу до $18,2 \pm 1,3$ днів, або на 24,5% ($p < 0,05$). «Сапрогель» проявляв ранозагоювальну дію в усі фази процесу гоєння з найбільш вираженим ефектом в II і III фази загоєння рани. На відміну від препарату «Сапрогель», застосування гелю «Пантестин-Дарниця» в перші 4 доби (I фазу загоєння рани) не дало

позитивного ефекту. Препарат порівняння «Пантестин-Дарниця» найбільш активно діяв в II фазу загоєння рани, що зменшувало тривалість загоєння ранового процесу до $17,9 \pm 1,6$ днів, або на 24,8% ($p < 0,05$) [446]. Макроскопічний огляд ранової поверхні показав, що у щурів контрольної групи ознаки запального процесу були більш вираженими, ніж у щурів, рани яких обробляли гелем «Сапрогель». А саме: навколо рани тканини шкіри були набряклими і на 3-4 день був сформований валик, рана була вкрита товстою кіркою темно-коричневого кольору, з-під якої спостерігалось виділення гною в помірній кількості. Практично така ж картина була в перші 6 діб у щурів, рани яких обробляли гелем карбополу або гелем «Пантестин-Дарниця». У тварин, рани яких обробляли препаратом «Сапрогель», кірка над рановим ложе була тонкою і виділення гнійних мас не спостерігалось.

Особливо великою була різниця у другу фазу загоєння рани між групою контролю і групами щурів, рани яких обробляли досліджуваним препаратом і препаратом порівняння. При цьому карбопол не змінював як протікання процесу загоєння, так і показники швидкості закриття ранового ложа. На 7 добу у тварин, яких лікували гелями «Сапрогель» та «Пантестин-Дарниця», спостерігалися приблизно однакові зміни, які полягали у відсутності валика навколо рани (в контролі він ще наявний), краї рани фактично були в рановому ложі, де було видно початок грануляції. На 14 день в контрольній групі ми бачили ознаки епітелізації по краям ранового дефекту і наявність грануляційної тканини на його дні. На 14 день в групі тварин, у яких рани обробляли препаратом «Сапрогель», майже на 80% була вкрита епітелієм, а у тварин, у яких рани обробляли гелем «Пантестин-Дарниця», епітеліальна тканина займала до 50% площі. Зважаючи на те, що про завершення другої фази свідчить заповнення ранового ложа грануляційною тканиною і початком епітелізації та формуванням рубця, можемо зробити висновок, що як для препарату «Сапрогель», так і для лікарського засобу «Пантестин-Дарниця» притаманна ранозагоювальна дія у другу фазу загоєння рани. Третя фаза для цих препаратів була скороченою, але «Сапрогель» був ефективнішим в цій фазі [446].

7.2.1. Дослідження антиоксидантних властивостей гелю з водним екстрактом сапропелю

Інтенсивність процесів ПОЛ при вирізаній площинній рані та за умов її корекції гелем з ВЕС

Антиоксидантна активність гумінових кислот торфу і сапропелю заслуговує особливої уваги, оскільки обумовлена низкою їх структурних особливостей. Ароматичні ядра гумінових кислот містять велику кількість карбоксильних і хіноїдних груп, які є каталізаторами окислювально-відновних реакцій і обумовлюють антиоксидантну активність. Вважають, що наявність антиоксидантних і хелатуючих властивостей у гумінових кислот вказує на їх потенційні антигіпоксичні властивості [52, 171].

Результати, отримані Н.П. Аввакумовою, М.Н. Глибоковою та іншими науковцями при вивченні антиоксидантних властивостей гумінових речовин та їх фракцій, свідчать про те, що вони володіють антиоксидантною активністю [56, 61, 62, 64, 66, 67, 85]. Дослідження антиоксидантної активності гумінового комплексу показало, що він здатний нейтралізувати шляхом прямої взаємодії різні форми активного кисню та інші вільні радикали, що утворюються в процесі метаболізму, і є перспективним природним джерелом для отримання лікарських засобів, що мають антиоксидантну активність. Застосування таких засобів може стати важливою ланкою в профілактиці і терапії різних захворювань, обумовлених порушенням окислювально-відновного гомеостазу організму, що забезпечить зниження захворюваності, запобігання передчасному старінню, збільшить тривалість і підвищить якість життя [189, 190].

Гумусові кислоти містять близько 15 різних видів функціональних груп, серед яких є аміногрупи, амідні, спиртові, альдегідні, карбоксильні, карбоксилатні, кетонні, метоксильні, фенольні, хінонні, гідроксіхінонні та ін. [154]. Склад і структура гумінових кислот залежить від походження, процесу отримання та функціональних груп, наявних у їх структурах, таких як хінони, феноли та карбонові кислоти.

Хінони відповідають за гоєння ран і мають фунгіцидні/бактерицидні властивості. Феноли та карбонові кислоти, які найбільше поширені в структурі гумінових кислот, відповідають за різні інші функції, такі як антиоксидантні та протизапальні властивості ГК, зокрема, наявність саме фенольних груп у ГК зумовлює антиоксидантні властивості завдяки їх здатності нейтралізувати вільні радикали [154] .

Процеси вільнорадикального окиснення є складовою ланкою метаболічної активності клітин, які постійно відбуваються в живих організмах. Основним механізмом активації вільнорадикальних процесів є збільшення утворення активних форм кисню (АФК). АФК можуть проявляти виразну токсичну дію на структури клітин, яка, в основному, обумовлена подальшою стимуляцією процесів вільнорадикального окиснення, що призводить до розвитку окисного стресу, який проявляється накопиченням токсичних продуктів, ушкодженням молекул, мембран клітин, тканин, зниженням репаративних процесів у рані тощо [446, 447].

Доведено, що при порушенні про-/антиоксидантної рівноваги розвивається окисний стрес, що пригнічує репаративні процеси в рановому ушкодженні шкіри [447]. Порушення такої рівноваги при травмуванні шкіри має системний характер. У зв'язку з цим нами було визначено вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту в сироватці крові щурів у різні фази ранового процесу в динаміці самозагоєння та у щурів в динаміці загоєння на тлі застосування гелю «Сапрогель» та референс-зразку гелю «Пантестин-Дарниця» [448].

У результаті досліджень встановлено, що вміст первинних продуктів перекисного окислення ліпідів дієнових кон'югатів (ДК) у сироватці крові щурів контрольної групи з ранами без лікування на 3 добу зростав на 84,4% ($p < 0,01$), на 7 добу (початок другої фази) – на 41,1% ($p < 0,05$) порівняно з інтактним контролем (табл. 7.2). На 14 добу (кінець другої фази) вміст дієнових кон'югатів повертався до рівня інтактного контролю. Застосування основи (гелю карбополу) статистично достовірно не впливало на вміст ДК в сироватці крові порівняно з контролем.

Застосування препарату «Сапрогель» зменшувало вміст ДК в сироватці крові на 3 добу на 28,8% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. На 7 добу вміст ДК в сироватці крові знижувався до рівня контролю. Дія препарату порівняння гелю «Пантестин-Дарниця» на вміст ДК на 3 та 7 добу ранового процесу була близькою до дії гелю «Сапрогель» [448].

Вміст ТБК-активних продуктів відновлювався пізніше від вмісту ДК, що, очевидно, є результатом виснаження антиоксидантної системи (табл. 7.2).

Таблиця 7.2

**Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові щурів з
вирізаною площинною ранною ($M \pm m$, $n=10$)**

Доба спостереження після моделювання рани		Дієнові кон'югати, $\text{нмоль} \times \text{мг білка}^{-1}$	ТБК-активні продукти $\text{нмоль} \times \text{мг білка}^{-1}$	Шиффові основи $\text{ум. од.} \times \text{мг білка}^{-1}$
Інтактний контроль		$1,41 \pm 0,14$	$30,16 \pm 2,72$	$25,43 \pm 2,88$
3	рана (контроль)	$2,60 \pm 0,22^{**}$	$65,21 \pm 5,18^{***}$	$36,54 \pm 4,01^*$
	рана + основа	$2,52 \pm 0,27^{**}$	$58,33 \pm 4,83^{**}$	$37,58 \pm 2,98^*$
	рана + «Сапрогель»	$1,85 \pm 0,09^{*/\#}$	$43,26 \pm 4,51^{*/\#}$	$28,77 \pm 3,03^{\#}$
	рана + «Пантестин-Дарниця»	$2,50 \pm 0,22^*$	$58,04 \pm 6,38^{***}$	$35,44 \pm 4,02^*$
7	рана (контроль)	$1,99 \pm 0,16^*$	$55,28 \pm 6,01^{***}$	$36,77 \pm 2,04^*$
	рана + основа	$2,11 \pm 0,19^*$	$57,44 \pm 3,88^{***}$	$34,11 \pm 2,88^*$
	рана + «Сапрогель»	$1,71 \pm 0,16^{\#}$	$43,78 \pm 3,98^{*/\#}$	$29,41 \pm 1,82^{\#}$
	рана + «Пантестин-Дарниця»	$2,02 \pm 0,21^*$	$42,66 \pm 4,32^{**/\#}$	$30,18 \pm 2,75$
14	рана (контроль)	$1,63 \pm 0,11$	$42,35 \pm 2,08^*$	$28,54 \pm 1,67$
	рана + основа	$1,76 \pm 0,17$	$40,44 \pm 1,78^*$	$26,85 \pm 1,75$
	рана + «Сапрогель»	$1,33 \pm 0,11$	$34,08 \pm 2,06^{*/\#}$	$24,72 \pm 1,02^{\#}$
	рана + «Пантестин-Дарниця»	$1,48 \pm 0,07$	$35,01 \pm 2,12^{*/\#}$	$25,00 \pm 2,13$
День повного закриття рани	рана (контроль) 24 день	$1,52 \pm 0,12$	$35,68 \pm 4,02$	$27,08 \pm 1,98$
	рана + основа 23 день	$1,48 \pm 0,14$	$31,92 \pm 2,98$	$28,22 \pm 2,42$
	рана + «Сапрогель» 18 день	$1,38 \pm 0,15$	$28,42 \pm 1,12$	$23,34 \pm 1,76^{\#}$
	рана + «Пантестин-Дарниця» 18 день	$1,42 \pm 0,14$	$32,32 \pm 2,66$	$24,65 \pm 2,45$

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ щодо інтактного контролю; # – $p < 0,05$ щодо контролю (рани без лікування).

На 3, 7, 14 добу від початку моделювання ранового процесу вміст ТБК-продуктів у сироватці крові щурів з ранами без лікування перевищував такий у щурів групи інтактного контролю на 116,2% ($p < 0,001$), 83,3% ($p < 0,001$) та 40,4% ($p < 0,05$), відповідно. В день повного закриття ранового ложа вміст ТБК-продуктів у сироватці крові щурів з ранами без лікування був на рівні інтактного контролю. Застосування гелю карбополу не впливало на досліджуваний показник порівняно з групою контролю.

За дії препарату «Сапрогель» упродовж всього періоду загоєння вміст ТБК-продуктів у сироватці крові щурів був нижчим порівняно з контрольними нелікованими щурами: на 3, 7 та 14 добу від початку моделювання ранового процесу він зменшувався відповідно на 33,7% ($p < 0,05$), 20,8% ($p < 0,05$) та 19,5% ($p < 0,05$). Різниця в дії гелів «Сапрогель» та «Пантестин-Дарниця» спостерігалася лише в першу фазу загоєння, в якій референс-зразок був неефективним. У день повного закриття рани в обох групах вміст ТБК-продуктів у сироватці крові щурів був на рівні інтактного контролю.

Вміст шифових основ в сироватці крові щурів контрольної групи був збільшеним упродовж першої фази (на 3 добу на 43,7% ($p < 0,05$)) та на початку другої фази гоєння (на 7 добу на 44,6% ($p < 0,05$)), до кінця другої фази він повертався до рівня інтактного контролю. Гель карбополу не впливав на вміст шифових основ у сироватці крові щурів з повношаровими вирізаними площинними ранами. Проте в I фазу ранового процесу препарат «Сапрогель» зменшував вміст шифових основ в сироватці крові щурів стосовно контрольної групи на 21,37% ($p < 0,05$), а на початку другої фази він знижувався до рівня інтактного контролю. Аналогічно на процес загоєння впливав гель «Пантестин-Дарниця».

У щурів контрольної групи (з ранами без лікування) спостерігалось виснаження антиоксидантної системи, що було підтверджено результатами, наведеними в табл. 7.2.

У щурів контрольної групи (з ранами без лікування) активність супероксиддисмутази (СОД) була зниженою у всі дні спостереження (табл. 7.3).

На 3, 7, 14 добу від початку моделювання ранового процесу та в день повного закриття ранового ложа вона була меншою відповідно на 84,9% ($p<0,001$), 86,4% ($p<0,001$), 51,8% ($p<0,01$) та 59,4% ($p<0,01$). Нами підтверджено результати інших авторів, за якими експериментальна хронічна рана супроводжується зниженням активності антиоксидантних ферментів у сироватці крові порівняно із здоровими тваринами [451].

Таблиця 7.3

Активність СОД та КАТ у сироватці крові щурів з вирізаною площинною раною ($M \pm m$, $n=10$)

Доба спостереження після моделювання рани		Активність СОД ум.од. $\times$ $xv^{-1} \times$ мг білка $^{-1}$	Активність КАТ нмоль $\times$ $xv^{-1} \times$ мг білка $^{-1}$
Інтактний контроль		4,11 $\pm$ 0,33	7,08 $\pm$ 0,62
3	рана (контроль)	0,62 $\pm$ 0,09***	19,23 $\pm$ 2,05***
	рана + гелева основа	0,57 $\pm$ 0,04***	17,62 $\pm$ 1,68***
	рана + «Сапрогель»	2,89 $\pm$ 0,24**/###	10,32 $\pm$ 0,97*/##
	рана + «Пантестин-Дарниця»	2,79 $\pm$ 0,30**/###	14,12 $\pm$ 1,21*/##
7	рана (контроль)	0,56 $\pm$ 0,04***	16,88 $\pm$ 1,48***
	рана + гелева основа	0,53 $\pm$ 0,04***	15,33 $\pm$ 1,39***
	рана + «Сапрогель»	2,92 $\pm$ 0,23**/###	11,74 $\pm$ 0,95*/##
	рана + «Пантестин-Дарниця»	3,02 $\pm$ 0,46*/#	11,98 $\pm$ 0,86*/#
14	рана (контроль)	1,98 $\pm$ 0,09**	13,18 $\pm$ 1,05**
	рана + гелева основа	2,01 $\pm$ 0,18***	12,98 $\pm$ 1,18*
	рана + «Сапрогель»	3,12 $\pm$ 0,32*/#	9,00 $\pm$ 0,82*/#
	рана + «Пантестин-Дарниця»	3,20 $\pm$ 0,23*/#	8,76 $\pm$ 0,63*
День повного закриття рани	рана (контроль) 24 день	2,44 $\pm$ 0,45**	8,89 $\pm$ 0,51*
	рана + гелева основа 23 день	2,21 $\pm$ 0,34**	8,66 $\pm$ 0,75*
	рана + «Сапрогель» 18 день	3,64 $\pm$ 0,33#	7,59 $\pm$ 0,56#
	рана + «Пантестин-Дарниця» 18-й день	3,52 $\pm$ 0,28#	6,99 $\pm$ 0,82#

Примітки: *— $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ — щодо інтактного контролю; # - $p < 0,05$ щодо контролю (рани без лікування).

Щоденне нанесення гелю карбополу на рану не впливало на активність супероксиддисмутази. У групі щурів, рани яких лікували препаратом «Сапрогель», активність супероксиддисмутази була значно вищою, ніж у щурів контрольної групи. Так, на 3, 7, 14 добу від початку експерименту порівняно з інтактним контролем вона була меншою відповідно на 29,7% ($p < 0,001$), 30,0% ($p < 0,001$) та 24,1% ($p < 0,01$). Ефект від застосування «Пантестин-Дарниця» був майже таким самим, як від застосування гелю «Сапрогель». У день повного закриття рани як після лікування гелем «Сапрогель», так і після лікування гелем «Пантестин-Дарниця» активність СОД була на рівні інтактного контролю.

Що ж до КАТ, то у щурів контрольної групи вона була більшою за даний показник у щурів групи інтактного контролю в усі фази спостереження. На 3, 7, 14 добу від початку експерименту та в день повної епітелізації активність КАТ зростає на 172,5% ($p < 0,001$), 138,4% ($p < 0,001$), 86,2% ($p < 0,01$) та 25,6% ($p < 0,05$), відповідно. Зміни досліджуваного показника за застосування гелю карбополу в усі терміни спостереження мало відрізнялися від контролю ($p > 0,05$).

Застосування гелю «Сапрогель» позитивно впливало на активність КАТ в усі фази загоєння. На 3, 7, 14 добу від початку експерименту активність КАТ була більшою за даний показник в групі інтактного контролю на 45,8% ($p < 0,05$), 65,8% ($p < 0,01$) та 27,1% ($p < 0,05$), відповідно. У день повної епітелізації після застосування гелю «Сапрогель» активність КАТ була на рівні інтактного контролю. Отже, при застосуванні досліджуваного препарату активність КАТ зростала в меншій мірі, ніж у щурів в процесі самозагоєння. Крім того, за дії гелю «Сапрогель» її відновлення відбувалось значно швидше, ніж у щурів контрольної групи.

Порівняно з ефектом гелю «Сапрогель» на активність КАТ, дія референс-зразку на активність цього ензиму була приблизно однаковою в II та III фази процесу загоєння. А в I фазу «Сапрогель» був ефективнішим щодо КАТ. Власне ці дані підтверджують наведені вище результати про ранозагоювальну дію гелів «Сапрогель» і «Пантестин-Дарниця» у різні фази ранового процесу [448].

Інтенсивність процесів окисної модифікації білків в динаміці загоєння площинно-виризаной рани у фармакотерапії гелем з ВЕС

Згідно з даними літератури, за умов окисного стресу АФК пошкоджують усі біологічні структури [449 – 451]. Зокрема, за умов надмірної генерації АФК розвиваються процеси неконтрольованої модифікації білків, які спричиняють фрагментацію білків, їхню денатурацію, а також утворення первинних амінокислотних радикалів, що далі вступають у вторинну взаємодію із сусідніми амінокислотними залишками, тобто спостерігається досить складна картина пошкоджувальної дії АФК на білкові макромолекули. Все це призводить до втрати білками їхньої біологічної активності й порушення обмінних, зокрема регенеративних процесів [451].

Тому наступним етапом нашої роботи було дослідження інтенсивності процесів окислювальної модифікації білків у сироватці крові у динаміці гоєння площинно-вирізаної рани у щурів при фармакотерапії пошкоджень шкіри гелем з ВЕС.

Під час проведених експериментальних досліджень встановлено, що у щурів з вирізаною площинною раню без лікування, у сироватці крові спостерігається збільшення рівня окисно-модифікованих білків (рис. 7.1, 7.2).

Відомо, що відновлення окислених білків практично не відбувається. Вони стають мішенню для дії специфічних нейтральних та лужних протеаз, активність яких залежить від багатьох факторів [452].

Крім того, вважається, що негативний ефект ОМБ пов'язаний із тим, що вони є джерелом вільних радикалів, які виснажують запаси антиоксидантів в організмі. *In vitro* показано, що продукти вільнорадикального окиснення білків призводять до окислювального ураження ДНК. При цьому перекисне окиснення білків є не тільки пусковим механізмом патологічних процесів, а й найбільш раннім маркером оксидативного стресу [453].

Визначення вмісту продуктів окисної модифікації білків

Встановлено, що у щурів з вирізаною площинною раню спостерігається збільшення рівня окисно-модифікованих білків сироватки крові (рис. 7.1, 7.2).

Так, зростає рівень нейтральних альдегідних (макс. абсорбції при 346 нм) продуктів на 3 і 7 добу – в 2,5 рази та на 20 добу – в 1,9 рази щодо контролю. Також виявлено збільшення у сироватці крові вмісту нейтральних кетонних (Е

max = 370 нм) продуктів на 3 добу – в 1,3 рази, на 7 добу – в 1,6 рази та на 20 добу – в 1,5 рази порівняно з контролем (рис. 7.1).

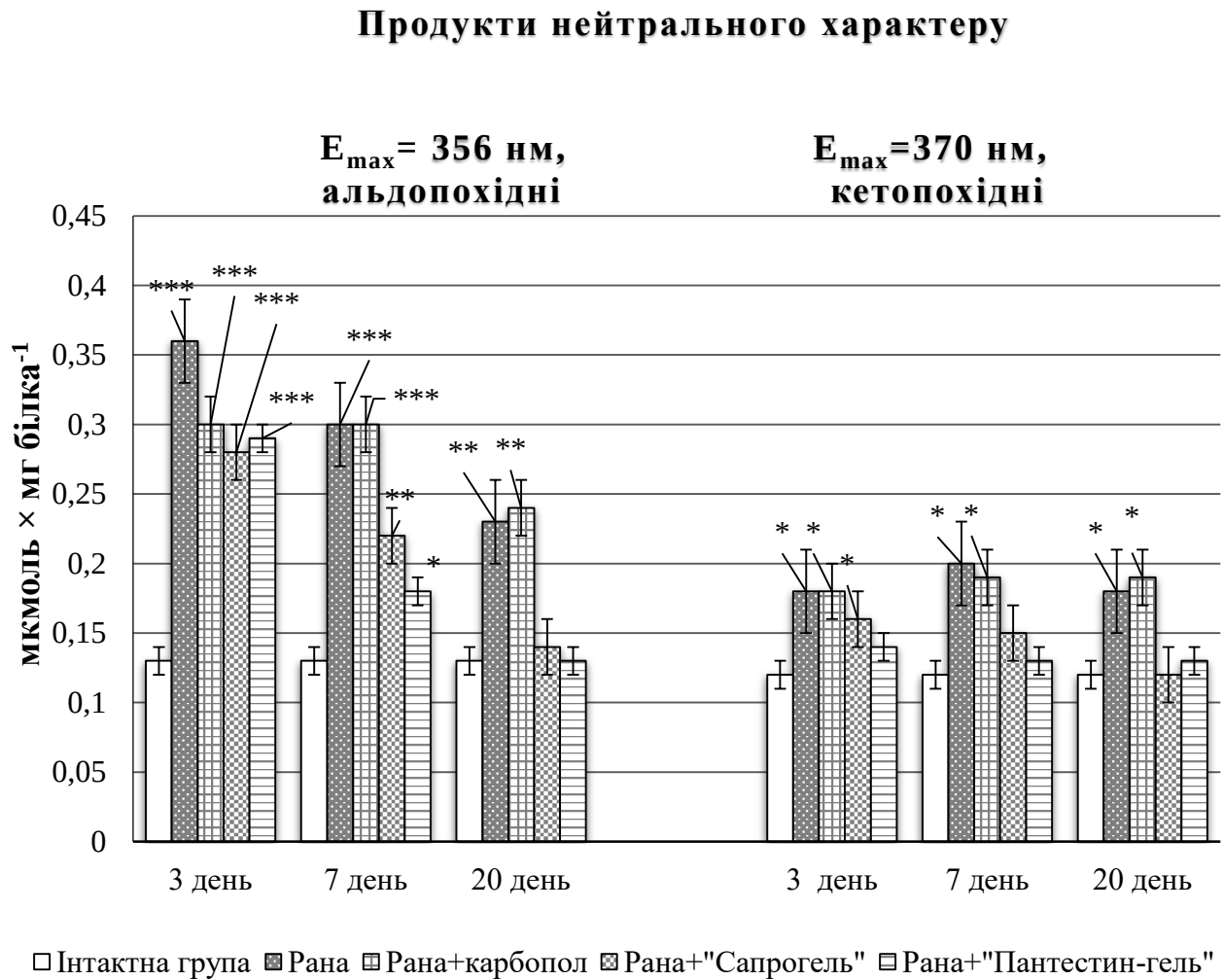


Рис.7.1. Вміст продуктів ОМБ – продуктів нейтрального характеру – у сироватці крові щурів з вирізаною площинною раною, мкмоль $\times$ мг білка⁻¹

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ щодо контрольної групи тварин

Показано, що при вирізаній площинній рані у сироватці крові щурів зростає кількість основних альдегідних (максимум поглинання при 430 нм) продуктів на 3 добу – в 1,9 рази, на 7 добу – в 2,2 рази та 20 добу – в 1,9 рази стосовно контролю. За тих самих експериментальних умов у сироватці крові збільшується рівень основних кетонних ($E_{\max} = 530$ нм) продуктів на 3 і 7 добу – в 3,5 рази та 20 добу – в 2,3 рази стосовно контрольної групи тварин (рис. 7.2).

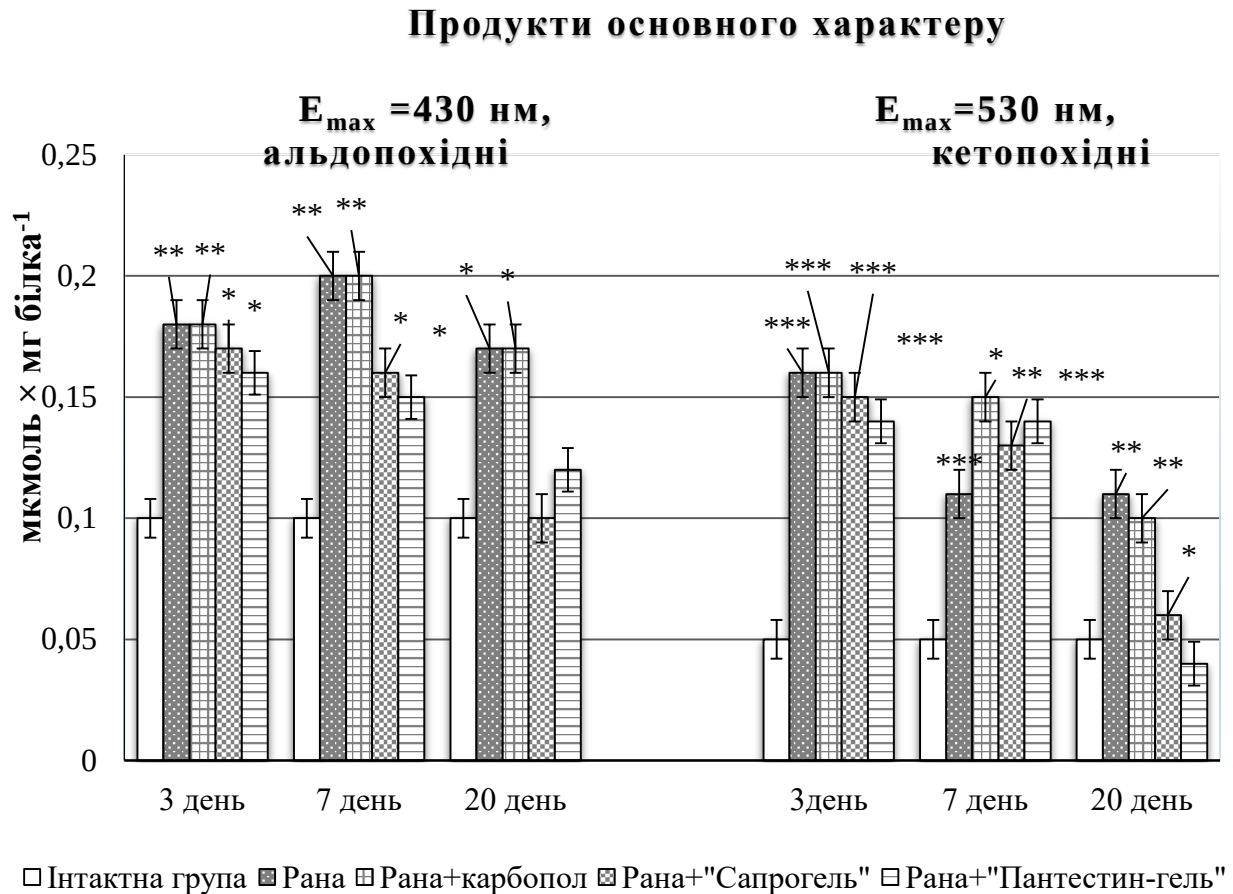


Рис.7.2. Вміст продуктів ОМБ – продуктів основного характеру – у сироватці крові щурів з вирізаною площинною ранною, $\mu\text{моль} \times \text{мг білка}^{-1}$

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ щодо контрольної групи тварин

У групі щурів з вирізаною площинною ранною, яку обробляли карбополом, у сироватці крові спостерігається подібне до групи тварин з експериментальною ранною збільшення рівня окисно-модифікованих білків (рис. 7.1, 7.2).

При використанні «Сапрогелю» у сироватці крові спостерігається зниження вмісту як нейтральних альдегідних і кетонних продуктів, так і основних альдегідних та кетонних продуктів ОМБ [448] (рис. 7.1, 7.2).

Визначення рівня сульфгідрильних груп. Важливим критерієм білкової модифікації є окиснення їх сульфгідрильних груп, яке може відбуватись як прямим, так і ферментативним шляхом. Швидкість і характер окиснення сульфгідрильних груп залежать від багатьох чинників: концентрація реагентів, рН, температура, рКа, просторове розташування SH-груп у білку та їх мікрооточення [454, 455].

За даних умов у сироватці крові спостерігається зниження рівня білкових і небілкових сульфгідрильних груп, що свідчить про їх пошкодження вільними радикалами.

У тварин при вирізній площинній рані у сироватці крові вміст сульфгідрильних груп знижується. Так, рівень небілкових SH-груп знижується на 3 добу – в 1,8 рази, на 7 добу – в 1,9 рази та на 20 добу – в 1,4 рази стосовно контролю. При цьому вміст білкових SH-груп зменшується на 3 добу – в 1,3 рази, на 6 добу – в 1,6 рази та на 20 добу – в 1,4 рази порівняно з контрольною групою. За умов експериментальної рани рівень загальних SH-груп знижується на 3 добу – в 1,3 рази, на 7 добу – в 1,2 рази та на 20 добу – в 1,4 рази щодо контролю (рис. 7.3). Подібні зміни у рівні сульфгідрильних груп виявлені у сироватці крові при дослідженні дії гелю карбополу [456]. При використанні «Сапрогелю» у сироватці крові спостерігається відновлення вмісту сульфгідрильних груп (рис. 7.3-7.5).

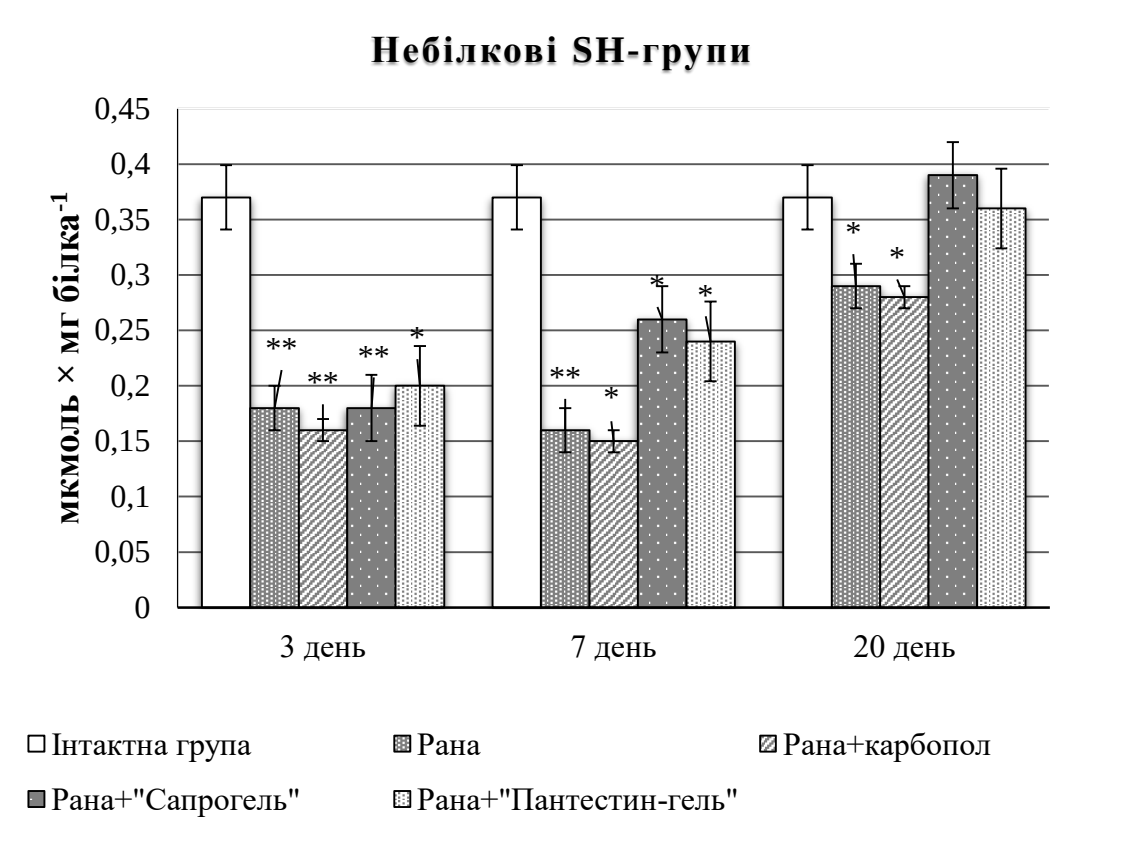


Рис. 7.3. Вміст небілкових SH-сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів з вирізною площинною раною, $\mu\text{моль} \times \text{мг білка}^{-1}$, ($M \pm m$; $n=7$)

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ щодо контрольної групи тварин

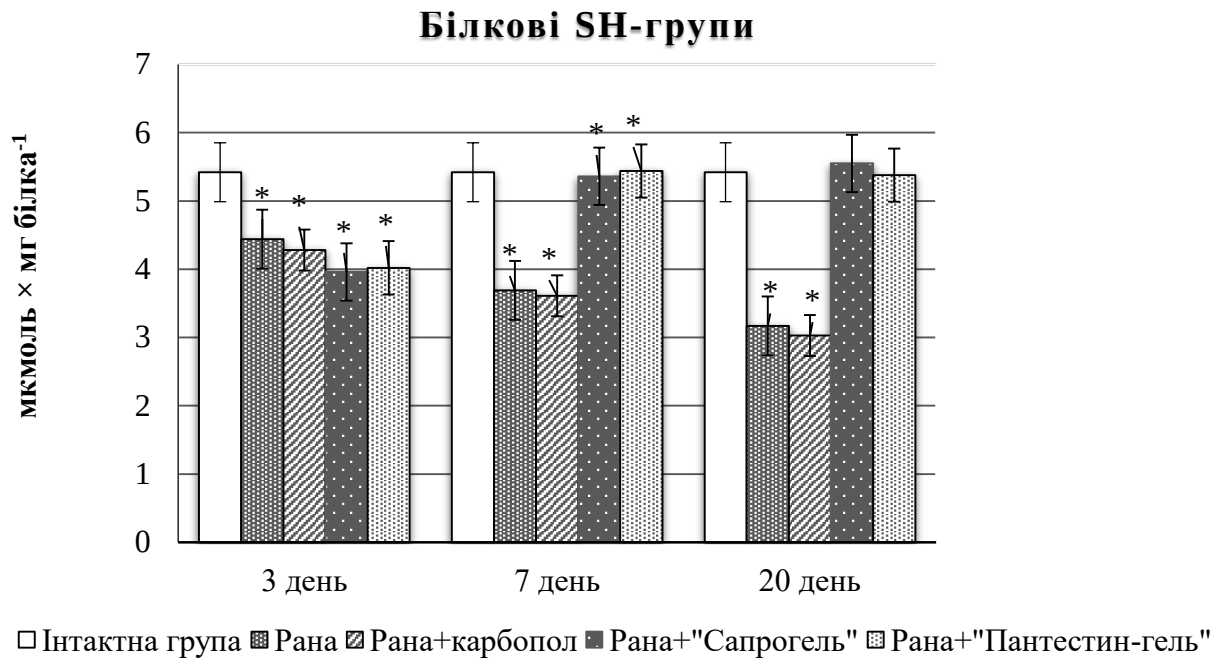


Рис. 7.4. Вміст білкових SH-сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів з вирізаною площинною ранною, мкмоль $\times$ мг білка⁻¹, ($M \pm m$; $n=7$)

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ щодо контрольної групи тварин.

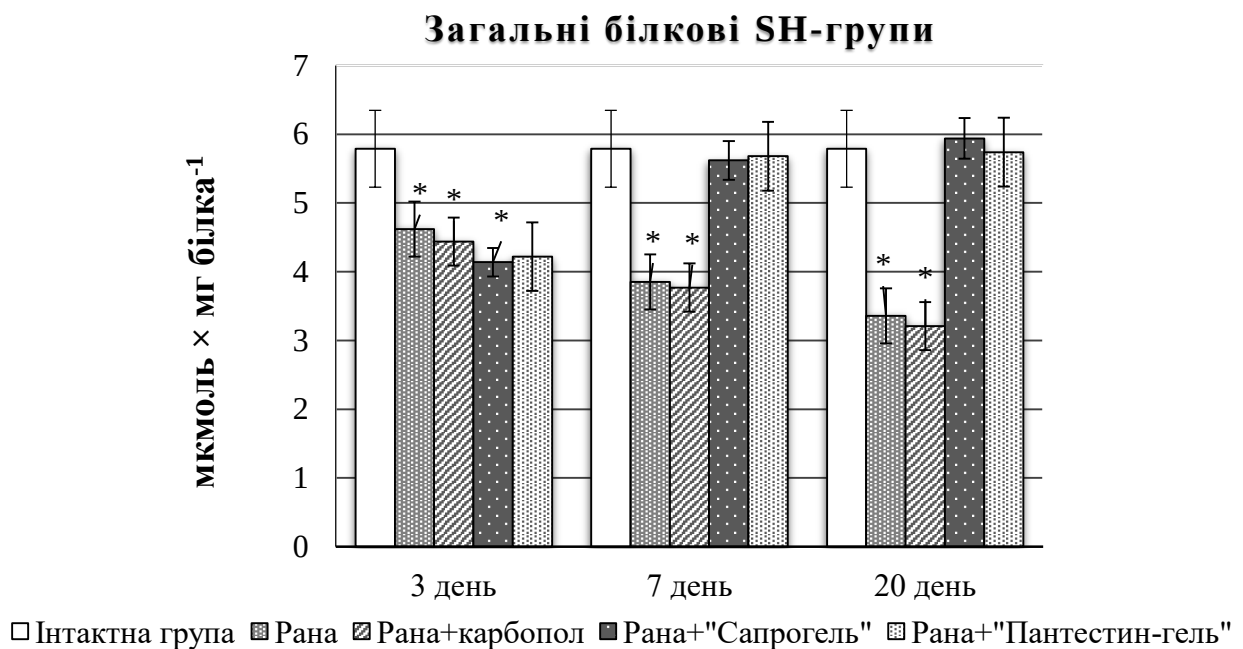


Рис. 7.5. Вміст загальних SH-сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів з вирізаною площинною ранною, мкмоль $\times$ мг білка⁻¹, ($M \pm m$; $n=7$)

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ щодо контрольної групи тварин.

Отримані результати свідчать, що при вирізаний площинній рані у сироватці крові зростає рівень вільних радикалів, що призводить до виснаження рівня небілкових низькомолекулярних тіолів (цистеїну, глутатіону та ін.) та пригнічення активності тіолових ферментів за рахунок блокування їх сульфгідрильних груп. Зниження загальних, білкових та небілкових SH-груп за умов експериментальної площинної рани відображає загальне зміщення редокс-балансу у прооксидантний бік.

Встановлене зниження вмісту сульфгідрильних груп у сироватці крові щурів за умов моделювання рани свідчить про накопичення ковалентних зв'язків за участю цистеїну та метіоніну, а також про окиснення SH-груп.

7.2. Дослідження протизапальної та ранозагоювальної дії крему та гелю з екстрактом сапропелю на моделі ультрафіолетової еритеми у щурів

Запальні процеси є одними із найважливіших проблем у загальній патології та клініці [178, 179], оскільки супроводжують розвиток більшості патологій різної етіології, у тому числі ран та опіків. Оскільки оцінка протизапальної активності нових лікарських засобів є одним з головних завдань фармакологічних досліджень, ми досліджували місцеву протизапальну та ранозагоювальну дії МЛФ з екстрактами сапропелю з використанням моделі гострого фотодинамічного запалення шкіри щурів (УФ-еритеми).

Експериментальних тварин було розподілено на 9 груп, по 6 тварин у кожній (n=6), серед яких одна група контрольної патології, одна – група порівняння з використанням мазі «Пантенол» («Хемофарм АД», Сербія) та 7 експериментальних груп тварин, яких лікували досліджуваними зразками крему та гелю з різним вмістом ОЕС та ВЕС:

I – контрольна патологія (КП) – неліковані тварини з УФ-еритемою; II – група тварин з УФ-еритемою, яких лікували препаратом порівняння – маззю «Пантенол», Хемофарм АД, Сербія; III – група тварин з УФ-еритемою, яких лікували препаратом – гелем з 10% ВЕС; IV – група тварин з УФ-еритемою, яких лікували препаратом – гелем з 15% ВЕС; V – група тварини з УФ-еритемою, яких

лікували препаратом – гелем з 20% ВЕС; VI – група тварини з УФ-еритемою, яких лікували препаратом – кремом з 5% ВЕС; VII – група тварин з УФ-еритемою, яких лікували препаратом – кремом з 10% ВЕС; VIII – група тварин з УФ-еритемою, яких лікували препаратом – кремом з 5% ВЕС і 15% ОЕС; IX – група тварин з УФ-еритемою, яких лікували препаратом – кремом з 10% ВЕС і 15% ОЕС.

Результати дослідження інтенсивності запального процесу на шкірі, протизапальної активності досліджуваних препаратів, товщини шкірної складки щурів представлені в табл. 7.4–7.6.

Таблиця 7.4

Інтенсивність запальної реакції на шкірі щурів на моделі гострого фотодинамічного запалення, бали ($M \pm m$, $n=6$)

Група	Час спостереження, доби					
	1	2	3	4	6	7
I	1,00±0,00	3,50±0,22	3,50±0,22	3,33±0,21	3,00±0,00	2,83±0,17
II	0,50±0,22*	2,67±0,21*	2,50±0,22*	1,83±0,17*	1,50±0,22*	1,33±0,21*
III	0,67±0,21	1,50±0,22*/#	1,17±0,17*/#	1,00±0,00*/#	0,33±0,21*/#	0,00±0,00*/#
IV	0,33±0,21*	1,00±0,00*/#	0,83±0,17*/#	0,67±0,21*/#	0,00±0,00*/#	0,00±0,00*/#
V	0,33±0,21*	1,00±0,00*/#	0,80±0,18*/#	0,60±0,17*/#	0±0,00*/#	0±0,00*/#
VI	0,83±0,17	3,67±0,21#	3,67±0,21#	3,33±0,21#	3,17±0,17#	2,67±0,21#
VII	0,87±0,21	2,71±0,17	2,62±0,17	2,16±0,21	1,74±0,33	1,52±0,17
VIII	0,83±0,17	2,50±0,22*	2,33±0,33*	1,67±0,21*	1,50±0,22*	1,33±0,21*
IX	0,83±0,17	2,33±0,21*	2,17±0,31*	1,50±0,22*	1,33±0,21*	1,17±0,17*

Примітки: * – різниця статистично достовірна щодо значень групи I (контрольна патологія), $p < 0,05$; # – різниця статистично достовірна щодо значень групи II (група порівняння), $p < 0,05$.

Згідно з отриманими даними, макроскопічні ознаки фотодинамічного запалення шкіри розвивалися поступово і в групі контрольної патології (КП) досягали максимальної інтенсивності на 2-3 день після опромінення. Запалення шкіри характеризувалося набряком тканин, гіперемією, геморагіями і розвитком геморагічних кірок з виразками. Цілковите відновлення шкірного покриву, згідно з показниками інтенсивності запальної реакції і товщини шкірної складки, в групі КП спостерігали на 14 добу після опромінення [403].

Так, на 2 добу після ультрафіолетового опромінення у групах III (гель з 10% ВЕС), IV (гель з 15% ВЕС), V (гель з 20% ВЕС), VII (крем з 10% ВЕС), VIII (крем з 5% ВЕС і 15% ОЕС), IX (крем з 10% ВЕС і 15% ОЕС) спостерігали зниження інтенсивності ушкоджень шкіри порівняно з нелікованими тваринами (групою КП) на 57,14%, 71,43; 71,43; 22,57; 28,57 і 33,43% відповідно (табл. 7.6.). Інтенсивність пошкоджень шкіри у VI (крем з 5% ВЕС) групі порівняно з I групою (КП) не знижувалася.

На фоні лікування МЛФ з екстрактами сапропелю на 2-7 день експерименту спостерігали достовірне щодо групи КП зниження інтенсивності фотодинамічного запалення шкіри дослідних тварин, яке характеризувалося зменшенням набряку і гіперемії, а також зменшенням товщини шкірної складки (табл. 7.4 і 7.5).

На 2 день зниження інтенсивності запальної реакції, яке ми спостерігаємо у групах III, IV, V, VII, VIII і IX, супроводжувалося достовірним зменшенням товщини шкірної складки щодо групи КП на 13,8%, 19,3; 19,3; 7,6; 8,4 і 9,8% відповідно. Інтенсивність запальної реакції у VI групі (крем з 5% ВЕС) знижувалася на 3,6% порівняно з групою КП (табл. 7.5).

Таблиця 7.5

Товщина шкірної складки у щурів на моделі гострого фотодинамічного запалення шкіри, мм ($M \pm m$, $n=6$)

Група	Час спостереження, доби					
	Початкові дані	1	2	3	7	14
I	2,07±0,06	2,27±0,06	2,75±0,09	2,79±0,08	2,57±0,09	2,20±0,06
II	2,05±0,06	2,15±0,05	2,47±0,06*	2,43±0,09*	2,23±0,06*	2,12±0,06
III	2,03±0,06	2,17±0,04	2,37±0,08*	2,28±0,07*	2,06±0,04*#	2,08±0,05
IV	2,02±0,07	2,08±0,10	2,22±0,07*#	2,12±0,07*#	2,03±0,05*#	2,04±0,05
V	2,02±0,07	2,08±0,10	2,22±0,07*#	2,08±0,07*#	2,04±0,05*#	2,02±0,05
VI	2,05±0,03	2,23±0,05	2,65±0,06#	2,68±0,04#	2,50±0,05#	2,17±0,08
VII	2,05±0,06	2,19±0,07	2,54±0,06*	2,48±0,09*	2,37±0,05*	2,15±0,06
VIII	2,00±0,05	2,18±0,06	2,52±0,03*	2,50±0,04*	2,30±0,04*	2,10±0,04
IX	2,03±0,03	2,20±0,05	2,48±0,07*	2,50±0,09*	2,32±0,06*	2,13±0,07

Примітки: * – різниця статистично достовірна щодо значень групи I (контрольна патологія), $p<0,05$; # – різниця статистично достовірна щодо значень групи II (група порівняння), $p<0,05$.

Слід зазначити, що у цей же день дослідження ПЗА кремів у групах VIII і IX була на рівні ПЗА препарату порівняння, а в групах VI і VII достовірно нижчою від ПЗА препарату порівняння. При цьому ПЗА гелів у групах III, IV і V була на 47,62; 47,62 і 33,33% ($p < 0,05$) вища, ніж у препарата порівняння – мазі «Пантенол» (група II) (табл. 7.6).

Таблиця 7.6

**ПЗА досліджуваних препаратів на моделі гострого фотодинамічного
запалення шкіри щурів, % ($M \pm m$, $n=6$)**

Група	Час спостереження, доба					
	1	2	3	4	6	7
II	50,00*	23,81*	28,57*	45,00*	50,00*	52,94*
III	33,33	57,14*	66,67*	70,00*	88,89*	100,00*
IV	66,67*	71,43*	76,19*	80,00*	100,00*	100,00*
V	66,67*	71,43*	77,14*	82,00*	100,00*	100,00*
VI	-	-	-	-	-	-
VII	12,31	22,41*	25,27	35,00*	42,13*	46,14
VIII	16,67	28,57*	33,33*	50,00*	50,00*	52,94*
IX	16,67	33,33*	38,10*	55,00*	55,56*	58,82*

Примітки: * – різниця статистично достовірна щодо значень групи I (контрольна патологія), $p < 0,05$.

На 3 добу після ультрафіолетового опромінення ПЗА досліджуваних препаратів з екстрактами сапропелю в групах III, IV, V, VII, VIII і IX становила 66,67; 76,19; 77,14; 25,27; 33,33 і 38,10% відповідно. При цьому ПЗА гелів з ВЕС в групах III, IV і V була на 38,10; 47,62 і 48,57% ($p < 0,05$) вищою від ПЗА препарата порівняння (табл. 7.6).

Зниження інтенсивності запальної реакції в групах III, IV, V, VII, VIII і IX супроводжувалося подальшим зменшенням товщини шкірної складки щодо групи КП на 18,3; 24; 25,4; 11,1; 10,4 і 10,4% відповідно. У VI групі зменшення товщини шкірної складки щодо групи КП становило 3,9% (табл. 7.7).

На 6 добу після УФ-опромінення спостерігали повне загоєння УФ-еритеми в групах IV і V.

У групах III, VII, VIII і IX ПЗА досліджуваних препаратів з екстрактами сапропелю становила 88,89; 42,13; 50,00 та 55,56% відповідно (табл. 7.6).

На 7 добу після УФ-опромінення фіксували цілковите відновлення шкірного покриву в групі III, а в групах VII, VIII і IX – зниження інтенсивності запальної реакції відносно групи КП на 46,29, 53,00 та 58,66% відповідно (табл. 7.7). У VI групі зниження інтенсивності запальної реакції щодо групи КП складало 5,65%.

Слід відзначити, що на 6-7 добу експерименту за показниками протизапальної активності референс-препарат (група II) достовірно поступався групам III, IV і V на 38,9–50,0% (табл. 7.6).

Грунтуючись на результатах досліджень, можна зробити висновок, що вивчені препарати мають виражені протизапальні властивості та знижують інтенсивність гострого фотодинамічного запалення у щурів і скорочують термін лікування.

ПЗА досліджуваних препаратів залежить від лікарської форми та концентрації активного фармацевтичного інгредієнта: максимально вираженою ПЗА володіють гелі, менш вираженою – креми, у яких ПЗА залежить від концентрації АФІ [403].

За зростанням ефективності протизапальної дії досліджувані зразки кремів з екстрактами сапропелю можна розташувати у такому порядку: крем з 5% ВЕС, крем з 10% ВЕС, крем з 5% ВЕС та 15% ОЕС, крем з 10% ВЕС та 15% ОЕС, що свідчить про зростання ПЗА із збільшенням концентрації ВЕС та ПЗА олійного екстракту сапропелю.

Ефективність ПЗА досліджуваних зразків гелів з ВЕС зростає у такому порядку:гель з 10% ВЕС,гель з 15% ВЕС і 20% ВЕС. Слід зазначити, що на 2-3 день ПЗА гелю з 20% ВЕС була вищою від ПЗА гелю з 15% на 0,95% і 2% ($p<0,05$) відповідно. Інтенсивність запальної реакції при застосуванні гелю з 20% ВЕС була на 2,4% і 10,4% відповідно ($p<0,05$) вища від інтенсивності запальної реакції при застосуванні гелю з 15% ВЕС. У перших два дні та на 6-7 день ПЗА та інтенсивність запальної реакції при застосуванні гелів з 15% і 20% ВЕС не відрізнялися.

Порівняльний аналіз досліджуваних препаратів з екстрактами сапропелю і референс – зразку – мазі «Пантенол» продемонстрував, що з використанням гелів

з ВЕС зниження шкірних реакцій фотодинамічного запалення відбувається значно швидше: інтенсивність ураження шкіри на 1 та 7 день лікування була значно менш вираженою, ніж у тварин, яких лікували маззю «Пантенол» (у 1,3-3,0 рази, $p < 0,05$).

7.3. Дослідження показників токсичності м'яких лікарських форм з екстрактами сапропелю та сапропасти

Доклінічний етап оцінки доцільності впровадження лікарських засобів на основі сапропелю і продуктів його переробки, зокрема, гумінових речовин, передбачає проведення токсикологічних досліджень. Потенційна токсичність гумінових речовин може бути обумовлена їх специфічною молекулярною структурою і високою адсорбційною активністю сапропелю. Сапропель як осадова порода біогенного походження потенційно має здатність концентрувати екотоксиканти фізичної, хімічної та біологічної природи [48].

Токсичність сапропелю може бути зумовлена техногенними і антропогенними факторами – прокладання транспортних комунікацій та інших споруд, будівництво свердловин для водопостачання тваринницьких ферм і населених пунктів, які спричиняють зменшення запасів підземних вод і їх напірність, викиди на Чорнобильській АЕС тощо, що спричинило наявність у сапропелі важких металів, радіоізотопів тощо. До токсичних сполук належать: кадмій, свинець, миш'як, радіонукліди, пестициди, ДДТ, гексахлоран, хлорофос, метафос та ін. [48]

При добуванні сапропелю в результаті перемішування сапропелевої маси, озерна вода насичується розчинними органічними, мінеральними компонентами і непридатна для повернення до водойми. Відбувається вторинне забруднення водойм через перехід забруднювальних речовин з осадів знову у водойму. При роботі з різними механізмами відбувається викид в озеро нафтопродуктів. Небезпека пов'язана з тим, що сумарна дія солей Pb, Cd, Hg пригнічує розвиток бактеріопланктону, кількість якого у водоймі знижується в 4-22 рази. На фоні

високого забруднення середовища в 5-6 разів посилюється дія деяких радіонуклідів. Деякі важкі метали спричиняють летальні та канцерогенні результати радіації тощо [48].

Проведені нами дослідження показали відсутність токсичних речовин та мікроорганізмів. Результати досліджень надані ТОВ «Зендер-Україна» (Додаток Е).

Результати визначення показників радіологічного забруднення продемонстрували наявність цезію-137 у кількості менше 2,5 Бк/кг (0,0000025 МБк). Слід відмітити, що наявність 148, 370 і 740 МБк відповідає легкому, середньому та важкому ступеню ураження, однак променеву реакцію відзначають вже при одиницях МБк (Додаток Є).

При визначенні токсикологічних характеристик дослідження гострої токсичності є першим етапом, метою якого є отримання інформації про безпеку досліджуваного потенційного лікарського засобу для здоров'я в умовах короткочасної дії. Результати є основою для визначення класу токсичності і встановлення режимів дозування при проведенні досліджень підгострої та хронічної токсичності та надання первинної інформації про токсичну дію потенційних лікарських засобів [220].

При дослідженні гострої токсичності препарату інтегральним показником є виживаність/летальність тварин, який дає змогу розраховувати середньо-летальну дозу (LD_{50}) – основну токсикологічну характеристику лікарського засобу. У разі неможливості введення препарату у дозах, які спричиняють загибель тварин, для дослідження гострої токсичності Державного фармакопейного центру Міністерства охорони здоров'я України (ДФЦ МОЗ України) рекомендує використовувати максимальну дозу IV класу токсичності відповідно до шляху введення [319]. Отже, у разі встановлення нетоксичності тест-зразка у дозі 2810 мг/кг при нашкірному нанесенні подальші дослідження можна вважати недоцільними.

Дослідження для виявлення сенсibiliзуючих та місцево-подразливих властивостей є обов'язковою вимогою ДФЦ МОЗ України при доклінічному вивченні нових лікарських засобів.

Враховуючи те, що сапропаста, крем і гель є засобами для нашкірного застосування, було досліджено їх можливу токсичну дію при одноразовому нашкірному нанесенні.

7.3.1. Оцінка гострої токсичності сапропаста

Гостру токсичність сапропаста визначали шляхом нанесення одноразової аплікації на шкіру досліджуваних тварин [275, 296]. Оцінювали токсичність згідно з класифікацією К. К. Сидорова [296]. Вивчення місцево-подразнювальної та сенсibiliзуючої дії сапропаста здійснювали на моделі шкірних аплікацій [270, 298].

Дослідження гострої токсичності сапропаста провадили на клінічно здорових самцях щурів (лінія Wistar), віком 6-8 місяців, вагою 180–210 г.

Експеримент здійснювали на трьох групах тварин ($n=10$ в кожній):

I – інтактна (контрольна). Тваринам контрольної групи не наносили нічого.

II – дослідна група щурів, якій застосовували одноразово нашкірно сапропасту з розрахунку 2810 мг/кг.

III – дослідна група тварин, якій застосовували нашкірно аплікації сапропаста з метою вивчення місцево-подразнювальної та сенсibiliзуючої дії.

Тест-зразки сапропаста дослідним тваринам 2 групи наносили на попередньо вистрижену ділянку шкіри спини, яка становила не менше 10% від загальної площі поверхні тварини. Тест-зразки наносили тонким шаром дозою 2810 мг/кг, реєстрували вплив препарату на виживання та розраховували середньо-летальну дозу (LD_{50}) – основну токсикологічну характеристику лікарського засобу.

При визначенні гострої токсичності сапропаста отримані результати досліджень продемонстрували, що загибелі тварин при нашкірному нанесенні

дослідних зразків сапропасти (табл. 7.7) не було. Таким чином, LD₅₀ сапропасти містяться поза межами IV класу токсичності (LD₅₀>2810 мг/кг) [296].

Таблиця 7.7

Виживання щурів в експерименті з вивчення гострої токсичності сапропасти при одноразовій нашкірній аплікації (n=10)

2-га група тварин	Доза, мг/кг	Тварини, які загинули/ загальна кількість тварин
Тест-зразок сапропасти	2810	0/10

Вивчення місцевоподразнювальної та сенсibilізувальної дії сапропасти

Досліджуваний препарат експериментальними тваринам 3 групи наносили нашкірно в дозі 0,5 г на тварину протягом 4 тижнів по 5 разів на тиждень один раз на добу на вистрижені ділянки шкіри (правий та лівий боки) розміром 2x2 см². Реакцію шкіри правого боку враховували щодня з метою виявлення подразливої дії препарату. Місцеву дію досліджуваного препарату на шкіру оцінювали після 10 та 20 аплікацій до нанесення завершальної аплікації візуально за ступенем виразності еритеми та за допомогою штангенциркуля визначали товщину шкірної складки правого боку. Результати вимірювань товщини шкірної складки подавали за різницю вимірювання в ході експерименту та вихідних даних.

Виявлення сенсibilізації проводили також після 10 та 20 аплікацій шляхом нанесення завершальної дози препарату на інтактний (лівий) бік тварини. Показники, які характеризують сенсibilізувальну дію досліджуваних об'єктів, а саме, товщину шкірної складки та ступінь ураження шкіри лівого боку, визначали через 24 години після нанесення завершальної дози [457].

Як показало дослідження, 10- та 20-разове нанесення досліджуваних зразків сапропасти не змінювало загальний стан тварин: тварини були рухливими, активними.

Тестування після 10 аплікацій показало відсутність проявів будь-якої подразливої дії (правий бік) сапропасти, а також алергічної реакції (лівий бік) з боку шкіри у відповідь на нанесення завершальної аплікації сапропасти (табл.

7.8). Тому, відповідно до методичних рекомендацій, нашкірне нанесення продовжували до 20 аплікацій [457].

Після нанесення 20 аплікацій сапропелю на правий бік місцевоподразливих властивостей сапропасти не виявлено.

Нанесення завершальної нашкірної аплікації досліджуваних препаратів на лівий бік не спричинило явищ гіперемії на шкірі лівого боку в жодної з тварин, що вказує на відсутність сенсibilізувальної дії (табл. 7.8).

Таблиця 7.8

Вивчення місцевоподразнювальної та сенсibilізувальної дії сапропасти, n=10

Групи тварин	Термін дослідження, доба			
	Після 10 аплікацій		Після 20 аплікацій	
	Різниця товщини шкірної складки, мм	Реакція шкіри, бали	Різниця товщини шкірної складки, мм	Реакція шкіри, бали
Подразнювальна дія (нанесення аплікації на правий бік щурів)				
1 ша група	0,05(0,0÷0,1)	0(0÷0)	0,25(0,2÷0,3)	0(0÷0)
3-тя група	0,05(-0,1÷0,3)	0(0÷0)	0,3 (0,1÷0,4) **	0(0÷0)
Сенсibilізувальна дія (нанесення аплікації на лівий бік щурів)				
1 ша група	0,16(0,0÷0,2)	0(0÷0)	0,05(0,0÷0,1)	0(0÷0)
2-га група	0,15(0,0÷0,3)	0(0÷0)	0,04(0,0÷0,1)	0(0÷0)

Примітка: різниця статистично вірогідна порівняно до контрольної групи тварин: **
P<0,01.

Експериментально визначено, що сапропаста не проявляє сенсibilізувальних та місцевоподразнювальних властивостей і належить до класу мало токсичних речовин (IV клас токсичності) [296].

7.3.2. Дослідження показників токсичності м'яких лікарських форм з екстрактами сапропелю

При визначенні гострої токсичності розроблених МЛФ використовували референтні препарати – «Ніжнодій гель», що містить екстракт хвої – 5 мг/г та

«Фітосепт мазь для доїння», який містить настоянку календули – 0,2 мл/г та олію обліпихову – 0,05 мл/г (виробництва ТОВ «Бровафарма», Україна).

Згідно з анотацією виробника «Ніжнодій гель» має захисну та асептичну дію, стимулює місцевий кровообіг, сприяє регенерації та відтворенню бар'єрних функцій епідермісу, загоєнню мікротравм, захищає шкіру вимені від згубного впливу навколишнього середовища, підтримує її природну еластичність.

«Фітосепт мазь для доїння» має асептичну і протизапальну дії, посилює місцевий кровообіг, сприяє загоєнню мікротравм, тріщин та ерозії діжок вимені корів та використовується для профілактики маститів.

Експеримент з дослідження показників токсичності гелю з ВЕС «Сапрогель» та крему з екстрактами сапропелю «Сапрокрем» проведено на 36 клінічно здорових статевозрілих щурах самцях (лінія Wistar) з масою тіла 200-230 г по 6 тварин в кожній групі:

I – група негативного контролю. Тваринам цієї групи наносили гелеву основу;

II – дослідна група. Тваринам цієї групи наносили «Сапрогель»;

III – дослідна група тварин, якій застосовували нашкірно аплікації препарат порівняння «Ніжнодій гель»;

IV – група негативного контролю. Тваринам наносили основу крему;

V – дослідна група. Нашкірно застосовували «Сапрокрем»;

VI – дослідна група. Тваринам наносили «Фітосепт мазь для доїння».

Тест-зразки – гель з екстрактом сапропелю, крем з екстрактами сапропелю та референс-зразки наносили на попередньо вистрижену ділянку шкіри спини, яка становила не менше 10% від загальної площі тіла тварини в дозі 2810 мг/кг. Шлях контакту тест-зразків з організмом обрано відповідно до передбачуваного шляху використання лікарських засобів у клінічній практиці.

Результати досліджень продемонстрували відсутність загибелі тварин при нанесенні дослідних зразків (табл. 7.9).

Таблиця 7.9

Виживання щурів в експерименті з вивчення гострої токсичності дослідних зразків при одноразовому нашкірному застосуванні ($M \pm m$, $n = 6$)

Група тварин	Стать	Доза, мг/кг	Тварини, які загинули/ загальна кількість тварин
Гелева основа	Самці	2810	0/6
Сапрогель	Самці	2810	0/6
Ніжнодій гель	Самці	2810	0/6
Основа крему	Самці	2810	0/6
Сапрокрем	Самці	2810	0/6
Фітосепт мазь для доїння	Самці	2810	0/6

Час спостереження ефектів при вивченні гострої токсичності повинен становити 14 діб. За стандартної процедури протягом 14 діб після нашкірних аплікацій тест-зразків щоденно реєстрували вплив препарату на поведінку виживання, зовнішній вигляд і прояви порушень фізіологічного стану тварин. Масу тварин визначали на 3, 7 та 14 доби від початку експерименту. Через 14 діб після нанесення тест-зразків тварин під легким хлороформним наркозом декапітували, проводили розтин та макроскопічно обстежували внутрішні органи, розраховували їх масові коефіцієнти (МК).

Як свідчать результати дослідження динаміка маси тіла протягом експерименту, тварини, які отримували тест-зразок та референтні зразки «Ніжнодій гель» і «Фітосепт мазь для доїння», за даними показниками не відрізнялися від групи щурів, яким наносили на шкіру гелеву або емульсійну основу (табл. 7.10). При розтині та макроскопічному дослідженні внутрішніх органів щурів через 14 діб після введення зразків за розміром, кольором, консистенцією, а також розташуванням внутрішні органи тварин, які отримали тест-зразки та референтний препарат не перевищували межі фізіологічної норми.

МК внутрішніх органів тварин, яким наносили гель, крем чи препарати порівняння «Ніжнодій гель» та «Фітосепт мазь для доїння», не відрізнялися від групи щурів, яким наносили гелеву або емульсійну основу крему, та між собою (табл. 7.11).

Таблиця 7.10

Динаміка маси тіла білих безпорідних щурів (г) після нашкірного нанесення дослідних зразків; $M \pm m$, n = 6

Дослідні група тварин	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Гелева основа	218,7 $\pm$ 4,7	220,0 $\pm$ 6,1	220,0 $\pm$ 7,2	225,0 $\pm$ 7,7
Сапрогель	220,0 $\pm$ 3,5	228,3 $\pm$ 6,5	236,7 $\pm$ 5,6	236,7 $\pm$ 5,6
Ніжнодій гель	212,0 $\pm$ 5,0	219,3 $\pm$ 7,5	221,7 $\pm$ 6,5	227,4 $\pm$ 7,0
Основа крему	216,7 $\pm$ 4,3	221,1 $\pm$ 6,3	221,0 $\pm$ 7,1	224,1 $\pm$ 7,3
Сапрокрем	210,0 $\pm$ 5,1	218,3 $\pm$ 7,5	221,6 $\pm$ 5,5	228,3 $\pm$ 7,5
Фітосепт мазь	211,0 $\pm$ 5,3	218,2 $\pm$ 6,9	220,5 $\pm$ 6,8	226,1 $\pm$ 6,7

Таблиця 7.11

Масові коефіцієнти внутрішніх органів щурів на 14 день після одноразового нашкірного нанесення дослідних зразків; $M \pm m$, n = 6

Досліджувані органи	Дослідні групи тварин				
	Гелева основа	Сапрогель	Сапрокрем	Ніжнодій гель	Фітосепт мазь
	Кремова основа				
Печінка	3,07 $\pm$ 0,12 3,09 $\pm$ 0,10	3,06 $\pm$ 0,09	3,04 $\pm$ 0,12	3,05 $\pm$ 0,11	3,07 $\pm$ 0,15
Права нирка	0,33 $\pm$ 0,01 0,35 $\pm$ 0,01				
Ліва нирка	0,34 $\pm$ 0,01 0,32 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,01	0,35 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,01
Серце	0,33 $\pm$ 0,01 0,32 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,01	0,33 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,01	0,39 $\pm$ 0,02
Легені	0,60 $\pm$ 0,01 0,64 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,02	0,65 $\pm$ 0,02	0,63 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,01
Селезінка	0,38 $\pm$ 0,02 0,39 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,02	0,34 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,02
Наднирники	0,026 $\pm$ 0,001 0,024 $\pm$ 0,001	0,021 $\pm$ 0,002	0,025 $\pm$ 0,001	0,027 $\pm$ 0,001	0,022 $\pm$ 0,001
Тимус	0,134 $\pm$ 0,007 0,137 $\pm$ 0,008	0,143 $\pm$ 0,011	0,114 $\pm$ 0,011	0,113 $\pm$ 0,011	0,119 $\pm$ 0,011
Правий сім'яник	0,67 $\pm$ 0,01 0,64 $\pm$ 0,02	0,72 $\pm$ 0,02	0,67 $\pm$ 0,04	0,69 $\pm$ 0,01	0,61 $\pm$ 0,01
Лівий сім'яник	0,68 $\pm$ 0,01	0,71 $\pm$ 0,02	0,65 $\pm$ 0,03	0,66 $\pm$ 0,03	0,69 $\pm$ 0,01

Жодних відмінностей між розробленими гелем і кремом та препаратами порівняння не виявлено, що дозволяє вважати препарати «Сапрогель» і «Сапрокрем» та референтні зразки еквівалентними за показником токсичності при

одноразовому нанесенні щурам на шкіру [455]. LD₅₀ досліджуваних тест-зразків лежить поза межами IV класу токсичності (LD₅₀>2810 мг/кг) [296].

7.3.3. Вивчення місцевоподразнювальної та сенсibilізувальної дії гелю та крему з екстрактами сапропелю

Тестування після 10 аплікацій засвідчило відсутність проявів будь-якої місцевоподразливої дії (правий бік) препаратів, а також алергічної реакції з боку інтактної шкіри (лівий бік) у відповідь на нанесення завершальної аплікації як досліджуваних, так і референтного препаратів (табл. 7.12).

Таблиця 7.12

Вивчення подразнювальної та сенсibilізувальної дії МЛФ з ВЕС, основ препаратів та референс-зразків, $M \pm m$, $n=6$

Групи тварин		Термін дослідження, доба			
		Після 10 аплікацій		Після 20 аплікацій	
		Різниця товщини шкірної складки, мм	Реакція шкіри, бали	Різниця товщини шкірної складки, мм	Реакція шкіри, бали
місцевоподразнювальна дія (нанесення на правий бік щурів)					
Негативний контроль (гелева основа)		0,05(0,0÷0,1)	0(0÷0)	0,25(0,2÷0,3)	0(0÷0)
Негативний контроль (основа крему)		0,05(0,0÷0,1)	0(0÷0)	0,25(0,2÷0,3)	0(0÷0)
Досліджувані препарати	Сапрогель	0,3 (0,1÷0,4)	0(0÷0)	0,3 (0,1÷0,4)	0(0÷0)
	Сапрокрем	0,05(-0,1÷0,3)	0(0÷0)	0,1(0,0÷ 0,4)	0(0÷0)
Ніжнодій гель		0,35(0,3÷0,4)	0(0÷0)	0,6(0,4÷ 0,8)**	0(0÷0)
Фітосепт мазь		0,34(0,3÷0,4)	0(0÷0)	0,6(0,5÷ 0,8)**	0(0÷0)
Сенсibilізувальна дія (нанесення завершальної аплікації на лівий бік щурів)					
Негативний контроль (гелева основа)		0,16(0,0÷0,2)	0(0÷0)	0,05(0,0÷0,1)	0(0÷0)
Негативний контроль (основа крему)		0,15(0,0÷0,3)	0(0÷0)	0,04(0,0÷0,1)	0(0÷0)
Досліджувані препарати	Сапрогель	0,2(0,1÷0,3)	0(0÷0)	0,1(0,1÷0,2)	0(0÷0)
	Сапрокрем	0,06(0,0÷0,4)	0(0÷0)	0,0(-0,1÷0,2)	0(0÷0)
Ніжнодій гель		0,4(0,2÷0,5)	0(0÷0)	0,0(0,0÷0,2)	0(0÷0)
Фітосепт мазь		0,4(0,2÷0,5)	0(0÷0)	0,0(0,0÷0,2)	0(0÷0)

Примітка: Різниця статистично достовірна порівняно з групою тварин, яким наносили гелеву основу: ** $P < 0,01$.

Тому відповідно до методичних рекомендацій нашкірне нанесення препаратів продовжували до 20 аплікацій [457], після нанесення яких подразнювальних властивостей досліджуваних препаратів також не виявлено. У тварин, яким наносили відповідні референтні препарати, після 20 аплікацій не було жодних проявів еритеми на шкірі правого боку, що дає можливість стверджувати про відсутність місцевопоздразливої дії референтного препарату.

Нанесення завершальної нашкірної аплікації досліджуваних препаратів не зумовило явищ гіперемії на шкірі лівого боку ні в однієї з тварин як у дослідних, так і в контрольній групах, що вказує на відсутність сенсibiliзуювальної дії. Дослідження показало що 10- та 20-разове нанесення препаратів не змінювало загальний стан тварин: тварини були рухливими, активними [457].

Таким чином експериментально визначено, що досліджувані препарати на основі екстракту сапропелю не проявляють сенсibiliзуювальних і місцевопоздразнювальних властивостей на рівні референтних.

7.4. Клінічні випробування крему з екстрактами сапропелю

Для клінічного випробування ефективності крему з екстрактами сапропелю «Сапрокрем» відібрали 30 корів, аналогів за живою масою і продуктивністю, у яких виявлені ураження дійок: тріщини і невеличкі ранки з появою характерних ознак запальної реакції – почервоніння, набряки і больова чутливість. З піддослідних корів сформували три групи – контрольну – 10 голів, дослідну № 1 – 10 голів і дослідну № 2 – 10 голів. Коровам дослідних груп застосовували: № 1 – мазь «Фітосепт мазь для доїння»; № 2 – «Сапрокрем» (досліджуваний препарат), а тваринам контрольної групи – загальні гігієнічні процедури.

Результати визначення ефективності крему з екстрактами сапропелю показали, що нанесення препаратів два рази на добу, впродовж 10 діб на уражені місця дійок сприяє зменшенню набряку, активуванню регенеративних

процесів, згасанню ознак запальної реакції. Зокрема, через 3 доби в контрольній групі у трьох корів зменшився набряк дійок, проявилися ознаки згасання запальної реакції, з'являлась епітеліальна облямівка та формування і епітелізація рубця, а у корів дослідної групи № 1 та № 2 вказані симптоми виявлені у семи тварин у кожній групі (табл. 7.13). Через 10 діб у всіх тварин дослідних груп симптоми уражень дійок зникли, а у контрольній групі у двох корів виявлено мастит [457] (Додаток Й).

Таблиця 7.13

**Ефективність ветеринарних засобів за лікування ран дійок вимені у корів,
M±m, n = 10**

Показник	Група тварин		
	Дослідна № 1 «Фітосепт мазь»	Дослідна № 2 «Сапрокрем»	Контрольна
Зменшення набряку	3,7±0,30*	3,5±0,24**	4,8±0,26
Згасання запальної реакції	5,1±0,29***	5,0±0,27***	6,7±0,25
Поява епітеліальної облямівки	6,6±0,22***	6,5±0,20***	8,9±0,27
Формування рубця, його епітелізація	7,6±0,28***	7,5±0,25***	11,4±0,29
Термін лікування	10,1±0,38***	10,0±0,36***	14,6±0,31

Примітки: n - кількість тварин у кожній групі; *різниця статистично достовірна порівняно до контролю - * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

За час проведення дослідів не встановлено порушень обмінних процесів в організмі тварин, не зафіксовано побічних ефектів від застосування досліджуваних препаратів. Отже, клінічне випробування препарату «Сапрокрем» довело його ефективність та безпечність для використання при загоєнні мікротравм, ерозій та тріщин (ран) дійок вимені корів.

Висновки до розділу 7

1. При вивченні специфічної фармакологічної активності встановлено, що застосування «Сапрогелю» при лікуванні повношарових вирізаних площинних ран у щурів зменшувало тривалість загоєння на 24,5%, що на рівні референс-

зразку. Доведено, що гель проявляв ранозагоювальну дію в усі фази процесу загоєння ран з найбільш вираженим ефектом у II і III фази на відміну від референс-зразка, який проявляв ранозагоювальну дію лише в II і III фази загоєння рани з найбільш вираженим ефектом у II фазі.

2. Показано, що при використанні препарату «Сапрогель» у щурів з повношаровими вирізаними площинними ранами в сироватці крові зменшується вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та нормалізується активність ферментів антиоксидантного захисту СОД та КАТ, що свідчить про те, що одним з механізмів ранозагоювальної дії сапропелю є його антиоксидантні властивості. За антиоксидантними властивостями сапропель ефективніший у I фазі загоєння, ніж препарат порівняння.

3. Виявлене зниження рівня окиснення білкових молекул у сироватці крові при використанні гелю у щурів з експериментальною моделлю різаної рани може бути пов'язано з вираженими антиоксидантними, антимікробними, протизапальними та регенеративними властивостями ВЕС.

4. З'ясовано, що при вирізаній площинній рані за умов використання препарату «Сапрогель», у сироватці крові відновлюється вміст сульфгідрильних груп, зменшується активація вільнорадикальних процесів та підвищується антиоксидантний захист, забезпечуючи стабілізацію клітинних мембран.

5. У результаті дослідження протизапальної та ранозагоювальної дії крему та гелю з екстрактом сапропелю на моделі УФ-еритеми у щурів встановлено, що досліджувані препарати мають виражені протизапальні властивості, знижують інтенсивність гострого фотодинамічного запалення і скорочують терміни лікування. Визначено, що протизапальна активність залежить від лікарської форми, максимальною активністю характеризується гель «Сапрогель».

6. Експериментально підтверджено, що сапропаста не проявляє сенсibiliзуювальних та місцевоподразнювальних властивостей; сапропаста,

препарати «Сапрогель» і «Сапрокрем» належить до класу мало токсичних речовин (IV клас токсичності).

8. Експериментально визначено, що досліджувані препарати не проявляють сенсibiliзуювальних і місцево-подразнювальних властивостей. Жодних відмінностей поміж розробленими гелем і кремом та відповідними препаратами порівняння в експерименті не виявлено, що дає змогу вважати їх еквівалентними за показником токсичності при одноразовому нанесенні щурам на шкіру.

9. Клінічне випробування крему з екстрактами сапропелю «Сапрокрем» довело його ефективність та безпечність використання при загоєнні мікротравм, ерозій та тріщин (ран) діжок вимені корів.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Strus O., Polovko N. Study of the sapropel extract influence on the main biochemical and hematological blood indices of rats. *The Pharma Innovation*. 2019. № 8 (7). P. 47–52.

2. Strus O. Y., Polovko N. P. Kuzmina N. V., Ostapiv D. D. Study of the toxicity of drugs with sapropel extracts and the testing of the cream effectiveness. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. № 32. P. 37–42.

3. Strus O. Y., Polovko N. P., Shatalina O. Study of Anti-Inflammatory Activity of Creams with Sapropel Extract. *Saudi J. Med. Pharm. Sci.* 2019. № 5(8). P. 740–744.

4. Strus O., Polovko N., Maloshtan L., Shakina L. Study of anti-inflammatory activity of medicinal products with sapropel extract on the model of acute photodynamic skin injury in rats'. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2020. Vol. 13, № 9. P. 4381–4386.

5. Strus O., Polovko N. The influence of «Saprogel» in the wound healing process on rats with a full-thickness wound model. *Čes. slov. Farm.* 2020. № 69. P. 75–82.

6. Strus O., Polovko N. Intensity Of Protein Oxidative Modification's Processes In The Dynamics Of A Full Thickness Wound Healing In Pharmacotherapy By Gel With Sapropel Extract. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* 2020. № 11 (3). P. 73–81. URL: <https://doi.org/10.33887/rjpbcs/2020.11.3.8> (Date of access: 25.08.2020).

7. Струс О. Є., Половко Н. П. Визначення гематологічних показників крові щурів при дослідженні показників токсичності екстракту сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 582–585.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено актуальну проблему сучасної фармації медицини, ветеринарії та косметології – імпортозаміщення шляхом розширення асортименту вітчизняних дерматологічних засобів на підставі теоретичного обґрунтування й експериментального підтвердження науково-методичного підходу до комплексного використання сапропелю.

1. На основі аналізу та узагальнення даних наукової літератури щодо сучасного стану використання сапропелів за кордоном обґрунтовано доцільність проведення комплексних досліджень з вивчення властивостей сапропелів родовищ України, удосконалення способів екстракції сапропелю, розробки складу, технології і стандартизації лікарських, ветеринарних і косметичних засобів. Показано, що видобуток, переробка та використання сапропелю надзвичайно важливо з погляду охорони навколишнього середовища, оскільки головною причиною погіршення екологічного стану озер є заростання і замулення, що призводить до втрати їх гідрологічної ролі.

2. Уперше обґрунтовано концепцію комплексного використання сапропелю, розроблено загальну методологію досліджень, яка полягає у створенні науково-методичного підходу до комплексної переробки сапропелю і базується на послідовному проведенні маркетингових, фізико-хімічних, фармако-технологічних, біологічних (мікробіологічних, фармакологічних і токсикологічних) досліджень для визначення складу та властивостей сапропелю і продуктів його переробки, а також для фармацевтичної розробки лікарських засобів на їх основі.

3. За результатами дослідження основних фізико-хімічних показників, загального хімічного, макро- та мікроелементного складу, вмісту карбонових та амінокислот, мікробіологічних досліджень і токсико-біологічної оцінки сапропелю озера Прибич визначено його хімічний склад, відсутність токсичного впливу на організм, показано перспективу використання у бальнеології і

косметології як джерела біологічно активних речовин та як сировини для отримання АФІ.

4. Розроблено технологію нового пастоподібного продукту із сапропелю – сапропасти, досліджено органолептичні, фізико-хімічні і реологічні властивості, мікробіологічну чистоту, визначено можливість її використання у медицині для проведення грязевих процедур, у косметології для обгортань та як основи для косметичних масок.

5. За результатами теоретичних і експериментальних досліджень обґрунтовано склад основи твердого мила, яка містить пальмову, кокосову масло, кукурудзяну і рицинову олії, як пережирювальну речовину – 7% арганової олії. За результатами мікробіологічних досліджень обрано концентрацію сапропасти – 10 %, яка забезпечує антибактеріальну дію мила. У результаті проведених досліджень встановлено, що за показниками якості мило відповідає вимогам ДСТУ4537:2006 «Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови» для мила марки «Спеціальне» (С) з дезінфекційними або лікувальними-профілактичними добавками (Л). На підставі результатів вивчення стабільності встановлено умови зберігання і термін придатності антибактеріального мила із сапропастою – 2 роки за температури не вище 25° С.

6. Експериментально обґрунтовано технологію водного екстракту сапропелю з використанням методу диспергування (кавітації), що підвищує вихід гумінових кислот, порівняно з класичним методом, понад 9 %. Розроблено методику ідентифікації та кількісного визначення гумінових кислот у ВЕС, проведено її валідацію. За результатами дослідження показників якості ВЕС у процесі зберігання встановлено умови зберігання і термін придатності – 2 роки за температури не вище 25° С.

7. Отримано та досліджено спиртовий екстракт сапропелю. Методом хромато-мас-спектрометрії у складі СЕС ідентифіковано наявність 19 сполук, з них 11 жирних (найбільшу кількість складають насичені жирні кислоти – пальмітинова (97,33 мг/кг) та бегенова (57,05 мг/кг)) і 8 органічних (серед них піровиноградна (83,83 мг/кг) та р-кумарова) (76,27 мг/кг) кислот.

8. Теоретично та експериментально обґрунтовано та розроблено технологію олійного екстракту сапропелю з використанням постадійної двофазної екстракції 90 % етанолом і кукурудзяною олією, яка забезпечує збільшення виходу хлорофілів на 24 % порівняно з однофазною екстракцією. Досліджено показники якості ОЕ, розроблено та валідовано методики кількісного визначення суми природних пігментів та хлорофілів в ОЕС, визначено стабільність екстракту за умови зберігання протягом 2 років у холодильнику.

9. На підставі результатів фізико-хімічних, фармакологічних, фармако-технологічних та біологічних досліджень обґрунтовано склад, розроблено технологію та досліджено показники якості м'якого ЛЗ під умовною назвою «Сапрогель», що містить ВЕС (1:10) 15 %, карбополу марки Ultrez 10 – 1,0 %, гліцерину – 10,0 %, калію сорбату – 0,2 % та воду очищену – до 100,0, а також ВЗ під умовною назвою «Сапрокрем», що містить олійного екстракту сапропелю 15%, емульгатору № 1 – 6 %, цетилстеарилового спирту – 1 %, ВЕС – 10 %, лимонну кислоту – 10 % до рН 7,0; консерванти нізин – 0,01 % та еуксил К 100 – 0,1 % і воду очищену – до 100,0.

10. Розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення вмісту сумарної масової частки ГК у гелі й кремі з ВЕС та ідентифікації і кількісного визначення хлорофілів і природних пігментів у кремі з ОЕС. Проведено валідацію запропонованих методик. За результатами дослідження показників якості розроблених засобів у процесі зберігання встановлено умови зберігання і термін придатності – 2 роки за температури, що не перевищує 25 °С.

11. Доведено специфічну фармакологічну активність та нешкідливість екстрактів сапропелю, сапропасти, гелю і крему з екстрактами сапропелю й встановлено виражені протизапальні та репаративні властивості ОЕС та СЕС на моделі ультрафіолетової еритеми у мурчаків. На моделі повношарових вирізаних площинних ран у щурів встановлено протизапальну та ранозагоювальну дію «Сапрогелю» у II фазі ранового процесу, а також антиоксидантні властивості за результатами зниження ПОЛ і ПОБ. На моделі УФ еритеми у щурів показано

виражену протизапальну активність ЛЗ і ВЗ, яка залежить від ЛФ і є найбільш вираженою у гелю «Сапрогель».

12. Визначено, що при нашкірному нанесенні ВЕС, СЕС та ОЕС; сапропаста, препарати : гель «Сапрогель» та крем «Сапрокрем» належать до класу малотоксичних речовин (IV клас). Не виявляють сенсibilізувальних та місцевоподразнювальних властивостей. За результатами дослідження впливу тридцятиденного уведення ВЕС на основні біохімічні та гематологічні показники крові клінічно здорових щурів встановлено відсутність токсичної дії. Клінічними випробуваннями крему «Сапрокрем» доведено його ефективність та безпечність у лікуванні мікротравм, ерозій і тріщин (ран) діжок вимені корів.

13. На підставі результатів дослідження розроблено і затверджено ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 «Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них» на сапропель, сапропасту і ВЕС. Розроблено проекти МКЯ і ТР на виробництво «Сапропаста», ВЕС, ОЕС, препаратів «Сапрогель», «Сапрокрем» та піномийного антибактеріального засобу зі сапропастою. Технологію фармацевтичних розробок апробовано в умовах промислового виробництва ПАТ ХФЗ «Червона зірка» (м. Харків, Україна), ТОВ «Зендер – Україна» (м. Луцьк, Україна), НВФК «ЕЙМ» (м. Харків, Україна), СП АТ «Фармако» (м. Кишинів, Республіка Молдова).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Про затвердження Порядку здійснення медико–біологічної оцінки якості та цінності природних лікувальних ресурсів, визначення методів їх використання : Наказ МОЗ України від 02.06.2003 р. № 243. *Збірник нормативно–директивних документів з охорони здоров'я*. 2003. № 9. С. 72–91.
2. Нікіпелова О. М. Рекреаційні ресурси і курортологія. Конспект лекцій для студентів спец. 7.070801 – Екологія рекреаційного та курортного господарства. Одеса : Вид–во «ТЕС», 2005. 198 с.
3. Лечебные грязи (пелоиды) Украины. Ч. 2 / под общ. ред. М. В. Лободы, К. Д. Бабова, Т. А. Золотаревой, Е. М. Никипеловой. Киев : «КИМ», 2007. 336 с.
4. Лечебные грязи (пелоиды) Украины. Ч. 1 / под общ. ред. М. В. Лободы, К. Д. Бабова, Т. А. Золотаревой, Е. М. Никипеловой. Киев : «Куприянова», 2006. 320 с.
5. Дрібноход Ю. Ю. Косметологія. Ростов–на–Дону : Фенікс, 2008. 538 с.
6. Мінеральні ресурси України – карта вод підземних, лікувальної грязі та ропи. URL: <http://minerals-ua.info/mapviewer/voda.php> (дата звернення: 28.03.2020).
7. Сапропель. Ресурси сапропелю України. Національна правова палата. URL: <http://www.npp.com.ua/sapropel1.html> (дата обращения: 12.09.2016).
8. Сапропель. URL: <http://www.uk.wikipedia.org/wiki/Сапропель>. (дата звернення: 12.09.2016).
9. Струс О. Є. Аналіз досвіду використання сапропелів у медицині та косметології. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2018. Т. 13, № 4. С. 77–88.
10. Справочник ресурсов сапропеля Украины по состоянию на 1.01.1993 г. : в 2-х кн. Кн. 1. Волынская область / А. С. Леймунский и др. Киев, 1994. 193 с.
11. На Волині із озера видобувають унікальне органічне добриво. URL: https://zik.ua/news/2016/07/21/na_volyni_iz_ozera_vydobuvayut_unikalne_organichne_dobryvo_718474 27. (дата звернення: 21.07.2016).

12. Хто контролює видобуток сапропелю на Волині – Район Бізнес. URL: <https://business.rayon.in.ua/news/75584-hto-kontroliue-vidobutok-sapropeliu-na-pribichi/> (дата звернення: 21.07.2016).
13. Зендер–Україна – Головна. URL: <http://www.zander-ukraine.com/en/>. (дата звернення: 12.09.2016).
14. Озерні сапропелі України: збірник технологій і рекомендацій щодо використання сапропелів, у т.ч. на забруднених радіонуклідами землях, нормативних актів, довідкових матеріалів/за ред. Е.Г.Дегодюка та ін. Луцьк : Надстир'я, 1996. 186 с.
15. Перспективи використання сапропелю Чорного моря у медицині / А. Д. Дюдюн та ін. *Геология и полезные ископаемые Мирового океана*. 2011. № 1. С.45–49.
16. Шевчук М. Й. Сапропелі України: запаси, якість та перспективи використання. Луцьк : Надстир'я, 1996. 384 с.
17. *Sitzungs-Bericht der Naturw. Berlin*, 1920. 96 p.
18. Потонье Г. Сапропелиты. Пояснение к терминологии и классификации, принятым германскими геологическими учреждениями. Петроград, 1920.
19. Ільїн Л. В. Ландшафтно–геохімічні дослідження лімносистем. *Вісник Львівського університету. Сер. Географічна*. 2006. № 33. С. 130–136.
20. Про затвердження Інструкції з застосування Класифікації запасів і ресурсів корисних копалин державного фонду надр до родовищ лікувальних грязей : Наказ ДКЗ України N 298. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0031-05> (дата звернення: 19.03.2020).
21. Краулерс Я. К. Химические свойства азотсодержащих веществ сапропелей и их биологическая ценность : автореф. дисс. канд. биол. наук. Едгава, 1970. 23 с.
22. Лопотко М. З., Євдокимова Г. А. Сапропели и продукты на их основе. Минск, 1986. 245 с.
23. Лопотко М. З. Сапропели БССР, их добыча и использование. Минск : Наука и техника, 1974. 208с.
24. Лопотко М. З., Евдокимова Г. А., Кузьмицкий П. Л. Сапропелевые удобрения : монография. Минск : Наука и техника, 1983. 120 с.

25. Позняк В. С., Раковский В. Е. Химия и генезис торфа и сапропелей. Минск, 1962. С. 299–308.
26. Топачевський В.І. Сапропелі пресноводних водоемів України. *Геологія і корисні копалини Світового океану*. 2011. №1. С.66-72
27. Антонов И.П., Кашицкий Э.С., Улащик В.С. Сапропелевые грязи Белоруссии и их лечебное использование: метод. рек. Минск, 1980. 13 с.
28. Кашицкий Э.С., Козин В.М., Улащик В.С. и др. *Известия Бел. инженер. академии*. 1999. №2 (8). С.53–56.
29. Кашицкий Э.С., Улащик В.С. Курортные факторы Белоруссии. Минск, 1977. С.18–21.
30. Курзо Б.В., Богданов С.В. Генезис и ресурсы сапропелей Белоруссии. Минск., 1989. 176 с.
31. Рыжова Г. Л., Тюнина М. А., Дычко К. А. Определение жирных кислот в продуктах вибромагнитной переработки сапропеля методом хромато–масс–спектрометрии. *Журнал аналитической химии*. 2013. Т. 68, № 8. С. 808–814.
32. Рыжова Г. Л., Тюнина М. А., Дычко К. А. Нано– и субмолекулярные технологии экстракции липидов из сапропелей. *Экстракция органических соединений (ЭОС–2010)* : IV Междунар. конф., 20–24 сент. 2010 г. Воронеж, 2010. С. 75.
33. Коршиков В.А., Рыжова Г. Л., Дычко К. А. Вибромагнитная экстракция гиматомелановых кислот из сапропеля и изучение их группового и молекулярного состава. *Химия растительного сырья*. 2017. № 4. С.195-202. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017042012> (дата обращения: 12.09.2016).
34. Жуховицкая А. Л., Генералова В. А. Геохимия озер Белоруссии. Минск : Наука и техника, 1991. 204 с.
35. Ільїн Л. В. Лімнокомплекси Українського Полісся : у 2–х т. Т. 1. *Природничо–географічні основи дослідження та регіональні закономірності*. Луцьк : РВВ «Вежа» Волин. нац. ун–ту ім. Лесі Українки, 2008. 316 с.
36. Ільїн Л. В. Лімнокомплекси Українського Полісся : у 2–х т. Т. 2. *Регіональні особливості та оптимізація*. Луцьк : РВВ «Вежа» Волин. нац. ун–ту ім. Лесі Українки, 2008. 400 с.

- 37.Льїна О. В., Пасічник М. П., Пасічник Н. В. Озерні родовища сапропелю Волинської області: вивченість, ресурси, оцінка можливостей господарського використання. *Науковий вісник Волинського національного університету імені Лесі Українки*. 2016. № 15 (340). С. 14–20.
- 38.Льїна О. В., Пасічник М. П., Пасічник Н. В. Озерний сапропель Волинської області: ресурси та перспективи використання у рекреаційно курортній діяльності. *Географія та туризм*. 2016. № 35. С. 115–124.
- 39.Шевчук М. Й., Мерленко І. М. Екологічні аспекти застосування сапропелевих добрив. *Екологія Полісся: проблеми, сучасність, майбутнє* : тези доп. Харків, 1993. С.95–96.
- 40.Шевчук М. Й., Дідковська Т. П. Сировинна база матеріалів Волинської області для виробництва екологічно безпечних добрив та гумінових препаратів. *Агроекол. журн*. 2008. Спец. вип. С. 268–270.
- 41.Шевчук М. Й., Дідковська Т. П., Бортнік А. М. Сучасний стан озера Прибич та заходи для відновлення його гідрологічної ролі. *Науковий вісник Волинського національного університету імені Лесі Українки. Розділ І. Географія*. 2009. № 1. С. 83–85.
- 42.Соловко Д.І. Перспективи раціонального використання сапропелевих ресурсів водойм Волинської області. *Науковий вісник Волинського національного університету імені Лесі Українки. Розділ І. Фізична і конструктивна географія*. 18(243), 2012. С.23-27.
- 43.Штин С. М. Озерные сапропели и основы их комплексного освоения. Москва : Изд-во МГУ, 2005. 213 с.
- 44.Александров В,А. Пелоиды (лечебные грязи) Советского Союза. *Основы курортологии*. Москва : Медгиз. 1956. Т. 1. С. 347-372.
- 45.Assessment of sapropel use for pharmaceutical products according to legislation, pollution parameters, and concentration of biologically active substances /Pavlovska, I., Klavina, A., Auce, A. et al. *Sci Rep* **10**, 21527 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78498-6>

46. Extraction of biologically active components from freshwater sapropel / A. Klavina et al. *Environment. Technology. Resources* : Proceedings of the 12th International Scientific and Practical Conference. 2019. Vol. 3. P. 114–118. DOI: 10.17770/etr2019vol3.4135
47. Sapropel - Extraction, Characteristics and Potential Use in Medicine / Kļaviņa A/ et al. Rīga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Sciences, Knowledge for Use in Practice, Rīga. 2019p. P. 401.
48. Іващенко Т. Г., Новосельська Л. П. Характеристика сапропелей та екологічна безпека їх видобутку. *Екологічні науки*. 2014. № 6. С. 155–159. URL: <http://ecoj.dea.kiev.ua/archives/2014/6/19.pdf> (дата звернення: 19.03.2020).
49. Klocking R., Helbig B. Medical Aspects and Applications of Humic substances. URL: <https://doi.org/10.1002/3527600035.bpol1013> (Date of access: 15.04.2019).
50. Добрецов В. Д. Сапропели России: освоение, использование, экология. Москва : ГИОРД, 2005. 200 с.
51. Зиборов А. П. Добывать или не добывать в Украине черноморские сапропели? *Геология и полезные ископаемые Мирового океана*. 2006. № 1. С. 92–98.
52. Зорин М. Г., Терехин Г. А., Решетников В. И. Адсорбционные свойства и антитоксическая активность сапропеля. Вятский медицинский вестник. 2007. № 4. С. 101–102.
53. Сапропель в косметологии. URL: <http://krasota-argo.com.ua/page.php?id=1863>. (дата обращения: 12.10.2014).
54. Сапропель. Природные лечебно–косметические грязи озера Молтаево URL: <http://cosmeteya.blizko.ru/articles/702> (дата обращения: 21.12.2014).
55. Самутин Н. М., Кривобоков Н. Г. Актуальные проблемы пелоидотерапии. Вопросы курортологии. 1997. № 3. С. 33–35.
56. Аввакумова Н. П., Герчиков А. Я., Хайруллина В.Р., Жданова А.В. Антиоксидантные свойства гуминовых веществ пелоидов. *Химико–фармацевтический журнал*. 2011. Т. 45, № 3. С. 50–51.

57. Аввакумова Н. П. Гуминовые вещества как регуляторы экологического гомеостаза. *Известия Самарского научного центра РАН*. 2016. Т. 18, № 2 (2). С. 267–271.
58. Аввакумова Н. П. Противовоспалительная активность препаратов в ряду гумусовых кислот низкоминерализованных иловых сульфидных грязей. *International journal on immunorehabilitation*. 2002. Vol. 4, № 1. Р. 190–191.
59. Аввакумова Н. П. Биохимические аспекты терапевтической эффективности гумусовых кислот лечебных грязей. Самара : ГП «Перспектива»; СамГМУ, 2002. 124 с.
60. Биологическая активность гумусовых кислот в сверхмалых дозах / Н. П. Аввакумова, М. А. Кривопалова, М. Н. Глубокова, А. В. Жданова. *Механизмы действия сверхмалых доз* : тез. докл. 4 Междунар. симпоз. Москва, 2008. С. 3–4.
61. Антиоксидантные свойства гумусовых кислот в условиях *in vitro* и *in vivo* / Н. П. Аввакумова, М. А. Кривопалова, М. Н. Глубокова, А. В. Жданова. *Гуминовые вещества в биосфере*: тр. V Всеросс. конф. Санкт–Петербург, 2010. С. 13219.
62. Аввакумова Н. П., Жданова А. В., Кривопалова М. А. Исследование антиоксидантной активности гуминовых кислот пелоидо вамперометрическим и хемилюминесцентным методом. *Материалы международной конференции по аналитической химии и экологии*. Алма Ата, 2010. С. 215–216.
63. Адсорбционные равновесия в системе гуминовые кислоты –Ag⁺ Текст. / М. А. Кривопалова и др. *Гуминовые вещества в биосфере*: тр. V Всерос. конф. Санкт–Петербург, 2010. С. 256.
64. Аввакумова Н. П. Состав и биологические свойства гумусовых кислот пелоидов : дис. на соиск. учен. степ. д–ра биолог. наук. Самара, 2003. 293 с.
65. Жданова А. В., Аввакумова Н. П., Кривопалова М. А., Глубокова М. Н. Характеристика антиоксидантной активности гиматомелановых кислот пелоидов. *Биоантиоксидант* : тез. докл. Междунар. конф., Москва, 2010. С. 155–157.

66. Глубокова, М.Н. Химико-фармацевтические свойства гуминовых кислот пелоидов как биологически активной субстанции для суппозитория. Автореферат дис. ... канд. фарм. наук. – Пятигорск, 2009. 23 с.
67. Сравнительный анализ термодинамических характеристик гумусовых кислот пелоидов / Н. П. Аввакумова и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2017. № 6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27214> (дата обращения: 12.02.2019).
68. Биологическое действие сапропеля / В. В. Платонов, А. А. Хадарцев, С. Н. Чуносков, К. Я. Фридзон. *Фундаментальные исследования*. 2014. № 9–11. С. 2474–2480.
69. Половецкая О. С., Платонов В. В., Хадарцев А. А. Особенности химического состава экстрактов сапропеля Краснодарского края. *Вестник новых медицинских технологий*. 2013. Т. 20, № 2. С. 446–452.
70. Сапропелевые биологически активные препараты / В. В. Платонов и др. *Гуминовые препараты и их применение в растениеводстве и животноводстве* : материалы Всеросс. науч.–практ. конф., г. Рязань, 17–19 мая 2005 г. Рязань, 2005. С. 135–142.
71. Платонов В. В., Половецкая О. С., Хадарцев А. А. Особенности химического состава и биологическая активность сапропелей. *Вестник медицинских технологий*. 2012. Т. 1, № 2–24. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2012-1/4066.pdf> (дата обращения: 12.06.2017).
72. Платонов В. В., Ларина М. А., Дмитриева Е. Д. Биологически активные медицинские препараты на основе сапропелевого гуминового комплексатекст научной статьи по специальности «Фундаментальная медицина». *Вестник новых медицинских технологий*. 2016. № 2. С. 11–20.
73. Особенности вещественного состава и биологическая активность сапропелей различных месторождений / В. В. Платонов и др. *Исследование, разработка и применение высоких технологий в промышленности*: сб. тр. Междунар. науч.–практ. конф. / под общ. ред. А. И. Кудинова, Г. Г. Матвиенко. Санкт–Петербург, 2005. №1. С. 194–196.

74. Платонов В. В., Горохова М. Н. Особенности химического состава органической массы торфов и биологическая активность препаратов на их основе. *Вестник новых медицинских технологий*. 2016. № 2. С. 21–48.
75. Метод предварительной оценки физиологической активности гуминовых и гуминоподобных веществ / В. В. Платонов и др. *Вестник новых медицинских технологий*. 2010. № 3. С. 26–28.
76. Химический состав и биологическая активность сапропеля оз. Глубокое (Татарстан) / В. В. Платонов, А. А. Хадарцев, К. Я. Фридзон, С. Н. Чуносков. *Вестник новых медицинских технологий*. 2014. № 3. С. 112–118.
77. Никольский В. В., Минеев Б.И. Итоги микробиологического изучения сапропеля озера Б. Тарас-Куль. *Сапропели группы тюменских озёр и их лечебные свойства*. Тюмень. 1955. С. 139-154.
78. Шинкаренко А.Л. Химическая характеристика смолообразных бактерицидных веществ тамбуканской грязию *Труды Бальнеологического института на КМВ*. Пятигорск. 1949. Т. 28. С. 58-69.
79. Шинкаренко А.Л. Органическое вещество донных отложений. *Тамбуканское озеро и его лечебная грязь*. Ставрополь. 1954. С. 50-68.
80. Волкова О.Ю., Балабанова А.В. О длительности выживания патогенных микроорганизмов в Тамбуканской грязи. *Труды Научно-исследовательского бальнеологического института на Кавказских Минеральных Водах*. Пятигорск, 1949. Т.28. С. 83-99.
81. Абдрахманов А.Р., Брудастов Ю.А., Абдрахманов Р.А. Влияние лечебной грязи на жизнеспособность и персистентные свойства бактерий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*, 1997. № 4. С.89-92.
82. Шинкаренко А.Л., Миленина Н.Г. Органические вещества лечебных грязей и их роль в механизме лечебного действия на организм. *Грязевые препараты*. Томск: Томский НИИ курортологии. 1981. С. 30-33.
83. Использование комплекса биологических показателей в бальнеологической оценке пелоидов / Н. К. Джабарова и др. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 1999. № 4. С. 41–43.

84. Джабарова Н. К., Карелина О. А., Тронова Т. М. Оценка экологического состояния месторождения лечебных сапропелей по биохимическим показателям. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2001. № 3. С. 33-35.
85. Савченко И. А., Корнеева И. Н., Лукша Е. А. Биологическая активность гуминовых веществ: перспективы и проблемы их применения в медицине (обзор). *Журнал МедиАль @medial*. 2019. № 1 (23). С. 54–60. DOI: 10.21145/2225-0026-2019-1-54-60 (дата обращения: 12.12.2020).
86. Стандартизация гуминовых кислот низинного древесно-травяного вида торфа / М. В. Зыкова и др. *Химико-фармацевтический журнал*. 2013. № 12. С. 53–56.
87. Изучение общетоксического действия гуминовых веществ озерного сапропеля / И. А. Савченко и др. *Сибирский медицинский журнал*. 2014. № 2. С. 75–78.
88. Сухих А. С., Кузнецов П. В. Перспективы применения гуминовых и гуминоподобных кислот в медицине и фармации. *Медицина в Кузбассе*. 2009. № 1. С. 10–14.
89. Новый подход к решению проблемы стандартизации гуминовых кислот / И. А. Савченко и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 3. URL: www.science-education.ru/109-9305 (дата обращения: 24.04.2020).
90. Тихоновская О. А., Евтушенко И. Д., Логвинов С. В. Экспериментально–клиническое обоснование метода лечения острых воспалительных заболеваний придатков матки с использованием электрофореза препарата лечебной грязи. *Вопросы курортологии*. 2000. № 4. С. 31–34.
91. Тихоновская О. А., Шустов Л. П. Способ лечения воспалительных заболеваний придатков матки с применением грязевого препарата эпюра. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2000. № 5. С. 29-31.
92. Тринк Р. Ф., Вахт М. А., Вейнпалу Э. Ю. Терапевтическая эффективность электрофореза гумусовых кислот морской лечебной грязи при остеоартрозе. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2000. № 5. С. 27-28.

93. Беркович А. М. Применение гуминовых и гуминоподобных препаратов в ветеринарии и медицине. URL: <http://www.humipharm.ru/research/prim.pdf> (дата обращения: 12.05.2020).
94. Филов В.А., Беркович А.М. Новый отечественный многофункциональный препарат Олипифат (Лигфол). *Бюллетень международной научной хирургической ассоциации*. 2006. Т.1. № 2. С.42
95. Карамов Э. В. Синтетическое производное гуминатов Олипифат как анти–ВИЧ–агент в индивидуальном и комбинированном применении. *Иммунология*. 2009. № 5. С. 260–263.
96. Електронна версія довідника лікарських засобів, яка містить перелік лікарських засобів, дозволених до застосування в Україні станом на 01.04.2013. URL: <http://toloka.hurtom.com/viewtopic.php?t=52591>. (дата звернення: 01.04.2018).
97. Державний формуляр лікарських засобів. Публічна інформація : Бази та реєстри. URL: moz.gov.ua/ua/portal/register_formular/. (дата звернення: 07.03.2017).
98. Компендиум 2011 – лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. Київ : Морион, 2011. 2320с.
99. Машковский М. Д. Лекарственные средства : пособие для врачей : в 2 т. Харьков : Торсинг, 2007. Т.1. 560 с.
100. Продукция – Siberian Organics. URL: <http://www.siborganics.com/ru/production> (дата обращения: 25.12.2014).
101. Минеральные воды и лечебные пелоиды Беларуси: ресурсы и современное использование / М. Г. Яковлев и др. Минск, 2005. 346 с.
102. Пунтус Ф. А. Лечебные сапропелевые грязи как сырье для получения лечебных и косметических препаратов. *Косметические средства и средства и сырье: безопасность и эффективность*. Москва, 1999. С.22–24.
103. Сапропель. URL: <http://www.dobrin.com.ua/products/sapropel/>. (дата звернення: 12.02.2015).
104. Эко–Сапропель. Минск. URL: <http://minsk.all.biz/eko-sapropel-sooo-e8261> (дата обращения: 22.01.2015).

105. Каталог продукції – Сапропель : маски, грязі, добрива ...URL: <http://www.sapropel.biz/health>. (дата звернення: 18.01.2015).
106. Грязь лечебная сапропель. URL: [http:// www.dobrin.com.ua/ ved/mud.php](http://www.dobrin.com.ua/ved/mud.php). (дата звернення: 12.02.2015).
107. Каталог «Наружные средства Биолит» Маска–пленка восстанавливающая и питательная (код 0364) URL: http://krasota-argo.com.ua/view_product.php?id=74 (дата звернення: 18.01.2015).
108. Компания «Секрет Красоты» по производству и дистрибуции уникальной сухой косметики. URL: <http://skmlm.ru/company/contacts/> (дата звернення: 24.12.2014).
109. FreshFace – 100% натуральний скраб. Натуральная косметика. Уход. БиоБьюти URL: <http://www.biobeauty.ru/fresh-face/> (дата звернення: 17.01.2015).
110. Лечебные грязи. Сапропель. Фаберлик, Faberlic ... Каталоги. URL: <http://www.faberlic-fl.ru/publ/1-1-0-27> (дата звернення: 23.12.2014).
111. Сравнительная характеристика лечебных грязей. URL: <http://i-eco.com.ua/menus/view/189/> (дата звернення: 25.12.2014).
112. Selenium Organic Professional – Personal Care 1.com URL:<http://www.personalcare1.com/> (Date of access: 23.11.2014).
113. Ольховська А. Б., Кобець М. М., Фелоненко Л. С. Маркетингові дослідження вітчизняного ринку лікувальної косметики. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2011. № 3(17). С.63-68.
114. Фізор Н. С. Вивчення цілющих властивостей вітчизняних лікувальних грязей і перспективи створення нових лікарських форм на їх основі. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної практики*. 2012. № 3 (10). С. 23–25.
115. Струс О. Є. Маркетингові дослідження лікарських та косметичних засобів на основі лікувальних грязей (пелоїдів). *Управління, економіка та забезпечення якості у фармації*. 2015. №1(39). С. 59–67.
116. Струс О. Є., Половко Н. П. Дослідження ринку косметичних засобів на основі сапропелю. *Хімія, Біотехнології, Нанотехнології, Екологія і Економіка у харчовій і косметичній промисловості* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 8-10 груд. 2014,. Харків : ХПІ, 2014. С. 112–114.

117. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Маркетингові дослідження лікарських засобів на основі лікувальних грязей та грязеподібних речовин. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали І міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 7-8 листоп. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 163.
118. Лабораторія фармакології і тканинної терапії. URL: http://institut-filatova.com.ua/ua/nauchnaya_rabota/laboratorii/laboratoriya_farmakologii_i_tkanevoj_terapii.html (дата звернення: 12.03.2020).
119. Евдокимова Г. А., Лопотко М. З., Дубинин С. К. Сапропелевые кормовые добавки источник повышения продуктивности животноводства. *Торфяная промышленность*. 1984. № 3. С. 21–23.
120. Грибан В. Г. Применение препаратов гумусовой природы для коррекции обмена веществ повышения продуктивности и естественной резистентности сельскохозяйственных животных. *Проблемы использования сапропелей в народном хозяйстве* : сб. Минск, 1992. С. 57–58.
121. Богуш А. А., Евдокимова Г. А. Проблемы использования сапропелей в животноводстве. *Проблемы использования сапропелей в народном хозяйстве* : сб. Минск, 1992. С. 65–66.
122. Солдатенков П.Ф. *Состояние и перспективы использования сапропеля в сельском хозяйстве и задачи первой межвузовской конференции* : тр.Свердловского с.-х. ин-та. Свердловск, 1962. Т. X, С. 3–8.
123. Солдатенков П.Ф. Физиологические и лечебные свойства сапропеля. Сапропель в животноводстве и ветеринарии. Свердловск, 1970. С. 4-50.
124. Strus O. Y., Polovko N. P., Smetanina K. I. Marketing aspects of the development of veterinary preparations based on peloids and products of their processing. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2019. Т. 5, № 2. С. 1–10.
125. Биологически активные медицинские препараты на основе сапропелевого гуминового комплекса : Электронное издание / В. В. Платонов и др. *Вестник новых медицинских технологий*. 2016. № 2. Публ.1-1. URL:

- <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2016-2/1-1.pdf> (04.05.2016). DOI: 10.12737/19646 (дата обращения: 19.12.2020).
126. Гумадапт – новый гуминовый препарат, регулятор обменных процессов и активный детоксикант. URL: <http://www.laboratorium.narod.ru/gumadapt.html> (дата обращения: 01.07.2017).
 127. Полова Ж. М. Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу та технології лікарських препаратів антимікробної дії для застосування у ветеринарії : дис. ... докт. фармац. наук: 15.00.01 – технологія ліків, організація фармац. справи та судова фармація. Львів, 2019. 574 с.
 128. Струс О. Е., Половко Н. П. Современное состояние и перспективы использования сапропелей и их препаратов в ветеринарной практике. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality : scientific proceedings of the international network AgroBioNet of the institution and researcher of international research, education and development programme «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality»*. PartI. Nitra, 2015. P. 633–636.
 129. Коршева И. Премикс на основе сапропеля. *Птицеводство*. 2009. № 9. С. 33–34.
 130. Сапросорб – Белхимпродукт. 2014. URL: <http://www.zaorespect.ru/index.php/saprosorb.html> (дата обращения: 01.07.2014).
 131. Кулырова А. В. Производство кормовых добавок и ветеринарных средств на основе донных осадков и минерализованной воды содовых озер : дисс. ... д-ра биол. наук. Москва, 2012. 369 с.
 132. Тимофеев, С.В. 2007. Раны и их лечение у животных. Москва, 2007. 26 с.
 133. Полицына С. М., Косик Е. А. Применения экстракта сапропеля для профилактики задержания последа и послеродовых эндометритов у животных. URL: <https://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/pages/2005/s099.htm> (дата обращения: 01.07.2005).
 134. Экстракт сапропеля (ЭС–2). Пищевые ингредиенты. Кормовые добавки. URL: <http://www.zaorespect.ru/index.php/sapropelextract.html> (дата обращения: 26.06.2017).

135. Производство премиксов для КРС. Премикс–Милк. URL: <http://www.agropremix.ru/page4.html> (дата обращения: 26.06.2017)
136. Троицк, 2012 – Комплекс инновационных технологий и разработок Уральской государственной академии ветеринарной медицины. 2012. URL: http://www.usavm.ac.ru/files/katalog_inic_2013.pdf (дата обращения: 04.07.2017).
137. Добавки кормовые: Сапропель для кормовых добавок. URL: <http://gskp.by/DetailProd.php?UrlReg=0&UrlDist=0&UrlGoodsId=42525&UrlKlpId=3798> (дата обращения: 04.07.2017).
138. Список зарегистрированных кормовых добавок. URL: <https://galen.vetrif.ru/#/registry/feed/registry?page=1> (дата обращения: 29.06.2017).
139. Полный каталог зарегистрированных в Украине ветеринарных препаратов. Ветеринарный информационный ресурс. URL: <http://vet.in.ua/menu/drugs.php> (дата обращения: 29.06.2017).
140. Премиксы. Пищевые ингредиенты. Кормовые добавки. URL: <http://www.zaorespect.ru/index.php/premix.html> (дата обращения: 26.06.2017).
141. Премиксы-концентраты «Кладезь 34 рецепта». URL: <http://www.agropremix.ru/page4.html> (дата обращения: 26.06.2017).
142. Гумат натрия «Фрея» – кормовая добавка в Украине. URL: <http://freya-agro.com.ua/ru/production/gumat-natria-freya-kormovaja-dobavka> (дата обращения: 04.07.2017).
143. Торф Сибири: официальный сайт проекта по созданию и развитию торфяного кластера в Томской области. URL: http://tomsktorf.blogspot.com/p/blog-page_20.html (дата обращения: 26.06.2017).
144. Список зареєстрованих ветеринарних препаратів, кормових добавок, готових кормів та преміксів, 2009–2015. Державна ветеринарна та фітосанітарна служба України. URL: <http://www.vet.gov.ua/node/888> (дата звернення: 01.02.2016).
145. Ветеринарні і лікарські засоби : довідник / кол. авторів: І. Я. Коцюмбас та ін. Львів : ТзОВ «ВФ «Афіша», 2017. 1632 с.
146. Землеробство з основами ґрунтознавства і агрохімії : підручник / В. П. Гудзь та ін. ; за ред. В. П. Гудзя. Київ : Центр учбової літератури, 2007. С. 244–245.

147. Орлов Д. С. Химия почв : учебник. 2-е изд., пераб. и доп. Москва : МГУ, 1992. С. 185–260.
148. Дідковська Т. П. Технологічні основи виготовлення та застосування гуматів під овочеві культури : дис. ... канд. сільськогосподарських наук: 06.01.04 – агрохімія. Харків, 2009. 178 с.
149. Підвальна Г. С., Позняк С. П. Гумусовий стан автоморфних ґрунтів Пасмового Побужжя : монографія. Львів : Видавничий центр ЛНУ І. Франка, 2004. С. 37–40.
150. Бузлама А. В., Чернов Ю. Н. Анализ фармакологических свойств, механизмов действия и перспектив применения гуминовых веществ в медицине. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010. Т. 73, № 9. С. 43–48.
151. Van Rensburg C. E. J. The Antiinflammatory Properties of Humic Substances: A Mini Review. *Phytother. Res.* 2015. Vol. 29, № 6. P. 791–795.
152. Effects of humic acids in vitro / J. Vaskova et al. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* 2011. № 47. P. 376–382.
153. Humic substances of varying types increase survivorship of the freshwater shrimp *Caridina* sp. D to acid mine drainage / A. Holland et al. *Ecotoxicology*. 2014. Vol. 23, № 5. P. 939–945.
154. Gomes de Melo B. A., Lopes Motta F., Andrade Santana M. H. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials Science and Engineering: C*. 2016. Vol. 62. P. 967–974.
155. Klucakova M., Veznikova K. Microorganization of humic acids in aqueous solutions. *Journal of Molecular Structure*. 2017. Vol. 1144. P. 33–40.
156. Кондратенко Е. П. Биостимулирующие и физико-химические свойства гумата натрия. *Химия растительного сырья*. 2016. № 3. С. 109–118.
157. Перминова И. В. Гуминовые вещества вызов химикам XXI века. *Химия и жизнь*. 2008. № 1. С. 60.
158. Elemental Characteristics of Humic Substances, Humic Substances in Soil, Sediment, and Water / C. Steelink et al. New York : Wiley, 1985. P. 457–476.

159. Perminova I. V. et al. Preparation and use of humic coatings covalently bound to silica gel for Np (V) and Pu (V) sequestration. *J. Alloys and Compounds*. 2007. Vol. 444/445. P. 512–517.
160. Водяницкий Ю. Н. Методы расчета ароматичности гумусовых кислот. *Почвоведение*. 2001. № 3. С. 289–294.
161. Sutton R., Sposito G. Molecular structure in soil humic substances: the new view. *Environ. Sci. Technol.* 2005. Vol. 39, № 23. P. 9009–9015.
162. Холодов В. А. Строение гуминовых кислот, извлекаемых в ходе последовательной щелочной экстракции из чернозема. *Почвоведение*. 2009. № 10. С. 1177–1183.
163. Кирейчева Л. В., Хохлова О. Б. Элементный состав гуминовых веществ сапропелевых отложений. *Вестник РАСХН*. 2000. № 4. С. 59–62.
164. Nebbioso A., Piccolo A. Basis of a humeomics science: chemical fractionation and molecular characterization of humic biosuprastructures. *Biomacromolecules*. 2011. Vol. 12. P. 1187–1199.
165. Chauke Tsakani Locrecia. Evaluating the efficacy, safety and possible mechanism of action of potassium humate with selenium : Dissertation (MSc) / University of Pretoria. Pretoria, 2014. 83 p.
166. Wang S., Mulligan C. N. Effect of natural organic matter on arsenic release from soils and sediments into groundwater. *Environmental Geochemistry and Health*. 2006. Vol. 28. P. 197–214. DOI: 10.1007/s10653-005-9032-y (Date of access: 20.08.2018).
167. Analysis of humic acids from various soils using acid hydrolysis / V. D. Tikhova et al. *Russian J. of Applied Chemistry*. 2008. Vol. 81, № 11. P. 1957–1962.
168. Стом Д. И. Возможные механизмы биологического действия гуминовых веществ. *Сибирский медицинский журнал*. 2008. № 6. С. 76–79.
169. DNA damage and repair: from molecular mechanisms to health implications / F. Altieri et al. *Antioxid. Redox. Signal.* 2008. Vol. 10, № 5. P. 891–937.
170. Жилиякова Т. П. Торфотон – перспективный противоязвенный препарат. *Гастроэнтерология и гепатология*. 1999. № 8–9. С. 108–109.

171. Antioxidant properties of humic substances / M. Aeschbacher et al. *Environ. Sci. Technol.* 2012. Vol. 46, № 9. P. 4916–4925. DOI: 10.1021/es300039h (Date of access: 20.12.2020).
172. Tarasova A. S., Stom D. I., Kudryasheva N. S. Antioxidant activity of humic substances via bioluminescent monitoring in vitro. *Environ. Monit. Assess.* 2015. Vol. 187. P. 89.
173. Carbohydrate-derived fulvic acid is a highly promising topical agent to enhance healing of wounds infected with drug-resistant pathogens / Y. Zhao et al. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2015. Vol. 79. P. S121–S129.
174. Gandy J. J., Snyman J. R., Van Rensburg C. E. Randomized, parallel-group, double-blind, controlled study to evaluate the efficacy and safety of carbohydrate-derived fulvic acid in topical treatment of eczema. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 2011. Vol. 4. P. 145.
175. Khilko S. L., Efimova I. V., Smirnova O. V. Antioxidant properties of humic acids from brown coal. *Solid Fuel. Chem.* 2011. Vol. 45. P. 367–371.
176. Kala K. J., Prashob P. K. J., Chandramohanakumar N. Humic substances as a potent biomaterials for therapeutic and drug delivery system – a review. *Int. J. App. Pharm.* 2019. Vol. 11, № 3. P. 1–4. DOI: <http://dx.doi.org/10.22159/ijap.2019v11i3.31421> (Date of access: 20.12.2019).
177. Avvakumova N. P., Gerchikov A. Y., Khairullina V. R., Zhdanova A. V. Antioxidant properties of humic substances isolated from peloids. *Pharm. Chem. J.* 2011. Vol. 45. P. 192.
178. The cytotoxic effects of humic acid on human breast cancer cells / A. Aykac et al. *Multidisciplinary digital publishing institute proceedings.* 2018. № 2. P. 1565.
179. Jurcsik I. Possibilities of applying humic acids in medicine (wound healing and cancer therapy). *Humic Substances in the Global Environment* / ed by N. Senesi, T. M. Milano. Amsterdam ; London : Elsevier, 1994. P. 1331–1336.
180. In vivo cytogenetic effects of natural humic acid / F. Bernacchi [et al.] // *Mutagenesis.* 1996. Vol. 11, №5. P. 467-469.

181. Humic acid enhances wound healing in the rat palate / M. Çalışır et al. *Evidence-Based Complementary and Alternative Med.* 2018. Vol. 2018, Special Iss. : Natural Products and/or Isolated Compounds on Wound Healing. 6 p. URL: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2018/1783513/> (Date of access : 25.04.2019).
182. Ji Y., Zhang A., Chen X., Che X., Zhou K., Wang Z. Sodium humate accelerates cutaneous wound healing by activating TGF- β /Smads signaling pathway in rats. *Acta Pharm. Sin. B (APSB)*. 2016. Vol. 6, № 2. P. 132–140. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.01.00 (Date of access: 18.05.2019).
183. Van Rensburg C. E. J., Naude P. J. W. Potassium humate inhibits the production of inflammatory cytokines and complement activation in vitro. *Inflammation*. 2009. Vol. 32, № 4. P. 270–276.
184. Jooné G. K., Van Rensburg C. E. J. An in vitro investigation of the anti-inflammatory properties of potassium humate. *Inflammation*. 2004. Vol. 28, № 3. P. 169–174. DOI: 10.1023/B : IFLA. 0000039563.90066.5d (Date of access: 18.08.2019).
185. Bimodal effect of humic acids on the LPS-induced TNF- α release from differentiated U937 cells / R. Junek et al. *Phytomedicine*. 2009. Vol. 16. P. 470–476.
186. Полуянова И. Е. Биологическая активность гуминовых веществ, получаемых из торфа, и возможности их использования в лечебной практике. *Медицинские новости*. 2017. № 7. С. 62–65.
187. Юдина Н. В., Тихонова В. И. Структурные особенности гуминовых кислот торфов, выделенных разными способами. *Химия растительного сырья*. 2003. № 1. С. 93–96.
188. Исмазова Р. Р., Зиганшин А. У., Дмитрук С. Е. Экспериментальное изучение гумата натрия из торфа для применения при аллергодерматозах. *Современные наукоемкие технологии*. 2007. № 3. С. 28–30.
189. Исмазова Р. Р., Зиганшин А. У., Мусина Л. Т., Дмитрук С. Е. Назва статті. *Казанский медицинский журнал*. 2007. Т. 88, № 5. С. 493–495.
190. Исмазова Р.Р., Федько И.В., Дмитрук С.Е. Перспективы использования биологически активных комплексов из торфа Томской области. *Современные*

- наукоемкие технологии*. 2006. № 7. С. 54-54. URL: <http://www.top-technologies.ru/ru/article/view?id=22998> (дата обращения: 06.04.2021).
191. Paciolla M. D., Davies G., Jansen S. A. Generation of hydroxylradicals from metal-loaded humic acids. *Environ. Sci. Technol.* 1999. Vol. 33. P. 1814–1818.
 192. Способ получения биостимулятора роста из сапропеля и/или торфа : пат. 2049084С1 РФ. № 94009446/15 ; заявл. 29.03.1994 ; опубл. 27.11.1995.
 193. Сапропелевый концентрат, содержащий гуминовые кислоты, и способ его получения : пат.2264371С2 РФ, № 2003131375/12 ; заявл. 17.10.2003 ; опубл.20.05.2005.
 194. Способ выделения гумусовых кислот из сапропеля : пат. 2246469 РФ. № 2003111182/12 ; заявл. 14.04.2000 ; опубл. 14.04.2003. URL: <http://findpatent.com.ua/patent/224/2246469.html>. (дата обращения 12.02. 2016).
 195. Способ получения веществ, обладающих противовоспалительным действием : а.с. 1793578 СССР. № 4912447/14 ; заявл. 15.02.91 ; опубл. 27.09.96. Бюл. № 27. 4 с.
 196. Способ получения биологически активных веществ, обладающих гепатозащитным действием : пат. 2120288 С1 РФ. № 96191271/14 ; заявл.18.01.1996 ; опубл. 20.10.1998.
 197. Способ получения средства, обладающего антикоагулянтной активностью : пат. 2101023 РФ. № 95108660/14 ; заявл. 29.05.95 ; опубл. 10.01.98, Бюл. №18.
 198. Волков Г. М., Ходунцев Л. Л. Диспергационный метод извлечения гуминовых кислот из твердых горючих ископаемых. Гуминовые удобрения. *Теория и практика их применения*. 1964. Ч. II. С. 533–539.
 199. Иванов А. А., Юдина Н. В., Ломовский О. И. Механохимический метод обработки торфа с целью получения биологически активных препаратов. *Торф в решении проблем энергетики, сельского хозяйства и экологии* : материалы междунар. конф. Минск, 2006. С. 204–206.
 200. Кашинская Т. Я., Шевченко Н. В. Механохимические превращения торфа. *Торф в решении проблем энергетики, сельского хозяйства и экологии* : материалы междунар. конф. Минск, 2006. С. 206-209.

201. Спосіб отримання біологічно активної речовини (екстракту) з сапропелю : пат. 16204 Україна. № А61К35/00 ; заявл. 22.03.06 ; опубл. 17.07.006, Бюл. № 7. 4 с.
202. Бамбалов Н. Н., Смирнова В. В., Беленькая Т. Я., Хоружик А. В. Содержание лабильных фракций гумусовых веществ в торфе и торфяных почвах. *Агрохимия*. 2003. № 6. С. 14–20.
203. Драгунов С. С. Химическая природа гуминовых веществ. Гуминовые удобрения. *Теория и практика их применения*. 1962. Ч. 2. С. 11–22.
204. Юдина Н. В., Писарева С. И., Пынченков В. И., Лоскутова Ю. В. Параметры оценки биологической активности органического вещества сапропелей. *Химия растительного сырья*. 1998. № 4. С. 33–38.
205. Лещинский А. Ф., Золоторева Т. А., Зуза З. И. Влияние пелоидотерапии на микросомальную энзимную систему печени. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной и физической культуры*. 1980. № 5. С. 35–39.
206. Царфис П. Г., Киселев В. Б. Лечебные грязи и другие природные теплоносители. Москва : Высш. шк., 1990. 125 с.
207. Способ получения лечебного экстракта : пат. 2066187 РФ. № 5046836/14; заявл. 16.04.92 ; опубл. 10.09.96, Бюл. № 1. 3с.
208. Способ получения лекарственного средства из иловых грязей материковых озер : а.с. 40479 СССР. № 1717356/31–16 ; заявл. 23.11.71 ; опубл. 22.10.73, Бюл. № 44.
209. Матис Е. Я., Стариков Н. М., Буркова В. Н., Куракова Е. А., Получение липидного концентрата из пелоидов. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры*. 1985. № 2. С.63–65.
210. Способ получения каротиноидов из иловых грязей : а.с. 1172559 СССР. № 3613440/28–13 ; заявл. 30.06.83 ; опубл. 15.08.85, Бюл. №30.
211. Способ получения лекарственного средства из иловых лечебных грязей : пат. 2321416 РФ. №2006117905/15 ; заявл. 24.05.06 ; опубл. 10.04.08.
212. Способ получения липидов из лечебных грязей : пат. 2043100 РФ. № 5043509/14 ; заявл. 22.05.92 ; опубл. 10.09.95.

213. Способ получения липидов из лечебных грязей : пат. 2107504 РФ. № 94004928/14 ; заявл. 10.02.94 ; опуб. 27.03.98. Бюл. № 2.
214. Способ получения лекарственного препарата из Тамбуканской лечебной грязи (нативной) : пат. 2145225 РФ № 98103963/14 ; заявл. 03.03.98; опубл. 10.02.00.
215. Способ получения лечебной грязи : пат. 2073999 РФ. № 93046931/14 ; заявл. 27.09.93 ; опубл. 27.02.97, Бюл. № 5.
216. Ярних Т. Г., Рухмакова О. А. Методологічні аспекти створення дитячих лікарських засобів. *Вісник фармації*. 2013. № 4 (76). С. 52–56.
217. Гриценко В. І. Методологія створення ректальних лікарських засобів для лікування захворювань передміхурової залози. *Клінічна фармація*. 2014. Т. 18, № 3. С. 47–51.
218. Руденко В. В. Методологічні підходи до розробки дерматологічних м'яких лікарських засобів. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 2. С. 65–68.
219. Струс О. Є., Коноваленко І. С. Перспективи використання сапропелю Шацьких озер. *Теоретичні і практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали 1-ї наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 20–21 берез. 2014 р. Харків, 2014. С. 158.
220. Konovalenko I. S., Procopets S. V., Strus O. E., Polovko N. P. Sapropel – The perspective raw material for medicines and cosmetics. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 23 квіт. 2015 р. Харків, 2015. С. 199.
221. Strus O. E., Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research sapropel's property in
222. Струс О. Є., Половко Н. П. Методологічні підходи до розробки та стандартизації лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів його переробки. *Клінічна фармація*. 2019. Т. 23, № 4. С. 52–62.
223. ТУ У 20.1–2870305538–004:2016. Сапропелі натуральні косметичні та засоби з них. Технічні умови. Львів, 2016. 45 с.

224. Державний реєстр лікарських засобів України : інформаційний фонд / Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. URL: <http://www.drlz.kiev.ua/> (дата звернення: 12.06.2020).
225. Компендиум. Лекарственные средства. АТС-классификация. URL: https://compendium.com.ua/use_atc/ (дата обращения: 12.06.2020).
226. Фірмовий інтернет-магазин в Україні – Брофарма. URL: <https://brovapharma.ua> (дата обращения: 07.09.2018).
227. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків : навч. посіб. для студентів, магістрів, аспірантів, викладачів, наук. співробітників та спеціалістів фармації / І. В. Перцев та ін. ; за ред. І. М. Перцева. Вид. 2-ге, перероб. та доп. Вінниця : Нова Книга, 2007. 641 с.
228. Допоміжні речовини у виробництві ліків : навч. посіб. для студентів вищ. фармац. навч. закл. / О. А. Рубан, І. М. Перцев, С. А. Куценко, Ю. С. Маслій ; за ред. І. М. Перцева. Харків : Золоті сторінки, 2016. 720 с.
229. European Pharmacopoeia / European Directorate for the Quality of Medicines European Pharmacopoeia 7.0 p. 2705 – 2706
230. British Pharmacopoeia 2005 / British Pharmacopoeia Commission. London : The Stationery Office, 2005. Vol. I. 629 p.
231. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.
232. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
233. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.

234. Воловик Н. В., Ляпунов М. О. Розробка гелевих основ з карбомерами для м'яких лікарських засобів. *Вісник фармації*. 2001. № 3. С. 51.
235. Половко Н. П. Вивчення впливу температури на реологічні властивості безводних гелів карбомеру. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2012. № 6. С. 402–407.
236. Зубченко Т. М. Дослідження гідрофільних основ для розробки гелю ібупрофену. *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 26. С. 179–182.
237. British Pharmacopoeia 2009 / British Pharmacopoeia Commission. London : The Stationery Office, 2005. Vol. III. 750 p.
238. Service De Normalisation Industrielle (SNIMA). Huiles d'arganes. Spécifications. Norme marocaine NM 08.5.090. Rabat : Snima, 2003
239. African Pharmacopoeia. 2nd ed. Abuja, Nigeria, 2014. 200 p.
240. ГОСТ 29188.2–2014. Продукция парфюмерно–косметическая. Метод определения водородного показателя pH. Москва, 2014. 9 с.
241. Нікіпелова О. М., Солодова Л. Б. Посібник з методів контролю пелоїдів та препаратів на їх основі. Ч. 1. Фізико–хімічні дослідження. Одеса, 2008. 100 с.
242. ДСТУ ISO 5983: 2003 Корма для животных. Определение содержания азота и вычисления содержания сырого белка. Метод Кьельдаля. Москва, 1997. 10 с.
243. ДСТУ ISO 6492: 2003. Корми для тварин. Визначання вмісту жиру. Київ, 2005. 14 с.
244. ДСТУ ISO 5985: 2004. Корми для тварин. Визначення вмісту сирової золи, нерозчинної в соляній кислот. Київ, 2006. 10 с.
245. ДСТУ ISO 6496: 2005. Корми для тварин. Визначення вмісту вологи та інших летких речовин. Київ, 2006. 10 с.
246. ДСТУ ISO 6865: 2004. Корми для тварин. Визначення вмісту сирової клітковини методом проміжного фільтрування. Київ, 2005. 14 с.
247. ГОСТ 26213–91. Почвы. Методы определения органического вещества. Москва, 1992. 10 с.
248. ДСТУ 4482: 2005. Премікси. Технічні умови. Київ, 2005. 42 с.

249. Корми та кормова сировина. Визначення вмісту амінокислот методом капілярного електрофорезу з використанням системи капілярного електрофорезу «Капель-105/105М»: метод. рек.. Львів, 2013. 47с.
250. Струс О. Є. Дослідження амінокислотного складу сапропелю методом капілярного електрофорезу. *Вісник фармації*. 2015. № 2 (82). С. 12–16.
251. Струс О. Є. Дослідження карбонових кислот сапропелю методом хромато–мас–спектроскопії. *Збірник наукових праць НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24(5). С. 228–234.
252. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків : РІРЕГ, 2011. Допов. 4. 536 с.
253. Гарна С. В., Ветров П. П., Георгіянець В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 1 (8). С. 22–24.
254. Пономарев В. Д. Экстрагирование лекарственного сырья. Москва : Медицина, 1976. 202 с.
255. Шпичак О. С. Визначення технологічних параметрів лікарської рослинної сировини, що входить до складу комплексного апіфітопрепарату «Апісед». *Вісник фармації*. 2013. № 1 (73). С. 3–8.
256. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 1. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
257. ГОСТ 29188.0-2014. Изделия парфюмерно-косметические. Правила приемки, отбор проб, методы органолептических испытаний М.: Издательство стандартов, 1992, 5 с.
258. ГОСТ 29188.3–91. Изделия косметические. Методы определения стабильности эмульсий. Москва, 1992. 10 с.
259. Вишневецька Л. І., Косяченко Н. М., Набока О. І. Обґрунтування складу комплексного гелю протизапальної дії. *Вісник фармації*. 2011. № 3. С. 8–12.

260. Encyclopedia of pharmaceutical technology / ed. by J. Swarbrick. 3rd ed. New York : In-forma Healthcare USA, 2007. 4372 p.
261. Гладух Е. В., Грубник И. М., Кухтенко Г. П. Влияние солюбилизатора ПЭГ-40 гидрогенизированное касторовое масло на структурно-механические свойства гелей карбопола. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. № 3 (25). С. 288–295.
262. ДСТУ 4537:2006. Мило туалетне тверде. Загальні технічні умови. Вперше [зі скасуванням в Україні ГОСТ 28546–90]. Введ. 29.03.2006. Київ, 2007. 10 с.
263. ГОСТ 790–89. Мыло хозяйственное твердое и мыло туалетное. Правила приемки и методики выполнения измерений. Москва, 2007. 12 с.
264. ДСТУ 7083:2009. Добрива органічні та органо-мінеральні. Методи визначання гумінових кислот. Київ, 2011. 8 с.
265. Гризодуб А. И., Евтифеева О. А., Проскурина К. И. Особенности фармакопейных подходов к количественному определению лекарственного растительного сырья и суммарных фитопрепаратов. *Фармаком*. 2012. № 3. С. 7–30.
266. Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochem Soc Trans*. 1983. Vol. 11. № 5. P. 591–592.
267. Бактеріологічний контроль поживних середовищ : інформ. Лист № 05.4.1/1670. Київ, 2000. 4 с.
268. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек. / Ю. Л. Волянський та ін. Київ, 2004. 38 с.
269. ДСТУ EN ISO 17516:2016 (EN ISO 17516:2014, IDT). Косметика. Мікробіологія. Мікробіологічні межі. Київ, 2016. 15 с.
270. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Communities*. 2010. № L276. P. 33–79.
271. First national congress on Bioethics. *Pharmacy*. 2001. Vol. 308, № 37.

272. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes / Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.
273. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України від 21.02.2006 № 3447–IV. *Відомості Верховної Ради України*. 2006. № 27. ст. 230. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15/> (дата звернення: 11.08.2019).
274. Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів : наказ МОЗ України від 14.12.2009р. № 944. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10#Text> (Date of access: 15.08.2019).
275. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / под ред. О. В. Стефанов. Київ : Авіценна, 2001. 528 с.
276. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals / National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington : National Academies Press, 2011. DOI: <https://doi.org/10.17226/12910> (Date of access: 26.06.2019).
277. Henry S. L., Concannon M. J., Yee G. J. The effect of magnetic fields on wound healing: experimental study and review of the literature. *Eplasty*. 2008. Vol. 8. P. e40.
278. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis / J. Schindelin et al. *Nature Methods*. 2012. Vol. 9, № 7. P. 676–682. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019> (Date of access: 05.11.2018). Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V. et al., 2012].
279. Абаев Ю.К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция. Ростов-на-Дону: Феникс. 2006. 427 с.
280. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран: методичні рекомендації / Л.В.Яковлєва та ін. – Харків : Нфау, 2013. 52 с.
281. Кишкун А. А. Клиническая лабораторная диагностика. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. 976 с.

282. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов. *Лабораторное дело*. 1988. 2. С. 60-63.
283. Зимон А. Д., Лещенко Н. Ф. Коллоидная химия. М.: Химия. 1995. 336 с.
284. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Современные методы в биохимии. М.: Медицина. 1977. С. 66-68.
285. Chevari S. H., Andian T. A., Strenger J. I. Determination of antioxidant blood parameters and their diagnostic value in the elderly. *Laboratory work*. 1991. Vol. 10. P. 9–13.
286. Korolyuk M. A., Ivanova L. I., Mayorova I. G., Tokarev V. E. Method for determining the activity of catalase. *Laboratory work*. 1991. Vol. 12. P. 9–10.
287. Moim V. M. Simple and specific method for the determination of glutathione peroxidase in erythrocytes. *Laboratory work*. 1986. Vol. 12. P. 16–19.
288. Дубинина Е. Е. Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма. *Успехи совр. биол.* 2001. 73(1). С. 5–13.
289. Ellman G. L., Arch. Biochem. Biophys. 82, 70 (1959). Ellman G. L. Tissue Sulfhydryl Groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1959. 82. P. 70-77.
290. Suvorov S. V., Rabkin E. B., Chernyshova V. I. Quantitative evaluation of erythema of the skin. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1977. Vol. 83, Iss. 2. P. 284–286.
291. Walsh RN, Cummings RA. The open-field test: A critical review. *Psychol Bull.* 1976. № 83. 482-504. PMid:17582919
292. Celis E. M., Torre E. Measurement of grooming behaviour / Conn P. M. *Methods in Neuroscience (Paradigms for the study of behaviour)*. San Diego; New York : Acad. Press, 1993. P. 359—377.
293. Буреш Я. Бурешова О., Хьюстон Дж.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М: Высшая школа, 1991. 527 с.
294. Tatem KS, Quinn JL, Phadke A, Yu Q, Gordish-Dressman H, Nagaraju K. Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring

- system for skeletal muscle diseases. *J Vis Exp*. 2014. № 91. P. 51785.
<https://doi.org/10.3791/51785> PMID:25286313
295. Про затвердження методичних рекомендацій з методів досліджень біологічної дії природних лікувальних ресурсів та преформованих лікувальних засобів : наказ МОЗ України від 28.09.2009р. № 692 URL: https://zakononline.com.ua/documents/show/39537___39537 (Date of access: 11.08.2019).
 296. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых промышленных химических веществ*. 1973. Вып. 13. С. 47–57.
 297. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник. / за ред. В. В. Влізло та ін. Львів : Сполом, 2012. 764 с.
 298. Нікіпелова О. М., Мокієнко А. В., Ніколенко С. І., Гуща С. Г. Оцінка фізико-хімічного складу, мікробіологічних властивостей та біологічної активності сапропелевих пелоїдів озера Волове Вишгородського району Київської області. *Медична реабілітація, курортологія, фізіотерапія*. 2016. № 4. С. 39–42.
 299. Babov K., Gushcha S., Koieva K., Strus O., Nasibulin B., Dmitrieva G., Arabadji M., Plakida A. Comparative assessment of biological activity of peloids of Ukraine of different genesis. *Balneo Research Journal*. 2020. Vol. 11, № 4. P. 467–471. DOI: <http://dx.doi.org/10.12680/balneo.2020.380> (Date of access: 19.12.2020).
 300. Інструкція із застосування класифікації запасів і ресурсів корисних копалин державного фонду надр до родовищ лікувальних грязей. Київ : ДКЗУ, 2002. 49 с.
 301. Лекція 1. Роль та значення гідрохімії як науки. URL: (<https://hdzva.edu.ua/chimia/wp-content/uploads/sites/29/2018/02/gidrohimiya.pdf> (дата звернення: 29.02.2018)).
 302. Звіт про виконання інженерно-геологічних та гідрогеологічних досліджень (польові роботи) по темі : Вивчення водного режиму озера Прибич Шацького

- району Волинської області та розробка заходів по його відновленню / Інститут Волиньводпроект. Луцьк, 1997. 27 с.
303. Про затвердження Положення про стадії геологорозвідувальних робіт на тверді корисні копалини : Наказ Комітету України з питань геології та використання надр № 19 від 15.02.2000 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0124-00#Text> (дата звернення: 19.03.2020).
 304. Струс О. К вопросу о стандартизации сапропеля. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции* : сб. науч. тр. 2015. Вып. 70. С. 185–189.
 305. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Дослідження хімічного складу сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : матеріали IV наук.–практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16–17 жовт. 2014 р. Харків, 2014. С. 283.
 306. Струс О. Є., Половко Н. П. Визначення загальних показників хімічного складу та мікроелементів сапропелю родовища Прибич. *Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики* : міжнар. наук.-практ. конф., г. Днепропетровск, 13-14 берез. 2015 р. Днепропетровск, 2015. С. 96–100.
 307. Мікроелементи. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1466/mikroelementi> (дата звернення: 21.11.2019).
 308. Макроелементи. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1466/makroelementi> (дата звернення: 21.11.2019).
 309. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія / М.В. Погорелов та ін. – Суми: Вид-во СумДУ, 2010. 147 с.
 310. Скальный А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. Москва, 2004. 216 с.
 311. Скальный А.В., Рудаков И.А. Биоэлементы в медицине М.: Оникс 21 век, Мир, 2004. — 272 с

312. Азелаїнова кислота – ЧП "ТМ Aroma-vita" - InfoCompany.biz. URL: <http://tm-aroma-vita.infocompany.biz/ukr/products/230/0/134410/> (дата звернення: 07.11.2016).
313. Струс О. Є., Половко Н. П. Дослідження технологічних властивостей сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24, кн. 4. С. 336–341.
314. Струс О. Е., Прокопец С. Ю., Половко Н. П. Изучение технологических свойств сапропеля. *Студенческая медицинская наука XXI века* : материалы 67 науч.-практ. конф. ВГМУ, г. Витебск, 24-25 апр. 2015 г. Витебск, 2015. С. 67.
315. Струс О. Е., Половко Н. П. Изучение фракционного состава сапропеля. *Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику* : материалы 10 науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междунар. участием, г. Душанбе, 24 апр. 2015 г. Душанбе, 2015. С. 362–363.
316. Струс О. Є., Половко Н. П., Малоштан Л. М., Осолодченко Т. П. Дослідження властивостей сапропелю родовища Прибич. *Проблеми медичної та екологічної генетики і клінічної імунології* : зб. наук. пр. 2014. № 3 (123). С. 169–173.
317. Strus O. E., Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research sapropel's property of the pribich. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали XXI міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, м. Харків, 22–23 квіт. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 93.
318. Гудзь Н. І., Калинюк Т. Г., Білоус С. Б. Належні практики у фармації : практик. для студентів вищ. мед. закладів. Вінниця : Нова Книга, 2013. 368 с.
319. Strus O., Babov K., Gushcha S., Polovko N., Nasibullin B., Polshchakova T. Toxicological and biological assessment of the effect of sapropel of the Prybych lake during cutaneous application in rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020. Vol. 8, № A. P. 633–638. URL: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.4743> (Date of access: 07.11.2020).
320. Струс О. Є. Фармакологічне обґрунтування перспектив використання сапропелю, видобутого з озера Прибич Шацького району Волинської області,

- в медицині та косметології. *Пріоритети розвитку медичних наук у ХХІ столітті* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 18-19 квіт. 2014 р. Одеса, 2014. С. 19–24.
321. Струс О. Є., Половко Н. П. Обґрунтування складу косметичних засобів на основі сапропелю родовища Прибич Шацьких озер. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 20-21 лют. 2015 р. Одеса, 2015. С. 10–13.
322. Струс О. Є., Гейдеріх О. Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою. *Вісник фармації*. 2016. № 3 (87). С. 51–54.
323. ДСТУ ISO 21148:2010. Засоби косметичні. Мікробіологія. Загальні вимоги до мікробіологічних випробувань (ISO 21148:2005, IDT). Київ, 2012. 20 с.
324. ДСТУ ISO 21149:2010. Засоби косметичні. Мікробіологія. Перелік та виявлення мезофільних аеробних бактерій (ISO 21149:2006, IDT). Київ, 2012. 24 с.
325. ДСТУ ISO 18415:2017 (ISO 18415:2017, IDT). Засоби косметичні. Мікробіологія. Метод виявлення специфічних і неспецифічних мікроорганізмів. Київ, 2017. 8 с.
326. ДСТУ ISO 22718:2010 (ISO 22718:2006, IDT). Засоби косметичні. Мікробіологія. Метод виявлення *Staphylococcus aureus*. Київ, 2012. 16 с.
327. ДСТУ ISO 22717:2010. Засоби косметичні. Мікробіологія. Метод виявлення *Pseudomonas aeruginosa* (ISO 22717:2006, IDT). Київ, 2012. 16 с.
328. ДСТУ ISO 16212:2018 (ISO 16212:2017, IDT). Косметика. Мікробіологія. Підрахунок кількості дріжджів та плісняви. Київ, 2018. 4с.
329. ДСТУ EN ISO 22716:2015 Косметика. Належна виробнича практика (GMP). Настанови з належної виробничої практики (EN ISO 22716:2007, IDT). ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр проблем стандартизації, сертифікації та якості», 2015

330. Промислова технологія лікарських засобів : базовий підручник для студ. вищ. навч. фармац. закладу (фармац. ф-тів) / Є. В. Гладух та ін. Харків : НФаУ ; Оригінал, 2016. 632 с.
331. Рубан О. А., Гладух Є. В. Розробка технології мазі з глюкорибіном. *Фітотерапія. Часопис*. 2009. № 1. С. 71–74.
332. СТ-Н МОЗУ 42-3.3:2004 «Лікарські засоби. Настанова з якості. Випробування стабільності». 2004. 14 с.
333. Косметична сапропелева маска : пат. (на винахід) 114262 Україна. № а 2016 07575 ; заявл. 11.07.2016; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9, 8 с.
334. Косметична сапропелева маска : пат. (на корисну модель) 113942 Україна. № и 201607573; заявл. 11.07.2016; опубл. 27.02.2017, бюл. № 4, 6 с.
335. Жук О. В. Розробка складу та технології дитячого піномийного засобу : дис. на здобуття наук. ступ. канд. фармац. наук 15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація. Харків, 2015. 156 с.
336. Асташин О.С. Мыло и его роль в здоровье человека. *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2013. Т. 3, № 2. С. 470.
337. Ковешникова Т.М., Миронова Е.Н., Рыжонина Т.В. Обработка рук медицинского персонала как мера защиты от инфекции. *Медицинская сестра*. 2011. № 5. С. 36-39.
338. Antibacterial Soap? You Can Skip It—Use Plain Soap and Water. URL:<http://www.fda.gov/downloads/ForConsumers/ConsumerUpdates/UCM378615.pdf> (Date of access: 18.03.2017).
339. Філіпська А. М., Садова Х. Г., Білоус С. Б. Сучасні підходи до застосування і розробки антибактеріальних мил. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук.пр. 2017. Вип. 2. С. 215–217.
340. Піномийний засіб "Дитяче мило антибактеріальне" : пат. України 99011 № и 201413700 ; заявл. 22. 12. 2014 р. ; опубл.12.05.2015, бюл.9, 7с.
341. Туалетне мило "Особливе" : пат. України 49979 ; № и 2000063203 заявл. 05.06.2000 ; опубл. 15.10.2002, бюл. № 10.

342. Туалетне мило : пат. України 76518 ; № у 20040503394 заявл. 06.05.2004; опубл. 15.08.2006, бюл. № 11.
343. Final Report Cosmetic Ingredient Review Expert Panel. Triclosan. URL: <http://online.personalcarecouncil.org/ctfa-static/online/lists/cir-pdfs/FR569.pdf> (Date of access: 23.03.2017).
344. Кордіяка Ю. М. Вдосконалення нормативно-технічного забезпечення випробувань та якості косметичних засобів : дис. на здобуття наук. ступ. канд. технічних 05.01.02 – стандартизація, сертифікація та метрологічне забезпечення наук. Львів, 2016. 201 с.
345. Струс О. Є., Половко Н. П., Філіпська А. М., Рехлецька О. В. Розробка складу і технології мила з сапропелем. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 35–41.
346. Мыльный калькулятор. URL: <https://milovarpro.ru/calc/> (дата звернення: 08.12.2018).
347. Мыльный калькулятор. URL: <https://mama-mila.ru/page/calc> (дата звернення: 08.12.018).
348. Домашнее мыло. Самодельные ароматные штучки. URL: <https://ru-soap.livejournal.com/1959522.html> (дата звернення: 20.12.2016).
349. Товбин И. М. Производство мыла. М.: Пищевая промышленность, 1976. 314 с.
350. Волянський Ю. Л., Гриценко І. С., Широбоков В. П. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек. Київ, 2004. 38 с.
351. Дегтярева Е. И., Атанасова Ю. В. Микробиологическая эффективность кускового мыла. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiologicheskaya-effektivnost-kuskovogo-myla/viewer> (дата звернення: 12.01.2017).
352. Струс О. Є., Стрілець О. П., Половко Н. П. Дослідження антимікробної активності мила з сапропелем. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. 2017. Вип. 2. С. 168–171.
353. Піномийний засіб «Антибактерійне мило з сапропелем» пат. (на корисну модель) 127142 Україна. № у 2017 09363; заявл. 25.09.2017; опубл. 25.07.2018, бюл. № 14, 4 с.

354. Струс О. Є., Половко Н. П. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шутика*. 2016. Вип. 26. С. 266–271.
355. Струс О. Є., Половко Н. П. Стандартизація водного екстракту сапропелю. *Аналітична хімія у фармації* : матеріали міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 19-20 берез. 2015 р. Харків, 2015. С. 102–103.
356. Химический состав и биологическая активность сапропеля оз. Глубокое (Татарстан) / В. В. Платонов и др. *Вестник новых медицинских технологий*. 2014. № 3. С. 112–118.
357. Bravi E., Perretti G., Montanari L. Fatty acids by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detector. *J. Chromatogr. A*. 2006. Vol. 11, № 34. P. 210–214.
358. Strus O. Y. Study of sapropel extracts from Prybych natural deposits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 7, № 6. P. 133–137.
359. Лещинский А. Ф., Золоторева Т. А., Зуза З. И. Влияние пелоидотерапии на микросомальную энзимную систему печени. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной и физической культуры*. 1980. № 5. С. 35–39.
360. Царфис П. Г., Киселев В. Б. Лечебные грязи и другие природные теплоносители. Москва : Высш. шк., 1990. 125 с.
361. Lipophilic components of different therapeutic mud species / E. Odabasi et al. *J. Altern. Complement. Med.* 2007. Vol. 13, № 10. P. 1115–1118.
362. Коротков В. А., Кухтенко О. С., Гладух Є. В. Вибір оптимальної технології одержання олійного екстракту плодів маклюри. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 6. С. 36–41.
363. Лигнаны масляного экстракта семян лимонника китайского (*Schisandra chinensis* Turcz. (Baill.)) / В. М. Косман и др. *Химия растительного сырья*. 2014. № 4. С. 131–138.
364. Технологія косметичних засобів : підруч. для студентів вищ. навч. закладів / О. Г. Башура та ін. ; за ред. О. Г. Башури і О. І. Тихонова. Харків : НФаУ ; Оригінал, 2017. 552 с.

365. Федоровська М. І. Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу і технології лікарських косметичних засобів на основі рослинних субстанцій для трихології: дис....докт.фармац.наук: 15.00.01 – технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація. Харків, 2019. 528 с.
366. Бондаренко Ж. В., Лиходиевский А. В., Слонская С. В. Влияние параметров экстрагирования на свойства масляного экстракта. *Переработка и управление качеством сельскохозяйственной продукции* : сб. ст. III Междунар. НПК, 23-24 марта 2017 г. Минск : БГАТУ, 2017. С. 383–385.
367. Тринеева О. В., Сафонова Е. Ф. Сравнительная характеристика растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации. *Химия растительного сырья*. 2013. № 4. С. 77–82.
368. Ткачук О. Ю. Розробка складу та технології комбінованого олійного фітопрепарату гепатотропної дії : дис. канд. фармац. наук. Харків, 2016. 165 с.
369. Ткачук О. Ю. Изучение методов очистки масла и масляных экстрактов с растительного сырья от механических примесей. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2014. Кн. 23 (4). С. 402–407.
370. Изучение возможности использования двухфазной системы экстрагентов для получения препаратов сапропеля омского Прииртышья / И. А. Насырова и др. *Омский Научный Вестник*. 2006. № 3 (37). С. 160–163.
371. Дослідження з розробки технології олійних екстрактів з рослинної сировини / О. Ю. Ткачук та ін. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24 (4). С. 311–315.
372. Погорелов В. И., Верещагина В. В., Гранкина И. В. Способы получения масляных и спиртовых извлечений из цветков бархатцев. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции* : сб. науч. тр. 2007. Вып. 62. С. 206–207.
373. Струс О. Є. Исследования по разработке масляных экстрактов сапропеля. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 50–58.
374. Strus O. Y., Polovko N. P. Study of antibacterial activity of sapropel extract from Prybych deposits. *Looking towards the future, honoring the past: abstract book of*

- 3rd International conference on pharmaceutical sciences, Tbilisi, 29-31 May 2015. Tbilisi, 2015. P. 152.
375. Струс О. Є., Половко Н. П., Малоштан Л. М., Яценко Е. Ю. Дослідження протизапальних та репаративних властивостей екстрактів сапропелю родовища Прибич. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2014. Вип. 23, кн. 4. С. 392–398.
 376. Strus O., Polovko N. Study of the sapropel extract influence on the main biochemical and hematological blood indices of rats. *The Pharma Innovation*. 2019. № 8 (7). P. 47–52.
 377. Rhee S. G., Chae H. Z., Kim K. Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 2005. Vol. 38. P. 1543–1552.
 378. Friedman R. B., Young D. S. Effects of disease on clinical laboratory tests. 3rd ed. Washington : AACCC Press, 1997.
 379. Tietz Textbook of Clinical Chemistry / ed. by C. A. Burtis, E. R. Ashwood. 3rd ed. Philadelphia : WB Saunders Co., 1999. 1917 p.
 380. Струс О. Є., Половко Н. П. Визначення гематологічних показників крові щурів при дослідженні показників токсичності екстракту сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 582–585.
 381. Byung Yong Jeong. Occupational Injuries and Deaths in Domestic Waste Collecting Process: Occupational Injuries and Deaths in Domestic Waste Collecting Process. *Human Factors and Ergonomics in Manufacturing*. 2016. Vol. 26, № 5. DOI: <https://doi.org/10.1002/hfm.20680> (Date of access: 06.11.2020).
 382. Borowy I. Road Traffic injuries: Social Change and Global Development. *Medical History*. 2013. № 57 (1). P. 108–138.
 383. Jeong BY, Lee S, Lee JD. Safety and health at work. Workplace accidents and work-related illnesses of household waste collectors, 2016; 7(2):138-142
 384. Винник В. С. Современные методы лечения гнойных ран. *Сибирское медицинское образование*. 2013. № 1. С. 18–24.

385. Халавка М.В. Розробка складу та технології м'якої лікарської форми з сухим екстрактом кореня солодки для лікування інфекційно-запальних захворювань шкіри та ранового процесу : дис. ... канд.фарм.наук : 15.00.01 – технологія ліків, організація фармац. справи та судова фармація. Харків, 2015. 164 с.
386. Hilman A., Khardman D., Limberd L. Clinical pharmacology by Hudman and Hilman. Moscow : Praktika, 2006.
387. Strus O., Polovko N. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. № 9 (3). P. 209–224.
388. Білоус С. Б., Калинюк Т. Г., Гудзь Н.І. Актуальні питання фармацевтичної розробки м'яких лікарських засобів для зовнішнього застосування. *Фармацевтичний журнал*. 2010. № 2. P. 17–27.
389. Gad S. C. Pharmaceutical Manufacturing Handbook. Production and Processes. Hoboken : John Wiley & Sons, 2008. URL: <https://www.uv.mx/personal/izcamacho/files/2012/02/Pharmaceutical-Manufacturing-Handbook-Production-and-Processes-Wiley-2008.pdf> (Date of access: 12.09.2018).
390. Ni Nyoman Rupiasih, Pandit V. Vidyasagar. Humic Substances: structure, function, effects and applications. *International Journal of Environment and Pollution*. 2007. Vol. 5, № 2. P. 39–47.
391. К вопросу об использовании биологически активных гуминовых в медицине / И. В. Федько и др. *Химия растительного сырья*. 2005. № 1. С. 49–52.
392. Peña-Méndez E. M., Havel J., Patočka J. Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *J. Appl. Biomed*. 2005. № 3. P. 13–24.
393. Antiviral wirksame Huminsäuren und huminsäureähnliche Polymere / R. Klöcking et al. *Zeitschrift für Physiotherapie*. 1983. № 35. P. 95–101.
394. Klöcking H. P., Dunkelberg H., Klöcking R. Substances of the humic acid type prevent U 937 cells from heat-induced arachidonic acid release. *Modern Aspects in Monitoring of Environmental Pollution in the Sea* / ed. by W. E. Müller. Erfurt : Akademie gemeinnütziger Wissenschaften, 1997. P. 156–158.

395. The antiviral potency of humic substances / R. Klocking et al. *Humic Substances – Linking Structure to Functions* : Proceedings of the 13th International Humic Substances Society. Karlsruhe, 2006. P. 397–400.
396. Velnar T., Bailey T., Smrkolj V. The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. *J. Int. Med. Res.* 2009. № 37. P. 1528–1542.
397. Blautin L. A. Local drug treatment of wounds. Problems and new possibilities of their solution. *Consilium medicum: surgery (application)*. 2007. № 1. P. 9–16.
398. Гирголава С.С. Огнестрельная рана. М: Медицина, 2006. 330 с.
399. Ebadi M. Desk reference of clinical pharmacology. 2nd ed. Boca Raton : CRC Press, 2007. 824 p.
400. Pastar I., Nusbaum AG., Gil J. Interactions of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* USA300 and *Pseudomonas aeruginosa* in Polymicrobial Wound Infection. *PLoS One*. 2013;8 (2):1–11.
401. . Федоровская М. И., Половко Н. П. Изучение реологических параметров основы гель-маски, предназначенной для лечения телогеновой алопеции. *Вестник фармации* (Беларусь). 2016. № 2 (72). С. 35–41.
402. Fedorovska M., Polovko N. Development of the composition of the gel base for treating telogen effluvium. *Visnyk farmatsii*, 2016; 4 (88):38-42.
403. Strus O., Polovko N., Maloshtan L., Shakina L. Study of anti-inflammatory activity of medicinal products with sapropel extract on the model of acute photodynamic skin injury in rats'. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2020. Vol. 13, № 9. P. 4381–4386
404. Ярема І. О., Федоровська М. І., Куцик Р. В. Обґрунтування вибору антимікробних консервантів при розробці препаратів для місцевого лікування андрогенної алопеції. *Одеський медичний журнал*. 2016. № 2 (154). С. 20–24.
405. Промышленная технология лекарств : учеб. для студентов высших заведений : в 2-х т. / под ред. В. И. Чуешова. Харьков : МТК–Книга, 2002. Т. 2. 715с.
406. Струс О.Є., Половко Н.П., Стрельников Л.С. Вивчення ефективності антимікробних консервантів у гелях з екстрактом сапропелю. *Український*

- біофармацевтичний журнал*. 2019. №4(61). Р. 4–8. URL: <https://doi.org/10.24959/ubphj.19.240> (Date of access: 12.03.2020).
407. Реологічне дослідження мазі на основі природної сировини / О. І. Тихонов та ін. *Вісник фармації*. 2003. № 3 (35). С. 49–51.
408. Башура А. О., Башура О. Г., Половко Н. П. Обґрунтування складу гелю з настойкою листя гіркокаштана. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. № 1. С. 60–65.
409. Features of the excipients selection for semi-solid dosage forms / Т. А. Shostak et al. *Pharm. Rev.* 2015. № 1. Р. 18–21.
410. Федоровська М. І., Половко Н. П., Стрілець О. П. Розроблення складу гелі-маски з соком кропиви дводомної, що призначена для наскірного застосування при телогеновій алопеції. *Фармацевтичний журнал*. 2019. № 3. С. 76–85.
411. Протизапальний засіб у вигляді гелю з екстрактом сапропелю : пат. (на корисну модель) 139685 Україна. № u 201907612; заявл. 08.07.2019; опубл. 10.01.2020, бюл. № 1, 4 с.
412. СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика». Київ, 2020. 338 с.
413. Абдессемед Д., Авдеенко А. В. Диагностика и терапия субклинического мастита у лактирующих коров. *Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н. И. Вавилова*. 2014. № 3. С. 3–6.
414. ATCvet system for the classification of veterinary medicines <https://www.whooc.no/atcvet/atcvet/> (Date of access: 07.06.2020)
415. Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. URL: <http://www.consumer.gov.ua/ContentPages/Reestri/38/> (дата звернення: 12.12.2020).
416. Технология лекарственных косметических средств. Модуль 1: учеб.-метод. пособие для студ. фармац. фак. заочной формы обучения по спец. «Фармация» и «Технология парфюмерно-косметических средств» / под ред. В. В. Гладышева и др. Запорожье : ЗГМУ, 2016. 93 с. URL:

<http://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/4367/1/5TehnLecKosmSredstv.pdf>
(дата обращения: 21.05.2020).

417. Шубенкова Е. Г. Эмульсионные препараты для фармацевтики и ветеринарии: получение и стабилизация. *Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства*. 2013. Т. 3, № 6. С. 1–2.
418. Иванкова Ю. О. Верниковский В. В., Степанова Э. Ф. Исследования по выбору основы для наружной лекарственной формы коллагеназы. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 2-2. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22085> (дата звернення: 15.09.2019).
419. Морозов Ю. А., Макиева М. С. Биофармацевтические исследования in vitro по выбору оптимальной композиции вспомогательных веществ для создания мази на основе СО₂-экстракта лимонника китайского семян. *Фармация и фармакология*. 2014. № 4 (5). С. 57–62.
420. Федоровська М. І. Розробка складу основи крем–маски для профілактики і терапії осіб з андрогенною алопецією. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2014. № 2. С. 4–8.
421. Анурова М. Н., Демина Н. Б. Мягкие лекарственные формы: типы, характеристики, регламентация. *Фармация*. 2014. № 8. С. 44–48.
422. Гончарова А. А. Баранова І. І. Розробка технології крему для застосування за синдрому діабетичної стопи. *Фармацевтичний журнал*. 2014. № 3. С. 35–41.
423. Горлачова В. І., Вишневська Л. І. Розробка технології крему з ліпофільним екстрактом насіння моркви дикої для лікування опікових ран. *Journal «ScienceRise»*. 2016. № 2/4 (19). С. 51–57.
424. Дослідження реологічних властивостей вагінального крему з ефірною олією чебрецю / Н. В. Мельникова та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2010. № 4. С. 46–47.

425. Вспомогательные вещества, используемые в технологии мягких лекарственных форм (мазей, гелей, линиментов, кремов) (Обзор) / О. А. Семкина и др. *Химико-фармацевтический журнал*. 2005. № 9. С. 45–48.
426. Skin cream as topical drug delivery system: a review / T. Sahu et al. *J. Pharm. Biol. Sci.* 2016. Vol. 4, № 5. P. 149–154.
427. Жетерова С. К., Талгаева Е. В. Основные и вспомогательные вещества, используемые в косметологии. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2014. № 5. С. 68–71.
428. Башура А. Г., Губенко Т. Д., Андреева С. В. Косметические средства для ухода за кожей: биологически активные и вспомогательные вещества в их составе. *Провизор*. 2004. № 12. С. 18–21.
429. Тихонов О. І., Ярних Т. Г. Аптечна технологія ліків : підручник для фармацевтичних вузів і факультетів. Вінниця : Вид-во Нова Книга, 2007. 640 с.
430. Strus O. Y. Justification of composition of the cream with sapropel extract. *International Journal of Green Pharmacy*. 2019. № 13 (1). P. 42–47.
431. Strus O., Polovko N., Plaskonis Y. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147–150.
432. Струс О. Є., Половко Н. П. Розробка складу основи крему з екстрактом сапропелю. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали 1-ої наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24-25 берез. 2016 р. Харків, 2016. С. 84.
433. Струс О. Є. Розробка складу крему із екстрактом сапропелю. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13-16 верес. 2016 р. Харків, 2016. С. 283.
434. Life cycle assessment of surfactants: the case of an alkyl polyglucoside used as a self-emulsifier in cosmetics / J. Guilbot et al. *Green Chemistry*. 2013. Vol. 15. P. 3337–3354.

435. An alkyl polyglucoside-mixed emulsifier as stabilizer of emulsion systems: The influence of colloidal structure on emulsions skin hydration potential / S. Savic et al. *J. Colloid Interface Sci.* 2011. Vol. 358. P. 182–191.
436. The in vitro-in vivo safety confirmation of PEG- 40 Hydrogenated castor oil as a surfactant for oral nanoemulsion formulation / H. Rachmawati et al. *Scientia Pharmaceutica*. 2017. Vol. 85, № 2. P. 18–27.
437. Comparative effectiveness of finasteride vs Serenoa repens in male androgenetic alopecia: a two-year study / A. Rossi et al. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 2012. Vol. 25, № 4. P. 1167–1173.
438. Нікітіна М. В., Баранова І. І. Розробка складу та комплексне дослідження крем-гелю для лікування вугрової хвороби. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 2. С. 73–76.
439. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Обґрунтування введення консерванту в крем з екстрактом сапропелю. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали 2-ої міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 21-23 берез. 2016 р. Харків, 2016. С. 232.
440. Лікувально–профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин : пат. 121449 Україна. № 201906003 ; заяв. 31.05.19; опубл. 25.05.20, Бюл. № 10, 4 с.
441. Лікувально–профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільсько господарських тварин: пат. 138026 Україна. № u 2019 06004; заяв. 31.05.19; опубл. 11.11.2019, Бюл. № 21, 4 с.
442. Рубан О. А. Розробка технології мазі з глюкокорибіном. *Український медичний альманах*. 2008. Т. 11, № 4. С. 131–133
443. Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25.
444. Бурлака Б. С. Фармакотехнологічні дослідження композиційних м'яких лікарських засобів з бішофітом. *Запорожский медицинский журнал*. 2006. № 5. С. 151–154.

445. Руденко В. В., Шматенко О. П., Притула Р. Л. Фармакоєкономічний аналіз лікарських препаратів для місцевого застосування у II фазі ранового процесу. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 2 (12). С. 121–124.
446. Вплив окисного стресу на рівень експресії генів TGFB1 і HGF у печінці щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії та за введення мультипробіотика симбітер / К. О. Дворщенко, О. О. Берник, А. С. Драницина, С. А. Сенін, Л. І. Остапченко. *Український біохімічний журнал*. 2013. № 85(5). 114-23.
447. Wagener F. A., Carels C. E., Lundvig D. M. Targeting the redoxbalance in inflammatory skin conditions. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. №14. P. 9126–9167.
448. Strus O., Polovko N. The influence of «Saprogel» in the wound healing process on rats with a full–thickness wound model. *Čes. slov. Farm.* 2020. № 69. P. 75–82.
449. Activity of antioxidant enzymes in the skin during surgical wounds / E. V. Mikhal'chik *et al.* *Bull Exp Biol Med.* 2006 142(6):667-9. DOI: 10.1007/S10517-006-0446-Z.
450. Activity of antioxidant enzymes in the wound in patients with deep burns. Mikhal'chik EV *et al.*. *Bull Exp Biol Med.* 2009 Jun;147(6):753-6. doi: 10.1007/s10517-009-0614-z. PMID: 19902075
451. Klaunig J. E., Kamendulis L., Hocevar B. A. Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. *Toxicologic Pathology*. 2009. № 38(1). P. 96–109.
452. Карімов І. З. Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології. *Лабораторна діагностика*. 2005. № 1 (31). С. 6–13
453. Zorov D. B., Juhaszova M., Sollott S. J. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS–Induced ROS Release. *Physiol. Rev.* 2014. № 94 (3). P. 909–950.
454. Winterbourn C. C., Vissers M. C., Kettle A. J. Myeloperoxidase. *Curr. Opin. Hematol.* 2000. № 7(1). P. 53–58.
455. Vázquez-Torres A. Antioxidants and Redox Signaling, 2012; 17:1201-1214.
456. Strus O., Polovko N. Intensity of protein oxidative modification's processes in the dynamics of a full thickness wound healing in pharmacotherapy by gel with

sapropel extract. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological Chemical Sciences*. 2020. № 11 (3). p. 73–81. url: <https://doi.org/10.33887/rjpbcs/2020.11.3.8> (date of access: 25.08.2020).

457. Strus O. Y., Polovko N. P. Kuzmina N. V., Ostapiv D. D. Study of the toxicity of drugs with sapropel extracts and the testing of the cream effectiveness. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. № 32. P. 37.

ДОДАТКИ

Додаток А

Косметичні засоби з сапропелем

Фірма-виробник	Назва косметичного препарату/ Форма випуску	Склад косметичного препарату	Показання до застосування
1	2	3	4
ТМ «І-Есо», Київ, Україна	«Грязь сапропелева» «Маска-грязь сапропелева»	Сапропель озера Волове	Косметичні і оздоровчі цілі у вигляді масок для різних типів шкіри, волосся, обгортань
ТМ «Добрин» Київ, Україна	«Природний сапропель»	Сапропель озера Волове	Традиційні технології грязелікування
«Faberlic», Москва, РФ	«Лікувальні грязі Сапропель»	Сапропель озера Шитовське	Як протизапальний засіб, активно сприяє знищенню мікробів і паразитів, підвищує захисні функції організму
ТОВ «Строй-індустрія», Вологда, РФ.	«Маска грязева із сапропелю», «Сапропель лікувальний», «Косметична сировина сапропель»	Сапропель озера Кишемське	Як основний біологічно активний компонент: покращує функціональний стан шкіри і її придатків
ТМ «Секрет Красоти», Бердськ, Російська Федерація	ФАМшампуні, ФАМмаски, літокомплекси, ФАМсіль, ФАМмило, ФАМскраб	Сапропель, мінерали вулканічного походження (модифікований природний цеоліт, збагачений іонами міді, срібла, цинку, магнію та калію), природні солі (нерафінована натуральна морська рожева осадова сіль), гірська глина, зародки жита і пшениці, збори лікарських трав	Для зміцнення, стимуляції росту волосся, усунення ламкості та посіченості, очищення та живлення коренів волосся. Підвищення тургору й еластичності, поліпшення контуру обличчя, насичення вітамінами і мікроелементами; зволоження, регулювання активності сальних залоз; усунення набряків і темних кіл, розгладження зморшок та ін. Літокомплекси призначені для очищення шкіри з віковими змінами, відновлення вмісту вологи, усунення стягнутості і лущення; нормалізації жирної проблемної шкіри. Сіль для моделювання фігури, підтягування та зволоження шкіри. Мило для очищення, тонізації і зволоження шкіри, нормалізації рН, посилення її природного захисту

Продовж. Додатка А

1	2	3	4
ТОВ «Біоліт», Томськ, РФ	Маски-плівки: відновлююча і поживна; очищаюча і зволожуюча	Сапропель; ефірні олії герані, розмарину та ін.; ментол; пантенол; крохмаль тапіокі	Омолоджує, регенерує, зволожує, підвищує еластичність та тонус шкіри, нормалізує роботу сальних залоз
ЗАТ «Тріумф», Єкатеринбург, РФ	«Сапропель лікувальний озера Молтаєво»	Сапропель лікувальний озера Молтаєво	Широкий спектр застосування для обличчя і тіла. Омолоджувальний, антицелюлітний ефект
ЗАТ «Сибирская органика», Омськ, РФ	Тонік Засіб для укріплення волосся Екстракт сапропелю Засіб для ванни Мило-крем з ЕС, Мило-скраб Маска SaproTherm	Екстракт сапропелю озера Пучай Сапропель озера Пучай	Маска, тонік та мило-крем: пом'якшує, живить та зволожує шкіру; стимулює кровообіг і мікроциркуляцію в клітинах; відновлює структуру і тургор шкіри; уповільнює процес старіння Відновлює волосся, підсилює його ріст, зменшує випадання, робить гладким та блискучим. Засіб для ванни та мило-скраб відлущує, глибоко очищає і розгладжує шкіру
«Биобьюти», Москва, РФ	Скраб "FreshFace" для нормальної і жирної шкіри. Скраб "FreshFace" для сухої шкіри	Природний цеоліт, мідь, калій, срібло, магній, натрій, цинк, перлова пудра, нефрит, каолінові глини, сапропель, тальк, морська сіль, сіль Мертвого моря, ропа (озерна сіль)	Скраб для глибокого очищення шкіри. Знижує ризик появи запалення, зменшує вугровий висип та запобігає його появі
«Selenium», Рига, Латвія	Гель для душу, шампунь, мило для сухої та чутливої шкіри, сапропелева грязь, тонік для чутливої шкіри, маска для волосся,	Екстракт сапропелю Сапропель	Відновлює водний і ліпідний баланс в шкірі, усуває набряки. Живить шкіру, зменшує і запобігає появі зморшок, покращує еластичність шкіри. Догляд за волоссям - відновлює структуру волосся, стимулюючи його ріст, сприяє профілактиці лупи, нормалізує секрецію шкіри голови

Продовж. Додатка А

1	2	3	4
ТОВ «Есо-Sapropel», Мінськ, Республіка Білорусь	Лікувальні сапропелеві грязі, антицелюлітна маска-пілінг, грязева маска, сироватка-актив, пілінг для обличчя з зеленими грязями, біотонік, грязеві маски для різних типів шкіри, маска поживна для обличчя з зеленими грязями, маска-ліфтинг для обличчя з чорними грязями, крем-догляд денний та нічний, крем-ліфтинг для шиї і декольте, крем-контур для обличчя з ліфтинг ефектом, шампуні, бальзами-ополіскувачі, маска для укріплення та росту волосся	Чорні та зелені лікувальні сапропелеві грязі озера Судобль та суміш інших БАР: олія грейпфрута. біла глина, кофеїн, ментол, антицелюлітний комплекс (екстрактів кінського каштана, плюща, гарсії і ракитника), екстракт оливи, протеїни пшениці, вітамін Е, гель алое вера, D-пантенол, олії авокадо, жожоба, ши, екстракти білої кропиви, хвої, лопуха, ромашки, розмарину, плюща, арніки, водяного кресс часнику	Косметологія: зелені лікувальні грязі застосовують у вигляді нативної сировини і у складі КЗ для догляду за старіючою, нормальною, сухою та чутливою шкірою. чорні лікувальні грязі використовують у вигляді нативної сировини та у складі КЗ для догляду за проблемною та жирною шкірою, масок для зміцнення та росту волосся, а також для антицелюлітних обгортань. Дерматологія: зелені – для ефективного лікування опіків та хронічних захворювань шкіри та шкіри голови (екзема, псоріаз, дерматит) чорні – для лікування хронічних захворювань шкіри (вугрі, себорея, нейродерміт)

Додаток Б

Лікарські засоби на основі пелоїдів

Назва лікарського препарату/ Країна-виробник	Форма випуску	Склад	Використання у медицині
1	2	3	4
«Гумізоль», АТ Талінський фар- мацевтичний завод, Естонія	Р-н для ін'єкцій, 1 мл №10	0,01% р-н фракцій ГК Хаапсалузької морської лікувальної гязі	Хронічні і підгострі радикуліти, плексити, невралгія, ревматичний артрит, неактивна форма, інфекційний неспецифічний поліартрит, артроз, хронічні захворювання середнього вуха, придаткових пазух носа, фарингіти, риніти та ін.
«Пелоїдодистилят», ВАТ «Біостимулятор» Одеса, Україна	Р-н для ін'єкцій, 1 мл №10	1 мл розчину містить дистиляції лиманної гязі – 1 мл	Артрити, радикуліти, міалгія, блефарити, кон'юнктивіти, кератити, помутніння склоподібного тіла, міопічний хоріоретиніт та ін.
«Торфот», ДНЦ вірусології та біотехнології «Вектор», Новосибірськ, РФ	Р-н для ін'єкцій, 1 мл №10	Продукт дистиляції торфу	Артрити, радикуліти, міалгії, блефарит, кон'юнктивіт, кератит, помутніння склоподібного тіла, міопічний хоріоретиніт та ін.
«Фібс», ВАТ «Біостимулятор» Одеса, Україна	Р-н для ін'єкцій, 1 мл №10	1 мл розчину містить: дистиляції лиманної гязі – до 1 мл, кумарину – 0,0001 г, кислоти коричнеї – 0,0004	Артрити, блефарит, кон'юнктивіт, кератит, помутніння склоподібного тіла, міопічний хоріоретиніт
«Гумінат», Лабораторія фармакології Інституту ім. В.П. Філатова, м. Одеса, Україна	Р-н для ін'єкцій 1% - 1 мл №10	1 мл розчину містить 10 мг гумінату	Хронічний коліт, ентероколіт, неспецифічний виразковий коліт, виразкова хвороба, ураження печінки різної етіології, хронічні інтоксикації, профілактика інфекційних захворювань, ішемічна хвороба серця

Продовж. додатку Б

1	2	3	4
«Пелоїдин», ТОВ «Далк», Одеса, Україна	Р-н для ін'єкцій, ампл. по 10 мл; р-н для внутрішнього та зовнішнього застосування, фл. по 250 і 500 мл	Водний екстракт лікувальної грязі Куяльницького лиману Одеської області	Застосовується при виразковій хворобі шлунка і дванадцятипалої кишки, хронічних гастритах, колітах і ентероколітах, бацилярній дизентерії, а також при гнійних ранах та запальних ранових процесах
«Пелодекс», ТОВ «Далк», Одеса, Україна	Грязьовий розчин для зовнішнього застосування у пластикових пляшках по 35 і 115 мл	Екстракт грязьовий Куяльницького бальнеогрязьового родовища	Володіє десенсибілізуючою, протизапальною та антисептичною дією, впливає на імунобіологічні та адаптогенні процеси
«Вулнузан», АТ «Sopharma», Софія, Болгарія	Мазь для зовнішнього застосування, у тубах по 45г	1 г мазі містить: стабілізований луг «Солілуг» 0,12 г – стандартизований розчин маточного луку Поморійського соляного озера <i>Допоміжні речовини:</i> олія рицинова, ланолін безводний, тілоза с-30, вода дистильована	Для лікування гнійних ран різного походження, глибоких абсцесів, трофічних виразок, лікування ерозій шийки матки, тріщин сосків молочних залоз
«Линимент бальзамический сапропелевый», ЗАТ «Сибирская органика», Омськ, РФ	Лінімент	Ксероформ, дьоготь сапропелевий, рицинова олія	Має місцеву подразнювальну дію, схожу на лінімент Вишневського

Додаток В
Сучасні препарати пелоїдів та їх похідних

Назва	Форма випуску	Склад
Кормові добавки (КД)		
Інститут природокористування Національної академії наук Білорусії, ОАО «Лельчицький агросервіс», Республіка Білорусь		
Сапропель для кормових добавок, сапропель озера Прибиловичі	Сухий сипкий зернистий порошок від сірого до темно-коричневого кольору	ГК
Сапропель для кормів органічний, сапропель озера Прибиловичі	Сипкий зернистий порошок від сірого до темно-коричневого кольору	ГК
Концентрат білково-вітамінно-мінеральний на основі сапропелю, сапропель озера Прибиловичі	Сухий сипкий зернистий порошок від сірого до темно-коричневого кольору	ГК
Сапропелеві КД, сапропель озера Прибиловичі	Гранули або порошок	ГК
Гумосил, біологічно-активна КД, збагачена селеном	Гранули або порошок	ГР і меланоїдини (65-70%), карбонові кислоти (15-20%), АК(2-4%), пектини (6-7%), селен(0,5-0,7мг/кг), йод (10,5-11,5мг/кг)
Гумоплюс — консервант вологого зерна, сапропель озера Прибиловичі	Гранули або порошок, на основі продуктів окислення торфу і карбіміда	Гумінові, органічні, фенолкарбонові к-ти
Компанія ЗАО «Респект» (ООО «Вега – 2000 – СО», Омськ, РФ)		
СапроСОРБ — КД, сорбент /адсорбент, сапропель озер Омської обл.	Гранули	АК: лізин, метіонин, треонін, жир, йод, сірка, марганець, зола, азот, кальцій, калій, фосфор, сирий протеїн, залізо, магній, цинк, мідь, натрій, віт. А,В ₂ ,В ₄ ,В ₁₂ ,С,Д,Е, сапропель, терм. оброблений
Органічні премікси на основі СапроСОРБ		
Премікс для вирощування, відгодівлі свиней, корів, курей несучок, бройлерів	Гранули	Сапропель, збагачений вітамінами і мікроелементами
Екстракт сапропелю озер Омської області	Розчин для внутрішнього та зовнішнього застосування	Дьогтьоподібні, іхтіолоподібні, гормоноподібні речовини, пептиди, ферменти, антиоксиданти, вітаміни Е, В ₁₂

Продовж. додатку В

1	2	3
Агропремікс, «Капітал-ПРОК», Москва, РФ		
Премікс-Мілк	Порошок	Макро- і мікроелементи, віт.А,Дз,Е, ніацин, L-лізин, сапропель, гумінова добавка, пробіотик <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Ruminococcus</i>
Премікси – концентрати «Кладезь 34 рецепта»	Порошок	Фосфат кальцію, природні цеоліти сапропель, вапняк, крейда, мука пшенична, висівки пшеничні, вітаміни, мікро-, макроелементи, АК, антиоксиданти, протимікробні і ферментні речовини
Гумівал, КД	Порошок	Продукт природного або синтетичного метаболізму лігніну до ГР
ООО «Екорост» (Рязанська область, РФ)		
«Екорост» - гумінова КД	Суспензія водна	Суспензія ГК, фульвокислот,
EXPERT-MEDICAL LTD., Угорщина		
Хумапол	Суспензія водна	Суспензія торфу, яка містить ГК
Хьюментех ГмбХ, Німеччина		
Гумінфід	Порошок гранульований	Гумат натрію, оксид натрію (12-13%)
«Фрея», Черкаська обл., Городище, Україна		
Гумат натрію КД «Фрея»	Порошок	Гумат натрію
ТОВ «Агрофірма Гермес», Україна [1]		
Гумісол – Т2	Розчин	ГК та їх солі, лактобактерії, біфідобактерії, <i>Bacillus subtilis</i>
Ветеринарні препарати		
Ентеросорбент ЕСТ-1 (НДІ аграрних проблем Хакасії СВ РАМН і Сибірський НДІ торфа СВ РАМН, Томськ, РФ)	Порошок світлокоричневого кольору з в'язким смаком	Комплекс вітамінів, мінеральних і ГР, пробіотики <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Ruminococcus albus</i>
Гувітан-С (Guvitan-С) («Аріадна», Єкатеринбург, РФ)	Розчин для внутрішнього застосування	Натрієві солі ГК, гематомеланові, фульвокислоти, АК пептиди, полісахариди, кальцій, фосфор, ферменти
Лігфол (Всеросійський НИВИ патології, фармакології і терапії разом з ТОВ «Лігфарм», РФ)	Розчин для ін'єкцій, рідина темно-коричневого кольору	бутанольна фракція ГК - від 5,6 мг до 6,9 мг; допоміжні речовини: натрію дифосфат, натрію хлорид, вода д/ін'єкцій.

Продовж. додатку В

1	2	3
Ферростим (Північно-Кавказький зональний НДІ, Новочеркаськ, РФ)	Порошок, продукт переробки торфу	БАР, аміно-, ГК, фульвокислоти, залізо
Гумадапт (ЗАТ «СИГУМ», РФ)	Розчин, продукт переробки торфу	конц. розчин гумінових сполук
Гумітон (ДНУ Сибірський НДІ сільського господарства і торфа Сибірського відділення Россільгоспакадемії, Томськ, РФ)	Розчин, препарат на основі торфу	ГК і фульвокислоти; карбонові кислоти, 16 АК, до 40 макро- і мікроелементів, віт. В, А, Е, солі орган. кислот, спирти, феноли
Екстракт сапропелю ЕС-2 рідкий (ТОВ «Вега – 2000 – СО», Омськ, РФ)	Розчин, отриманий шляхом екстрагування сапропелю	Розчин гумінових сполук

Додаток Г

Склад масок сапропелевих

Компонент	Кількість, %	Функціональне призначення, дія
1	2	3
Сапропаста	80-90	Нормалізує лімфо- і кровообіг, зміцнює судинну стінку, підвищує кисневий обмін в клітинах, живить, зволожує, має антибактеріальну, протизапальну, регенерувальну і антиоксидантну дію
маска-обгортання для тіла «Антицелюлітна»		
Екстракт какао	1,0-2,0	Сприяє розщепленню жирової тканини
Екстракт кропиви (плюща)	1,0-2,0	Кремнійвмісна сполука, усуває фіброз, розростання жирової тканини
Екстракт каштану або гінкго-білоба	1,0-2,0	Усуває набряк, покращує кровообіг
Олія зародків пшениці	0,5-1,0	Стимулює обмінні процеси, має протизапальну, ранозагоювальну, антицелюлітну дію
Олія абрикосова (кісточкова)	1,0-2,0	Має протизапальну, регенерувальну і тонізуючу дію
Олія ефірна апельсину (або грейпфруту)	0,05-1,0	Тонізує, стимулює кровообіг; покращує запах
маска для обличчя і тіла ліфтингової дії		
Екстракт алое	1,0-2,0	Біогенний стимулятор, регулює обмінні процеси
Натрію гіалуронат	0,05-0,1	Має зволожувальні і пом'якшувальні властивості; утворює на поверхні шкіри плівку, яка вирівнює мікрорельєф; відновлює водний баланс шкіри і волосся, запобігає їх зневодненню
Олія авокадо (або жожоба)	0,5-2,0	Зміцнює клітинні мембрани, володіє антиоксидантним ефектом, стимулює процеси регенерації і метаболізму
Протеїни пшениці (або сої)	0,1-0,5	Має зволожувальні і пом'якшувальні властивості; утворює на поверхні шкіри плівку, яка за складом співпадають з білками волосся і шкіри людини
Олія ефірна лимону (або шавлії)	0,05 - 0,1	Уповільнює процеси старіння, запобігає появі зморшок, стимулює ріст нових клітин шкіри, підвищує тонус шкіри обличчя, відбілює/покращує регенерацію дерми
маска грязьова проблемної шкіри, попередження вугрової хвороби		
Каолін	1,0-3,0	Справляє підсушувальну, адсорбувальну, в'язучу і себорегулювальну дію, стимулює утворення колагену, посилює бактерицидну дію
Цинку оксид	1,0-3,0	Протизапальний місцевий засіб з підсушувальною, адсорбувальною, в'язучою та антисептичною дією
Екстракт квітів ромашки (деревию, нагідок, меліси)	0,5-1,0	Мають протимікробну, протизапальну, протиалергічну, болезаспокійливу, протисвербіжну і пом'якшувальну дію на шкіру, нормалізують і покращують кровообіг в шкірі, стимулюють живлення волоссяних цибулин і нігтьових пластинок, зменшують ламкість волосся

Продовження додатку Г

1	2	3
Алantoїн	0,2-0,5	Має кератолітичну дію, сприяє клітинній регенерації шкіри, швидкому загоєнню ран і тріщин, усуває подразнення
Триклозан	0,2-0,3	Антибактеріальний та протигрибковий засіб широкого спектра дії щодо грам-позитивних та грам-негативних бактерій, а також грибів
Олія ефірна чайного дерева	0,1-0,3	Застосовується при вугровій хворобі як антисептик для догляду за жирною, проблемною шкірою, схильною до вугрових висипань
маска для волосся та волосяної частини голови при себорей та перхоті		
Екстракт череди	0,5-1,0	Протизапальний, антиалергічний засіб, прискорює загоєння шкіри, застосовується при гнійних запальних процесах - вугровій висипці, при ранах, що не загоюються, фурункулах, карбункулах, опіках, трофічних виразках; при алергічних захворюваннях шкіри - діатезі, себорей, псоріазі, екземі
Екстракт кропиви	0,5,-1,0	Зміцнює та відновлює структуру волосся
Екстракт лопуха	0,5-1,0	Прискорює ріст волосся, допомагає позбавитись від перхоті
Екстракт айру	0,5-1,0	Подразнює чутливі рецептори при зовнішньому застосуванні, сприяє розширенню кровоносних судин шкіри, зміцненню волосся і швидкому їх росту
Олія ефірна чайного дерева	0,2-0,3	Антисептик, для догляду за жирною, проблемною шкірою
маска для волосся та волосяної частини голови «Укріплююча»		
Екстракт хмелю	0,5-2,0	Покращує обмінні процеси в епідермісі, запобігає появі лупи і випадінню волосся, відновлює ліпідний бар'єр волосся і шкіри голови
Екстракт кропиви	0,5-2,0	Зміцнює і стимулює ріст волосся
Екстракт лопуха	1,0-2,0	Усуває лупу, відновлює бар'єрну функцію шкіри, усуває запальні процеси, покращує функцію сальних залоз
Витяжка перцю (Red Pepper Extract)	0,5-1,0	Покращує кровообіг та активізує обмін речовин, стимулює ріст волосся
Олія ефірна розмарину, (або сосни, іланг -ілангу бергамоту)	0,05-0,1	Відновлюють структуру волосся за рахунок стимулювальної дії на волосяні цибулини
Рицинова олія	1,0-2,0	Відновлює структуру волосся, забезпечує зволожуючий ефект на волосся і шкіру голови
Реп'яхова олія	1,0-2,0	Усуває свербіж, сухість і подразнення шкіри голови; лупу; відновлює структуру волосся після фарбування; надає блиск і еластичність волоссю
маска для шкіри рук та нігтів		
Гліцерин	1,0-5,0	Зволожує та пом'якшує шкіру

Продовження додатку Г

1	2	3
Олія абрикосова (або зародків пшениці)	1,0-2,0	Інтенсивно живлять, пом'якшують шкіру усувають сухість і лущення, прискорює процес регенерації відмерлих шарів шкіри; сприяє зміцненню нігтів (стимулює обмінні процеси в шкірі, покращує її стан, володіє протизапальним, ранозагоювальним ефектом)
Екстракт ромашки або нагідок	0,5-1,0	Зволожує, живить та стимулює регенерацію шкіри, знімає напруження та покращує мікроциркуляцію шкіри/ усуває запальні процеси, пришвидшує регенерацію шкіри та стимулює обмін речовин в клітинах, захищає шкіру рук від розтріскування
Токоферолу ацетат (вітамін Е)	0,02-0,1	Антиоксидант, підвищує тургор та розгладжує шкіру
Олія ефірна лимону (або вербени, шавлії, мирри)	0,05-0,1	Ефірна олія лимону – уповільнює процеси старіння, запобігає появі зморшок, стимулює ріст нових клітин шкіри, підвищує тонус шкіри, відбілює/ ефірна олія шавлії – покращує регенерацію дерми (шкіри), олія ефірна вербени – має антисептичну дію; покращує мікроциркуляцію, відновлює тканини після ударів, гематом, розтягнень, переломів; розгладжує шкіру, тонізує, усуває в'ялість, підтягує шкіру/ олія ефірна мирри – запобігає старінню шкіри, омолоджує, підтягує і усуває зморшки; регенерує, сприяє загоєнню ран і виразок, алергічних і нейро-гуморальних дерматитів
Д-пантенол	0,2-0,5	Усуває садна, опіки, тріщини; володіє захисною та регенерувальною дією на нігтьові пластини та сприяє відновленню ушкодженої кутикули
Маска грязьова для ніг «Розслабляюча»		
Екстракт насіння кінського каштану	2,0-5,0	Усуває втому, роздратування з ніг і перешкоджає виникненню набряків, тонізує
Екстракт листя евкаліпту	0,5-1,0	Антисептик
Екстракт квітів ромашки	0,5-1,0	Має протимікробну, протизапальну, болезаспокійливу дію, покращує кровообіг в шкірі, чинить протисвербіжну і пом'якшувальну дію на шкіру
Олія ефірна м'яти	0,05-0,1	Характеризується дезінфікуючими, протимікробними, бактерицидними властивостями; усуває набряк та запалення, заспокоює роздратовану шкіру, охолоджує і тонізує
Еуксил К 100	0,05-0,1	Консервант
Нізин	0,005-0,01	Консервант
Вода	До 100,0	Розчинник, регулятор в'язкості

Додаток Д
Список публікацій здобувача
Статті у наукових фахових виданнях

1. Струс О. Є., Половко Н. П., Малоштан Л. М., Яценко Е. Ю. Дослідження протизапальних та репаративних властивостей екстрактів сапропелю родовища Прибич. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2014. Вип. 23, кн. 4. С. 392–398. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

2. Струс О. Є., Половко Н. П., Малоштан Л. М., Осолодченко Т. П. Дослідження властивостей сапропелю родовища Прибич. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології* : зб. наук. пр. 2014. № 3(123). С. 169–173. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

3. Струс О. Є. Дослідження карбонових кислот сапропелю методом хромато-мас-спектроскопії. *Збірник наукових праць НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24(5). С. 228–233.

4. Струс О. Є. Дослідження амінокислотного складу сапропелю методом капілярного електрофорезу. *Вісник фармації*. 2015. № 2 (82). С. 12–16.

5. Струс О. Є. Маркетингові дослідження лікарських та косметичних засобів на основі лікувальних грязей (пелоїдів). *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2015. № 1(39). С. 59–67.

6. Струс О. Є., Половко Н. П. Дослідження технологічних властивостей сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24, кн. 4. С. 336–340. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

7. Strus O. Y. Study of sapropel extracts from Prybych natural deposits. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015. № 7(6). P. 133–137.

8. Струс О. Є., Половко Н. П. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 26. С. 266–271. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

9. Струс О. Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою. *Вісник фармації*. 2016. № 3 (87). С. 51–54. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

10. Струс О. Є., Половко Н. П., Філіпська А. М., Рехлецька О. В. Розробка складу і технології мила з сапропелем. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 35–41. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

11. Струс О. Є. Аналіз досвіду використання сапропелів у медицині та косметології. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2018. Т. 13, № 4. С. 77–88.

12. Strus O. Y., Polovko N. P., Smetanina K. I. Marketing aspects of the development of veterinary preparations based on peloids and products of their processing. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2019. Т. 5, № 2. С. 75-84. (Особистий внесок: формулювання мети, узагальнення даних, підготовка публікації).

13. Strus O., Polovko N. Study of the sapropel extract influence on the main biochemical and hematological blood indices of rats. *The Pharma Innovation*. 2019. № 8 (7). P. 47–52. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

14. Strus O., Polovko N., Ostapiv D., Kuzmina N. Study of the toxicity of drugs with sapropel extracts and the testing of the cream effectiveness. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. № 32. P. 37–42. (Особистий внесок : формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

15. Струс О. Є., Половко Н. П. Методологія розробки та стандартизації лікарських, ветеринарних та косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів його переробки. *Клінічна фармація*. 2019. Т. 23, № 4. С. 52–62. (Особистий внесок: формулювання мети, узагальнення даних, підготовка публікації).

16. Strus O. Y., Polovko N. P., Shatalova O. M. Study of Anti-Inflammatory Activity of Creams with Sapropel Extract. *Saudi J. Med. Pharm. Sci.* 2019. № 5(8). P. 740–744. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

17. Струс О.Є., Половко Н.П., Стрельников Л.С. Вивчення ефективності антимікробних консервантів у гелях з екстрактом сапропелю. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. №4(61). С. 4 – 8. URL: <https://doi.org/10.24959/ubphj.19.240>. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

18. Strus O., Polovko N., Plaskonis Y. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147 – 150. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

19. Strus O. Y., Polovko N. P., Yezerska O. Y. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення

експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

20. Strus O. Y. Justification of composition of the cream with sapropel extract. *International Journal of Green Pharmacy*. 2019. № 13(1). P. 42–47.

21. Strus O., Polovko N., Maloshtan L., Shakina L. Study of anti-inflammatory activity of medicinal products with sapropel extract on the model of acute photodynamic skin injury in rats'. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2020. Vol. 13, № 9. P. 4381–4386. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

22. Струс О. Є. Исследования по разработке масляных экстрактов сапропеля. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 50–58.

23. Strus O., Polovko N. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. № 9(3). P. 209–224. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

24. Strus O., Polovko N. The influence of «Saprogel» in the wound healing process on rats with a full-thickness wound model. *Čes. slov. Farm.* 2020. № 69. P. 75–82. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

25. Strus O., Polovko N. Intensity Of Protein Oxidative Modification's Processes In The Dynamics Of A Full Thickness Wound Healing In Pharmacotherapy By Gel With Sapropel Extract. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2020. № 11 (3). P. 73–81. URL: <https://doi.org/10.33887/rjpbcs/2020.11.3.8> (Date of access: 25.08.2020) (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

Патенти

26. Косметична сапропелева маска : пат. (на винахід) 114262 Україна. № а 2016 07575 ; заявл. 11.07.2016; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9, 8 с. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, розробка складу і технології сапропасти та масок, підготовка формули та опису до патенту).*

27. Лікувально–профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин : пат. (на винахід) 121449 Україна. № 201906003 ;заяв. 31.05.2019; опубл. 25.05.2020, бюл. № 10, 4 с. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, розробка складу і технології препарату, підготовка формули та опису до патенту).*

28. Косметична сапропелева маска : пат. (на корисну модель) 113942 Україна. № u 201607573; заявл. 11.07.2016; опубл. 27.02.2017, бюл. № 4, 6 с. *(Особистий внесок: планування патентного пошуку, розробка складу і технології сапропасти та масок, підготовка формули та опису до патенту).*

29. Піномийний засіб «Антибактерійне мило з сапропелем» пат. (на корисну модель) 127142 Україна. № u 2017 09363; заявл. 25.09.2017; опубл. 25.07.2018, бюл. № 14, 4 с. *(Особистий внесок : планування патентного пошуку, розробка складу і технології піномийного антибактерійного засобу із сапропелем, підготовка формули та опису до патенту).*

30. Лікувально-профілактичний крем з екстрактами сапропелю для вимені сільськогосподарських тварин: пат. (на корисну модель) 138026 Україна. № u 2019 06004; заявл. 31.05.2019; опубл. 11.11.2019, бюл. № 21, 4 с. *(Особистий внесок : планування патентного пошуку, розробка складу і технології препарату, підготовка формули та опису до патенту).*

31. Протизапальний засіб у вигляді гелю з екстрактом сапропелю : пат. (на корисну модель) 139685 Україна. № u 201907612; заявл. 08.07.2019; опубл. 10.01.2020, бюл. № 1, 4 с. *(Особистий внесок : планування патентного пошуку, розробка складу і технології препарату, підготовка формули та опису до патенту).*

Публікації в інших виданнях

32. Струс О. К вопросу о стандартизации сапропеля. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции* : сб. науч. тр. 2015. Вып. 70. С. 189-193.

33. Струс О. Е., Половко Н. П. Современное состояние и перспективы использования сапропелей и их препаратов в ветеринарной практике. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality* : scientific proceedings of the international network AgroBioNet of the institution and researcher of international research, education and development programme «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality». Part II. Nitra, 2015. P. 633–636. (Особистий внесок: формулювання мети, проведення літературного пошуку, узагальнення отриманих результатів, участь у підготовці публікації).

34. Струс О. Є., Половко Н. П. Визначення гематологічних показників крові щурів при дослідженні показників токсичності екстракту сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : вид-во НФаУ, 2016. С. 582–585. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

35. Струс О. Є., Стрілець О. П., Половко Н. П. Дослідження антимікробної активності мила з сапропелем. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук.пр. 2017. Вип. 2. С. 186–188. (Особистий внесок : формулювання мети, участь у плануванні експерименту, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

36. Strus O., Babov K., Gushcha S., Polovko N., Nasibullin B., Polshchakova T. Toxicological and biological assessment of the effect of sapropel of the Prybych lake during cutaneous application in rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020. № 10. 8(A). P. 633-638. URL: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.4743> (Date of access: 07.11.2020). (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його

проведенні, приготування зразків препаратів, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).

37. Babov K., Gushcha S., Koieva K., Strus O., Nasibulin B., Dmitrieva G., Arabadji M., Plakida A. Comparative assessment of biological activity of peloids of Ukraine of different genesis. *Balneo Research Journal*. 2020. Vol.11, No. 4. P. 467–471 DOI:<http://dx.doi.org/10.12680/balneo.2020.380>. *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації).*

Тези доповідей

38. Струс О. Є., Коноваленко І. С. Перспективи використання сапропелю Шацьких озер. *Теоретичні і практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали 1-ї наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 20-21 берез. 2014 р. Харків, 2014. С. 158. *(Особистий внесок: формулювання мети, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

39. Strus O. Y., Konovalenko I. S., Polovko N .P. Research sapropel's property in medicine. *Plantsin Pharmacy&Nutrition: the Intern. Young Scientists Symp.*, Wrocław, 30 maja 2014. Wrocław, 2014. P. 117. *(Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

40. Strus O. Y., Konovalenko I. S., Polovko N. P. Research sapropel's property of the pribich. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали XXI міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, м. Харків, 22-23 квіт. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 93. *(Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

41. Струс О. Є. Визначення токсичності сапропелю. *Актуальні питання розвитку медичних наук у ХХІ ст.* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Львів, 30-31 трав. 2014 р. Львів, 2014. С. 91-94.

42. Струс О. Є. Фармакологічне обґрунтування перспектив використання сапропелю, видобутого з озера Прибич Шацького району Волинської області, в медицині та косметології. *Пріоритети розвитку медичних наук у XXI столітті* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 18–19 квіт. 2014 р. Одеса, 2014. С. 19-24.

43. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Дослідження хімічного складу сапропелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : матеріали IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16-17 жовт. 2014 р. Харків, 2014. С. 283. (*Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

44. Струс О.Є., Половко Н.П. Дослідження ринку косметичних засобів на основі сапропелю. *Хімія, Біотехнології, Нанотехнології, Екологія і Економіка в харчовій і косметичній промисловості*: матер. Міжнар. науково-практ. конф.; м. Харків, 8-10 грудня 2014 р. Харків, 2014. С. 112-114. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

45. Струс О.Є., Половко Н.П., Коноваленко І.С. Маркетингові дослідження лікарських засобів на основі лікувальних грязей та грязеподібних речовин. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матер. I Міжнар. наук.-практ. інтернет - конф., м. Харків, 7-8 листопада 2014 р. Харків, 2014. С. 163. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

46. Strus O. Y., Polovko N. P. Study of antibacterial activity of sapropel extract from Prybych deposits. *Looking towards the future, honoring the past: abstract book of 3rd International conference on pharmaceutical sciences*, Tbilisi, May 29–31 2015. Tbilisi, 2015. P. 152. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

47. Струс О. Є., Половко Н. П. Стандартизація водного екстракту сапропелю. *Аналітична хімія у фармації: матеріали Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 19-20 берез. 2015. Харків, 2015. С. 102-103. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

48. Струс О. Є., Половко Н. П. Обґрунтування складу косметичних засобів на основі сапропелю родовища Прибич Шацьких озер. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 20–21 лют. 2015 р. Одеса, 2015. С. 10–13. (Особистий внесок: формулювання мети, участь у проведенні експерименту, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

49. Konovalenko I. S., Procopets S. V., Strus O. E., Polovko N.P. Sapropel - The perspective raw material for medicines and cosmetics. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матер. Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 23 квітня 2015 р. Харків, 2015. С. 199. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

50. Струс О. Е., Половко Н. П. Изучение фракционного состава сапропеля. *Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику : материалы 10 науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междунар. участием, г. Душанбе, 24 апр. 2015. Душанбе, 2015. С. 362–363. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

51. Струс О.Е., Прокопец С.Ю., Половко Н.П. Изучение технологических свойств сапропеля. *Студенческая медицинская наука XXI века: материалы 67 научно-практической конференции ВГМУ, г. Витебск, 24-25 апреля 2016 г. Витебск, 2016. С. 67. (Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез).*

52. Струс О. Є., Половко Н. П. Визначення загальних показників хімічного складу та мікроелементів сапропелю родовища Прибич. *Досягнення медичної*

науки як чинник стабільності розвитку медичної практики : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13-14 берез. 2015 р. Дніпропетровськ, 2015. С. 96 – 100. (*Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

53. Струс О. Е., Половко Н. П. Изучение влияния метода и скорости эмульгирования на стабильность крема с экстрактом сапропеля. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации* : материалы респуб. науч.–практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 379 – 381. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

54. Струс О. Є., Половко Н. П. Опрацювання технології крему з екстрактом сапропелю. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 6-ої наук.–практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 157. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

55. Струс О. Є., Половко Н. П., Коноваленко І. С. Обґрунтування введення консерванту в крем з екстрактом сапропелю. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали 2-ої Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. Харків, 2016. С.232. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

56. Струс О. Є., Половко Н. П. Розробка складу основи крему з екстрактом сапропелю. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку*: матеріали 1-ої наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24–25 берез. 2016 р. Харків, 2016. С.84. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез*).

57 Струс, О. Є. Розробка складу крему із екстрактом сапропелю. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13 – 16 верес. 2016 р. Харків, 2016. С. 283. *(Особистий внесок: формулювання мети, участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез)*.

58. Струс О. Е. Использование средств на основе пеллоидов в ветеринарной фармации. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации*: материалы респуб. науч.-практ. конф. с междунар. участием, г. Ташкент, 17-18 ноября 2017 г. Ташкент, 2017. С. 155 – 156. *(Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та його проведенні, узагальнення отриманих результатів, підготовка тез)*.

Продовж. дод. Д

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. I й II науково-практичних інтернет-конференціях «Теоретичні і практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2014 р., 2016 р.; форма участі – публікація тез);

2. Міжнародному симпозиумі молодих вчених «Plants in Pharmacy & Nutrition» (Вроцлав, 2014 р.; форма участі – публікація тез);

3. XXI Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2014 р. форма участі – публікація тез);

4. Міжнародній наук.-практ. конференції «Актуальні питання розвитку медичних наук у XXI ст.» (Львів, 2014 форма участі – публікація тез);

5. Міжнародній науково-практичній конференції «Пріоритети розвитку медичних наук у XXI столітті» (Одеса, 2014 форма участі – публікація тез форма участі – публікація тез);

6. IV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2014 р.; форма участі – публікація тез);

7. II Міжнародній науково-практичній конференції «Хімія, Біо- та Нанотехнології, Екологія і Економіка у Харчовій та Косметичній Промисловості» (Харків, 2014 р.; форма участі – публікація тез);

8. I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2014 р.; форма участі – публікація тез);

9. III Міжнародній конференції з фармацевтичних наук «Looking towards the future, honoring the past» (Тбілісі, 2015 р.; форма участі – публікація тез);

10. Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 2015 р.; форма участі – публікація тез);
11. Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства» (м. Одеса, 2015 р.; форма участі – публікація тез);
12. Міжнародній науково-практичній конференції «Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики» (Дніпропетровськ, 2015 р.;);
13. 67 науково-практичній конференції ВДМУ «Студенческая медицинская наука XXI века» (Вітебськ, 2015 р.; форма участі – публікація тез);
14. 10 науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених і студентів ТДМУ імені Абуалі ібні Сіно «Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику» (Душанбе, 2015 р.; форма участі – публікація тез);
15. VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016 р.; форма участі – усна оповідь, публікація тез);
16. VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2016 р.; форма участі – публікація тез);
17. I науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (Харків, 2016 р.; форма участі – публікація тез);
18. Республіканських науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 2016 р., 2017 р.; форма участі – публікація тез)

Додаток Е



**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ
ГОЛОВНЕ УПРАВЛІННЯ ДЕРЖПРОДСПОЖИВСЛУЖБИ У ВОЛИНСЬКІЙ ОБЛАСТІ
ВОЛИНСЬКА РЕГІОНАЛЬНА ДЕРЖАВНА
ЛАБОРАТОРІЯ ДЕРЖАВНОЇ СЛУЖБИ УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ
ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ**

43020, Волинська обл., м. Луцьк, вул. Поліська Січ, 12, тел. (0332) 246 407ф., 246 358, 246 362, e-mail: yrdlvm@i.ua,
р/р 35227292005928 в Державна казначейська служба України м. Київ, МФО 820172, ЄДРПОУ 00692682

02.11.2018 р. № 3535
(дата і номер реєстрації)

атестована у державній метрологічній системі
свідомство про атестацію № 45-006/2014

Звіт про результати дослідження біологічного матеріалу

№ 3535 від «07» листопада 2018р.

Кому: Директору ТзОВ «УА Грунт» В.Я. Мудрику

Адреса: м. Луцьк, Волинська область, ТзОВ «УА Грунт»

На № супровідної б/н від: 02.11.2018 р.

Дата отримання матеріалу: 02.11.2018 р.

Опис та стан зразка, що надіслано на дослідження: придатний для дослідження

Перелік матеріалу, що надсилається: Ізразок стимулятора росту рослин «Сапрогум».

Що надіслано на дослідження: Патогенні мікроорганізми, в т.ч. сальмонели; нематодози, вірус гепатиту типу А, залишки пестицидів.

Належать: ТзОВ «УА Грунт»

Проведено дослідження: **бактеріологічне, паразитологічне, вірусологічне, хіміко-токсикологічне (за методами див. таблицю).

Дата проведення дослідження: 02.11.2018р. – 07.11.2018р.

Результат дослідження:

Найменування показника	Результати досліджень	Позначення НД на метод випробувань
Патогенні мікроорганізми, в т.ч. сальмонели в 25,0 г	Не виділено	ISO 6579-1:2017
Нематодози	Не виділено	Метод Романенко Н.А.
Вірус Гепатиту типу А	Не виділено	ІФА-метод
ГХЦГ (гамма - ізомер), мг/дм ³	Не виявлено (<0,003)	РІ Ф 5.4-01
Гептахлор, мг/дм ³	Не виявлено (<0,003)	РІ Ф 5.4-01
ДДС, мг/дм ³	Не виявлено (<0,003)	РІ Ф 5.4-01
ДДД, мг/дм ³	Не виявлено (<0,003)	РІ Ф 5.4-01
ДДТ, мг/дм ³	Не виявлено (<0,003)	РІ Ф 5.4-01
Хлорофос, мг/дм ³	Не виявлено (<0,01)	МВ 3222-85
Метафос, мг/дм ³	Не виявлено (<0,01)	МВ 3222-85
Карбофос, мг/дм ³	Не виявлено (<0,01)	МВ 3222-85
Базудин, мг/дм ³	Не виявлено (<0,01)	МВ 3222-85

Примітка: ***

Директор

Відповідальні виконавці:

Зав. відділами

МП.



К.А. Шкварка

О.П. Бойко

В.Г. Коцюбинський

Л.Я. Максименко

П.І. Жила

Цей звіт про результати дослідження не може бути відтворений, тиражований та розповсюджений, повністю чи частково, як офіційний документ без дозволу керівництва установи

* - знак акредитації застосовується лише до акредитованих методик дослідження

** - за допомогою яких методів та приладів проведено дослідження

*** - рекомендації, пропозиції, зауваження

Результати стосуються тільки зразків, що пройшли випробування

Додаток Є



МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ
 ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
 «ІНСТИТУТ ОХОРОНИ ҐРУНТІВ УКРАЇНИ»
 ВОЛИНСЬКА ФІЛІЯ ДУ «Держґрунтохорона»
 вул. Глушеч, 49, м. Луцьк, 43010 тел. факс (0332) 78-59-45, 78-32-92



211245
 ДСТУ ISO/IEC 17025



ПРОТОКОЛ № 1288
ВИПРОБУВАНЬ ЗРАЗКІВ
 від „7” листопада 2017 року

Зразок 1288
Сапрозем (Sapropel)

найменування продукції
 ТОВ „Зендер-Україна”, м. Луцьк вул. Шевченка, 35

назва та адреса замовника

по представленому зразку

партія продукції / га

01.11 - 7.11.2017 р.

дата одержання зразка та проведення випробувань

Мета випробувань: визначення показників радіологічного забруднення

Результати випробувань:

Найменування показників	Результати випробувань	НД на методи випробувань
Цезій-137, Бк/кг	менше 2,5	МВИ AkWin- Київ, 2011

Не для кримінальних справ

Примітка: 1. Протокол випробувань стосується тільки зразків, підданих випробуванням.

2. Протокол випробувань не підлягає повному або частковому передрукуванню без дозволу випробувального центру.

Відповідальні виконавці:

Провідний фахівець

Цісе М.М.

Додаток Ж



Продовж. додатку Ж



Продовж. додатку Ж



Продовж. дод. Ж



Продовж. дод. Ж



Додаток 3

ДКПП 20.42.1

УКНД 71.100.70

ПОГОДЖЕНО
Міністерство охорони
здоров'я України
висновком державної санітарно-
епідеміологічної експертизи
від « 30 » 03 2016 року
№ 05.03.02-07/10351



ЗАТВЕРДЖУЮ
ФОП І.О.Середюк
03 2016 р.

САПРОПЕЛІ НАТУРАЛЬНІ КОСМЕТИЧНІ

ТЕХНІЧНІ УМОВИ
ТУ У 20.1-2870305538-004:2016



(Уведено вперше)
Дата надання чинності " 30 " 03 2016 р.
Чинні без обмеження терміну чинності
РОЗРОБЛЕНО



ФОП І.О.Середюк
01.03 2016 р.

Професор кафедри
аптечної технології
ліків ім.Д.П.Сала
НФаУ, д.фар.н.
Н.П.Половко
01.03 2016 р.

Асистент кафедри
технології ліків і
біофармації ЛНМУ
ім. Данила Галицького, к.фарм.н.
О.Є.Струс
01.03. 2016 р.



003784

Продовж. додатку 3

ДКПП 20.42.1

УКНД 71.100.70

ПОГОДЖЕНО

Державна служба з питань
безпеки харчових продуктів
та захисту споживачів

Висновок державної санітарно-
епідеміологічної експертизи

від 02.01 2020

№ 12.2-18-2/30

ЗАТВЕРДЖУЮ

Фізична особа-підприємець

Середюк Ігор Олександрович

І.О.Середюк

2019

**ЗМІНА №1**

ТУ У 20.1-2870305538-004:2016

САПРОПЕЛІ НАТУРАЛЬНІ КОСМЕТИЧНІ ТА ЗАСОБИ З НИХ
ТЕХНІЧНІ УМОВИ

Дата надання чинності 27.12. 2019

**РОЗРОБЛЕНО**

Фізична особа-підприємець

Середюк Ігор Олександрович

І.О.Середюк

24 12 2019



Професор кафедри аптечної технології

лікв. НФаУ

Н.П.Половко

24 12 2019

[Signature]

Доцент кафедри технології ліків і
біофармації ЛНМУ ім.Данила Галицького,

к.фарм.н.

О.Є.Струс

24 12 2019

[Signature]



003784/01

Додаток И



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА САНІТАРНО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА СЛУЖБА

ЗАТВЕРДЖУЮ

ДЕРЖАВНА САНІТАРНО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА
СЛУЖБА УКРАЇНИ
(назва установи)
вул. Грушевського, 7, м. Київ, 01601
(місцезнаходження)
253-94-84, 559-29-88



С.В. Протас

Висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи

від 30.03 2016р.№ 05.03.02-07/ 10351

Проект технічних умов ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 "Сапропелі натуральні косметичні"
(об'єкта експертизи, виготовлений у відповідності ТУ, ДСТУ, ГОСТ)

код за ДКПП: 20.42.1

(код за ДКПП, артикул)

Поширюються на сапропелі натуральні косметичні, які вироблені із типових відкладів прісноводних водоем, що складаються із залишків водних організмів і продуктів їх розкладу - водоростей, тварин, вищих рослин та містять біологічно активні речовини, комплекс макро- та мікроелементів
(сфера застосування та реалізації об'єкта експертизи)

ФОП Сердюк І.О., Україна, 43024 м. Луцьк, вул. В. Чорновола, 10/5, код ЄДРПОУ: 2870305538
(країна, розробник, адреса, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

ФОП Сердюк І.О., Україна, 43024 м. Луцьк, вул. В. Чорновола, 10/5, код ЄДРПОУ: 2870305538
(заявник експертизи, адреса, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

За результатами державної санітарно-епідеміологічної експертизи Проект технічних умов ТУ У 20.1-2870305538-004:2016 "Сапропелі натуральні косметичні" відповідає вимогам діючого санітарного законодавства України і може бути погоджений (затверджений)

Висновок дійсний до: без обмеження терміну чинності

При внесенні змін до нормативного документа щодо сфери застосування, умов застосування об'єкта експертизи даний висновок втрачає силу.

Львівський національний медичний університет
ім. Данила Галицького

м. Львів, вул. Пекарська, 69; 79010, тел.: 8(032)
260-30-66 8(032) 260-32-44
(найменування, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

Протокол експертизи

№ 196 від 22.03.2016р.
(№ протоколу, дата його затвердження)

Заступник голови експертної комісії

Кузьмінов Б.П.

Продовж.дод. И



**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ
БЕЗПЕЧНОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ**

вул. Б. Грінченка, 1, м. Київ, 01001, тел. 279-12-70, 279-75-58, факс 279-48-83,

e-mail: info@consumer.gov.ua



ЗАТВЕРДЖУЮ

Т.в.о. Голови Держпродспоживслужби

О.П.Шевченко

ВИСНОВОК

державної санітарно-епідеміологічної експертизи

від "02" "01" 2020 року

№ 12.2-18-2/ 30

Найменування об'єкта експертизи: Зміна №1 до технічних умов ТУ 20.4-2870305538-004:2016 "САПРОПЕЛІ НАТУРАЛЬНІ КОСМЕТИЧНІ ТА ЗАСОБИ З НИХ. ТЕХНІЧНІ УМОВИ".

виготовлений згідно з: —

(ТУ, ДСТУ, ГОСТ)

Код за ДКПП: 20.42.1

Сфера застосування та реалізації об'єкта експертизи: нормативний документ поширюється на сапропель натуральний косметичний, пасту сапропелеву, сухий сапропель, екстракт сапропелевий вироблені з типових відкладів прісноводних водоем та призначені для реалізації підприємствами торговельної мережі, косметичним салонам, перукарням, виробникам косметичних засобів.

Розробник: ФОП І.О.Середюк Україна, 43024, м. Луцьк, вул. В.Чорновола 10/5, код за ЄДРПОУ 2870305538

(адреса, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, веб-сайт)

Заявник експертизи: ФОП І.О.Середюк Україна, 43024, м. Луцьк, вул. В.Чорновола 10/5, код за ЄДРПОУ 2870305538

(адреса, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, веб-сайт)

За результатами державної санітарно-епідеміологічної експертизи:

Зміна №1 до технічних умов ТУ 20.4-2870305538-004:2016 "САПРОПЕЛІ НАТУРАЛЬНІ КОСМЕТИЧНІ ТА ЗАСОБИ З НИХ. ТЕХНІЧНІ УМОВИ"

(назва об'єкта експертизи)

відповідає вимогам безпеки для здоров'я і життя людини і може бути погоджена.

Висновок дійсний: на термін дії ТУ 20.4-2870305538-004:2016 "САПРОПЕЛІ НАТУРАЛЬНІ КОСМЕТИЧНІ ТА ЗАСОБИ З НИХ. ТЕХНІЧНІ УМОВИ"

Відповідальність за дотримання вимог цього висновку несе заявник.

Комісія з питань державної санітарно-епідеміологічної експертизи "Лабораторії промислової токсикології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького"

79010 м. Львів, вул. Пекарська, 69

тел. +38 (032) 260-09-06

<http://www.meduniv.lviv.ua>

Протокол експертизи

Заступник голови
експертної комісії



№ 908 від 19.12.2019 р.

(№ протоколу, дата його затвердження)

(підпис)

Кузьмінов Б.П.

(ініціали та прізвище)

Додаток I

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
СП «ФАРМАКО» АО,
МД – 2023, Республика Молдова,
г. Кишинев, ул. Вадул луй Водэ, 2
Сергей Колца
«05» сентября 2019 г.

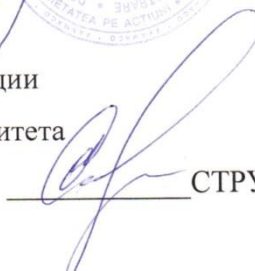
**АКТ
АПРОБАЦИИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ СХЕМЫ ПРОИЗВОДСТВА
Ветеринарное средство профилактическое и лечебное по уходу за
выменем крупного рогатого скота
«КРЕМ С ЭКСТРАКТАМИ САПРОПЕЛЯ»
В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Данный акт, устанавливает возможность внедрения и адаптации, а также, воспроизводимость параметров технологической схемы производства, средства для профилактического ухода и лечения, вымени крупного рогатого скота, под рабочим наименованием «СПРОКРЕМ», с использованием производственных мощностей и оборудования СП «ФАРМАКО» СА, Республика Молдова, г. Кишинев.

Начальник производства
СП «ФАРМАКО» АО


АРТЕМОВ В.

Доцент кафедры технологии лекарств и биофармации
Львовского национального медицинского университета
имени Данила Галицкого


СТРУС О.Е.

Продовж. додатку I

«УТВЕРЖДАЮ»

Сертификат регистрации, выданный Национальным Агентством
Общественного Здоровья при Министерстве Здравоохранения, Труда и
Социальной Защиты Республики Молдова

№ _____ от _____

Заявитель: СП «ФАРМАКО» АО, Республика Молдова

Производитель: СП «ФАРМАКО» АО, Республика Молдова

МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

(проект)

ветеринарное средства профилактического и лечебного назначения, по уходу
за выменем крупного рогатого скота

**«САПРОКРЕМ», крем по 100 г и 250 г в тубах полимерных или
флаконах**

SAPROCREAM, cream 100 g or 250 g

_____ № _____
На _____ от _____

Продовж. додатку I

УПАКОВКА

Крем. По 100 г или 250 г в полимерных тубах или флаконах, вместе с инструкцией по применению из бумаги этикеточной, согласно ГОСТ 7625-86, помещают в картонную почку, марки «хром-эрзац», согласно ГОСТ 1301-81 или ГОСТ 12303-80.

Групповая и транспортная тара в соответствии с ГОСТ 12301-2006.

МАРКИРОВКА

Первичная упаковка (туб/ этикетка флакона), вторичная и групповая упаковка, должна содержать следующую информацию для потребителя:

- Наименование, товарный знак и адрес производителя: Республика Молдова, г. Кишинев СП «ФАРМАКО» СА;

- Коммерческое наименование препарата: «САПРОКРЕМ» (на русском и английском языке);

- Область применения: Ветеринарное средство лечебного и профилактического ухода за выменем крупного рогатого скота;

- Качественный и количественный состав (активные и вспомогательные вещества);

- Особые указания: «Избегать контакта с глазами. В случае попадания в глаза, немедленно промыть большим количеством проточной воды. При необходимости обратиться к врачу»;

- Условия хранения: «Хранить при температуре ниже $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, в сухом, защищенном от света месте. Хранить в недоступном для детей месте. Не применять после истечения срока годности, указанного на упаковке»;

- масса нетто (в граммах);

- Номер регистрационного удостоверения: № ____ от ____;

- Номер серии: «Серия:»;

- Срок годности: «Годен до:»

- Штрих-код.

Транспортная маркировка, согласно ГОСТ 14192-96, ДСТУ ИСО 780-2001.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЕ

В сухом, защищенном от света месте при температуре $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

СРОК ГОДНОСТИ

2 года.

Директор

СП «ФАРМАКО» АО

Сергей Колца

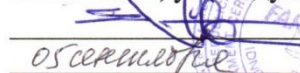
«05» сентября 2019 г.

Продовж. додатку I

СП «ФАРМАКО» АО»

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор СП «ФАРМАКО» АО,
МД – 2023 Республика Молдова,
г. Кишинев, ул. Вадул луй Водэ, 2

 Сергей Колца
20 19 г.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОМЫШЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ

По производству ветеринарного средства профилактического и лечебного
назначения, по уходу за выменем крупного рогатого скота

**«САПРОКРЕМ», крем по 100 г и 250 г в тубах полимерных или
флаконах**

ТПР _____

Срок действия до « ____ » _____ 20 ____ г.

«СОГЛАСОВАНО»

Ректор «Львовского национального
медицинского университета

им. Данила Галицкого»

академик НАМН Украины,

проф. Зименковский Б.С.  _____
20 ____ г.

Регламент является собственностью
СП «ФАРМАКО» АО
и не может быть полностью или частично
воспроизведен, распространен без разрешения
СП «ФАРМАКО» АО



Продовж. додатку І

Ректору
«Львовского национального
медицинского университета
им. Данила Галицкого»
академику НАМН Украины,
проф. Зименковскому Б.С.

Уважаемый Борис Семенович!

Доводим до Вашего сведения, информацию относительно оригинального препарата ветеринарное средства профилактического и лечебного назначения, по уходу за выменем крупного рогатого скота «САПРОКРЕМ», крем по 100 г и 250 г в тубах полимерных или флаконах, которое было произведено на СП «ФАРМАКО» СА, и разработано совместно с Кафедрой Технологии Лекарств и Биофармации, «Львовского национального медицинского университета им. Данила Галицкого».

Разработанный препарат был включён в план перспективного развития предприятия на 2019-2021 гг.

С уважением,
директор
СП «ФАРМАКО» АО



Сергей Колца

Продовж. додатку I

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
СП «ФАРМАКО» АО,
МД – 2023, Республика Молдова,
г. Кишинев, ул. Вадуй Водэ, 2
Сергей Колца
«05» сентября 2019 г.

АКТ
АПРОБАЦИИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТА ПО
ПРОИЗВОДСТВУ
Дерматотропного средства
«ГЕЛЯ С ЭКСТРАКТОМ САПРОПЕЛЯ»
В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

Данный акт, устанавливает возможность внедрения и адаптации, а также, воспроизводимость параметров технологической схемы производства, с использованием производственных мощностей и оборудования СП «ФАРМАКО» СА, Республика Молдова, г. Кишинев, дерматотропного средства, в форме геля для наружного применения, рекомендованного для лечения ран и ожогов, под рабочим наименованием «САПРОГЕЛЬ».

Начальник производства
СП «ФАРМАКО» АО»



АРТЕМОВ В.

Доцент кафедры технологии лекарств и биофармации
Львовского национального медицинского университета
имени Данила Галицкого

СТРУС О.Е.

Продовж. додатку I

«УТВЕРЖДАЮ»

Сертификат регистрации,
выданный Национальным
Агентством Общественного
Здоровья при Министерстве
Здравоохранения, Труда и
Социальной Защиты
Республики Молдова
№ _____ от _____

Заявитель: СП «ФАРМАКО» АО, Республика Молдова

Производитель: СП «ФАРМАКО» АО, Республика Молдова

МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

(проект)

Дерматотропное лекарственное средство для наружного применения
«СПРОГЕЛЬ», гель по 100 г или 250 г в полимерных тубах или флаконах

SAPROGEL, gel 100 g or 250 g in tubes

_____ № _____

На _____ от _____

Продовж. додатку I

УПАКОВКА

Тубы полимерные или флаконы (стекло или пластик), по 100 г или 250 г, вместе с инструкцией по медицинскому применению из бумаги этикеточной, согласно ГОСТ 7625-86, помещают в картонную пачку, марки «хром-эрзац», согласно ГОСТ 1301-81 или 12303-80.

Групповая и транспортная тара, согласно ГОСТ 12301-2006.

МАРКИРОВКА

Первичная (туб/этикетка флакона), вторичная и групповая упаковка, должна содержать следующую информацию для потребителя:

- Наименование, товарный знак и адрес производителя: Республика Молдова, г. Кишинев СП «ФАРМАКО» СА;

- Коммерческое наименование препарата: «САПРОГЕЛЬ» (на русском и английском языке);

- Область применения: Дерматотропное средство для наружного применения;

- Качественный и количественный состав (активные и вспомогательные вещества):

- Особые указания: «Применять по назначению врача», «Избегать контакта с глазами. В случае попадания в глаза, немедленно промыть большим количеством проточной воды. При необходимости обратиться к врачу»;

- Условия хранения: «Хранить при температуре ниже $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, в сухом, защищенном от света месте. Хранить в недоступном для детей месте. Не применять после истечения срока годности, указанного на упаковке»;

- масса нетто (в граммах);

- Номер регистрационного удостоверения: № ____ от ____;

- Номер серии: «Серия:»;

- Срок годности: «Годен до:»

- Штрих-код.

Транспортная маркировка, согласно ГОСТ 14192-96, ДСТУ ИСО 780-2001.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЕ

В сухом, защищенном от света месте при температуре $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

СРОК ГОДНОСТИ

2 года.

«05» августа 20 19 г.

Директор
СП «ФАРМАКО» АО
Сергей Колца



Продовж. додатку I

СП «ФАРМАКО» АО

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор СП «ФАРМАКО» АО,
МД – 2023 Республика Молдова,
г. Кишинев, ул. Вадул луй Водэ, 2
Сергей Колца

05.08.2023 20 19 г.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОМЫШЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ

По производству дерматотропного средства
«САПРОГЕЛЬ», гель для наружного применения
по 100 г и 250 г в тубах полимерных или во флаконах

ТПР

(Действующий вместе с ДВД)

Срок действия до «___» _____ 20 ___ г.

«СОГЛАСОВАНО»

Ректор
«Львовского национального
медицинского университета
им. Данила Галицкого»
академик НАМН Украины,
проф. *Зименковский Б.С.*

20 ___ г.

Регламент является собственностью
СП «ФАРМАКО» АО
и не может быть полностью или частично
воспроизведен, распространен без разрешения
СП «ФАРМАКО» АО

Продовж. додатку I

Ректору
Львовского национального
медицинского университета
имени Данила Галицкого
академику НАМН Украины,
проф. Зименковскому Б.С.

Уважаемый Борис Семенович!

Доводим до Вашего сведения, информацию относительно оригинального препарата дерматотропного лекарственного средства, для наружного применения «САПРОГЕЛЬ», гель 100 г или 250 г в полимерных тубах или флаконах, 100 г, обладающее регенерирующим действием при лечении ран и ожогов. Данное средство было произведено на СП «ФАРМАКО» СА, и разработано совместно с Кафедрой Технологии Лекарств и Биофармации, «Львовского национального медицинского университета им. Данила Галицкого».

Разработанный препарат был включён в план перспективного развития предприятия на 2019-2021 гг.

С уважением,
директор
СП «ФАРМАКО» АО



Сергей Колца

Продовж. додатку I

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
СП «ФАРМАКО» АО,
МД – 2023, Республика Молдова,
г. Кишинев, ул. Вадул луй Водэ, 2
Сергей Колца
« 05 » сентября 2019 г.

АКТ
АПРОБАЦИИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТА ПО
ПРОИЗВОДСТВУ
Дерматотропного средства
«ГЕЛЯ С ЭКСТРАКТОМ САПРОПЕЛЯ»
В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

Данный акт, устанавливает возможность внедрения и адаптации, а также, воспроизводимость параметров технологической схемы производства, с использованием производственных мощностей и оборудования СП «ФАРМАКО» СА, Республика Молдова, г. Кишинев, дерматотропного средства, в форме геля для наружного применения, рекомендованного для лечения ран и ожогов, под рабочим наименованием «САПРОГЕЛЬ».

Начальник производства
СП «ФАРМАКО» АО»



АРТЕМОВ В.

Доцент кафедры технологии лекарств и биофармации
Львовского национального медицинского университета
имени Данила Галицкого

СТРУС О.Е.

Продовж. додатку І

«УТВЕРЖДАЮ»
Сертификат регистрации,
выданный Национальным
Агентством Общественного
Здоровья при Министерстве
Здравоохранения, Труда и
Социальной Защиты
Республики Молдова
№ _____ от _____

Заявитель: СП «ФАРМАКО» АО, Республика Молдова

Производитель: СП «ФАРМАКО» АО, Республика Молдова

МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

(проект)

ANTIBACTERIAL SOAP WITH SAPROPEL

Гигиеническое средство для обработки рук

«АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ МЫЛО С САПРОПЕЛЕМ», 100 г

_____ № _____

На _____ от _____

Продовж. додатку I

СП «ФАРМАКО» АО»

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор СП «ФАРМАКО» АО,
МД – 2023 Республика Молдова,
г. Кишинев, ул. Вадулуй Водэ, 2

Сergey Колца

05 сентября 20 19 г.



ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОМЫШЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ

по производству гигиенического средства для обработки рук

«Антибактериальное мыло с сапропелем» 100 г

ТПР _____

Срок действия до « ____ » _____ 20 ____ г.

«СОГЛАСОВАНО»

Ректор «Львовского национального
медицинского университета
им. Данила Галицкого»
академик НАМН Украины,

проф. Зименковский Б.С.

20 ____ г.



Регламент является собственностью

СП «ФАРМАКО» АО

и не может быть полностью или частично

воспроизведен, распространен без разрешения

СП «ФАРМАКО» АО

Продовж. додатку І

Ректору
«Львовского национального
медицинского университета
им. Данила Галицкого»
академику НАМН Украины,
проф. Зименковскому Б.С.

Уважаемый Борис Семенович!

Доводим до Вашего сведения, информацию относительно оригинального препарата гигиенического средства для обработки рук **«Антибактериальное мыло с сапропелем»**, 100 г, которое было произведено на СП «ФАРМАКО» СА, и разработано совместно с Кафедрой Технологии Лекарств и Биофармации, «Львовского национального медицинского университета им. Данила Галицкого».

Разработанный препарат был включён в план перспективного развития предприятия на 2019-2021 гг.

С уважением,
директор
СП «ФАРМАКО» АО



Сергей Колца

Продовж. додатку І

«ЗАТВЕРДЖЕНО»

ПАТ ХФЗ «Червона зірка», Україна

І.В. Трутаєв

«13» _____ 20 10 р.



АКТ

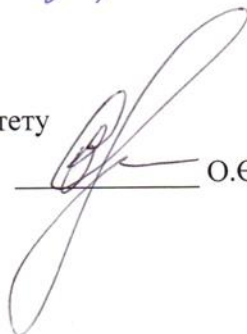
**АПРОБАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ
В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА**

Даний акт складено в тому, що в умовах ПАТ ХФЗ «Червона зірка», Україна (м. Харків) було апробовано технологію гелю для нашкірного застосування з екстрактом сапропелю для лікування ран та опіків під умовною назвою «Сапрогель» та перевірено відтворюваність параметрів технологічного регламенту на виробництво препарату.

Директор з виробництва
ПАТ ХФЗ «Червона зірка»

 Г.О. Кропивка

Доцент кафедри технології ліків і біофармації
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького

 О.Є. Струс

Продовж. додатку І

ЗАТВЕРДЖУЮ

Наказ Міністерства охорони
здоров'я України

№ _____
Реєстраційне посвідчення
№ _____

Заявник: ПАТ ХФЗ «Червона зірка», Україна

Виробник: ПАТ ХФЗ «Червона зірка», Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

(проект)

SAPROGEL

САПРОГЕЛЬ

Гель для нашкірного застосування з екстрактом сапропелю
для лікування ран та опіків, по 40 г або 10 гу полімерних тубах або банках

Продовж. додатку I

УПАКОВКА

Полімерні туби по 100 або 250 г разом з інструкцією для медичного застосування із паперу етикеткового за ГОСТ 7625-86 поміщають у пачку з картону хромерзац за ГОСТ 1301-81 або 12303-80.

Групові і транспортні тари відповідно до ГОСТ 12301-2006.

МАРКУВАННЯ

На контурному пакуванні українською мовою вказують: «Україна», ПАТ ХФЗ «Червона зірка», товарний знак, назву препарату (додатково англійською мовою), масу препарату, номер реєстраційного посвідчення, номер серії, термін придатності.

На пачках та етикетках групової тари українською мовою вказують: «Україна», ПАТ ХФЗ «Червона зірка», товарний знак та адресу виробника, назву препарату (додатково англійською мовою), масу препарату, вміст активних фармацевтичних інгредієнтів у препараті в грамах, «Застосовувати за призначенням лікаря», умови зберігання, номер реєстраційного посвідчення, номер серії, термін придатності, штриховий код.

Додатково на пачці вказують: перелік допоміжних речовин, «Зберігати в недоступному для дітей місці», «не застосовувати після закінчення терміну придатності», умови відпуску – «Без рецепта».

Транспортне маркування відповідно до ГОСТ 14192-96, ДСТУ ISO 780-2001.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці при температурі $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ і $25\pm 2^{\circ}\text{C}$

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Директор

ПАТ ХФЗ «Червона зірка»



І. В. Трутаєв

квітня 20 *20* р.

Продовж. додатку I

ПАТ ХФЗ «ЧЕРВОНА ЗІРКА»

«УЗГОДЖЕНО»

Голова Державної
Служби України з лікарських засобів

Наказ державної служби

Від «__» _____ 20__ р.

№ _____

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
ПАТ ХФЗ «Червона зірка»

Трутаєв І.В.

13 квітня 2020 р.

ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ПРОМИСЛОВИЙ РЕГЛАМЕНТ

на виробництво «Сапрогель»,
гелю для наскірнього застосування з екстрактом сапропелю
для лікування ран та опіків
100 г , 250 г в полімерному тубі або флаконіТПР _____
(Чинний разом з ДВД)

Термін дії до «__» _____ 20__ р.

УЗГОДЖЕНО

Ректор
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
академік НАМН України,
_____ проф. Зіменковський Б.С.
_____ 20__ р.Регламент є власністю ПАТ ХФЗ «Червона
зірка» і не може бути повністю або частково
відтворений, поширений без дозволу ПАТ
ХФЗ «Червона зірка»

Продовж. додатку І

№ _____
На _____ від _____

Ректору
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
академіку НАМН України
проф. Зіменковському Б.С.

Шановний Борисе Семеновичу!

Доводимо до Вашого відома інформацію відносно оригінального препарату «Сапрогель», гель для наскірного застосування з екстрактом сапропелю для лікування ран та опіків, 100 г або 250 г в полімерному тубі або флаконі, що був розроблений ПАТ ХФЗ «Червона зірка» сумісно з кафедрою технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Розроблений препарат було включено до перспективного плану розвитку підприємства на 2019–2022 рр.

З повагою,
Директор
ПАТ ХФЗ «Червона зірка», д.б.н.



І.В. Трутаєв

Продовж. додатку І



АКТ
АПРОБАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ
ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ САПРОПЕЛЮ
В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА

Даний акт складено в тому, що в умовах ТОВ "Зендер-Україна", (м. Луцьк) було опрацьовано технологію виробництва водного екстракту сапропелю, отриманого з сапропелю родовища Прибич, та перевірено відтворюваність параметрів технологічного регламенту на виробництво препарату.

Директор з виробництва
ТОВ «Зендер-Україна»

A blue ink signature of the Director of Production of TOV "ZenDer-Ukraine" is written over a horizontal line.

Доцент кафедри технології ліків і біофармації
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького

A blue ink signature of O.E. Strus is written over a horizontal line.

О.Є. Струс

Продовж. додатку І

ТОВ «ЗЕНДЕР-УКРАЇНА»

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор

ТОВ «Зендер-Україна»

Середюк І.О.

25 жовтня 20 18 р.

ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ПРОМИСЛОВИЙ РЕГЛАМЕНТ

на виробництво водного екстракту сапропелю

в полімерних флаконах на 500 г або 1000 г

TIP

(Чинний разом з ДВД)

Термін дії до «_____» _____ 20____ р.

УЗГОДЖЕНО

Ректор

Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького

академік НАМН України

Зіменковський Б.С.

_____ 20 _____ p.

Регламент є власністю ТОВ «Зендер-Україна» і не може бути повністю або частково відтворений, поширений без дозволу ТОВ «Зендер-Україна»

Продовж. додатку I

УПАКОВКА

Пакування продукції здійснюється згідно з вимогами ДСТУ ISO 22715 та ТУ У 20.1-2870305538-004:2016, по 500 г або 1000 г у полімерних флаконах разом з інструкцією для медичного застосування із паперу етикеткового за ГОСТ 7625-86 поміщають у пачку з картону хромерзац за ГОСТ 1301-81 або 12303-80.

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 12301-2006.

МАРКУВАННЯ

Маркування продукції – згідно ДСТУ ISO 22715, ДСТУ OIML R 79 та ТУ У 20.1-2870305538-004:2016.

На пакуванні кожної одиниці споживчої тари українською мовою вказують: «Україна», ТОВ «Зендер-Україна», товарний знак, назву препарату (додатково англійською мовою), маси нетто (г), ТУ У 20.1-2870305538-004:2016, номер серії, термін придатності.

На пачках та етикетках групової тари українською мовою вказують: «Україна», ТОВ «Зендер-Україна», товарний знак та адресу виробника, назву препарату (додатково англійською мовою), маси нетто, г, умови зберігання, ТУ У 20.1-2870305538-004:2016, номер серії, термін придатності, штриховий код.

Додатково на пачці вказують: перелік допоміжних речовин, «Зберігати в недоступному для дітей місці», «не застосовувати після закінчення терміну придатності», умови відпуску – «Без рецепта».

Транспортне маркування – згідно з ДСТУ ISO 22715, ГОСТ 14192 та ТУ У 20.1-2870305538-004:2016.

Транспортне маркування наносять на одну з торцевих сторін ящика за допомогою штампа, трафарету, наклеювання етикетки або іншим способом, що забезпечує чіткість інформації.

Продовж. додатку І

ЗБЕРІГАННЯ

В сухому, захищеному від світла місці при температурі до +25°C
протягом 2 років

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Директор

ТОВ «Зендер-Україна»



І. О. Середюк

«25» травня 20 18 р.

Продовж. додатку I

№ _____
На _____ від _____

**Ректору
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
академіку НАМН України
проф. Зіменковському Б.С.**

Шановний Борисе Семеновичу!

Доводимо до Вашого відома інформацію відносно водного екстракту сапропелю, виготовленого з озерного сапропелю родовища Прибич, 500 г або 1000 г в полімерній банці, що був розроблений ТОВ «Зендер-Україна» сумісно з кафедрою технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

**З повагою,
Директор
ТОВ «Зендер-Україна»
І.О. Середюк**



Продовж. додатку I

«ЗАТВЕРДЖЕНО»

ТОВ "Зендер-Україна-Україна", Україна

І.О. Середюк

«11» 05 20 18 р.

АКТ

АПРОБАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ
В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА

Даний акт складено в тому, що в умовах ТОВ "Зендер-Україна-Україна", Україна (м. Луцьк) було опрацьовано технологію виробництва лікувально-профілактичного засобу з озерного сапропелю для використання в косметології під умовною назвою «Сапропаста» та перевірено відтворюваність параметрів технологічного регламенту на виробництво препарату.

Директор з виробництва
ТОВ «Зендер-Україна»



Доцент кафедри технології ліків і біофармації
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького

 О.Є. Струс

Продовж. додатку І

ТОВ «ЗЕНДЕР-УКРАЇНА»

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
ТОВ «Зендер-Україна»



Середюк І.О.

20 18 р.

ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ПРОМИСЛОВИЙ РЕГЛАМЕНТ

на виробництво «Сапропаста»,

лікувально-профілактичного засобу для нашкірного застосування в

полімерних банках 500 г

ТПР

(Чинний разом з ДВД)

Термін дії до « ____ » _____ 20 ____ р.

УЗГОДЖЕНО

Ректор

Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького

академік НАМН України
Зіменковський Б.С.

20 ____ р.

Регламент є власністю ТОВ «Зендер-Україна»
і не може бути повністю або частково
відтворений, поширений без дозволу ТОВ
«Зендер-Україна»

Продовж. додатку І

УПАКОВКА

Пакування продукції здійснюється згідно з вимогами ДСТУ ISO 22715 та ТУ У 20.1-2870305538-004:2016, по 500 г у полімерних банках разом з інструкцією для медичного застосування із паперу етикеткового за ГОСТ 7625-86 поміщають у пачку з картону хромерзац за ГОСТ 1301-81 або 12303-80.

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 12301-2006.

МАРКУВАННЯ

Маркування продукції – згідно ДСТУ ISO 22715, ДСТУ OIML R 79 та ТУ У 20.1-2870305538-004:2016.

На пакуванні кожної одиниці споживчої тари українською мовою вказують: «Україна», ТОВ «Зендер-Україна», товарний знак, назву препарату (додатково англійською мовою), маси нетто (г), ТУ У 20.1-2870305538-004:2016, номер серії, термін придатності.

На пачках та етикетках групової тари українською мовою вказують: «Україна», ТОВ «Зендер-Україна», товарний знак та адресу виробника, назву препарату (додатково англійською мовою), маси нетто, г, умови зберігання, ТУ У 20.1-2870305538-004:2016, номер серії, термін придатності, штриховий код.

Додатково на пачці вказують: перелік допоміжних речовин, «Зберігати в недоступному для дітей місці», «не застосовувати після закінчення терміну придатності», умови відпуску – «Без рецепта».

Транспортне маркування – згідно з ДСТУ ISO 22715, ГОСТ 14192 та ТУ У 20.1-2870305538-004:2016.

Транспортне маркування наносять на одну з торцевих сторін ящика за допомогою штампа, трафарету, наклеювання етикетки або іншим способом, що забезпечує чіткість інформації.

Продовж. додатку І

ЗБЕРІГАННЯ

В сухому, захищеному від світла місці при температурі $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ або $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ протягом 2 років

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Директор

ТОВ «Зендер-Україна»



І. О. Середюк

«11» 05 20 18 р.

З повагою,

Директор

ТОВ «Зендер-Україна»

І. О. Середюк

Продовж. додатку I

№ _____
На _____ від _____

Ректору

**Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
академіку НАМН України
проф. Зіменковському Б.С.**

Шановний Борисе Семеновичу!

Доводимо до Вашого відома інформацію відносно оригінального препарату «Сапропаста», лікувально-профілактичного засобу для наскірного застосування, виготовленого з озерного сапропелю родовища Прибич, 500 г в полімерній банці, що був розроблений ТОВ «Зендер-Україна» сумісно з кафедрою технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Розроблений препарат було включено до перспективного плану розвитку підприємства на 2017–2022 рр.

**З повагою,
Директор
ТОВ «Зендер-Україна»
І.О. Середюк**



Продовж. додатку Й

Затверджую

Директор ДП «ДГ “Оброшино”
Інституту сільськогосподарства
Карпатського регіону НААН

Кобрин І.Р.
« 5 » березня 2018 р.

АКТ

клінічного випробування крему з екстрактами сапропелю «Сапрокрем»

Нами, співробітниками Інституту біології тварин НААН, завідувачем лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії, д. с.-г. н. Остапів Д.Д., науковим співробітником лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії, к.б.н. Кузьміною Н.В. та доцента кафедри технології ліків і біофармації ЛНМУ ім. Данила Галицького к.ф.н. Струс О.Є., у присутності заступника директора ДП «ДГ “Оброшино” с. Ставчани Пустомитівського р-ну Львівської обл. Свідерка І.І. та лікаря ветеринарної медицини Катюхи І.І., складений цей акт про те, що на базі ДП «ДГ “Оброшино” проведено клінічне випробування ефективності крему з екстрактами сапропелю «Сапрокрем» з вмістом в 1 г препарату речовин: діючих – 0,1 мл екстракту сапропелю і 0,15 г олійного екстракту сапропелю та допоміжних – емульгатора № 1, цетилстеарилового спирту, лимонної кислоти, еуксилу К 100, нізину та води очищеної.

Клінічне випробування ефективності крему з екстрактами сапропелю - «Сапрокрем» проводили при стимулюванні загоювання мікротравм, ерозій та тріщин діжок вимені корів.

Для цього відібрали 30 корів, аналогів за живою масою і продуктивністю, у яких виявлені ураження діжок: тріщини і невеличкі ранки з появою характерних ознак запальної реакції - почервоніння, набряки та больова чутливість. З піддослідних корів сформували три групи – контрольну - 10 голів, дослідну № 1 – 10 голів і дослідну № 2 – 10 голів. Коровам дослідних груп застосовували: № 1 - мазь «Фітосепт»; № 2 – «Сапрокрем» (досліджуваний препарат), а тваринам контрольної групи – загальні гігієнічні процедури.

Встановлено, що нанесення препаратів два рази на добу, впродовж 10 діб на уражені місця діжок сприяло зменшенню набряків, активуванню регенеративних процесів, згасанню ознак запальних процесів. Зокрема, через 3 доби в контрольній групі у трьох корів зменшився набряк діжок, з'явилися ознаки згасання запальної реакції, сформувалась ептеліальна облямівка з ознаками епітелізації рубців, а у корів дослідної групи № 1 та № 2 – вказані ознаки загоєння встановлено в семи тварин у кожній групі. Через 10 діб у всіх тварин дослідних груп симптоми уражень діжок зникли, а у контрольній групі в двох корів виявлено мастит.

Продовж. додатку Й

Особистий внесок дисертанта – виготовлення зразків крему, складання програми досліджень, нанесення крему «Сапрокрем» тваринам дослідних груп, клінічні дослідження, аналіз та фіксування їх результатів.

Ефективність лікарських засобів за лікування ран дійок вимені у корів,
діб, $M \pm m$, $n = 30$

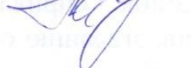
Показник	Група тварин		
	Дослідна № 1 «Фітосепт»	Дослідна № 2 «Сапрокрем»	Контрольна
Зменшення набряку	$3,7 \pm 0,30^*$	$3,5 \pm 0,24^{**}$	$4,8 \pm 0,26$
Згасання запальної реакції	$5,1 \pm 0,29^{***}$	$5,0 \pm 0,27^{***}$	$6,7 \pm 0,25$
Поява епітеліальної облямівки	$6,6 \pm 0,22^{***}$	$6,5 \pm 0,20^{***}$	$8,9 \pm 0,27$
Формування рубця, його епітелізація	$7,6 \pm 0,28^{***}$	$7,5 \pm 0,25^{***}$	$11,4 \pm 0,29$
Термін лікування	$10,1 \pm 0,38^{***}$	$10,0 \pm 0,36^{***}$	$14,6 \pm 0,31$

Примітки: n - кількість тварин; *різниця статистично вірогідна порівняно до контролю - * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

За час проведення дослідів не встановлено порушень обмінних процесів в організмі тварин, не зафіксовано побічних ефектів від застосування досліджуваного препарату.

Висновок. Клінічне випробування крему з екстрактами сапропелю «Сапрокрем» довело його ефективність та безпечність використання при загоєнні мікротравм, ерозій та тріщин (ран) дійок вимені корів, що підтверджує доцільність використання крему «Сапрокрем» для стимулювання загоєння ран.

Підписи:

 Д. Д. Остапів
 Н. В. Кузьміна
 О. Є. Струс
 І. І. Свідерко
 І. І. Катюха

Додаток К

С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ



КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА
ASFENDIYAROV KAZAKH NATIONAL
MEDICAL UNIVERSITY

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан Школы Фармации
доктор фармацевтических наук, профессор

Сакипова З.Б.

«25» «*сентябрь*» 2018 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

1. Название предложения для внедрения: Научное и экспериментальное обоснование комплексного использования сапропелей для создания лекарственных, ветеринарных и косметических средств

2. Учреждение, его адрес, исполнители: Львовский национальный медицинский университет имени Данилы Галицкого, кафедра технологии лекарств и биофармации, 79010, г. Львов, ул. Пекарская, 69, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков (Украина), кафедра аптечной технологии лекарств, 61002, Украина, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53; доц. Струс О.Е., проф. Половко Н.П.

3. Источники информации:

1. Струс О.Е. Исследование технологических свойств сапропеля / О.Е. Струс, Н.П. Половко / Сборник научных трудов сотрудников НМАПО им. П.Л. Шупика, Киев. – 2015. – Вип.24. – кн.4. С. 336-341.
2. Струс О.Е. Анализ методов извлечения и совершенствование технологии экстракта сапропеля / О.Е. Струс, Н.П. Половко // Сборник научных трудов сотрудников НМАПО им. П.Л. Шупика, Киев. - 2016. - Вип.26. - С. 266-271.
3. Струс О.Е. Исследования по разработке состава масок с сапропастой / О.Е. Струс, А.Г. Гейдериш, Л.Ф. Силаева // Вестник фармации. – 2016. – № 3 (87). – С.51-54.

4. Внедрено: кафедра технологии лекарств и инженерных дисциплин.

5. Форма внедрения: учебный процесс, научно-исследовательская работа.

6. Эффективность внедрения: усовершенствование и оптимизация учебного процесса, в частности, расширение информации о технологии получения и исследовании жидких и мягких лекарственных форм.

7. Сроки внедрения: 2017-2018 уч. год.

Утверждено на заседании кафедры, протокол № 2 от «11» *сентябрь* 2018 г.

Ответственный за внедрение:

Заведующая кафедрой технологии лекарств и инженерных дисциплин
Казахского Национального медицинского университета
имени С.Д. Асфендиярова
доктор фарм. наук, профессор

Г.О. Устенова

Продовж. додатку К



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

1. **Название предложения для внедрения:** Исследования по разработке лекарственных и косметических средств на основе сапропеля.

2. **Учреждение, адрес, исполнителя:** Львовский национальный медицинский университет им. Даниила Галицкого, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, доц. Струс О.Е. проф. Половко Н.П.

3. Источники информации:

3.1. Струс О.Є. Дослідження технологічних властивостей сапропелю / О.Є. Струс, Н.П. Половко/ Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика, Київ. – 2015.- Вип.24. – кн..4. С. 336-341.

3.2. Струс О.Є. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю / О.Є. Струс, Н.П. Половко // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика, Київ. – 2016.- Вип.26. – С. 266-271.

3.3. Струс О.Є. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою / О.Є. Струс, О.Г. Гейдеріх, Л.Ф. Силаєва// Вісник фармації. – 2016. - № 3 (87). - С.51-54.

3.4. Струс О.Е. Изучение влияния метода и скорости эмульгирования на стабильность крема с экстрактом сапропеля / Струс О.Е., Половко Н.П. – материалы республик. научно-практической конф. (с международ. участием) «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации». - Ташкент, 2016. - С.379-381

3.5. Струс О.Є. Опрацювання технології крему з екстрактом сапропелю / Струс О.Є., Половко Н.П. / Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали 6 –ої наук.-практ. конф. з міжнародною участю (10-11 листопада 2016 року). – Тернопіль: ТДМУ, 2016. – С.157.

Продовж. додатку К

3.6. Струс О.Є. Обґрунтування введення консерванту в крем з екстрактом сапропелю / Струс О.Є., Половко Н.П., Коноваленко І.С. // Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали 2 –ої міжнародної науково-практичної інтернет – конференції, м. Харків, 21-23 березня 2016 року. – Х., 2016. – С.232

3.7. Струс О.Є. Розробка складу основи крему з екстрактом сапропелю /О.Є. Струс, Н.П. Половко// Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективирозвитку: матеріали 1-ої науково-практичної інтернет-конф. з міжнародною участю, м. Харків, 24-25 березня 2016. – Х. , 2016.- С.84.

4. Внедрение: В учебный процесс кафедры промышленной технологии лекарственных средств в лекционный курс при изучении тем «Твердые лекарственные формы». «Экстракционные лекарственные формы» и «Мягкие лекарственные формы».

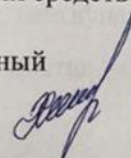
5. Срок внедрения: 2017 г.

6. Эффективность внедрения:

Показатели	За данными	
	Разработчиков	Учреждения, которое внедряет
Использование разработки показало, что эффективность внедрения отвечает критериям, приведенным в источнике информации.		
Результаты научных исследований используются в учебном процессе студентов 4 курса по промышленной технологии лекарственных средств.		

Ответственный за внедрение:

Зав. кафедрой промышленной технологии лекарственных средств
с курсом факультета повышения квалификации
и переподготовки кадров УО «Витебский государственный
медицинский университет», д. фарм. наук, профессор



О. М. Хишова

Продовж. додатку К



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор з навчальної роботи
Львівського національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова,
д.м.н., проф. Гумінський Ю.Й.

11.12.2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу, технології і дослідження лікарських, ветеринарних і косметичних засобів на основі сапропелю та продуктів його переробки.

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О. Є. Струс.

3. Джерела інформації:

- 3.1. Струс О.Є., Половко Н.П. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю. Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шурика. 2016. №26. С. 266-271.
- 3.2. Струс О. Є. Исследования по разработке масляных экстрактов сапропеля. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 50-58
- 3.3. Струс О. С., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропеллю. Вісник фармації. 2016. № 3 (87). С. 51-54.
- 3.4. Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19-25.
- 3.5. Strus Oksana, Polovko Natalya, Plaskonis Yuliya. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147-150.
- 3.6. Strus, N. Polovko, Strelnikov L. Study of antimicrobial preservative efficiency in gels with Sapropel Extract. *Ukrainian biopharmaceutical journal*. 2019. 4(61):4-8 <https://doi.org/10.24959/ubphj.19.240>(in Ukr. English abstr.)
- 3.7. Oksana Strus, Nataliia Polovko. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. №9(3):209-224.

4. Впроваджено: в навчальний процес кафедри фармації Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, у лекційний курс при вивченні тем «М'які лікарські форми», «Екстракційні препарати».

Протокол засідання кафедри № 7 від 10.12.2020 р.

5. Термін впровадження: вересень-листопад 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації		
Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі фармації		

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри фармації,
д. фарм. н., проф.

О. В. Кривов'яз

Продовж. додатку К

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Назва пропозиції для впровадження: розробка складу, технології та дослідження м'яких лікарських форм на основі сапропелю та продуктів його переробки.

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О. Є. Струс.

3. Джерела інформації:

3.1. Струс О.Є., Половко Н.П. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю. Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. 2016. №26. С. 266-271.

3.2. Струс О. Є. Исследования по разработке масляных экстрактов сапропеля. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 50–58.

3.3. Strus O. Y. Justification of composition of the cream with sapropel extract. *International Journal of Green Pharmacy*. 2019. № 13(1). P. 42–47.

3.4. Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25.

3.5. Oksana Strus, Nataliia Polovko. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. №9(3):209-224. DOI: [10.20959/wjpps20203-15628](https://doi.org/10.20959/wjpps20203-15628).

4. Впроваджено: в навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології при вивченні відповідних тем з лекційних курсів «Технологія препаратів з природної сировини та фітотерапія» та «Промислова технологія фармацевтичних виробництв».

5. Термін впровадження: 2020-2021 рр.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації		
Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології		

Відповідальний за впровадження:

в.о.завідувача кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, проф., д.х.н

Лубенець В.І.

Продовж. додатку К



Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного
університету, д. фарм. н., проф.
Інна ВЛАДИМИРОВА
«09» жовтня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу, технології і дослідження м'яких лікарських форм з екстрактами сапропелю.

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О. Є. Струс.

3. Джерела інформації:

3.1 Струс О. Є., Половко Н. П. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шурика*. 2016. Вип. 26. С. 266–271.

3.2 Струс О. Є. Исследования по разработке масляных экстрактов сапропеля. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 50–58.

3.3 Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25. **Scopus.**

3.4 Oksana Strus, Nataliia Polovko. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. №9(3):209-224.

4. Впроваджено: в навчальний процес кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету у лекційний курс при вивченні тем «М'які лікарські форми», «Екстракційні препарати».

5. Термін впровадження: _____ 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі заводської технології ліків		

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри заводської технології ліків,
д. фарм. н., проф.

Олена РУБАН

Продовж. додатку К



Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного
університету, д. фарм. н., проф.
Інна ВЛАДИМИРОВА
«07» вересня 2020 р.

***АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу, технології і дослідження косметичних сапропелевих масок та піномийного засобу «Антибактерійне мило із сапропелем»

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О. Є. Струс.

3. Джерела інформації:

3.1 Strus Oksana, Babov Konstantin, Gushcha Sergey, Polovko Nataliia, Nasibullin Boris, Polshchakova Tetiana. Toxicological and biological assessment of the effect of sapropel of the Prybych lake during cutaneous application in rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2020. Sep 10; 8(A):633-638. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.4743>

3.2 Струс О. Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастю. Вісник фармації. 2016. № 3 (87). С. 51–54.

3.3 Струс О. Є., Половко Н. П., Філіпська А. М., Рехлецька О. В. Розробка складу і технології мила з сапропелем. Вісник фармації. 2017. № 4 (92). С. 35–41.

3.4 Струс О. Є., Стрілець О. П., Половко Н. П. Дослідження антимікробної активності мила з сапропелем. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: зб. наук.пр. 2017. Вип. 2. С. 168–171. 3.4

4. Впроваджено: в навчальний процес на кафедрі косметології і аромології Національного фармацевтичного університету, у лекційний курс при вивченні тем «Маски косметичні», «Креми косметичні».

5. Термін впровадження: _____ 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації		
Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі косметології і аромології		

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри косметології і аромології,
д. фарм. н., проф.

Олександр БАШУРА

Продовж. додатку К



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ДУ «Укр. НДІ МР та К

МОЗ України»

д-р мед. наук, проф..

ЗДНТ України

К. Д. Бабов

«6» грудня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка преформованих засобів на основі сапропелю, оцінка його токсичності та фармакологічних властивостей; стандартизація.

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О.Є. Струс.

3. Джерела інформації:

3.1. Патент на винахід № 114262 «Косметична сапропелева маска» / Середюк І.О., Струс О.Є., Половко Н.П. – № заявки а 2016 07575 від 11.07.2016; опубл. бюл. № 9 від 10.05.2017.

3.2. Струс О.Є., Половко Н.П., Малоштан Л.М., Осолодченко Т.П. Дослідження властивостей сапропелю родовища Прибич. Проблеми медичної та екологічної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. пр. – 2014. – №3(123). – С. 169–173.

3.3. Струс О.Е. К вопросу о стандартизации сапропеля. Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. – 2015. – Вып. 70. – С. 185–189.

3.3. Струс О.Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л.Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастю. Вісник фармації. – 2016. – № 3 (87). – С. 51–54.

3.4 Strus Oksana, Babov Konstantin, Gushcha Sergey, Polovko Nataliia, Nasibullin Boris, Polshchakova Tetiana. Toxicological and biological assessment of the effect of sapropel of the Prybych lake during cutaneous application in rats. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. – 2020. – .10. №8(A). – P. 633–638. URL: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.4743> (Date of access: 07.11.2020).

4. Впроваджено: Державна установа «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології Міністерства охорони здоров'я України» 65014, м. Одеса, Лермонтовський пров., 6; тел. (048) 728-62-41.

5. Термін впровадження: впродовж 2020 – 2021 рр.

6. Ефективність впровадження: Проведеними експериментальними дослідженнями встановлено нетоксичність дії сапропелю озера Прибич та продуктів його переробки – преформованих засобів (сапропаста, грязьовий

Продовж. додатку К

розчин тощо) при зовнішньому застосуванні (відсутність токсичного впливу сапропелю на функціональний стан систем та органів піддослідних тварин). Використання отриманих наукових даних в якості теоретичної основи та практичних рекомендацій обґрунтовує можливість формування лікувально-реабілітаційних комплексів з метою використання сапропелю та його продуктів у косметичній галузі та фармації.

Відповідальний за впровадження: В/о завідувача відділу фундаментальних досліджень ДУ «Укр НДІ МР та К МОЗ України» канд. мед. наук, ст. наук. співроб. Гуша С.Г. _____
(посада, прізвище, ім'я, по-батькові, підпис)

Продовж. додатку К



«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного
університету, д. фарм. н., проф.
Інна ВЛАДИМИРОВА
» експонада 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу, технології і дослідження м'яких лікарських форм з екстрактами сапропелю»

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О. Є. Струс.

3. Джерела інформації:

3.1 Strus O. Y. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147.

3.2 Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25.

3.3 Strus O. Y. Justification of composition of the cream with sapropel extract. *International Journal of Green Pharmacy*. 2019. № 13(1). P. 42–47.

3.4 Oksana Strus, Nataliia Polovko. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. №9(3):209-224. DOI: [10.20959/wjpps20203-15628](https://doi.org/10.20959/wjpps20203-15628)

3.5 Струс О. Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою. Вісник фармації. 2016. № 3 (87). С. 51–54.

3.6 Струс О. Є., Половко Н. П., Філіпська А. М., Рехлецька О. В. Розробка складу і технології мила з сапропелем. Вісник фармації. 2017. № 4 (92). С. 35–41.

4. Впроваджено: в навчальний процес на процес аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету, у лекційний курс при вивченні тем «М'які лікарські форми».

5. Термін впровадження: _____ 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі аптечної технології ліків		

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри аптечної технології ліків,
д. фарм. н., проф.

Лілія ВИШНЕВСЬКА

Продовж. додатку К

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи та інновацій
НМУ імені О.О. Богомольця,
професор Земсков С.В.

« 22 »

2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу, технології і дослідження лікарських, ветеринарних і косметичних засобів з екстрактами сапропелю.

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О. Є. Струс.

3. Джерела інформації:

3.1. Струс О.Є., Половко Н.П. Аналіз методів екстрагування та удосконалення технології екстракту сапропелю. Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. 2016. №26. С. 266-271.

3.2. Струс О. Є. Исследования по разработке масляных экстрактов сапропеля. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 50-58.

3.3. Струс О. Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою. Вісник фармації. 2016. № 3 (87). С. 51-54.

3.4. Strus Oksana, Polovko Natalya, Plaskonis Yuliya. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147-150.

3.5. Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19-25.

3.6. Oksana Strus, Nataliia Polovko. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. №9(3):209-224.

4. Впроваджено: в навчальний процес кафедри аптечної та промислової технології ліків при вивченні тем з промислової технології ліків «М'які лікарські форми», «Екстракційні препарати» згідно протоколу № 10 засідання кафедри від 07 грудня 2020 року.

5. Термін впровадження: 2020-2021 р.

6. Ефективність впровадження: використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації. Результати наукових досліджень включено в навчальний процес кафедри аптечної та промислової технології ліків.

Завідувачка кафедри аптечної та промислової технології ліків,
д.фарм.н., професор

Ж.М. Полова

Відповідальний за навчально-методичну роботу
кафедри, к.фарм.н.

О.М. Глушенко

Відповідальний за впровадження, к.фарм.н.

Н.О. Козіко

Продовж. додатку К

«Затверджую»
 Проректор з наукової роботи
 Тернопільський національний
 медичний університет
 імені І.Я. Горбачевського
 проф. І.М. Кліш
 «14» вересня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу і технології м'яких лікарських форм на основі сапропелю та продуктів його переробки

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О. Є. Струс.

3. Джерела інформації:

3.1. Струс О. Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою. Вісник фармації. 2016. № 3 (87). С. 51–54.

3.2. Strus Oksana, Polovko Natalya, Plaskonis Yuliya. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147-150

3.3 Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25.

3.4 Strus, N. Polovko, Strelnikov L. Study of antimicrobial preservative efficiency in gels with Sapropel Extract. *Ukrainian biopharmaceutical journal*. 2019. 4(61):4-8 <https://doi.org/10.24959/ubphj.19.240> (in Ukr, English abstr.)

4. Впроваджено: в навчальний процес кафедри організації і економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського у лекційний курс при вивченні тем «М'які лікарські форми».

5. Термін впровадження: січень-березень 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації		
Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі організації і економіки фармації з технологією ліків		

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри організації і економіки фармації
 з технологією ліків промислової фармації,
 д. фарм. н., проф.

Т.А. Groshoviy

Продовж. додатку К

«Затверджую»
 Перша проректорка
 Івано-Франківського національного
 медичного університету
 д. біол. н., проф. Г.М. Ерстенюк
 « 9 » листопада 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу, технології і дослідження м'яких лікарських косметичних засобів з екстрактами сапропелю та косметичних сапропелевих масок.

2. Установа, її адреса, виконавці: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра технології ліків і біофармації, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; доц. О. Є. Струс.

3. Джерела інформації:

3.1 Strus O. Y. The investigation of the development of a cream composition with the sapropel extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11, № 7. P. 147.

3.2 Strus O. Y., Polovko N., Yezerska O. Justification of technological parameters of the cream production with sapropel extract. *Pharmacia*. 2019. № 66 (1). P. 19–25.

3.3 Strus O. Y. Justification of composition of the cream with sapropel extract. *International Journal of Green Pharmacy*. 2019. № 13(1). P. 42–47.

3.4 Oksana Strus, Nataliia Polovko. The composition and technology development of the gel dermatotropic product with sapropel extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020. №9(3):209-224. DOI: [10.20959/wjpps20203-15628](https://doi.org/10.20959/wjpps20203-15628)

3.5 Струс О. Є., Гейдеріх О.Г., Силаєва Л. Ф. Дослідження з розробки складу масок з сапропастою. *Вісник фармації*. 2016. № 3 (87). С. 51–54.

4. Впроваджено: в навчальний процес на кафедрі організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету у лекційний курс нормативної дисципліни «Технологія лікарських косметичних засобів» при вивченні тем «Косметичні гелі та креми», «Лікарські косметичні засоби для лікування патологій шкіри, волосся і нігтів».

5. Термін впровадження: вересень-грудень 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелі інформації Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі організації та економіки фармації і технології ліків		

Відповідальна за впровадження:
 завідувачка кафедри організації та
 економіки фармації і технології ліків ІФНМУ,
 д. фарм. н., доц.

М.І. Федорівська