

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ДЯЧОК ІРИНА ЛЬВІВНА

УДК 579.695:504.45.058+628.355.2

ДИСЕРТАЦІЯ
ФАРМАКОТЕХНОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПЛЕКСНОГО
ФІТОЕКСТРАКТУ СЕДАТИВНОЇ ДІЇ

Спеціальність 226 - фармація, промислова фармація

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

галузь знань 22 – охорона здоров'я

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

_____ І. Л. Дячок
(підпис)

Науковий керівник:

ПНЯЖКО ОЛЕГ РОМАНОВИЧ

доктор медичних наук, професор

Львів – 2022

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АНД – аналітично нормативна документація

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

БАС – біологічно активні сполуки

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ВЕТШХ – високоефективна тонкошарова хроматографія

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ВКЯ – відділ контролю якості

ГЛЗ – готові лікарські засоби

ГРХ – газорідинна хроматографія

ДФУ – Державна фармакопея України

ЄФ – Європейська фармакопея

ЛЗ – лікарські засоби

ЛЗРП – лікарський засіб рослинного походження

ЛФ – лікарська форма

ЛРС – лікарська рослинна сировина

МКЯ – методи контролю якості

МОЗ – Міністерство охорони здоров'я

НВП – належна виробнича практика

ПХ – паперова хроматографія

РФ – рухома фаза

РЛЗ – рослинний лікарський засіб

РСЗ – робочий стандартний зразок

СРМ – стандартні робочі методики

СФ – спектрофотометрія

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ТУ – технічні умови

УФ – ультрафіолетовий

ЦНС – центральна нервова система

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

BP (Brithish Pharmacopoeia) – Британська фармакопея

FDA (Food and Drug Administration) – Управління контролю якості продуктів і лікарських засобів

IIP (International Pharmaceutical Federation) – Міжнародна фармацевтична федерація

QbD (Quality-by-design) – якість шляхом розробки

RSD (Relative Standard Deviation) – відносне стандартне відхилення

USP (United States Pharmacopoeia) – Фармакопея США

WHO (World Health Organization) – Всесвітня організація охорони здоров'я

G – маса рослинної сировини ;

W – об'єм екстрагенту;

C_{co} – початкова концентрація цільових речовин у рослинній сировині;

C_I – концентрація цільових речовин в основному об'ємі екстракту;

C_{Ip} – рівноважна концентрація цільових речовин в основному об'ємі екстракту;

D – коефіцієнт дифузії;

F – площа поверхні масообміну;

δ_c – товщина рослинної клітинної оболонки;

d – розмір частинки твердого тіла рослинної сировини;

k – коефіцієнт масовіддачі від поверхні твердого тіла в екстрагент;

t – час;

$E_{1cm}^{1\%}$ – питомий показник поглинання;

БАС – біологічно-активні сполуки;

РСЗ – розчин стандартного зразку;

СЗ – стандартний зразок;

ФС – фармакопейна стаття;

АНД – аналітично-нормативна документація.

АНОТАЦІЯ

Дячок І.Л. Фармакотехнологічне дослідження комплексного фітоекстракту седативної дії.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – фармація, промислова фармація. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, 2022.

Дисертацію присвячено вирішенню важливого наукового завдання, спрямованого на вирішення актуальних завдань сьогодення – фармацевтичній розробці комплексного фітоекстракту седативної дії та лікарської форм на його основі.

Можливість тривалого безпечного застосування препаратів рослинного походження завдяки м'якій терапевтичній дії та високій ефективності виправдовує їхнє широке використання при лікуванні різних захворювань. Однак, не дивлячись на незаперечні переваги, попит на вітчизняні фітопрепарати перевищує їхню наявність, що пояснює актуальність розробки нових препаратів на основі лікарської рослинної сировини (ЛРС). Сама ідея фітотерапії широко підтримується Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ). На думку експертів, у лікуванні приблизно 75% хворих доцільно застосовувати препарати рослинного походження. ВООЗ видає спеціальні монографії про лікарські рослини, що містять експериментальну й клінічну доказову базу по кожній із найбільш широко використовуваних 235 рослин.

Одним із можливих складів є комплексний фітоекстракт, до складу якого входять дозволені до медичного застосування лікарські рослини та включені до ДФУ (*корені з кореневища валеріани, плоди глоду, трава звіробою, листя м'яти перцевої, шишки хмелю, плоди калини*). Рідкий фітоекстракт містить до 40% спирту етилового.

Сучасні вимоги до седативних препаратів – це не лише заспокійлива дія, а і загальнозміцнююча, підвищення опірності організму до захворювань. Власне запропонований склад забезпечує високий терапевтичний ефект, який виражається у стабілізації психоемоційного стану при одночасному підвищенні

загального тонусу організму та здатності його протистояння тривалим нервовим та фізичним перевантаженням.

Приведений склад суміші лікарської рослинної сировини включає різні анатомо-морфологічні органи, що суттєво відбивається на кінетиці екстрагування. Так, за умови сумісного екстрагування приведених видів сировини в певний момент часу для сировини, що екстрагується легко, рівновага досягається швидше, тоді як для досягнення рівноваги іншого виду сировини в суміші, яка важко екстрагується, необхідно витратити певний додатковий час. Це, в свою чергу, негативно впливає на якість кінцевого продукту екстрагування (комплексного фітоекстракту), оскільки забруднюється баластними речовинами. Для раціонального проведення процесу екстрагування створюються умови для одночасного досягнення рівноваги різних видів рослинної сировини в суміші. Це досягається підбором розміру подрібнення частинки лікарської рослинної сировини. В роботі приводиться методологія аналітичного розрахунку розміру частинок, до якого слід подрібнювати лікарську рослинну сировину різних видів та морфологічних органів, з метою одночасного досягнення рівноваги за умови сумісного екстрагування. Методологія базується виведенні на розв'язку системи аналітичних рівнянь, які описують кінетику екстрагування цієї ж сировини різних розмірів відповідних морфологічних органів.

Зростаючі вимоги до якості лікарських засобів, в тому числі і до одержаних із рослинної сировини, обумовлює необхідність розроблення простих у виконанні і досконаліших методик стандартизації фітопрепаратів. Ці завдання можуть бути вирішені при застосуванні принципу основних класів діючих речовин, які входять до складу як готового комплексного фітоекстракту, так і до вихідної сировини.

Виходячи з хімічного складу діючих речовин, які входять до складу комплексного фітоліекстракту, виду обраного екстрагенту, а також проведених досліджень, основними біологічно-активними сполуками, що екстрагуються 40 % спиртом етиловим є поліфенольні сполуки (флавоноїди, гідроксокоричні кислоти), що є характерними для плодів глоду та калини, трави звіробою, листя

м'яти перцевої, шишок хмелю; органічні кислоти, у тому числі ізовалеріанова, що міститься в кореневищах із коренями валеріани, плодах калини, а також частково у листі м'яти перцевої; амінокислоти, що містяться в кореневищах із коренями валеріани; гіперозид і гіперецин у траві звіробою. Згідно вимог до аналітичної документації в роботі розроблені та відвалідовані методики відповідно до вимог ДФУ для аналітично-нормативної документації, які дозволяють ідентифікувати (якісно оцінити) у складі комплексного фітоекстракту основні діючі речовини рослинного походження за їх складовими.

Фармакологічна дія комплексного фітоекстракту обумовлена властивостями біологічно активних сполук, які містить рослинна сировина, що входить до його складу. З точки зору фармакології це, в основному, седативні та анксиолітичні ефекти. Область клінічного застосування препаратів на основі комплексного фітоекстракту це, в основному, лікування неврастеній, які супроводжуються роздратованістю, тривогою, втомою, розсіяністю, порушенням пам'яті, психічними розладами, а також легкими ознаками порушення сну, головними болями, мігренню, підвищеною нервово-м'язевою збудливістю, клімактичним синдромом.

У зв'язку з цим, експериментальну оцінку фармакологічної активності комплексного фітоекстракту проводили на інтактних тваринах, а також на тваринах із моделями, близькими до патогенезу з відповідною клінічною патологією. Як препарат порівняння був вибраний відомий лікарський засіб – розчин Ново-Пасситу, до складу якого входить подібна за фармакологічною дією лікарська рослинна сировина, а сам комплексний фітоекстракт володіє аналогічною фармакологічною дією.

Дослідження проводились із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 року, Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 року про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 року № 944 «Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи

матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», та Закону України від 21 лютого 2006 року № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

За даними фармакологічних досліджень комплексний фітоекстракт володіє седативною дією та відноситься до нетоксичних речовин (V-клас токсичності). Також отриманий результат свідчить про наявність чіткого вираженого седативного ефекту, не порушує рухову активність (координацію рухів) у мишей в умовах примусового плавання і в деякій мірі покращує працездатність тварин, що виражається в збільшенні тривалості їх активного плавання відносно контрольних, нелікованих мишей. В процесі експериментальних досліджень протягом двох місяців ознак хронічної токсичності не встановлено. Отримані результати дозволяють стверджувати доцільність застосування комплексного фітоекстракту для розроблення **інших** лікарських засобів із чітко вираженою седативною та анксиолітичною дією, а також засобу, що збільшує здатність організму переносити фізичні та емоційні навантаження.

Ключові слова: лікарська рослинна сировина, динаміка вилучення біологічно активних речовин, фітоекстракти, токсичність.

ABSTRACT

Diachok I.L. Pharmacotechnological study of complex phytoextract sedative action.

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of Philosophy (Ph.D.) on a specialty 226 – pharmacy, industrial pharmacy. – Lviv National Medical University named after Danylo Halytsky, Lviv, 2022.

The dissertation is devoted to the solution of an important scientific problem, which is aimed at solving the current problems of today the pharmaceutical development of a complex phytoextract of sedative action and dosage form based on it.

The possibility of long-term safe use of herbal medicines due to its mild therapeutic effect, high efficiency, justifies their widespread use in the treatment of various diseases. However, despite the undeniable advantages, the demand for domestic phytopreparations exceeds their availability, which explains the relevance

of the development of new drugs based on medicinal plant raw materials. The idea of herbal medicine is widely supported by the World Health Organization (WHO). According to experts, in the treatment of approximately 75% of patients it is advisable to use herbal medicines. The WHO publishes special monographs on medicinal plants, containing experimental and clinical evidence for each of the most widely used 235 plants.

One of the possible compositions is a complex phytoextract which includes medicinal plants approved for medical use (*rhizomata cum radicibus valerianae, crataegi fructus, herba hyperici, menthae piperitae folium, strobuli humuli lupuli, viburnum fruits*). Liquid phytoextract contains up to 35% ethyl alcohol.

Modern requirements for sedatives is not only a calming effect, but also tonic, increase the body's resistance to disease. Actually, the proposed composition provides a high therapeutic effect, which is expressed in the stabilization of the psycho-emotional state while increasing the overall tone of the body and its ability to resist prolonged nervous and physical overload.

The above composition of the mixture of medicinal plant raw materials includes various anatomical and morphological organs, which significantly affect the kinetics of extraction. Thus, if the above types of raw materials are co-extracted at some point in time for easily extracted raw materials, equilibrium is achieved faster, whereas to achieve equilibrium of another type of raw material in a mixture that is difficult to extract, it is necessary to spend some extra time. This in turn negatively affects the quality of the final extraction product (complex phytoextract), as it is contaminated with ballast substances. For the rational conduct of the extraction process, conditions are created for the simultaneous achievement of equilibrium of different types of vegetable raw materials in the mixture. This is achieved by selecting the size by grinding a particle of medicinal plant material. The dissertation presents a methodology for analytical calculation of particle size, which should grind medicinal plant raw materials of different species and morphological organs in order to achieve equilibrium under the condition of joint extraction, which is based on solving a system of analytical equations describing the kinetics of extraction of the same raw materials corresponding morphological organs.

The growing demands on the quality of medicines, including those obtained from plant raw materials, necessitates the development of easy-to-implement and more advanced methods of standardization of phytopreparations. These problems can be solved by applying the principle of the main classes of active substances that are part of both ready-made complex phytoextracts and raw materials.

Based on the chemical composition of the active substances that are part of the complex phytoextract, the type of selected extractant, as well as studies, the main biologically active compounds extracted with 40% - ethyl alcohol are polyphenolic compounds (flavonoids, hydroxycinnamic acids), which are characteristic of fruits *crataegi* and *viburnum*, *herba hyperici*, *menthae piperitae folium*, *strobuli humuli lupuli*; organic acids, including isovaleric, found in rhizomes with valerian roots, *viburnum* fruits and *menthae piperitae folium*; aminoacids contained in rhizomes with valerian roots; hyperoside and hypericin in the *herba hyperici*. In accordance with the requirements for analytical documentation, the work developed and validated methods in accordance with the requirements of the SF of Ukraine for analytical and regulatory documentation that allow to identify (qualitatively assess) in the complex phytoextract the main active substances of plant origin by their component.

The pharmacological action of the complex phytoextract is due to the properties of biologically active compounds contained in the plant raw materials that are part of it. From a pharmacological point of view, these are mainly sedative and anxiolytic effects. The field of clinical application of drugs based on complex phytoextract is mainly the treatment of neurasthenia, which is accompanied by irritability, anxiety, fatigue, distraction, memory impairment, mental disorders, as well as mild signs of sleep disturbances, headaches, migraines, increased neuromuscular excitability, menopausal syndrome. In this regard, experimental evaluation of the pharmacological activity of the complex phytoextract was performed on intact animals, as well as on animals with models close to the pathogenesis with the corresponding clinical pathology. As a comparison drug was chosen a well-known drug - a solution of Novo-Passit, which includes similar in pharmacological action medicinal plant raw materials, and the complex phytoextract itself has a similar pharmacological action.

According to pharmacological studies, the complex phytoextract has a sedative effect and is a non-toxic substance (V-toxicity class), and the result indicates a clear sedative effect, does not impair motor activity (coordination of movements) in mice under forced swimming and to some extent improves the efficiency of animals, which is expressed in increasing the duration of their active swimming relative to control, untreated mice. In the course of experimental studies for two months, no signs of chronic toxicity were found. The obtained results allow us to assert the use of complex phytoextract for the development of drugs with a pronounced sedative and anxiolytic effect, as well as a tool that increases the body's ability to tolerate physical and emotional stress.

Key words: medicinal plant raw materials, dynamics of biologically active substances extraction, phytoextracts, toxicity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	1
АНОТАЦІЯ	3
ВСТУП	16
РОЗДІЛ 1. АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ РОЗРОБЛЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	23
1.1 Сучасний стан і тенденції розвитку фармацевтичного ринку седативних препаратів на основі лікарської рослинної сировини.....	23
1.2. Екстрагування лікарської рослинної сировини	28
1.3. Основні групи органічних сполук, які містить лікарська рослинна сировина та місця їх локалізації	34
1.4. Основи теорії розрахунку екстрагування із лікарської рослинної сировини	47
Висновки до розділу 1.....	53
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ТА ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	55
2.1. Визначення екстрактивних речовин у рослинній сировині	55
2. 2. Визначення вмісту вологи у рослинній сировині.....	55
2. 3. Визначення утриманого екстракту в рослинній сировині	56
2. 4. Визначення екстрактивних речовин в екстракті	57
2.5. Визначення вмісту олії м'яти перцевої в перерахунку на ментол.....	57
2.6. Визначення вмісту органічних кислот в перерахунку на ізовалеріанову кислоту.....	59
2.7. Ідентифікація гідроксикоричних кислот	60
2.8. Опис експериментальної установки та методики вивчення кінетики екстрагування	61
2.8.1. Опис методики вивчення умов досягнення рівноваги	62
2. 9. Об'єкти екстрагування	63
2. 10. Характеристика застосовуваних в роботі екстрагентів.....	63
2.11. Фармакологічні дослідження на інтактних тваринах.....	64
2.11.1.Методи дослідження рухової активності щурів.....	64

2.11.2. Методика дослідження на тваринах з експериментальними моделями патології	66
Висновки до розділу 2	67
РОЗДІЛ 3. РОЗРОБЛЕННЯ СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ	
ОДЕРЖАННЯ КОМПЛЕКСНОГО ФІТОЕКСТРАКТУ	
3.1. Обґрунтування складу комплексного фітоекстракту	70
3.2. Дослідження кінетики екстрагування ізовалеріанової кислоти із лікарської рослинної сировини	75
3.3. Обчислення параметрів кінетичних рівнянь екстрагування ізовалеріанової кислоти із лікарської рослинної сировини.....	77
3.4. Визначення оптимальної тривалості екстрагування ізовалеріанової кислоти із лікарської рослинної сировини	80
3.5. Оптимізація одержання ізовалеріанової кислоти за її сумісного екстрагування із лікарської рослинної сировини шляхом математичного моделювання.....	83
3.6. Кінетичні закономірності екстрагування БАС із коренів та кореневищ валер'яни	84
3.7. Кінетичні закономірності екстрагування БАС із плодів калини... ..	89
3.8. Кінетичні закономірності екстрагування БАС із шишок хмелю... ..	92
3.9. Розрахунок кінетики сумісного екстрагування із суміші лікарської рослинної сировини	97
3.10. Коротка технологія одержання комплексного фітоекстракту седативної дії	105
Висновки до розділу 3.....	106
РОЗДІЛ 4. НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ	
ЯКОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ФІТОЕКСТРАКТУ	
СЕДАТИВНОЇ ДІЇ	
4.1. Розроблення методів якісного визначення природніх БАС у комплексному фітоекстракті	110
4.2. Розроблення та валідація методів кількісного визначення	

природних БАС у комплексному фітоекстракті	115
4.2.1. Визначення суми органічних кислот в перерахунку на ізовалеріанову кислоту	116
4.2.2. Визначення вмісту суми флавоноїдів	123
4.2.3. Визначення вмісту суми амінокислот	134
4.2.4. Визначення вмісту спирту	142
Висновки до розділу 4.....	144
РОЗДІЛ 5. ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ФІТОЕКСТРАКТУ	145
5.1. Дослідження на інтактних тваринах	146
5.1.1. Визначення впливу комплексного фітоекстракту на спонтанну рухову активність у щурів, методом «відкритого поля».....	147
5.1.2. Визначення впливу комплексного фітоекстракту на працездатність у мишей методом примусового плавання.....	151
5.1.3. Взаємодія комплексного фітоекстракту зі снодійними речовинами за методом барбітурового сну в щурів.....	154
5.2. Дослідження на тваринах з експериментальними моделями патології	157
5.2.1. Оцінка седативної дії комплексного фітоекстракту на моделі патологічно тривожного стану в щурів, викликаного ампутацією вібриси.....	157
5.2.2. Оцінка анксиолітичної дії комплексного фітоекстракту на моделі тривожності у мишей.....	162
5.3. Дослідження хронічної токсичності комплексного фітоекстракту.....	165
Висновки до розділу 5.....	171
6. Загальні висновки	173
7. Список використаної літератури.....	175

ВСТУП

Актуальність теми. За останні роки спостерігається підвищений інтерес до препаратів, одержаних із рослинної сировини через їх велику ефективність та малу токсичність. Рослинна сировина містить комплекс різноманітних за хімічною будовою та фізіологічною дією біологічно-активних сполук (БАС) у збалансованому та гармонійному поєднанні, що дозволяє оптимально впливати на всі сторони життєдіяльності людини при їх застосуванні. Це пояснюється подібністю багатьох біохімічних процесів, що протікають у клітинах рослинного та тваринного походження.

Фітопрепарати (ФП), що містять комплекс БАС, характеризуються широким спектром фармакологічної дії, ефективністю й малою токсичністю, що дозволяє використовувати їх тривалий час для профілактики й лікування багатьох захворювань без ризику виникнення побічних явищ.

Ця тенденція спостерігається також у розвинутих країнах Європи, Америки, Азії, де добре розвинена хімія органічного синтезу і є можливість створення синтетичних БАС. Проте, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) близько 80% населення світу при первинній медико-санітарній допомозі користуються, в основному, традиційними медикаментами природного походження [1]. Потреба населення в препаратах природного походження задовольняється не повністю, зокрема, це відбувається через дефіцит лікарської рослинної сировини (ЛРС). Номенклатура та обсяги пропозицій на ринку ФП та ЛРС не відповідають зростаючим потребам останніх років [2]. Все це означає, що проблеми одержання лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини, в основі яких лежить екстракція з твердих тіл рослинного походження, і надалі залишатимуться актуальними, а ефективні технології їх одержання, методики стандартизації та фармакологічних досліджень залишаються актуальними. Крім цього, одержання БАС у такий спосіб не спричиняє негативного впливу на навколишнє середовище, а технології їх одержання можна вважати екологічно

безпечними. Все це має особливо важливе значення в час екологічних негараздів.

В Україні та й у світі сьогодні чітко відслідковується тенденція до зростання рівня психопатологічних розладів – зокрема, психогенних невротичних уражень. Такий стан потенціюють різноманітні соціально-психологічні й біологічні фактори, а саме: соціально-економічні проблеми, глобальний інформаційний бум, екологічні проблеми, погіршення якості життя. Всі ці явища сприяють виникненню депресивних станів, які супроводжуються такою симптоматикою, як підвищена втомлюваність, зниження працездатності, дратівливість, тривога, втрата інтересів, розлад сну. Незважаючи на те, що більшість названих симптомів не мають чітко вираженої нозологічної картини, дослідження та створення лікарських засобів для їх профілактики та лікування даної симптоматики є актуальним завданням фармакології.

Найоптимальнішим вирішенням цієї проблематики є седативні засоби, отримані з лікарської рослинної сировини. Зацікавленість у таких препаратах зі сторони лікарів та пацієнтів обумовлена тим, що практично виключає можливість передозування. Для лікування таких патологій сьогодні застосовують препарати на основі лікарської рослинної сировини в комплексі з синтетичними субстанціями, іноді вітамінами [3-7]. Відомі препарати лише на основі лікарської рослинної сировини є багатокомпонентними та громіздкими при виготовленні і стандартизації. Фармакоекономіка таких препаратів потребує вдосконалення. Дослідження та розроблення простіших за складом, одночасно не менш ефективних седативних засобів із дозволеної до застосування вітчизняної лікарської рослинної сировини є важливим завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Основні положення дисертаційної роботи проводились в рамках науково-дослідних робіт Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького протягом 2017-2021 рр.; законодавчих актів: Постанови Кабінету Міністрів України від від 05 грудня 2018 р. № 1022 «Про затвердження Державної стратегії реалізації державної політики забезпечення населення

лікарськими засобами на період до 2025 року»; напрямку науково-дослідної роботи кафедри фармакології.

Метою роботи є теоретичне обґрунтування та практичне розроблення складу, технології одержання, методик стандартизації та фармакологічної оцінки комплексного фітоекстракту седативної дії і лікарського засобу на його основі.

Об'єкт дослідження: фармацевтична розробка комплексного фітоекстракту седативної дії і лікарського засобу на його основі.

Предмет дослідження: теоретичне та експериментальне обґрунтування складу, технології одержання, методики ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних сполук, фармакологічне підтвердження терапевтичного ефекту комплексного фітоекстракту седативної дії.

Для досягнення мети поставлено та вирішено наступні завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані літературних джерел щодо психопатологічних розладів – зокрема психогенних невротичних уражень, вивчити стан фармацевтичного ринку і номенклатуру лікарських засобів для їх лікування;

- обґрунтувати оптимальний склад фітоекстракту седативної дії та на підставі комплексу технологічних, фізико-хімічних, фармакологічних досліджень виконати фармацевтичну розробку;

- запропонувати методологію аналітичного розрахунку розміру частинок ЛРС різних морфологічних органів, що входять у склад фітоекстракту для одночасного досягнення максимального ступеня вилучення БАС;

- розробити технологію одержання комплексного фітоекстракту та на його основі лікарського засобу;

- встановити основні показники якості комплексного фітоекстракту, розробити методики якісного та кількісного визначення БАС та валідувати їх;

- провести доклінічні фармакологічні дослідження комплексного фітоекстракту;

- дослідити стабільність розробленого комплексного фітоекстракту, встановити умови та термін зберігання лікарського засобу на його основі.

Методи дослідження: У дисертаційному дослідженні для вирішення поставлених завдань були застосовані органолептичні, технологічні, фізико-хімічні (абсорбційна спектрофотометрія, тонкошарова хроматографія (ТШХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), газова хроматографія (ГХ)), фармакологічні та мікробіологічні методи; методи математичної статистики; фармакопейні методи проведення валідаційних досліджень. Для прогнозування біологічної активності окремих БАС застосовано програму «PASS Inet». Статистичну обробку експериментальних даних було виконано із застосуванням комп'ютерної програми Microsoft Excel, із використанням комп'ютерної техніки і прикладних програмних пакетів (Mathcad, VBA, Grapher).

Наукова новизна одержаних результатів: У результаті проведених фармакотехнологічних випробувань лікарської рослинної сировини та композиції на її основі *вперше*:

- теоретично обґрунтовано та експериментально встановлено оригінальний склад комплексного фітоекстракту седативної дії;
- розроблено методологію розрахунку розміру, до якого слід подрібнювати рослинну сировину різних морфологічних органів з метою одночасного досягнення максимального ступеня вилучення БАС при сумісному екстрагуванні;
- розроблено методику кількісного визначення ізовалеріанової кислоти методом кондуктометричного титрування комплексного фітоекстракту та проведена її валідація;

Удосконалено:

- оптимальні параметри (температуру, розмір частинки, співвідношення фаз та ін.) процесу екстрагування з лікарської рослинної сировини;
- методики якісного та кількісного визначення основних БАС у комплексному фітоекстракті, проведено їх валідацію;

Набули подальшого розвитку:

- теоретичні та практичні уявлення про синергетичний ефект БАС, що

входять до складу лікарської рослинної сировини, з якої одержаний комплексний фітоекстракт;

- технологія максимального вилучення БАС із лікарської рослинної сировини методом екстрагування в апараті з мішалкою.

Новизна проведених дисертаційних досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Комплексний фітополіекстракт седативної дії»: Патент на корисну модель № 124845 Україна, МПК А61Р 25/20, А61К 36/00, опубл. 25.04.2018 Бюл. № 8. – 4с.

Практичне значення отриманих результатів.

На основі проведеного науково-теоретичного аналізу і експериментальних випробувань;

- розроблено склад та спосіб одержання комплексного фітоекстракту седативної дії;

- розроблено методика кондуктометричного визначення органічних кислот у перерахунку на валеріанову кислоту комплексного фітоекстракту седативної дії;

- запропоновано методологію розрахунку розміру, до якого слід подрібнювати рослинну сировину різних морфологічних розмірів з метою одночасного досягнення заданого ступеня вилучення БАС;

- доведена ефективність та нешкідливість комплексного фітоекстракту седативної дії та лікарського засобу на його основі;

- результати наукових досліджень упроваджено в навчальний процес та наукову діяльність профільних кафедр трьох вищих навчальних медичних закладів України.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційне дослідження є самостійно підготовленою науковою працею, в якій проведено аналіз літературних джерел за темою роботи, визначено мету та поставлені задачі, розроблено склад, спосіб одержання, методики стандартизації та проведено фармакологічні дослідження комплексного фітоекстракту седативної дії і лікарського засобу на його основі. Особистий внесок здобувача складається з проведення експериментальних досліджень, оброблення отриманих даних та формулювання загальних

положень і висновків. Здобувач брала участь у розробці складу (патент України на корисну модель № №124845), виготовленні лабораторної установки для вивчення динаміки екстрагування біологічно активних сполук із лікарської рослинної сировини, обробці отриманих даних; встановленні основних показників якості та їх визначенні.

Здобувачем особисто проведено та здійснено інструментально-лабораторні вимірювання для визначення основних фармакологічних, технологічних та фізико-хімічних параметрів фітоекстракту седативної дії, отриманого на основі суміші лікарської рослинної сировини.

Апробація результатів дисертації.

Результати досліджень доповідались та обговорювались на наступних науково-практичних і науково-технічних конференціях і семінарах: Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 70-річчю з дня народження професора В.М. Бобирьова, «Сучасні аспекти вільнорадикальної патології в експериментальній та клінічній медицині», Полтава, 7–8 травня 2020 р.; I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», 30–31 березня 2017 р., Харків, НФаУ; VIII Lviv–Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry, Lublin 2017; Міжнародна науково-практична конференція «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності», Дніпро, 13–14 січня 2017 р.; Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів. «Ліки -людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», Харків, 8 квітня 2016 р.; International Scientific Congress «Modern directions in chemistry, biology, pharmacy and biotechnology», Lviv, 2015.

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 14 наукових праць, серед них: 4 публікації у фахових виданнях України, 1 стаття у виданні іншої держави з напрямку дисертації (зареєстровано в міжнародній базі даних Inspec Direct), 8 тез доповідей на міжнародних науково-практичних конференціях, 1 патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Повний обсяг

дисертації становить 195 сторінки: 129 сторінок основного тексту, 35 рисунків, 30 таблиць (5 таблиць займають повністю площу 5 сторінок), список використаних джерел зі 217 найменуваннями на 21 сторінках і 3 додатки.

РОЗДІЛ 1 . АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ РОЗРОБЛЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Сучасний стан і тенденції розвитку фармацевтичного ринку седативних препаратів на основі лікарської рослинної сировини

Останніми роками тривога та депресія стали одними з основних проблем здоров'я як молодого, так і старшого населення не тільки в Україні, а й в Європі, Азії, на Американському континенті. Ситуацію, що склалася, потенціюють різні соціально-психологічні та біологічні фактори – зокрема, соціально-економічні проблеми, збройні конфлікти, екологічна ситуація, глобальна інформаційна перенасиченість. В результаті таких обставин людство знаходиться у стані хронічної втоми, а це, зазвичай, спричиняє погіршення якості життя. Седативні препарати є найбільш оптимальними для лікування таких та подібних станів. Значний інтерес до седативних засобів, одержаних на основі лікарської рослинної сировини, з боку споживачів обумовлений можливістю лікування без особливих супутніх ефектів, легкістю їх застосування, простотою дозування.

Так, фітопрепарати знаходять широке застосування в медичній практиці для профілактики і лікування низки захворювань, які супроводжуються зростанням стресових та психотравмуючих ситуацій. Сучасний синтетичний лікувальний засіб може бути надзвичайно ефективним і даватиме швидкий лікувальний результат, проте в багатьох випадках деякі препарати можуть замінятись цілющими засобами, виготовленими з лікарської рослинної сировини з доведеною ефективністю та тривалим застосуванням.

Фітопрепарати, одержані з екологічно чистої сировини, містять комплекси біологічно активних сполук та знаходять широке застосування у вигляді настоїв, відварів, настоек, екстрактів рідких, густих чи сухих. Хімічно чисті речовини рослинного походження, які містять фітопрепарати, за своїми характеристиками цілком відповідають синтетичним аналогам. Проте фітопрепарати є менш токсичні при досить високій ефективності та володіють

широким спектром терапевтичної дії, мінімумом побічних ефектів, мають відносно дешеву вартість у порівнянні з синтетичними аналогами. Крім того, психотропні препарати (антидепресанти, анксиолітики та седативні засоби) в більшості випадків необхідно приймати впродовж тривалого часу. В таких випадках фітопрепарати стають вкрай необхідними, їм приділяють велику увагу через умови нешкідливості та доступності [1].

Сучасна наука визнала ефективність і нешкідливість препаратів рослинного походження, тому послідовно попит на рослинні препарати зростає як більш безпечна альтернатива або доповнення до звичайної медицини.

Представлені на фармацевтичному ринку України фітопрепарати заспокійливої та седативної дії задовольняють потреби менше, ніж на 40%, у той час, коли лікарські засоби цієї групи користуються особливим попитом завдяки відсутності небажаних побічних ефектів у порівнянні з синтетичними аналогами [2, 3]. На відміну від «класичних» транквілізаторів фітопрепарати переважно мають статус препаратів безрецептурного відпуску, не справляють небезпеки до розвитку звикання, психофізіологічної чи фізичної залежності, а головне не проявляють допінгового ефекту, що є важливим фактором для їх використання в практиці спортивної медицини [4, 5]. Лікарські рослинні препарати седативної дії забезпечують стабілізацію корково-підкоркових взаємозв'язків і психоемоційної сфери загалом [7].

Аналізуючи стан фармацевтичного ринку України седативних лікарських засобів за походженням, слід зазначити, що синтетичні препарати становлять 24,55% ринку (92,7 % – тверді лікарські форми), а препарати рослинного походження займають 75,45 % ринку (89,6 % – тверді лікарські форми) (рис. 1.1) [8, 9].

Розрізняють дві групи засобів, отриманих на основі лікарської рослинної сировини, які умовно названі на рисунку 1.2. рослинними препаратами (РП): монопрепарати та комбіновані рослинні препарати.

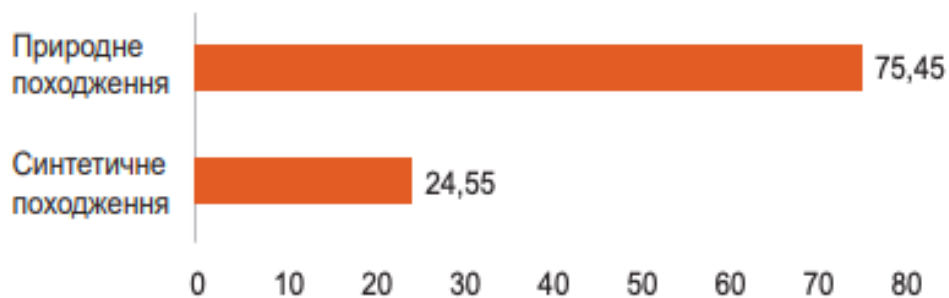


Рис. 1.1. Структура седативних лікарських засобів за походженням (за даними Державного реєстру лікарських засобів України станом на вересень 2020 року) [9].

Монопрепарати представлені препаратами валеріани, шавлії, хмелю, лаванди, півонії та кропиви собачої і т. д. (рис. 1.2). На фармацевтичному ринку України представлені седативні препарати пропонуються в різних лікарських формах, зокрема: краплі, таблетки, капсули, збори, розчини для внутрішнього застосування, настойки, чаї, сиропи. Результати аналізу асортименту монопрепаратів та комбінованих лікарських засобів вказують на розподіл препаратів за лікарською формою та видом лікарської рослинної сировини з урахуванням кількості пропозицій цієї форми на ринку [8, 10].

З монопрепаратів меліси лікарської найчастіше пропонуються порошки (субстанції) – 60%, а на другому місці трава – 40%. Необхідно також відзначити, що виробництво більшості седативних лікарських засобів на основі меліси лікарської дублюється фірмами-виробниками (наприклад, порошок випускають 4 виробники). Серед зареєстрованих комбінованих препаратів у кількісному співвідношенні переважають тверді лікарські форми (капсули, таблетки, збори) – 61,4%, тоді як рідкі складають 38,6%. Перші мають перевагу через зручність застосування та точність дозування порівняно з рідкими лікарськими формами. Проте ефективність рідких лікарських форм зазвичай є більшою, через відсутність термічних та інших обробок у технологічних схемах виробництва.

Серед зареєстрованих комбінованих препаратів у кількісному співвідношенні переважають тверді лікарські форми (капсули, таблетки, збори) – 61,4%, в той час як рідкі складають 38,6%.

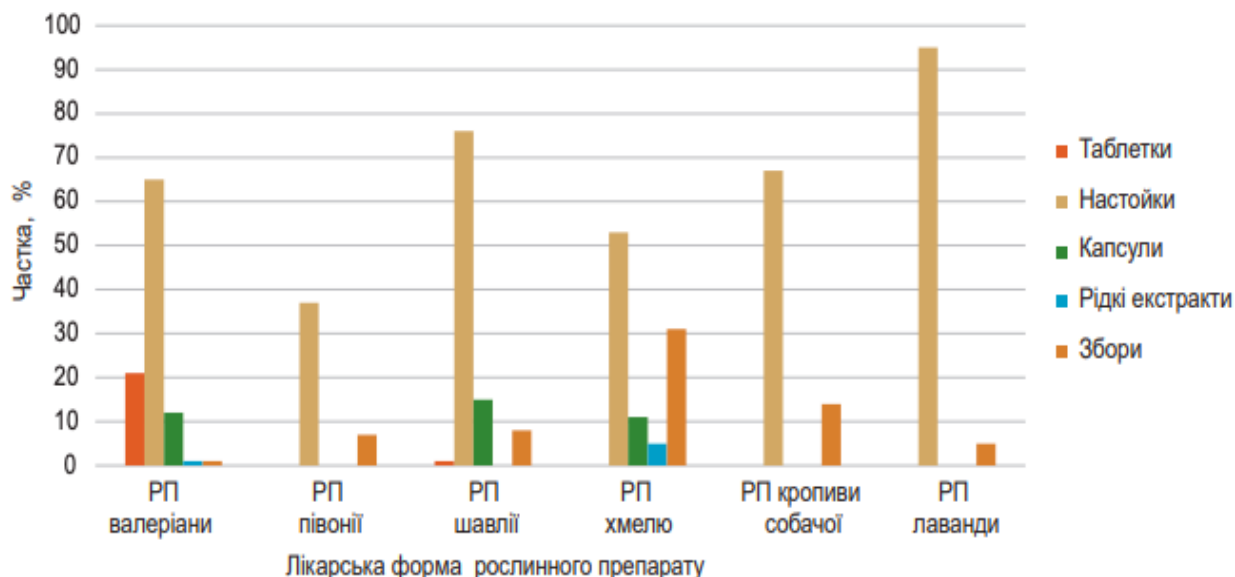


Рис. 1.2. Частка лікарських засобів в асортименті монопрепаратів, отриманих на основі рослинної сировини (за даними Державного реєстру лікарських засобів України станом на вересень 2020 року) [9].

Перші мають перевагу через зручність застосування та точність дозування порівняно з рідкими лікарськими формами [10]. Але знову ж таки ефективність рідких лікарських форм є більшою, через відсутність тих же термічних та інших обробок в технологіях виробництва. З цим фактом важко не погодитись, його слід враховувати.

Одночасно значною мірою це домінування можна пояснити традиційною технологією переробки трави – отримання сухих екстрактів та лабільністю біологічно активних сполук меліси. Тверда лікарська форма (таблетка, капсула) забезпечує необхідний захист отриманого галенового напівпродукту меліси (екстракту) від вологи, світла, коливання температур та ін. [10], проте для її отримання слід пройти низку технологічних операцій, які не сприяють збереженню цих же БАС.

Монопрепарати півонії, кропиви собачої та лаванди представлені лише настоянками та зборами, але ці види лікарських рослин входять до складу багатокomпонентних лікарських засобів седативної дії, тому широко застосовуються з цією метою. Різноманітністю лікарських форм характеризуються лише препарати валеріани: настоянка (8 препаратів), таблетки

(4 препарати), капсули (2 препарати), рідкий екстракт (1 препарат), ЛРС пачка/фільтр пакети (4 препарати), шавлії та хмелю [11, 12]. У низці випадків терапія монопрепаратами валеріани виявляється недостатньо ефективною для усунення проявів супутньої вегето-судинної дистонії, а іноді необхідне посилення седативного ефекту. Для цього до валеріани у складі комбінованих препаратів додають такі лікарські рослини, як хміль звичайний, м'ята перцева та меліса лікарська. Препарати півонії та кропиви собачої застосовують у комплексному лікуванні вегето-судинної дистонії, безсоння, що має невротичний характер, неврозів, епілепсії, гормональних розладів тощо [8]. Препарати валеріани є одними з найперспективніших, оскільки вони дають змогу досягти максимального рівня комплексної психоемоційної та когнітивної дії, що неможливо під час застосування інших ноотропних і седативних засобів [13]. У ряді випадків терапія монопрепаратами валеріани виявляється недостатньо ефективною з точки зору усунення проявів супутньої вегето-судинної дистонії, а іноді необхідне посилення седативного або снодійного ефекту. З цією метою до валеріани у складі комбінованих препаратів додають такі лікарські рослини, як хміль звичайний, м'ята перцева, вахта трилиста, меліса лікарська, пасифлора тощо [12].

За даними ДП «Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України» станом на березень 2018 р. в Україні зареєстровано 14 торговельних назв, що з урахуванням лікарських форм складає 45 лікарських препаратів валеріани лікарської. Кількість монопрепаратів на її основі складає 78% від усього асортименту. Основна частка (86%) представлених на ринку асортименту препаратів на основі валеріани є препаратами вітчизняних фармацевтичних компаній [14].

При вивченні пропозицій лікарських препаратів на основі шишок хмелю звичайного можна зробити висновок, що їх кількість у рідких (розчини, краплі, настойки, сиропи, чаї) і твердих (капсули, збори, таблетки) лікарських формах у цілому майже не відрізняються – 52% і 48%, відповідно.

Фітопрепарати на основі суцвіть лаванди вузьколистої у вигляді рідких (розчини, настойки) і твердих (капсули, таблетки) лікарських форм

представлені рівномірно. Цей факт можна пояснити тим, що рідкі лікарські форми посідають на ринку значну частку завдяки високій біодоступності, а тверді – є зручними в застосуванні та точними в дозуванні [10].

Так, аналіз лікарських рослинних препаратів, які представлені на фармацевтичному ринку України, свідчить про виражену недостатність засобів вітчизняного виробництва. Він становить 35,3% проти 64,7% іноземних виробників, що і обумовлює доцільність їх створення [6].

Результати вивчення асортиментної структури седативних лікарських засобів свідчать про те, що серед іноземних країн-постачальників лідируючі позиції займають 18 фірм-виробників, серед яких Німеччини («Dr. Willmar Schwabe GmbH&Co», «Queisser Pharma», «W. Spitzner Arzneimittelfabrik»), Іспанії («Bioserch»), Угорщини («Beres Pharma»), Швейцарії («Frutarom Switzerland Ltd»), Чеської Республіки («Dr. Mueller Pharma», «Leros», «Teva», «Avecs Pharmaceutical»), Польщі («Labofarm», «Herbapol», «Phytopharm Klenka»), Словенії («Sandoz», «Lek»), Австрії («Фармацойтіше Фабрік Монтавіт ГмбХ»), Сербії («Здравле АТ»), США («Unipharm Inc») [12].

1.2. Екстрагування лікарської рослинної сировини

Екстрагування рослинної сировини з метою одержання біологічно активних сполук набуло широкого застосування у фармацевтичній, харчовій, косметико-парфюмерній та інших галузях промисловості [8-92].

При вивченні теорії екстрагування в системі тверде тіло - рідина слід виділяти два явища: розчинення і екстрагування. Якщо екстрагент взаємодіє з твердим тілом, яке повністю переходить у розчин, і така взаємодія проходить, в основному, на поверхні твердої фази, то таке явище називається розчиненням. Розчинення як правило передуює екстрагуванню.

Цільова речовина в об'ємі твердого тіла може знаходитися у твердому або рідкому агрегатному стані. Екстрагент проникає в пори твердого тіла, розчиняє цільову речовину і створює умови для дифузії останньої до зовнішньої

поверхні. Незалежно від агрегатного стану цільової речовини, скелет твердого тіла при екстрагуванні залишається незмінним і виконує роль інертного носія.

Таким чином, під екстракцією слід розуміти процес селективного вилучення одного чи декількох компонентів рідким екстрагентом, залишаючи незмінним скелет твердого тіла.

Процес екстрагування у більшості випадків проводять при температурі оточуючого середовища (18-25 °C) та співвідношенні фаз (тверде тіло-рідина) від 1÷5 до 1÷30. Як екстрагенти застосовують органічні розчинники або їх суміші, найчастіше водно-спиртові розчини різної концентрації, ефіри, хлороформ і подібні. Для видалення розчинників із екстрактів, як правило, застосовують випаровування, що не завжди кращим чином впливає на якість кінцевого продукту екстрагування [14, 15, 16, 17].

Розрізняють два принципово різних способи проведення процесу екстрагування. При першому способі має місце досягнення рівноваги між концентрацією цільової речовини в твердому тілі й екстрагенті; до даного способу відносять різні методи одно- та багатостадійного статичного настоювання (мацерація), а також прямо поточну екстракцію. Всі ці методи не забезпечують повного виділення цільових речовин із сировини [18, 19].

Другий спосіб характеризується безперервною подачею екстрагенту на тверду рослинну сировину, завдяки чому забезпечується стабільний градієнт концентрації цільових речовин у двох фазах. До цього способу відносять методи динамічного настоювання (перколяція), а також проти поточну екстракцію.

Одним із факторів інтенсифікування процесу екстрагування є подрібнення сировини. При подрібненні проходить зменшення розміру частинки твердої фази, збільшення питомої поверхні й кількості зруйнованих клітин. Оскільки подрібнення проводять на різного виду дробарках: ударних, ріжучих, роздавлюючих, роздираючих, сировина одного і того ж ступеня подрібнення, але подрібнена на відповідній дробарці, матиме різні властивості. Сировина, клітинна структура якої зруйнована більше, екстрагуватиметься швидше внаслідок прискореного процесу вимивання цільових речовин із повніше

зруйнованих клітин. Рядом авторів експериментально встановлено оптимальний розмір частинок твердої фази органічної сировини в межах 0,2-0,5 мм [20 - 23].

Важливо зазначити, що як на якість подрібнення, так і на екстрагування буде впливати вміст вологи в органічній сировині. Зі збільшенням вологи погіршуються умови подрібнення, а при екстрагуванні вихід гідрофобних сполук зменшується. Тому допустимий вміст вологи регламентується в межах від 7% до 14% в залежності від виду сировини [24].

В процесах екстрагування рослинної сировини встановлено два етапи – етап швидкого та етап повільного екстрагування. В процесі першого етапу проходить розчинення і швидке вимивання зі зруйнованих клітин цільових речовин. На другому етапі – дифузія цільових речовин із незруйнованих клітин. Перший етап протікає в декілька разів швидше від другого і залежить від гідродинамічних умов. Другий етап протікає повільно і залежить від коефіцієнту масопереносу всередині твердої частинки органічної сировини [27].

Внаслідок інтенсифікації гідродинамічних умов, молекулярний механізм переносу в екстрагенті переходить у більш ефективний – конвективний. Тому слід зважати на те, що турбулізація потоку екстрагенту відносно твердої фази проявляє позитивний ефект на процес екстрагування в першій фазі, коли концентрація цільових речовин на поверхні твердої фази є найбільшою. На другому етапі процес протікає за рахунок внутрішнього масопереносу в твердій фазі, тому збільшення швидкості обтікання екстрагентом частинок рослинної сировини, або турбулізація потоку, суттєвого значення не справляє [25-28].

Крім перемішування та циркуляцій покращення гідродинамічних умов можна досягнути за допомогою вібрацій (низько чи високочастотних), створення кавітацій, дією відцентрових сил, ультразвуку, електричного струму, електромагнітного поля [32-42].

Процеси ультразвукової екстракції, як правило, забезпечують високу ступінь виділення цільових речовин. Ультразвук руйнує пограничний дифузійний шар, а також внаслідок зміни тиску (при періодичному стискуванні)

сприяє виникненню так званого ефекту «губки», при якому покращується проникнення екстрагенту в сировину. Разом із цим, речовини, які здатні до гідролізу та окислення, можуть руйнуватися при даному процесі екстрагування. Сліди важких металів, присутні при ультразвуковій обробці, також сприятимуть розкладу цільових речовин. Таким чином, даний спосіб екстрагування слід реалізовувати з великою обережністю і лише для стабільних біологічно-активних сполук [43-44].

Постійний електричний струм може прискорювати процеси внутрішнього масопереносу, особливо це стосується речовин, які відносяться до електролітів (алкалоїди, органічні кислоти, амінокислоти, фосфоліпіди тощо) [29-34]. Проте стабільність одержаних сполук після обробки електричним струмом є дуже сумнівною.

Автори робіт [30-34] вважають, що електромагнітне поле зменшує ступінь гідратації, тобто сольватацію молекул цільових речовин, що призводить до зменшення розміру дифундуючих комплексів біологічно-активних сполук, внаслідок чого зростає коефіцієнт дифузії через пори клітинних мембран і, відповідно, внутрішній масоперенос.

Цільові речовини, які підлягають екстрагуванню, можна поділити на: розчинні в полярних розчинниках – гідрофільні, розчинні в мало полярних розчинниках – змішані та розчинні в неполярних розчинниках – гідрофобні. Тому тип розчинника, який може бути використаний як екстрагент певного виду сполук, буде визначатися його фізико-хімічними властивостями, які в кожному конкретному випадку матимуть вирішальну роль. Розчинники з високим значенням діелектричної постійної добре розчиняють полярні сполуки і тому можуть використовуватися в ролі екстрагентів полярних біологічно-активних речовин. Сполуки неполярні розчиняються в розчинниках із низьким значенням діелектричної постійної і, відповідно, застосовуються в ролі екстрагентів неполярних біологічно активних сполук.

Значний вплив на розчинність і швидкість дифузії, а, відповідно, масопереносу цільових речовин має в'язкість та поверхневий натяг екстрагенту.

В'язкість входить у рівняння Ейнштейна для коефіцієнта дифузії і її зменшення пропорційне збільшенню коефіцієнта дифузії:

$$\frac{D_1}{D} = \frac{T_1 \mu}{T \mu_1};$$

де: D_1, D – коефіцієнти дифузії при температурах T_1, T ; μ_1, μ – в'язкість при відповідних температурах.

Тому в процесах екстрагування доцільно застосовувати екстрагенти з якомога меншими значеннями в'язкості. Багато робіт присвячено дослідженню впливу поверхневого натягу екстрагенту на швидкість екстрагування. В роботі [45] дані переконливо засвідчують, що зменшення поверхневого натягу екстрагенту позитивно впливає на швидкість екстрагування. Тому часто для зменшення поверхневого натягу екстрагенту використовують добавки поверхнево-активних речовин у незначних концентраціях.

Дискусійним є питання про напрям подачі екстрагенту: зверху вниз чи знизу вверх. У літературі приводяться протилежні дані [27]. Пояснення про напрям подачі екстрагенту базується на фізико-хімічних властивостях як екстрагентів, так і цільових речовин. В роботі [43] аргументується, що подача екстрагенту зверху вниз приводить до утворення застійних зон у нижній частині екстрактора, де знаходиться рослинна сировина. Утворення застійних зон приводить до збільшення часу екстрагування і співвідношення твердої і рідкої фаз (гідромодуля). При подачі екстрагенту знизу вверх, застійних зон утворюється менше. Важливим є і те, що при подачі екстрагенту знизу вверх, при великих швидкостях екстрагенту можна досягнути зваженого стану, тобто найбільш сприятливих екстрагуванню гідродинамічних умов. Крім цього, для екстрагентів із густиною, більшою ніж у цільових речовин, бажаною є подача екстрагенту знизу вверх, а для екстрагентів із меншою густиною – зверху вниз [44].

Є великий обсяг літератури щодо екстрагування органічної сировини зрідженими газами [50-66]. Процес екстрагування в цьому випадку проходить під тиском. Зріджені гази є зручними екстрагентами, оскільки після зняття тиску екстрагент повністю випаровується і в результаті залишається сума

проекстрагованих речовин. Відомі різні види зріджених газів – хлор, фтор похідні вуглеводнів (хладони) ряду метану, етану, пропану, бутану. Серед них є як полярні, так і неполярні рідини. Тому скраплені гази використовують для селективного виділення біологічно-активних речовин різної полярності. Проте хладони мають один суттєвий недолік, який зводить нанівець всі переваги, приведені вище. Він має згубний вплив на озоновий шар атмосфери. Тому на сьогоднішній день його застосування обмежене. Дещо більш безпечним з цієї точки зору є скраплений оксид вуглецю-IV. Він набув найбільшого застосування у багатьох країнах світу, як максимально екологічно безпечний екстрагент [50,57].

В ряді країн західної Європи застосовують скраплені гази в надкритичному стані $P=600$ бар та 40°C [58,66]. За таких умов спостерігаються скачкоподібні зміни розчинної здатності скраплених газів, обумовлені збільшенням коефіцієнта дифузії та зменшенням в'язкості та густини [60,61]. Найбільш вивченим екстрагентом у надкритичному стані на сьогодні є оксид вуглецю – IV [62].

Пошук оптимальних термодинамічних умов екстрагування рослинної сировини, кипіння розчинника під вакуумом [67], створення перепадів тиску, ефект сатурації [65] є важливим напрямком в дослідженнях. Нагрів до кипіння з використанням вакууму – основний метод екстрагування в киплячому шарі. Зменшення тиску в процесі екстрагування дозволяє евакуювати повітря з екстракційного об'єму, що приводить до покращення змочування екстрагованої сировини і проникнення в неї екстрагенту. При кипінні екстрагенту повітряні бульбашки переміщуються в об'ємі твердої фази, створюючи тим самим сприятливі умови більш повному виходу цільової речовини до границі розділу фаз [63, 64].

Ефект перепаду тисків реалізується з використанням екстрагентів, які легко перегріти відносно параметрів навколишнього середовища (діетиловий ефір, гексан, скраплені гази тощо). Суть методу полягає в наступному: після змочення і проникнення екстрагенту в пори твердої фази різко зменшують тиск в об'ємі екстрактора до величини, нижчої тиску насичення, при даній

температурі. При цьому екстрагент закипає. Через гідродинамічний опір скелету твердого матеріалу в його об'ємі створюється надлишковий тиск відносно загального тиску екстрагенту. За рахунок різниці тисків в об'ємі частинки твердого матеріалу виникає паро-рідинний потік, який захоплює цільові компоненти і виносить їх до границі розділу фаз. При застосуванні твердої сировини клітинної будови при цьому має місце руйнування цілісної структури клітин і, відповідно, прискорення процесу екстрагування. Суттєвим недоліком цього методу є зменшення температури екстрагенту при його закипанні та втрати в атмосферу.

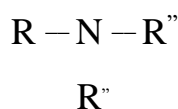
Подібним до методу екстрагування, описаного вище, є метод екстрагування з використанням сатурації газів під тиском. Суть методу полягає в тому, що екстрагент попередньо насичується легко розчинним газом під тиском, в результаті чого отримується пересичений розчин газу в екстрагенті. При проведенні екстракції таким екстрагентом під тиском, зрозуміло, екстрагент проникає в пори твердої фази, несучи зі собою газову складову. При зменшенні тиску в екстракторі розчинений газ легко виділяється, утворені бульбашки витісняють екстрагент із внутрішнього середовища твердої фази, підвищуючи тим самим ефективність екстрагування. Метод має суттєвий, аналогічний вище описаному, недолік.

Таким чином із факторів, що впливають на повноту екстракції та піддаються регулюванню, а отже, можуть скеровувати процес у бажану сторону, є: вибір екстрагента, ступінь подрібнення сировини, різниця концентрацій, температура, в'язкість екстрагента, час процесу екстракції та гідродинамічні умови.

1.3. Основні групи органічних сполук, які містить лікарська рослинна сировина та місця їх локалізації

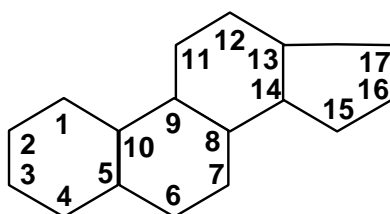
Рослинна сировина містить різноманітні за хімічною будовою та фізіологічною дією групи органічних сполук (алкалоїди, полісахариди, глікозиди, фенольні та ін.), які локалізовані в різних вегетативних органах.

1.3.1. Алкалоїди. Алкалоїди – азотовмісні органічні основи, зазвичай гетероциклічні, що володіють сильною фізіологічною дією на живий організм і містяться в основному в рослинах. Основні властивості цих сполук обумовили їх назву (алкалоїдний – подібний лугам). Більшість алкалоїдів, як сказано вище, мають гетероциклічну структуру і тільки в деяких із них атом азоту не входить у цикл. Класифікують алкалоїди, в основному, за характером гетероциклу. Згідно цієї класифікації їх поділяють на групи: похідні піридину, піперідину, піролізидону, хіноліну, ізохіноліну, індолу, імідазолу, пурину, алкалоїди дитерпенової структури, стероїдні алкалоїди, ациклічні алкалоїди, колхицинові алкалоїди, пептидні алкалоїди, які містять сірку, похідні тіосечовини і сечовини. За хімічною будовою алкалоїди представляють собою, як правило, третинні аміни, і тільки деякі з них є вторинними амінами або похідними чотиризаміщених амонієвих основ. Структурно їх можна представляти, як складні похідні аміаку, в якого атоми водню заміщені радикалами:



У рослинах алкалоїди містяться в клітинному соку в формі солей органічних кислот: яблуневої, лимонної, щавлевої, іноді соляної. У деяких рослинах алкалоїди зв'язані зі специфічними органічними кислотами, характерними для рослин певної родини, роду або навіть виду [93-98].

1.3.2. Глікозиди. До глікозидів відносять природні сполуки, молекула яких складається з цукрової (глікон) і нецукрової (аглікон) частин, зв'язаних через атоми вуглецю, кисню, сірки або азоту. Між собою глікозиди можуть відрізнятися як структурою аглікона, так і будовою цукрового ланцюга [95].



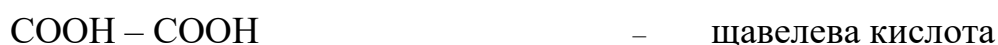
аглікон

Аглікон є похідним циклопектанфентрену і відноситься до класу стероїдів. Аглікони характеризуються наявністю п'яти або шестичленного лактонового

кільця, сполученого в положенні C₁₇ стероїдного циклу. Глікозиди розщеплюються (гідролізуються) на цукор і відповідні аглікони під дією ферментів, а деякі навіть при кип'ятінні з водою. У чистому вигляді глікозиди це – аморфні або кристалічні, безбарвні або кольорові речовини, розчинні у воді та спиртах.

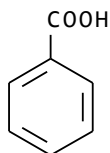
1.3.3. Органічні кислоти. Органічні кислоти містяться у більшості морфологічних органів рослин у вільному стані або у вигляді солей, ефірів, димерів і т.п. У плодах кислоти знаходяться у вільному стані, тоді як в інших частинах рослин переважають зв'язані форми кислот. Класифікують органічні кислоти по аніону на наступні групи: аліфатичні кислоти (кислоти жирного ряду), ароматичні, аліциклічні, амінокислоти [8, 9].

Аліфатичні кислоти. Розрізняють леткі і нелеткі аліфатичні органічні кислоти. До летких відносяться одноосновні кислоти: мурашина, оцтова, пропіонова, масляна, ізомасляна, ізовалеріанова – всі вони мають різкий запах. До нелетких аліфатичних відносяться кислоти, які мають гідроксильні (гідроксокислоти) або карбонільні групи:

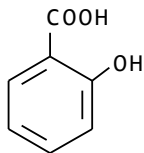


Нелеткі кислоти по числу карбоксильних груп поділяються на одноосновні, двоосновні і триосновні. Найбільш широко розповсюджені яблучна і цитринова кислоти, які присутні майже у всіх рослинах.

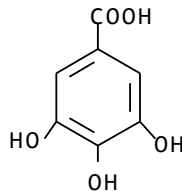
Ароматичні кислоти. З ароматичних кислот, які беруть участь в обмінних процесах рослин, слід відзначити бензойну, саліцилову, бузкову і галову кислоту.



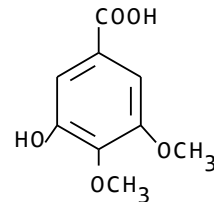
бензольна



саліцилова

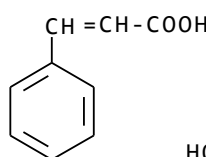


гало́ва

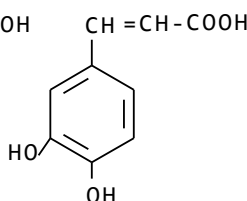


бузкова

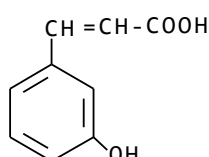
В рослинах зустрічаються також ефіри кислот. Широко розповсюджена гало́ва кислота, вона входить у склад дубильних речовин. Диметилловий ефір гало́вої кислоти – бузкова кислота. З фенолкарбонових кислот представляють інтерес похідні коричної кислоти.



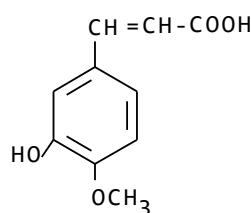
корична



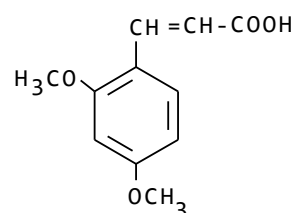
кофеїна



кумарова

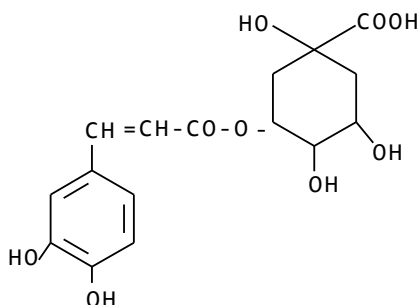


ферулова

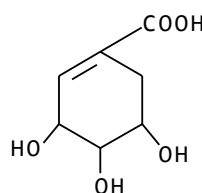


синапова

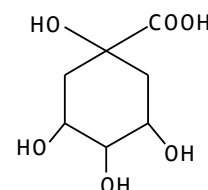
Відомі дві стереоізомерні орто-оксикоричні кислоти: одна має трансконфігурацію і називається кумарова кислота, друга – цисконфігурацію і називається кумаринова кислота. Тільки кумаринова кислота може бути у вільному стані. Кумаринова кислота утворює лактон кумарин, який знаходиться у багатьох рослинах. Кавова кислота (3,4-диоксикорична) широко розповсюджена в природі (листях подорожника, вінках червоної наперстянки, смолі хвойних дерев та ін.). Метиллові ефіри кавової кислоти – ферулова і синапова кислоти – дуже часто зустрічаються у лікарських рослинах. Кавова кислота часто утворює димери (псевдодепсиди). Псевдодепсид кавової і хінної кислот відомий під назвою хлорогенової кислоти.



хлорогенова кислота



шикімова кислота



хінна кислота

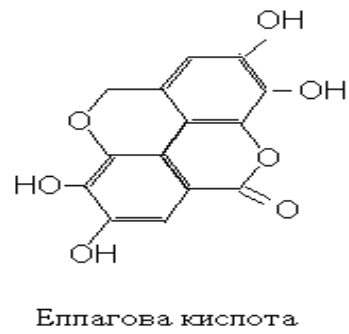
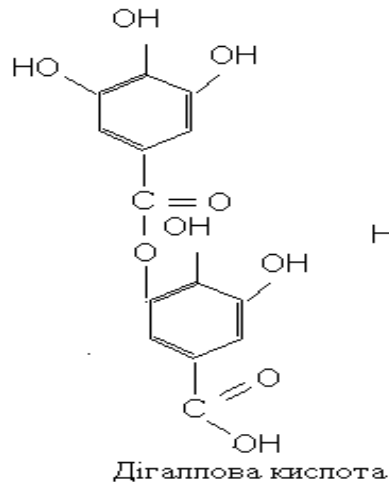
Кислоти одержують шляхом екстрагування як зі свіжої, так і з замороженої або висушеної рослинної сировини. Як екстрагент можна використовувати воду або органічний розчинник (ефір, спирт тощо). Якщо екстрагент (органічний розчинник), який використовують, не розчиняє солі органічних кислот як, наприклад, діетиловий ефір, то екстрактивну речовину підкисляють мінеральними кислотами. Водні екстракти, як правило, містять багато супутніх речовин і їх необхідно очищувати.

1.3.4. Фенольні сполуки

Фенольні сполуки – це один із найбільш поширених і численних класів природних сполук, що володіють біологічною активністю. Особливістю в хімічній будові є наявність вільного або зв'язаного фенольного гідроксилу. Це надзвичайно велика група органічних сполук, дуже неоднорідна за хімічною будовою. В даний час фенольні сполуки класифікуються в такий спосіб:

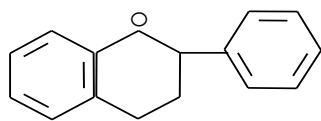
- фенольні сполуки з одним ароматичним кільцем (прості феноли, фенолоспирти, фенолокислоти, кумарини, хромони, лигнани);
- фенольні сполуки з двома ароматичними кільцями (флавоноїди, ізофлавоноїди, флаванони, флаволи, ротеноїди);
- полімерні фенольні сполуки (дубильні речовини).

Фенольні сполуки містяться в рослинах у вигляді глікозидів або у вільному стані. У чистому вигляді – це кристалічні або аморфні речовини, безбарвні або кольорові, розчинні у воді та спиртах. У клітинах рослин фенольні сполуки нагромаджуються у формі глікозидів, в основному у вакуолях, а у вільному стані – в спеціальних утвореннях, які мають досить складну будову (смоляних і ефірноолійних каналцях або вмістилищах).

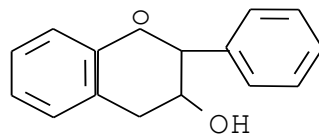


Прості феноли або фенольні сполуки з одним ароматичним або двома ароматичними (див.вище) кільцями мають найрізноманітніші фармакологічні властивості: антимікробні, адаптогенні і стимулюючі центральної нервової системи, сечогінні, Р-вітамінні (рутин), седативні, жовчогінні тощо.

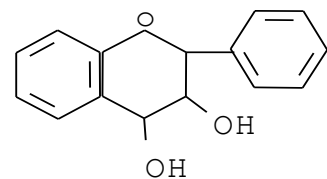
Флавоноїди відносяться до однієї з найбільш розповсюджених груп біологічно-активних речовин. Молекула флавоноїда побудована з двох фенільних залишків з'єднаних аліфатичним ланцюжком. Розрізняють наступні групи флавоноїдів: дійсні флавоноїди, ізофлавоноїди, неофлавоноїди, біфлавоноїди [13, с.85].



флаван

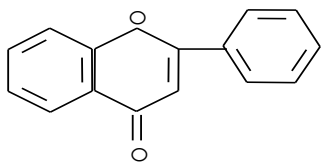


катехін

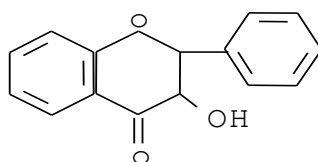


лейкоантоціан

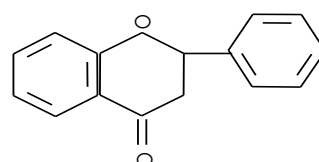
До підгрупи дійсних флавоноїдів відносять молекули з боковим фенольним радикалом у положенні – 2: флавани, катехіни, лейкоантоціани, флаволи, флавоноли, флавонони та інші.



флавор

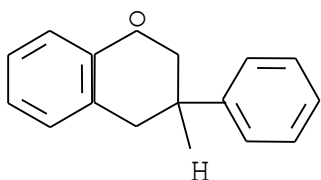


флаворол

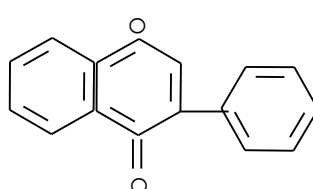


флаворон

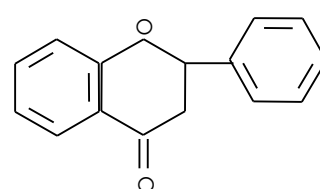
До підгрупи ізофлаворонідів відносять сполуки з боковим фенольним радикалом в положенні – 3: ізофлаворани, ізофлаворони, ізофлаворани та інші.



ізофлаворан

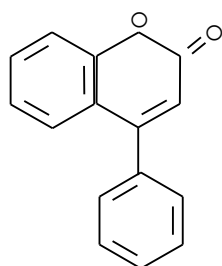


ізофлаворон

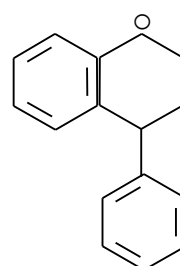


ізофлаворанон

До підгрупи неофлаворонідів відносять сполуки з боковим фенольним радикалом в положенні – 4: бензокумарини, бензохромани та інші.

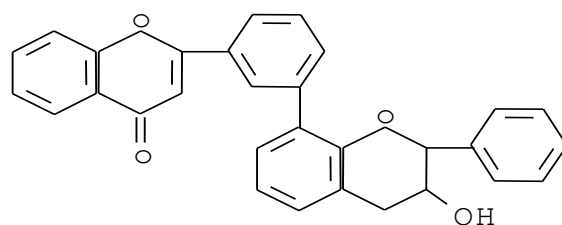


бензокумарин



бензохромон

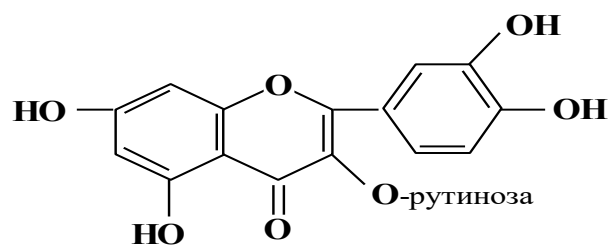
Поряд із мономерними флаворонідами в рослинах зустрічаються і полімерні флавороніди – біфлавороніди. Відома велика кількість біфлаворонідів, які побудовані з ядер флаворонів, флаворанонів, ізофлаворанонів тощо.



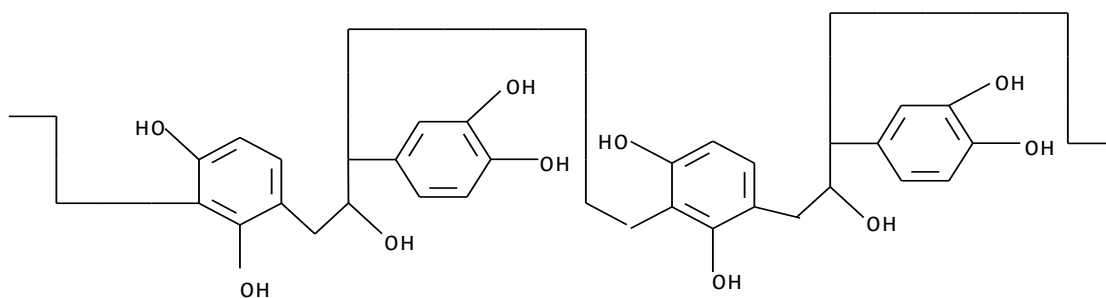
біфлаворон

Для флаворонідів не існує єдиного методу виділення, оскільки вони сильно різняться розчинністю у воді та органічних розчинниках. Найчастіше застосовують екстракцію етанолом, метанолом, гарячою водою або сумішшю

хлороформу і спирту. Спирти різної концентрації з водою екстрагують майже всі флавоноїди.



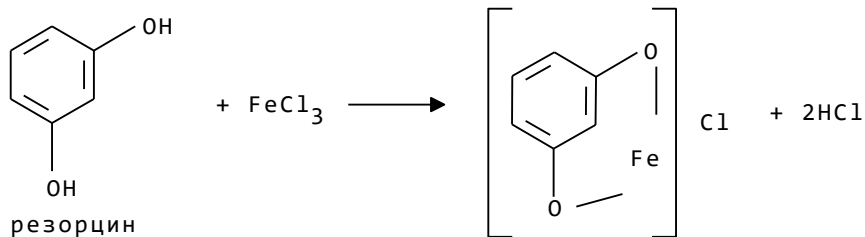
Дубильні речовини – це високомолекулярні поліфеноли. Назва їх склалася історично завдяки здатності даних сполук перетворювати сиру шкіру тварин у пружню, витривалу до дії вологи і мікроорганізмів. Інша назва дубильних речовин – "таніни", походить із латинізованої форми кельтського слова "тан" – дуб.



Загальна формула конденсованих дубильних речовин (чайний танін)

Дубильні речовини містяться у багатьох вищих рослинах, особливо в дводольних. Вміст дубильних речовин у деревині залежить і від пори року. У весняний період вміст їх найменший, в період росту поступово їх кількість збільшується і досягає максимуму в фазу бутонізації (початок цвітіння). Вміст дубильних речовин у деревині залежить також і від віку. Зі збільшенням віку кількість дубильних речовин, подібно до збільшення ваги, зростає. Локалізовані дубильні речовини у внутрішньому середовищі рослинної клітини. Більша частина їх локалізується у вакуолях, відділених від цитоплазми білково-ліпідною мембраною. Одержують їх шляхом екстрагування водно-спиртовими розчинами. В подальшому можливе їх очищення і виділення індивідуальних речовин.

Дубильні речовини мають здатність взаємодіяти з d-металами, одержуючи при цьому певне забарвлення. На цьому ґрунтується хімізм кількісного визначення. Так, взаємодія таніну з хлористим залізом (1-1) зображається наступними рівнянням реакції:



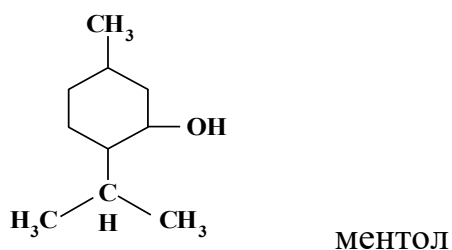
Дубильні речовини за класифікацією К. Фрейзенберга поділяють на дві групи: гідролізовані і конденсовані таніни. Прикладом гідролізуючих танінів є китайський танін або галотанін, при дослідженні якого було встановлено, що глюкоза приєднує ди-, три-, тетра- і пентагалоїльні залишки.

1.3.5. Терпеноїди. Терпеноїди – численний і різноманітний за хімічною будовою клас природних сполук. Число вуглецевих атомів у молекулі терпеноїдів обов’язково кратне п’яти за кількістю ізопреноїдних груп – основних ланок, що входять до складу їхніх молекул. За кількістю цих ланок розрізняють монотерпени, сескві-, ди-, тетра- і політерпени. Масштаби використання перерахованих груп сполук у фармації нерівнозначні: одні – політерпени – мають допоміжне застосування (каучук, гутта), інші – ди- і тетратерпени – представлені вітамінами і провітамінами і є не стільки лікувальними засобами, скільки основними компонентами їжі (вітамін А і каротиноїди), треті – тритерпени є винятково важливі, але, як прийнято у фармакогнозії, їх частіше відносять до глікозидів, оскільки ці представники терпеноїдів є агліконами тритерпенових або стероїдних сапонінів, і вони вже розглянуті серед глікозидів. Моно- і сесквітерпени – основні компоненти ефірних олій.

1.3.6. Ефірні олії. Багато лікарських рослин володіють більш-менш сильним запахом, особливо помітним, якщо їхні листи або молоді пагони

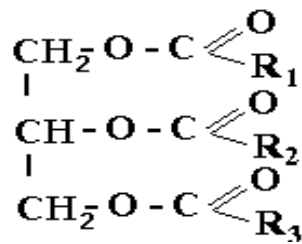
розтерти між пальцями. Запах зумовлений ефірними оліями, що накопичуються в спеціальних структурах, вмістилищах, на поверхні або всередині рослин. Ефірні олії – складні багатоконпонентні суміші летючих ароматичних запашних речовин, що відносяться до монотерпенів, сесквітерпенів, ароматичних сполук і їх похідних. Число компонентів у складі однієї ефірної олії може досягати більше сотні. Компоненти ефірних олій представлені у вільному вигляді або в зв'язаній формі, частіше у вигляді глікозидів. Повільне сушіння рослинної сировини сприяє розщепленню глікозидованих форм терпеноїдів, підвищуючи тим самим вихід ефірної олії. Одночасно в процесі сушіння додатково утворюються ефірні олії за рахунок первинних попередників. З огляду на ці обставини, рослинну сировину, що містить ефірні олії, сушать повільно, частіше з попереднім підв'ялюванням, при температурах, оптимальних для дії ферментів – 30-35°C.

Широко застосовується в фармацевтичній та мікробіологічній промисловості ефірна олія з листків м'яти перцевої. Одним із головних компонентів олії м'яти є ментол [11].



1.3.7. Ліпіди. Ліпіди поділяються на дві групи: жири (гліцериди жирних кислот) і жироподібні речовини – ліпоїди (фосфоліпіди, стерини, віск та інші) [13, 12, с. 161].

Жири складаються виключно з тригліцеридів жирних кислот. Вони являють собою складні ефіри гліцерину і високомолекулярних жирних кислот. Загальна формула тригліцеридів має такий вигляд:



R₁, R₂, R₃ - радикали жирних кислот.

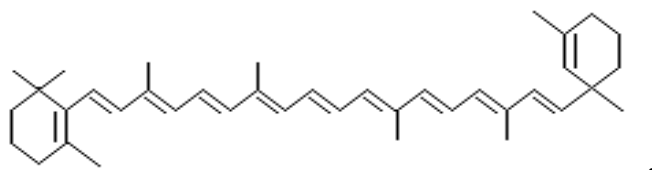
Основна формула жирних кислот – CH₃-(CH₂)_n-COOH, де величина *n* знаходиться в межах від 2 до 24. Жирні кислоти, які можна зустріти в природі, розділяють на три групи: насичені, мононенасичені (з одним подвійним зв'язком), поліненасичені (з двома і більше подвійними зв'язками).

Ступінь ненасиченості кислоти проявляє значний вплив на фізичні властивості жирів. Велика кількість насичених жирних кислот обумовлює твердий стан при кімнатній температурі, ненасичених – рідкий стан. Поліненасичені кислоти позначаються як есенціальні жирні кислоти. Вони не можуть синтезуватися в організмі людини і повинні надходити тільки з харчуванням. Лінолева і ліноленова кислоти складають значну частину рослинних олій і грають значну роль в синтезі простагландинів – біологічних регуляторів обмінних процесів у клітині. Більшість рослинних олій є рідкими. На відміну від ефірних олій, жири при нагріванні не зникають, а навпаки, ще більш розпливаються.

Одержують рослинні олії способом холодного або гарячого пресування, а також екстрагуванням із насіння леткими органічними розчинниками (хлороформом, гексаном, ефіром тощо). Екстракцією досягається більший вихід олії, порівняно з пресуванням, але і з великою кількістю небажаних супутніх речовин (смола, фарбуючих речовин).

1.3.8. Каротиноїди. Каротиноїди – група лабільних органічних речовин. Вони легко руйнуються під дією кисню, світла, теплоти, чутливі до дії лугів. Під впливом різних чинників можливе також перетворення одних каротиноїдів в інші, поява цис-ізомерів, утворення речовин або продуктів їх руйнування, що не утворюються за нормальних умов. Деякі метали каналізують окислення при

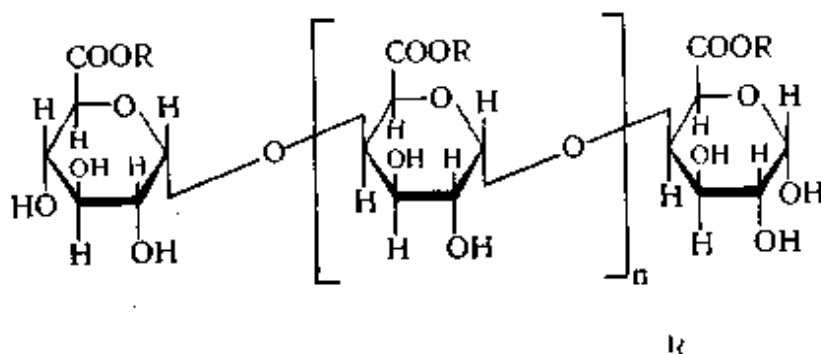
зберіганні каротиноїдів. Розчинність і стійкість у різних розчинниках не однакова. Тому в промислових умовах, при аналітичних дослідженнях, а також в процесі зберігання, використання препаратів, які містять каротиноїди, плодів, ягід та інших природних джерел всі ці чинники необхідно враховувати. В теперішній час відома велика кількість споріднених один одному за хімічною будовою каротиноїдів, які містяться в рослинних і тваринних організмах. Всі вони є похідними або ізомерами вуглеводню β - каротину $C_{40}H_{56}$ [96]. Структурна формула β - каротину може бути представлена в такому вигляді:



До загальних властивостей каротиноїдів, які необхідно враховувати при дослідженнях, відноситься їх нерозчинність у воді і хороша розчинність у багатьох органічних розчинниках. Каротиноїди—вуглеводні (каротини) розчиняються в сірковуглеці, хлороформі, бензолі, гексані, бензині. Гідроксовмісні каротиноїди краще розчиняються в спиртах (метанолі, етанолі). До характерних властивостей каротиноїдів відноситься їх здатність вибірково адсорбуватися на мінеральних і деяких органічних адсорбентах, що дозволяє за наявності навіть незначних структурних відмінностей відокремлювати їх один від одного за допомогою хроматографування. Здатність каротиноїдів у процесі фотосинтезу виконувати захисну функцію обумовлена особливими властивостями їх збуджених електронних станів і специфічною організацією в пігментно-білкових комплексах [96]. Каротиноїди в різних пігментно-білкових комплексах фотосинтетичних мембран стабілізують їх завдяки запобіганню ланцюговим реакціям окислення. Разом з іншими пігментами каротиноїди виконують також роль світлофільтрів, захищаючи хлорофіл від надмірної сонячної радіації. Таким чином, каротиноїди виконують роль колекторів світлової енергії і протекторів, що захищають фотосинтетичний апарат від руйнуючої дії світла і кисню [97].

Масляні препарати на основі каротиноїдів застосовуються в медицині для боротьби з опіками, обмороженням, виразок і деяких захворювань шкіри. При місцевому застосуванні вони знеболюють, зменшують запальні процеси в тканинах, прискорюють епітелізацію пошкоджених поверхонь. Застосовуються препарати на основі каротиноїдів також при гіпо та авітамінозах і як антиінфекційний чинник. Кристалічний β - каротин застосовується для виготовлення препаратів, що поліпшують зір [14, с.25]. Каротиноїди застосовуються для вітамінізації і забарвлень харчових продуктів.

1.3.9. Поліцукри. Поліцукри представлені в рослинній сировині в основному крохмалем, целюлозою, інуліном, пектиновими речовинами та слизами [11,12,с.64]. Як правило – це вуглеводневі полімери, що складаються головним чином із залишків α -D-галактуранової кислоти, зв'язаних (1→4) глікозидними зв'язками з молекулярною масою від 4900 до 5700. Загальна формула поліцукрів:



Поліцукри є важливим компонентом рослинних клітин, хоча вони і складають незначну частину клітинних стінок (не більше 5%). У стиглих плодах і зрілих овочах поліцукри нагромаджуються в соках, з яких їх можна одержати осадженням спиртом. У промислових масштабах поліцукри одержують з буряка (суха м'якоть містить до 25% пектину), з м'якоті вичавлених яблук, з м'якоті лимонів, а також із лікарської рослинної сировини, зокрема у значних кількостях у корені алтеї лікарської, корені солодки, листя підбілу, подорожника та ін.

Окрім способу одержання поліцукрів із водних розчинів шляхом осадження їх спиртом існують технології, які передбачають одержання

поліцукрів із водних розчинів методом висушування на розпилюючих сушарках (аналогічно висушуванню кормових добавок). На сьогоднішній день ці технології енергоємні та матеріалоємні через акциз спирту та дороговизну енергоносіїв.

Характерною і важливою властивістю поліцукрів є здатність утворювати желе у водних розчинах у присутності кислот. Ця здатність і спричинила їх широке використання як природнього гелеутворювача.

1.4. Основи теорії розрахунку екстрагування з лікарської рослинної сировини

Основною стадією одержання препаратів природних сполук власне є екстрагування з рослинної сировини, що обумовлене загальними законами теорії масопереносу. Масопереносом в загальному випадку називають транспорт речовини з однієї фази в іншу до досягнення рівноваги. У більшості випадків масоперенос відбувається внаслідок явища дифузії. При дослідженні масопереносу завжди розглядаються такі сторони цього явища:

- умови існування фаз і закони розподілу компонентів у двох фазах, що виражають статичні закономірності. В загальному випадку розподіл компонентів виражається за допомогою коефіцієнта розподілу речовин між фазами. Під час екстрагування рослинного матеріалу слід відзначити існування двох фаз – розчину речовини в екстрагенті, поглиненому сировиною, і розчину речовини в екстрагенті, що омиває сировину. Через те, що в обох фазах використовують той самий екстрагент, на розподіл цільових речовин між фазами при рівноважних станах в основному буде впливати тільки співвідношення об'ємів обох фаз;

- граничні умови проведення процесу екстрагування, що визначають початкові і кінцеві концентрації цільових речовин в обох фазах. При екстрагуванні рослинної сировини порівняно рідко приходиться доводити процес до рівноважного стану, оскільки це часом недоцільно, тому задані початкові і кінцеві концентрації цільових речовин, що екстрагуються з

сировини, дозволяють визначити необхідні умови для досягнення поставленої мети;

- умови, що визначають швидкість переносу цільової речовин. При екстрагуванні швидкість переносу речовин визначається так званими коефіцієнтами масопередачі. Дослідження цих коефіцієнтів і факторів, що впливають на них, має принципове значення для створення оптимальних умов екстрагування. Рушійною силою масопереносу при екстрагуванні є різниця концентрацій цільових речовин у твердій та рідкій фазах. Чим вона більша, тим активніше, для даних умов, протікає екстрагування. При рівновазі будь-якої концентрації цільової речовини в одній фазі – відповідає визначена концентрація цієї ж речовини в іншій фазі. За таких умов кількість речовини, що знаходиться в обох фазах, можна визначити за допомогою рівняння матеріального балансу масопередачі:

$$\begin{aligned}M &= V \cdot (X_1 - X_2) = G \cdot (Y_2 - Y_1); \\ V \cdot dX &= G \cdot dY; \end{aligned} \quad (1.1)$$

де: M - кількість речовини, кг; V - об'єм рідкої фази, м³; G - маса твердої фази, кг; X_1, X_2 - початкова і кінцева концентрації речовин у фазі V , кг/м³; Y_1, Y_2 - відповідно початкова і кінцева концентрації речовин у фазі G , кг/м³.

Важливим фактором для процесу екстрагування є швидкість переносу цільової речовини з твердої в рідку фазу. Рівняння матеріального балансу враховує тільки кількості цільових речовин, що знаходяться в обох фазах, не зв'язуючи їх із часом та іншими умовами екстрагування. Для врахування швидкості переносу, часу й інших факторів слід використовувати кінетичні рівняння масопередачі [27].

1.4.1. Теорія дифузійного переносу цільової речовини

Мірою кількості цільової речовини, розчиненої у рідині, є концентрація – маса цієї речовини в одиниці об'єму розчину – C . Областю визначення концентрації є деякий об'єм рідини або об'єм пор пористого тіла. В процесі екстрагування концентрація пористого тіла змінюється в просторі (в об'ємі пористого тіла) і в часі. Сукупність значень концентрацій у всіх точках

досліджуваного простору називається полем концентрацій. Аналітично поле концентрацій можна представити такою функціональною залежністю:

$$C=f(x,y,z,t) \quad (1.2)$$

де: x, y, z - координати, t - час.

Якщо з'єднати усі точки простору з однаковим значенням концентрацій, то при цьому утвориться поверхня, яка називається ізоконцентричною поверхнею. Найбільша зміна концентрацій відбувається в напрямі нормалі до ізоконцентричної поверхні – n . Ця зміна характеризується градієнтом концентрацій:

$$\text{grad}C = \frac{dC}{dn}; \quad (1.3)$$

Маса речовини, яка проходить через ізоконцентричну поверхню в одиницю часу, називається густиною дифузійного потоку :

$$j = \frac{dM}{Fdt}; \quad (1.4)$$

де: M – маса дифундуючої цільової речовини, кг; F – поверхня дифузії, м².

Твердження: за законом А.Фіка густина дифузійного потоку прямо пропорційна градієнту концентрації:

$$j = -D\text{grad}C \quad (1.5)$$

тут: D - коефіцієнт дифузії або іншими словами маса цільової речовини, яка дифундує через одиницю поверхні в одиницю часу при градієнті концентрації рівному одиниці, м²/с.

Закон Фіка характеризує стаціонарний (встановлений) процес дифузії, коли концентрація цільової речовини в певній точці залишається постійною на протязі тривалого проміжку часу. Більшість процесів екстрагування протікають у нестаціонарному (невстановленому) режимі дифузії, тобто коли концентрація цільової речовини в кожній точці змінюється. Для їх опису застосовують наслідок закону Фіка, яким є диференціальне рівняння молекулярної дифузії. В одновірній лінійній системі координат (концентрація є функцією лише однієї лінійної координати – x) В такому випадку – це рівняння має такий вигляд:

$$\frac{dC}{dt} = D \frac{d^2C}{dx^2} . \quad (1.6)$$

В декартовій системі координат це ж рівняння запишеться [27] :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right) . \quad (1.7)$$

Основу структури рослинної сировини, яка підлягає екстрагуванню, складають капілярно-пористі тіла клітинної будови. Особливості вилучення біологічно активних сполук (БАС) із сировини з клітинної будови пов'язані з тим, що на шляху до речовин, які містяться у клітині, знаходиться клітинна стінка. Пристінний шар протоплазми накладає відбиток на властивості клітинної стінки як перепонки (мембрани), яка відокремлює розчин всередині клітини (клітинний вміст) від рідини у міжклітинному просторі [93].

При екстрагуванні рослинної сировини екстрагент спочатку по макро-, а потім по мікропорах, по міжклітинних ходах досягає клітин і дістає можливість дифундувати крізь клітинні стінки (мембрани). По мірі проникнення екстрагенту в клітину її вміст починає переходити в розчин (розчинятися). Потім через різницю концентрацій у клітині та позаклітинним простором починається молекулярний перенос (дифузія) розчинених цільових речовин у зворотньому напрямку, крізь клітинну стінку: спочатку в екстрагент, який знаходиться у міжклітинних ходах, тоді в екстрагент, що заповнює мікро- та макропори, та накінець в екстрагент, що омиває шматочок матеріалу органічного походження.

Екстрагування біологічно-активних сполук із рослинної сировини в найбільш загальному випадку може відбуватися, як зі свіжої, так і з висушеної сировини. При екстрагуванні свіжої сировини мають місце наступні процеси [27]:

- 1) змивання розчину чи клітинного соку зі зруйнованих і відкритих пор;
- 2) масоперенос цільової речовини через пористе тіло до границі розділу фаз шляхом молекулярної дифузії;
- 3) масовіддача цільових речовин від поверхні твердого тіла в основну масу екстрагенту.

При екстрагуванні висушеної сировини процес дещо ускладнюється. При цьому мають місце такі процеси:

- 1) проникнення екстрагенту в сировину;

- 2) розчинення цільових речовин всередині клітини, на стінках зруйнованих клітин;
- 3) масоперенос розчиненої цільової речовини через пористе тверде тіло до границі розподілу фаз шляхом молекулярної дифузії;
- 4) масовіддача цільових речовин від поверхні твердого тіла в основну масу екстрагенту.

1.4.2. Рівняння процесу екстрагування

Розгорнуте диференціальне рівняння дифузії, що описує процес екстрагування з пористих тіл, має вигляд (1.7) і при граничних умовах: $\tau=0$; $C=C_0=const$; $C_{II}=0$, одержується рішення, що має наступний вигляд [2]:

$$\frac{C}{C_0} = A \cdot e^{-s \frac{D\tau}{R^2}}, \quad (1.8)$$

Після логарифмування рівняння (1.33) ми одержимо рівняння прямої лінії:

$$\lg \frac{C}{C_0} = \lg A - 0,434s \frac{D\tau}{R^2}. \quad (1.9)$$

Дане рішення канонічного рівняння нестационарної дифузії відображає і кількість цільової речовини, що вимивається при екстрагуванні зі зруйнованих клітин, і відкритих порожнин пористого тіла рослинної сировини. Для того, щоб результати експериментальних даних відповідали результатам, одержаним згідно рівняння (1.8) та (1.9) необхідно забезпечити ряд умов: ізотропність пористого тіла; монодисперсність частинок; інтенсивне перемішування для того, щоб виключити вплив масовіддачі від поверхні частинок у екстрагент і масопередачі в екстрагенті; об'єм екстрагенту повинен бути значно більшим від об'єму пор твердих частинок рослинної сировини, що підлягає екстрагуванню.

Для випадків, коли об'єм екстрагенту є меншим за об'єм пор, концентрація речовин в екстрагенті зростає і рівняння екстрагування з пористого тіла має вигляд [2]:

$$\frac{C - C_p}{C_0 - C_p} = \sum_{n=1}^{\infty} A e^{-s \frac{D\tau}{R^2}}, \quad (1.10)$$

де: c_p – рівноважна концентрація речовин, кг/м³.

При екстрагуванні цільової речовини із рослинної сировини слід виділити декілька коефіцієнтів:

а) коефіцієнт внутрішньої дифузії $D_{вн}$, що характеризує швидкість масопереносу всередині частинок рослинної сировини;

в) коефіцієнт вільної дифузії D_c , який характеризує швидкість масопереносу в клітинному соку і в дифузійному пограничному шарі;

с) коефіцієнт конвективної дифузії β , що характеризує швидкість масопереносу в шарі екстрагенту, що рухається і омиває рослинну сировину.

Коефіцієнт масопереносу підсумовує усі ці величини і є кількісним показником трьох перерахованих вище параметрів на шляху дифузійного переносу явища екстрагування. Зв'язок коефіцієнта масопереносу і коефіцієнтів усіх видів дифузії визначається наступним рівнянням:

$$K = \frac{1}{r/D_{вн} + \delta/D + 1/\beta}; \quad (1.11)$$

де: r – радіус частинки рослинної сировини, м; $D_{вн}$ – коефіцієнт внутрішньої дифузії, м²/с; D – коефіцієнт молекулярної дифузії, м²/с; δ – товщина дифузійного пограничного шару, м; β – коефіцієнт конвективної дифузії, м²/с.

Аналіз рівняння (1.11) показує (Рис.1.1), що при відсутності конвекції коефіцієнт конвективної дифузії дорівнює нулю, товщина дифузійного шару стає рівною товщині потоку екстрагенту, а коефіцієнт масопередачі визначається тільки внутрішньою дифузиею і вільною молекулярною дифузиею в нерухомій рідині. Таке явище спостерігається при одностадійній екстракції без перемішування. Зазначений спосіб екстракції найбільш тривалий.

У тому випадку, коли екстрагент переміщується хоч би з незначною швидкістю, коефіцієнт масопередачі визначається кількісними характеристиками всіх трьох етапів дифузійного шляху.

Швидкість цього способу екстракції вища, тому що зменшується шар нерухокої рідини і з'являються конвекційні потоки, що сприяють переносу речовини.

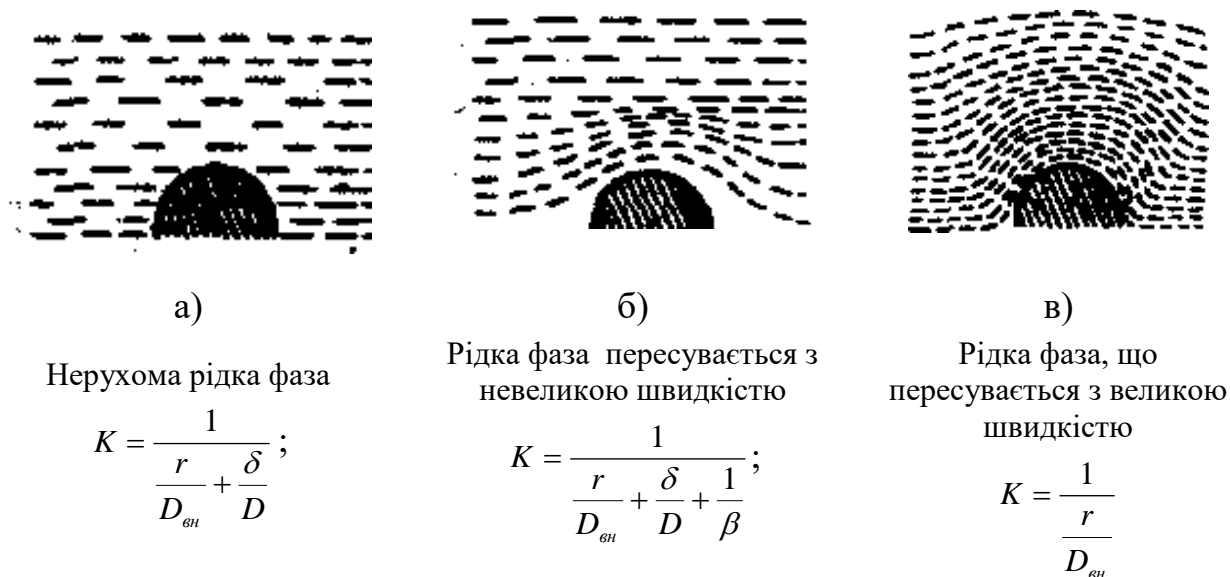


Рис. 4.1 Явища на границі розділу фаз при екстрагуванні з твердої фази

Такий спосіб екстракції характерний для одностадійної екстракції з перемішуванням. І нарешті, у деяких випадках можуть не спостерігатися другий і третій етапи дифузійного потоку. Це явище можливе при великій швидкості переміщення рідини. У цьому випадку коефіцієнт конвективної дифузії зростає до нескінченності, тобто конвективний масоперенос здійснюється миттєво. Коефіцієнт масопереносу в таких випадках визначається тільки коефіцієнтом дифузії в порах твердої фази [27].

З приведенного в цьому розділі аналізу слід зробити наступні **висновки**:

- при вивченні екстрагування традиційно припускається, що сировина має однорідне пористе середовище, через яке дифундує внутрішньоклітинна речовина (цільовий компонент), а дифузійний процес характеризується коефіцієнтом дифузії. Методологія визначення коефіцієнта дифузії зводиться до використання рішення рівняння нестационарної дифузії при заданні початкових і граничних умов;

- основна кількість біологічно активних сполук міститься в середовищі клітин, які утворюють тканини певних морфологічних органів лікарських рослин. Виняток складають окремі види ефірних олій, що містяться в міжклітинному середовищі (вмістилищах, смоляних ходах, каналцях);

- мало даних досліджень сумісного екстрагування твердих тіл рослинного походження різних морфологічних органів, прикладів розрахунків процесів та явищ сумісного екстрагування з метою одночасного досягнення рівноваги;

- недостатньо досліджень щодо синергетичної дії БАС, одержаних із ЛРС внаслідок сумісного екстрагування незначної її кількості.

Відповідно постає **мета** роботи – на основі комплексних теоретичних та експериментальних досліджень виконати такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані літературних джерел щодо психопатологічних розладів, зокрема психогенних невротичних уражень, вивчити стан фармацевтичного ринку і номенклатуру лікарських засобів для їх лікування;

- обґрунтувати оптимальний склад фітоекстракту та на підставі комплексу досліджень виконати фармацевтичну розробку;

- запропонувати методологію аналітичного розрахунку розміру частинок ЛРС різних морфологічних органів, що входять у склад фітоекстракту, для одночасного досягнення максимального ступеня вилучення БАС;

- встановити основні показники якості комплексного фітоекстракту, розробити методики якісного та кількісного визначення БАС та валідувати їх;

- провести доклінічні фармакологічні дослідження комплексного фітоекстракту.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ТА ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для досягнення поставленої мети дисертаційної роботи нами використані відомі методики експериментальних досліджень та розроблені нові методичні аспекти.

Кількісний вміст цільових речовин у рослинній сировині визначали за відомими методиками. Перед проведенням досліджень сировину подрібнювали комбінованим способом до розміру частинок 1-5 мм.

2.1. Визначення екстрактивних речовин у рослинній сировині

Наважку 5 г (точна наважка) подрібненої сухої рослинної сировини поміщали в конічну колбу ємністю 100 мл з притертою кришкою. Заливали 50 мл екстрагенту та витримували за умови періодичного переміщування та при температурі $20 \pm 2^\circ\text{C}$ протягом 3-х годин. Екстракт фільтрували через паперовий фільтр, тоді 10 мл його поміщали у висушений та зважений фарфоровий бюкс. Екстрагент випаровували на водяній бані, а потім витримували у сушильній шафі близько 30 хвилин за температури $100-105^\circ\text{C}$. Охолоджували в ексикаторі та зважували.

Вміст екстрактивних речовин – X , в рослинній сировині визначали за формулою у відсотках:

$$X = \frac{m \cdot 50 \cdot 100}{m_o \cdot 10};$$

де: m - наважка сухої подрібненої рослинної сировини, г;
 m_o - приріст ваги бюкса, г [96].

2. 2. Визначення вмісту вологи у рослинній сировині

В попередньо висушеному до постійної маси та зваженому бюксі

зважували наважку рослинної сировини масою ($5 \pm 0,0005$) г. Після досягнення в сушильній шафі температури 105°C туди поміщали відкритий бюкс з наважкою та кришку і висушували протягом 3 годин. Початком висушування вважали момент досягнення знову температури 105°C після внесення бюксу в шафу. Через 3 години бюкс закривали кришкою, виймали з шафи та ставили в ексікатор на 30 хвилин для охолодження, після чого зважували. Зафіксувавши перше зважування, бюкс із наважкою поміщали в сушильну шафу на 30 хвилин, охолоджували в ексікаторі та знову зважували. Висушування наважки повторювали до тих пір, поки різниця в масі між двома наступними зважуваннями не перевищувала $0,001$ г.

Вміст вологи - w в рослинній сировині у відсотках обчислювали за формулою:

$$w = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} 100;$$

де: m - маса бюксу, г

m_1 - маса бюксу до висушування, г

m_2 - маса бюксу після висушування, г.

За кінцевий результат приймали середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень, допустимі розходження між якими не перевищували $0,5\%$ [68, с. 285].

2. 3. Визначення утриманого екстракту в рослинній сировині

В колбу завантажували подрібнену рослинну сировину, заливали екстрагент і при перемішуванні витримували до досягнення рівноваги 4-5 години. Час досягнення рівноваги визначався експериментально. Після досягнення рівноваги, екстракт зливали через сухий фільтр у ємність.

Залишену на фільтрі сировину підсушували фільтрувальним папером, зважували і за приростом маси визначали масу утриманого екстракту. З допомогою ареометра визначали густину злитого екстракту. За відомими

значення маси та густини визначали об'єм утриманого екстракту за формулою [199]:

$$V = m/\rho$$

де: V – об'єм утриманого екстракту;

m – маса утриманого екстракту;

ρ – густина екстракту.

2.4. Визначення екстрактивних речовин у екстракті

Відібраний екстракт фільтрували через фільтр, змочений чистим екстрагентом у суху ємність. 5 мл фільтрату поміщали у попередньо зважений і доведений до постійної маси бюкс. Розчинник випаровували на водяній бані, висушували за температури 105°C до постійної маси, охолоджували в ексикаторі і зважували. Вміст сухого залишку – A визначали за формулою в (г/мл):

$$A = m/5;$$

де: m – маса сухого залишку в бюксі після висушування [203, с. 278].

2.5. Визначення вмісту олії м'яти перцевої в перерахунку на ментол

Вміст ефірної олії м'яти перцевої в екстракті визначали за кількістю ментолу, вміст якого досягає 50% в олії. Для цього 1 мкл одержаного екстракту і розчину порівняння стандартного зразка (СЗ) ментолу почергово хроматографували на газовому хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором, одержуючи не менше 5 хроматограм кожного розчину за наступних умов:

- колонка капілярна кварцева, розміром 30м x 0,53 мм, з нерухомою фазою: 5 % дифеніл, 95 % диметилсилоксан із товщиною шару 3 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- температуру колонки програмували: початкову температуру 100° С витримували протягом 1 хв, потім підвищували температуру до 180° С зі швидкістю 10°С/хв, витримували протягом 2 хв, потім підвищували температуру до 250°С зі швидкістю 10°С/хв і витримували протягом 3 хв;

- температура детектора - 250°С;
- температура інжектора - 200°С;
- швидкість газу - носія (гелій) - 1,5 мл/хв.

Порядок виходу піків на хроматограмі розчину порівняння СЗ ментолу 1- диетиловий ефір, 2- ментол, 4- 1-тридеканол (внутрішній стандарт).

Вміст ментолу -X в екстракті, у відсотках, вираховували за формулою:

$$X = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 1 \cdot 100}{B_0 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot 5} = \frac{B_1 m_0 \cdot 10}{B_0 m_1};$$

де: B_1 - середнє значення відношення площі піку ментолу до площі піку 1-тридеканолу (внутрішній стандарт), вираховане з хроматограм досліджуваного розчину;

B_0 - середнє значення відношення площі піку ментолу до площі піку 1-тридеканолу (внутрішній стандарт), вираховане з хроматограм розчину порівняння СЗ ментолу;

m_0 - маса наважки ментолу, взята для приготування розчину порівняння СЗ ментолу у грамах;

m_1 - маса наважки екстракту в грамах.

Результати аналізу вважали достовірними, якщо виконувалися вимоги тесту "Перевірка придатності хроматографічної системи".

2.5.1. Приготування розчину 1-тридеканолу (внутрішній стандарт)

Близько 0,5 г (точна наважка) 1-тридеканолу (для хроматографії) поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли у 30 мл диетилового ефіру, перемішували, доводили об'єм розчину тим же ефіром до мітки і перемішували. Термін придатності 6 міс.

2.5.2. Приготування розчину порівняння СЗ ментолу

Близько 0,1 г (точна наважка) ментолу поміщали в мірну колбу

місткістю 100 мл, розчиняли у 50 мл диетилового ефіру, перемішували, доводили об'єм розчину тим же ефіром до мітки і перемішували.

1 мл одержаного розчину поміщали в мірну колбу місткістю 5 мл, додавали 1 мл розчину 1-тридеканолу, доводили об'єм розчину диетиловим ефіром до мітки і перемішували. Термін придатності 1 міс.

2.5.3. Перевірка придатності хроматографічної системи Хроматографічна система вважається придатною, якщо:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком ментолу на хроматограмі розчину порівняння СЗ ментолу має бути не менше 1500 теоретичних тарілок (ГФ XI, вип. 1, с. 105);

- ступінь розділення піків 1-тридеканолу (внутрішній стандарт) і ментолу на хроматограмах розчину порівняння СЗ ментолу (ГФ XI, вип. 1, с. 105);

- висота піку ментолу на хроматограмах розчину порівняння СЗ ментолу не менше 10 % шкали реєструючого приладу [151].

2.6. Визначення вмісту органічних кислот у перерахунку на ізовалеріанову кислоту

Відбирали 100 мл екстракту, фільтрували через паперовий фільтр. Одержаний фільтрат пропускали через колонку діаметром 10 мм, висотою 150 мм, заповнену катіонітом КУ-2 зі швидкістю 1,5-2 мл/хв. Потім колонку промивали 100 мл води з тією ж швидкістю. Елюат і промивні води збирали в колбу місткістю 500 мл, розводили водою до об'єму 300 мл, додавали 1 мл розчину фенолфталеїну, 0,25 мл розчину метиленового голубого і титрували 0,1 М розчином натру їдкого до лілово-червоного забарвлення.

Паралельно проводили контрольний дослід, титруючи 170 мл води, пропущеної через колонку, заповнену катіонітом КУ-2. Розводили водою до 300 мл, додавали 1 мл розчину фенол-фталеїну, 0,25 мл розчину метиленового голубого і титрували 0,1 М розчином натру їдкого до лілово-червоного забарвлення.

Вміст органічних кислот – X , в перерахунку на ізовалеріанову кислоту у г/мл вираховували за формулою:

$$X = \frac{(V - V_o) \cdot k \cdot 0.01021}{100}$$

де: V – об'єм 0,1 М розчину натру їдкого, використаного на титрування досліджуваного розчину, в мілілітрах;

V_o - об'єм 0,1 М розчину натру їдкого, використаний на титрування в контрольному досліді, в мілілітрах;

k – поправочний коефіцієнт до молярності 0,1 М розчину натру їдкого;

0,01021 – кількість кислоти валеріанової, яка відповідає 1 мл

0,1 М розчину натру їдкого, в грамах [152].

2.7. Ідентифікація гідроксикоричних кислот

20 мл екстракту поміщали у ділильну лійку місткістю 100 мл, додавали 20 мл води і перемішували. Потім додавали 20 мл етилацетату, збовтували на протязі 3 хв і залишали до розділення шарів розчинників. Нижній, водний шар, зливали, а верхній, етилацетатний, фільтрували через паперовий фільтр у випарювальну чашку. Упарювали розчинник до суха, залишок розчиняли у 1 мл етилацетату (випробовуваний розчин).

На лінію старту хроматографічної пластинки Merck DC-Alufolien «Kieselgel 60 F₂₅₄» з товщиною шару 0,2 мм розміром 5×15 см наносили у вигляді смуги довжиною 10 мм 25 мкл випробовуваного розчину, пластинку сушили на повітрі протягом 30 хв, потім поміщували в камеру з сумішшю розчинників бензол - метанол - метилетилкетон - ацетилацетон (40:16:3:1) і хроматографували висхідним способом. Коли фронт розчинників проходив близько 12 см від лінії старту, пластину виймали з камери і сушили на повітрі протягом близько 10 хв до видалення запаху розчинників і обприскували розчином алюмінію хлориду у 96 % спирті, нагрівали в сушильній шафі при температурі 100-105⁰ С протягом 1 хв і переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм.

На хроматограмі випробовуваного розчину повинна виявлятися пляма з блакитною флуоресценцією з величиною R_f близько 0,45 (кавова кислота), пляма з синьою флуоресценцією з величиною R_f близько 0,48 (ферулова кислота) та пляма із зеленувато-жовтою флуоресценцією з величиною R_f близько 0,60 (лютеолін). Додатково на хроматограмі випробовуваного розчину повинні виявлятися три плями з блакитною флуоресценцією з величинами R_f близько 0,30, 0,75 та 0,80 і три плями з жовтою флуоресценцією з величинами R_f близько 0,18, 0,25 і 0,65.

На хроматограмі допускається наявність додаткових плям, в тому числі на лінії старту [200, с. 5].

2.7.1. Приготування 3 % розчину алюмінію хлориду в 96 % спирті

3,0 г алюмінію хлориду ($AlCl_3 \times 6H_2O$, ГОСТ 3759-75, “х.ч.” або “ч.д.а.”) поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняли в 60 мл 96 % спирту, доводили об’єм розчину 96 % спиртом до мітки і перемішували.

Термін придатності 3 місяця.

2.8. Опис експериментальної установки та методики вивчення кінетики екстрагування

Кінетику екстрагування органічної сировини досліджували, моделюючи процес в апараті (екстракторі) з мішалкою, через що досліди проводили в скляній колбі ємністю 2 л. Постійну температуру підтримували за допомогою термостату. Схема експериментальної установки для дослідження кінетики екстрагування цільових речовин із рослинної сировини представлена на рис. 2.1.

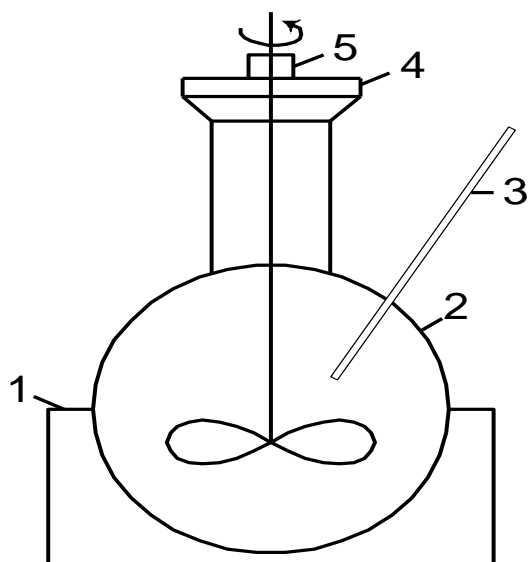


Рис.2.1. Схематичне представлення експериментальної установки:

- 1 – термостат;
- 2 – скляна колба;
- 3 – бюретка для відбору проб;
- 4 – гумова прокладка;
- 5 – мішалка.

Для проведення експерименту використовували сировину, попередньо подрібнену на дробарці методом різання. За допомогою набору сит різного діаметру проводили розподіл подрібненої сировини на фракції – 2×10^{-3} , 3×10^{-3} , 4×10^{-3} , 5×10^{-3} , 6×10^{-3} м.

Методика проведення дослідів полягала в наступному: наважку подрібненої органічної сировини певного діаметру завантажували в колбу і заливали певним екстрагентом, попередньо доведеним до відповідної температури. Колбу закривали кришкою з гумовою прокладкою і включали мішалку. Через певні проміжки часу – 120, 300, 600, 1200, 1800, 2400, 3000, 3600, 4000, 5000, 6000 с відбирали проби таким чином, щоб кількість відібраних проб не впливала на концентрацію екстрагованих речовин в екстракті. Проби надалі аналізували на вміст БАР відповідним методом. Співвідношення твердої та рідкої фази приймалось в залежності від вмісту цільових речовин в органічній сировині [204].

2.8.1. Опис методики вивчення умов досягнення рівноваги

Умови рівноваги вивчали в апараті з мішалкою. Для цього в колбу завантажували подрібнену рослинну сировину, заливали екстрагент і за умови перемішування витримували до досягнення рівноваги. Час досягнення рівноваги визначали експериментально. Після досягнення рівноваги екстракт

фільтрували через сухий фільтр. Фільтрат підлягав аналізу та ідентифікації продуктів екстрагування та вмісту цільових речовин за певною методикою кількісного визначення.

Рівноважним вважали такий стан, за якого концентрація цільових речовин в екстракті залишалася постійною при послідовному триразовому відборі проб з інтервалом відбору 30 хв.

2. 9. Об'єкти екстрагування

Як об'єкти екстрагування лікарської рослинної сировини при вивченні умов одержання фітоекстракту були взяті такі морфологічні органи: листя, траву, корені з кореневищами, плоди, які відповідали вимогам ДФУ. Відібраний набір сировини дозволяв встановити вплив її внутрішньої структури, хімічної будови БАС, які вона містить, та природи екстрагенту на ефективність екстрагування.

2. 10. Характеристика застосовуваних у роботі екстрагентів

Вибір екстрагенту залежать від гідрофільності БАР. Речовини полярні, добре розчинні в полярних розчинниках, тобто в розчинниках із високим значенням коефіцієнта діелектричної постійної. Неполярні речовини розчиняються в розчинниках із малим значенням діелектричної постійної. Враховуючи, що в рослинній сировині в основному (за винятком деякого насіння) містяться гідрофільні сполуки, то для екстрагування доцільно застосовувати полярні екстрагенти.

Крім діелектричної постійної екстрагенту значний вплив на розчинність та швидкість дифузії цільової речовини в ньому мають в'язкість і поверхневий натяг. В'язкість входить у рівняння Ейнштейна для визначення коефіцієнта дифузії і її збільшення пропорційно зменшенню коефіцієнта дифузії. Тому найбільш доцільно для екстрагування застосовувати найменш в'язкі екстрагенти. З полярних розчинників найменш в'язким є етиловий спирт, неполярних – хлороформ, діетиловий ефір, гексан, етилацетат.

Необхідна розчинна здатність екстрагентом цільової речовини дуже часто досягається зі застосуванням суміші органічних розчинників. Суміш органічних розчинників має більшу розчинну здатність порівняно з індивідуальними розчинником. Екстрагування змішаними розчинниками вирішує завдання селективності процесу, тому найбільш часто для екстрагування органічної сировини використовують як екстрагент суміш етанолу та води в межах від 30 до 70%.

Переваги води, як екстрагенту:

- добре проникає через клітинні стінки, що не намочені гідрофобними речовинами;
- розчиняє і виводить багато речовин краще, ніж інші екстрагенти;
- фармакологічно індеферентна;
- негорюча і вибухобезпечна;
- доступна за ціною.

Але вода, як екстрагент, має деякі недоліки:

- не розчиняє і не виводить гідрофобні речовини;
- не володіє антисептичними властивостями, внаслідок чого у водних екстрактах можуть розвиватися мікроорганізми;
- за рахунок води проходить розщеплення деяких речовин, особливо за високих температур;
- у водному середовищі ферменти можуть розщеплювати лікарські речовини;
- велике значення питомої теплоти пароутворення, що вимагає значних затрат енергоресурсів для концентрування екстрактів.

2.11. Фармакологічні дослідження на інтактних тваринах

Дослідження проводились із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях, від 18 березня 1986 року, Директиви

Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 року про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 року № 944 «Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» та Закону України від 21 лютого 2006 року № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Тварин, залучених до експерименту, утримували в стандартних умовах віварію за температури повітря 22-24 °С та відносної вологості 50-70 % з вільним доступом до корму та води. Групи тварин формували за методом рандомізації. Період карантину та акліматизації тривав 7 діб. План експерименту схвалений Комітетом з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами, дотримані.

2.11.1.Методи дослідження рухової активності щурів

Одним із найбільш простих, достовірним і добре себе зарекомендованим експериментом, що дозволяє виявити седативний ефект на центральну нервову систему, є метод «відкритого поля», який дозволяє кількісно оцінити рухову активність щурів за двома основними компонентами (горизонтального й вертикального переміщення).

Дослідження проводяться на нелінійних щурах-самцях масою 200-220 г. Тварини перебувають в умовах віварію з вільним доступом до води та їжі. Всі тварини розділені на 5 груп по 10 особин у кожній. На трьох групах щурів вивчають специфічну дію досліджуваного препарату «Х» у дозах, відповідно, 0,5; 1,0; і 2,0 мл/кг, на четвертій групі щурів досліджується дія препарату порівняння «У» (1,5 мл / кг), п'ята – служить контролем (тварини не отримують засобу лікування).

Вивчення поведінки тварин проводили за методикою відкритого поля [108]. Для дослідження поведінки тварин у відкритому полі використовували майданчик круглої форми діаметром 1 метр із бортиком висотою 35 см, що має

радіально-кругову розмітку на сектори. Для освітлення установки на висоті 1,5 м від центру поля розташовували лампу потужністю 150 Вт. Тварин поміщали в центр поля і візуально реєстрували горизонтальні та вертикальні переміщення протягом 3 хв. Горизонтальні переміщення враховували по числу пересічених кордонів секторів, коли більше половини тваринного тіла потрапляло в наступний сектор. За вертикальне переміщення (стійки) приймали підйом щура на задні кінцівки незалежно від того, спирався він на бортик чи ні.

Протягом експерименту всіх щурів тестували у відкритому полі два рази, до введення досліджуваних препаратів (вихідний рівень рухової активності) і через 24 години після їх застосування. Препарати щурам вводили за 30 хв до повторного тестування в них рухової активності, одноразово внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда у вигляді готової лікарської форми у дозах: «Х» – 0,5; 1,0 і 2,0 мл/кг, що, в перерахунку на суму діючих речовин становить, відповідно, 92, 184 і 368 мг/кг; «У» – в порівнянної з розробленим препаратом у дозі – 1,5 мл/кг або 180 мг/кг за сумою діючих речовин. Досліджувані препарати вводили з розрахунку 0,05; 0,1 і 0,2 мл («Х»), або 0,15 мл («У») на 100 г маси тіла тварин. Середня доза «Х», вибрана для дослідження, є співставною з терапевтичними дозами аналогічних лікарських засобів на основі комплексу лікарських трав. Контрольна група щурів отримувала еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

Седативний ефект «Х» оцінювали за його впливом на зміну рухової активності щурів (число горизонтальних або вертикальних переміщень протягом 3хв перебування у відкритому полі) по відношенню до контрольних, нелікованих тварин і групи щурів, які отримували препарат порівняння.

Всі показники рухової активності оцінювали як в абсолютних величинах, так і в % від вихідних даних, зареєстрованих при першій посадці щурів у відкрите поле окремо для кожної тварини. Статистичну обробку даних проводили загальноприйнятим методом з використанням критерію Стюдента. ED50 визначали за методом Б.М. Штабського [109].

2.11.2. Методика дослідження на тваринах з експериментальними моделями патології

Дані дослідження дозволяють в умовах моделі стану тривожності у тварин оцінити седативний і анксиолітичний ефекти «Х», а також визначити його вплив на перенесення фізичних навантажень та біохімічні показники можливостей енергозабезпечення м'язів на моделі вимушеного плавання у щурів.

2.11.2.1. Оцінка седативної дії «Х» на моделі патологічно тривожного стану в щурів, викликаного ампутацією вібриси

Препарат, що володіє седативною дією, повинен знижувати відчуття тривоги і володіти заспокійливим ефектом [111,112]. Виходячи з цього, седативну дію «Х» вивчали на моделі, при якій розвивається патологічна складова тривожної реакції, зумовлена потужним стресогенним чинником – ампутацією вібриси у щурів [107]. Відомо, що вібриси в гризунів мають чітко окреслене і досить потужне представництво в корі головного мозку [111], вони компенсують слабкість зорового аналізатора, що необхідно для нормальної просторової орієнтації тварин [114,115]; їх ампутація (депривація основного сенсорного входу) призводить до підвищення сенсорних порогів, зниження сприйняття і орієнтовної реакції [107]. Як тест для вивчення поведінки тварин в умовах стресу (ампутації вібриси) був обраний загальноприйнятий метод – «відкрите поле», що дозволяє швидко оцінити зазначені показники.

Висновки до розділу 2.

Для кількісного визначення БАС в екстрактах, вихідній сировині рослинного походження та кінцевих продуктах виробництва використані сучасні методи інструментального фізико-хімічного аналізу, а саме газорідинна хроматографія, спектрофотометрія та титриметричні методи аналізу.

Для якісного аналізу чи ідентифікації застосовувалась тонкошарова висхідна хромаграфія.

За результатами аналізу внутрішньої структури досліджуваної лікарської рослинної сировини зроблено висновок, що в твердих тілах рослинного походження чітко простежується наявність двох середовищ – клітинного та міжклітинного, розділеного клітинною оболонкою. Основна кількість біологічно-активних речовин міститься в клітинах, які утворюють певні тканини рослини. Виняток становлять ефірні олії, які містяться в міжклітинному середовищі (вмістилищах, смоляних ходах тощо).

У морфологічних (фармакогностичних) органах, які підлягали екстрагуванню, спостерігаються деякі відмінності у внутрішній будові, а саме: значний міжклітинний простір у листі, упакування міжклітинного середовища пронизується судинами (капілярами) в коренів із кореневищами та щільне упакування міжклітинного середовища плодів.

Результати застосування зробленого аналізу приведені у наступних розділах.

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБЛЕННЯ СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ КОМПЛЕКСНОГО ФІТОЕКСТРАКТУ

Зацікавленість у препаратах, одержаних на основі лікарської рослинної сировини, не втрачає значення через їх значну ефективність та малу токсичність у фармацевтичній, харчовій, косметико-парфюмерній чи інших галузях промисловості. Це пояснюється подібністю багатьох біохімічних процесів, що протікають у клітинах рослинного та тваринного походження, а відтак спорідненістю БАС. Ця властивість набирає особливо важливого значення, коли йдеться про здоров'я людини.

Від часів Парацельса людство намагалося віднайти саме ту біологічно-активну сполуку, якій завдячує рослина своїми цілющими властивостями. Останнє сторіччя людство вивчало «ударну» силу рослин і створювало їх синтетичні аналоги. Як результат, сьогодні кожному відомому природному лікарському засобу знайдено синтетичний аналог. Копії спрацьовують швидко, проте діють за принципом вершини айсбергу, збурюючи метаболічні процеси, які відбуваються у живому організмі. Врівноважувати останні, регулювати їх аж до досягнення тієї гармонії, що зветься здоров'ям, під силу лише комплексу природніх біологічно активних сполук. Знайти ідеальну рецептуру такого комплексу можна без сумніву лише у лікарській рослинній сировині.

У фітопрепараті, на відміну від синтетичного лікарського засобу, де діє індивідуальна біологічно активна сполука, фізіологічну дію справляє весь комплекс речовин, вкладений у рослину природою. В тому і перевага лікарських засобів рослинного походження над синтетичними.

Тенденція одержання біологічно активних сполук методом екстрагування рослинної сировини спостерігається і в розвинутих країнах Європи, Азії, Америки, де добре розвинена хімія органічного синтезу та є можливість створення нових синтетичних аналогів.

Крім цього, одержання біологічно активних сполук шляхом екстрагування водою чи водно-спиртовими розчинами не спричиняє негативного впливу на

навколишнє середовище, а технології їх одержання можна вважати екологічно безпечними. Все це спонукає до розроблення науково-обґрунтованих технологій одержання препаратів на основі рослинної сировини, особливо, коли йдеться про здоров'я [137-140].

3.1. Обґрунтування складу комплексного фітоекстракту

У нинішній час чітко відслідковується тенденція до зростання рівня психопатологічних розладів – зокрема, психогенних невротичних уражень. В Україні цю ситуацію потенціюють різноманітні соціально-психологічні і біологічні фактори, а саме: соціально-економічні проблеми, інформаційний бум, екологічні проблеми, погіршення якості життя, а сьогодні ще й війна. Всі ці явища сприяють виникненню депресивних станів, які супроводжуються такою симптоматикою, як підвищена втомлюваність, зниження працездатності, дратівливість, тривога, втрата інтересів, розлад сну. Для вирішення цієї проблематики найоптимальнішими є седативні засоби переважно рослинного походження. Тому доцільним є розроблення та впровадження у медичну практику седативних засобів на основі комплексу вітчизняної лікарської рослинної сировини, дозволеної до медичного застосування.

Сучасна фармацевтична галузь потребує від седативних препаратів окрім заспокійливої дії, ще й загальнозміцнюючої, тобто підвищення опірності організму до захворювань.

В літературі описаний лікарський засіб «Флорисед», який включає кропиву собачу, шишки хмелю, м'яту перцеву, корені з кореневищами валеріани, корені солодки [118]. Склад цього препарату не поєднує в собі властивостей заспокійливого і загальнозміцнюючого одночасно, тому є, лікувальним, з вузьконаправленою спазмолітичною та заспокійливою дією і не містить компонентів, які можна було б віднести до ряду загальнозміцнюючих.

Більш розширений спектр впливу на організм людини має відомий седативний засіб «Фітосед», до складу якого входять суміші лікарської сировини – шишок хмелю, квітів глоду, листя меліси, кореневищ та коренів

ехінацеї та синюхи, трави полину та трави кропиви собачої [119]. Проте при тривалому прийманні цього засобу в пацієнтів розвиваються алергічні реакції на ехінацею, що стає причиною припинення його застосування. Цей засіб має суто специфічну дію. Частка мікроелементів та вітамінів в загальній масі препарату є недостатньою для виявлення загальнозміцнюючого впливу на організм людини. Тому його також не можна віднести до загальнозміцнюючих.

Відомий седативний та анксиолітичний засіб під назвою «Новопасит» виробництва Чеської республіки, який широко застосовується при лікуванні неврастенії, головного болю, мігрені, підвищенні нервово-м'язової збуджуваності, нейроциркуляторній дистонії тощо. До складу препарату входить синтетична складова гвайфенезин та екстракт із лікарських трав – валеріани, меліси, звіробою, глоду, пасифлори, хмелю та бузини чорної [120]. Склад «Ново-Паситу» свідчить про те, що він не може бути віднесений до препаратів, виготовлених на основі лікарської рослинної сировини, адже його основою, окрім рослинного екстракту, є синтетична речовина – гвайфенезин, причому її масова частка в готовому продукті складає більше половини маси рослинного екстракту. Недоліком цього засобу є те, що за рахунок звіробою у пацієнта можливе підвищення артеріального тиску, неприємні відчуття в області печінки та підшлункової залози. У зв'язку з цим він має обмежену сферу використання, адже протипоказаний гіпертонікам, людям похилого віку та людям із захворюваннями печінки та підшлункової залози. Крім цього, допоміжні речовини теж не є рослинного походження. Препарат «Ново-Пасит» має багато протипоказань – він може викликати запаморочення, втому, сонливість, свербіж, печію, пронос, запор, м'язову слабкість.

Фармацевтична композиція для виготовлення лікарських препаратів седативної, легкої снотворної та знеболюючої дії у формі крапель, розчинів, сиропів або суспензій, таблеток, капсул, що містить рослинні компоненти глід, шоломник, білокудреник, вербена, калина, повитиця, кріп [121].

Недоліком цієї композиції є те, що використовується рослинна сировина, яка офіційно не вважається лікарською, тобто не є фармакопейною. Такий стан справ значно ускладнює виготовлення лікарських засобів на її основі. Крім

цього композиція зі заявленого складу представлена у вигляді сухого екстракту, при виготовленні якого передбачається застосування високих температур, що спричиняється до втрати біологічної активні речовин, особливо ефірних олій.

Цікавим є відомий вітчизняний препарат «Седавіт», до складу якого входять: кореневище та корені валеріани, плоди глоду, трава звіробою, листя м'яти перцевої, шишки хмелю, піридоксин гідрохлорид, нікотинамід, сорбіт, спирт етиловий [122]. Проте в його складі містяться синтетичні складові – піридоксин гідрохлорид, нікотинамід, сорбіт, що робить неможливим його віднесення до препаратів рослинного походження, до того ж синтетичні складові є причиною частих побічних дій, зокрема алергічних проявів на синтетичні вітаміни.

В основі поставленого нами завдання – створення комплексного фітоекстракту на основі вітчизняної лікарської рослинної сировини седативної дії, в якому запропонований склад забезпечує комплексний вплив лікарського засобу, отриманого на його основі, на організм людини, максимальну відсутність побічних ефектів шляхом збалансованості якісного і кількісного складу його інгредієнтів, і за рахунок цього – досягнення високого терапевтичного ефекту, який виражається у стабілізації психоемоційного стану при одночасному підвищенні загального тону організму та здатності його протистояння тривалим нервовим та фізичним перевантаженням.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що комплексний фітоекстракт седативної дії включає корені та кореневища валеріани, плоди глоду, траву звіробою, листя м'яти перцевої, шишки хмелю та/або воду, та/або етиловий спирт і, згідно з корисною моделлю, містить додатково плоди калини. Рослинні компоненти при цьому використано з рідких екстрактів при наступному співвідношенні компонентів, г/л:

Кореневища з коренями валеріани	-	34-43
Плоди глоду	-	34-43
Трава звіробою	-	17-22
Листя м'яти перцевої	-	34-43
Шишки хмелю	-	34-43
Плоди калини	-	34-43
Спирт етиловий та /або вода	-	до 1 л

Фітоекстракт містить комплекс лікарських рослин, до складу яких входять біологічно активні сполки, які в передбаченому даним рішенням якісному і кількісному поєднанні підсилюють дію один одного, виявляючи фітокінетичну синергетику. Кожен з інгредієнтів фітоекстракту потенціує дію іншого, справляючи на організм ефективну седативну та анксиолітичну дію. Рослини підібрані таким чином, щоб окрім свого основного фармакологічного впливу (седативного), вони зосереджують в собі діючі речовини, здатні підвищувати можливості організму щодо перенесення не лише емоційних, а і фізичних перевантажень.

Введення до складу фітоекстракту плодів калини компенсує гіпертензивну дію звіробою, підсилює біологічну активність речовин інших компонентів заявленого складу, в результаті відновлюються сили та зміцнюється організм. Важливою перевагою запропонованого складу є його високі смакові якості, обумовлені плодами калини, які вигідно вирізняють лікарські засоби, одержані на його основі, від інших відомих седативних засобів.

В цілому седативна дія збалансована, м'яка і чітко виражена, з низьким ступенем пригнічення центральної нервової системи і мінімальним впливом на рухову та розумову функції. При цьому фітоекстракт сприяє збереженню активної працездатності та спричиняє загальнозміцнюючий, вегетостабілізуючий, антиаритмічний та спазмолітичний вплив на організм.

Одержання фітоекстракту передбачає використання етилового спирту, що надає препарату мікробіологічної стійкості та збільшує термін придатності, при цьому відпадає потреба у додаванні до препарату будь-яких додаткових синтетичних консервантів.

Кількісне співвідношення інгредієнтів комплексного фітоекстракту вибрано за умови забезпечення їх синергетичної дії, яка виражається в забезпеченні стабільного психоемоційного та фізичного стану людини. При зниженні кількісного вмісту інгредієнтів до величин, менших обумовлених даним технічним рішенням – тобто кореневищ та коренів валеріани менше 34г/л, плодів глоду менше 34г/л, трави звіробою менше 17г/л, листя м'яти

перцевої менше 34г/л, шишок хмелю менше 34г/л, плодів калини 34 г/л, спирту етилового та /або води менше 233,0г/л седативні та анксиолітичні властивості лікарського засобу, виготовленого на його основі, різко знизяться і він втратить свою заспокійливу дію.

Перевищення цього вмісту за межі максимальних величин, передбачених технічним рішенням, тобто коренів валеріани більше 43г/л, плодів глоду більше 43г/л, трави звіробою більше 22г/л, листя м'яти перцевої більше 43г/л, шишок хмелю більше 43г/л, плодів калини 43 г/л, спирту етилового та /або води більше 285г/л, є недоцільним у лікарському засобі, виготовленому на його основі, тому що в цьому випадку підвищений вміст біологічно активних речовин спричинятиме негативні побічні наслідки, які виражаються у виникненні втоми, сонливості, головокружінні, нудоті, загальмованості реакцій тощо. Саме в межах інтервалу від мінімально до максимально допустимого кількісного вмісту кожного з інгредієнтів у запропонованому фітоекстракті лікарські засоби, виготовлені на його основі, проявляють свою заспокійливу та загальнозміцнюючу дію.

В наведеній нижче таблиці приведені приклади складів комплексного фітоекстракту, на основі яких виготовлені лікарські засоби, у формі крапель та розчину для пиття.

Приклад 1 – препарат, в якому вміст кожного інгредієнту менший, ніж це передбачено запропонованим технічним рішенням. Лікарський засіб не має вираженої седативної дії. Смакові якості незадовільні. Приклад 2 – інгредієнти присутні в мінімально допустимій кількості. Лікарський засіб має слабо виражену седативну та анксиолітичну дію. Смакові якості задовільні. Приклад 3 і 4 – вміст інгредієнтів укладається в передбачений технічним рішенням інтервал від мінімального до максимального значення. Лікарський засіб спричиняє заспокійливу дію, стабілізує психоемоційний стан людини, зменшує прояви тривоги, усуває безсоння та підвищує тонус організму. Приємний на смак. Приклад 5 – передбачає максимально допустимий вміст інгредієнтів. Вживання лікарського засобу спричиняє помірну загальмованість реакцій, проте працездатність при цьому не зменшується. Смакові якості задовільні.

Приклад 6 – вміст інгредієнтів перевищує максимально допустиму величину, передбачену рішенням. Вживання лікарського засобу спричиняє сонливість, загальну загальмованість реакцій, зменшення працездатності. Смакові якості незадовільні.

Таблиця 3.1.

Склади комплексного фітоекстракту

№ п/п	Корені та кореневища валер'яни	Плоди глоду	Трава звіробою	Листя м'яти перцевої	Шишки хмелю	Плоди калини	спирт	вода
1	31	31	14	31	31	31	50	решта
2	34	34	17	34	34	34	233	решта
3	38	38	19	38	38	38	259	решта
4	40	40	20	40	40	40	250	решта
5	43	43	22	43	43	43	285	решта
6	45	45	24	45	45	45	290	решта

Лікарські засоби у формі таблеток і капсул виготовляють наступним чином: рослині компоненти, згідно з корисною моделлю, у вигляді екстрактів (густих або рідких) змішують із допоміжними речовинами, а саме наповнювачами, розріджувачами, а також при необхідності дезінтегрантами. Отриману суміш інгредієнтів зволожують, гранулюють та сушать. Отримані гранули таблетують або капсулюють.

3.2. Дослідження кінетики екстрагування ізовалеріанової кислоти із рослинної сировини

Для визначення кінетичних параметрів процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти з подрібненої рослинної сировини: коренів валеріани лікарської, шишок хмелю і плодів калини звичайної, проведено серію експериментів в апараті з мішалкою за діаметру подрібнення, який становив 3 мм. Як екстрагент використовували 40%-вий водний розчин етанолу з густиною 0,9352 г/см³. Співвідношення маси твердої фази рослинної сировини

до об'єму екстрагенту в кожному з проведених експериментів становило 50 г/л. Температура процесу екстрагування підтримувалася за допомогою термостата, яким обладнано реактор із мішалкою в межах 20 ± 1 °С. Біжуче значення концентрації ізовалеріанової кислоти визначали методом потенціометричного титрування відібраних проб екстракту за певний проміжок часу t , який не перевищував 5 годин із кроком від 300 до 3600 с. Одержані експериментальні кінетичні дані наведені на рис. 3.1.

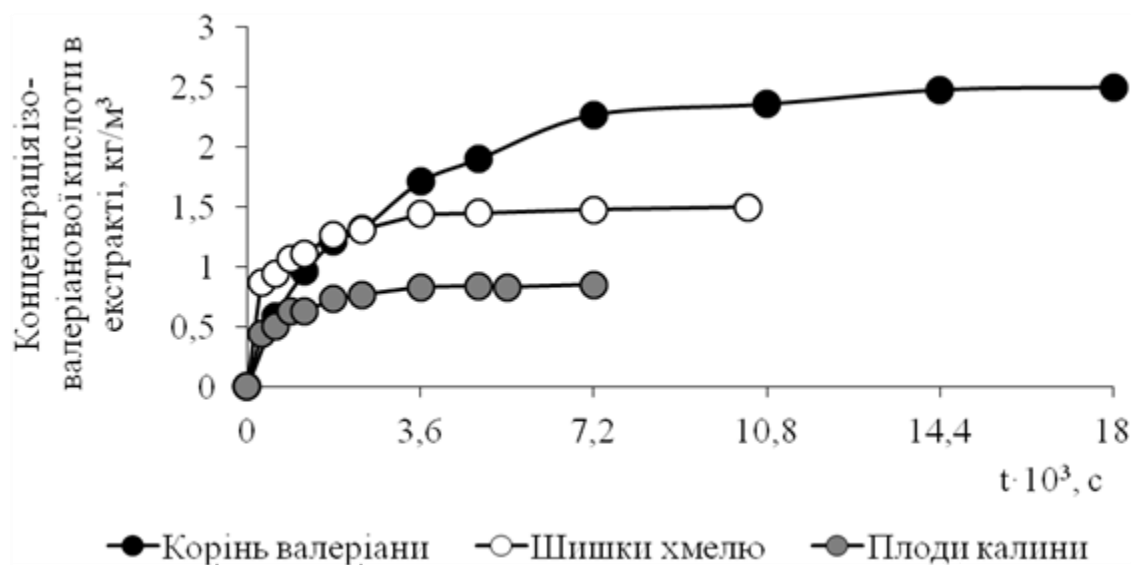


Рис. 3.1. Кінетика екстрагування ізовалеріанової кислоти за розміру подрібнення рослинної сировини 3 мм

З рис. 3.1 видно, що рівноважна концентрація ізовалеріанової кислоти має найбільше значення у випадку її екстрагування з подрібнених коренів валеріани лікарської, яке складає 2,5 г/л одержаного екстракту, і підтверджує, що саме вона є основним джерелом цієї аліфатичної кислоти. Дещо нижче значення рівноважної концентрації ізовалеріанової кислоти спостерігається у випадку її екстрагування з подрібнених шишок хмелю і складає 1,5 г/л екстракту (рис. 3.1). Водночас, у випадку екстрагування подрібнених плодів калини спостерігається величина рівноважної концентрації ізовалеріанової кислоти на рівні 0,85 г/л екстракту (рис. 3.1), що свідчить про найнижчий вміст цієї кислоти у даній рослинній сировині.

3.3. Обчислення параметрів кінетичної моделі процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти з лікарської рослинної сировини

Для опису кінетичних закономірностей досліджених процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти з подрібнених коренів валеріани лікарської, шишок хмелю і плодів калини звичайної користувалися спрощеним рівнянням екстрагування:

$$C_t = C_{\max} \cdot (1 - A \cdot e^{-k \cdot t}) \quad , \quad (3.1)$$

де C_t і C_{\max} – біжуча і рівноважна концентрація ізовалеріанової кислоти в екстракті, кг/м³; A – приекспонентний множник, коефіцієнт вимивання, який характеризує кількість зруйнованих (відкритих) клітин, частка від одиниці; k – коефіцієнт масоперенесення, м/с [27,28,150].

Представлення рівняння (3.1) у напівлогарифмічних координатах має вигляд:

$$-\ln\left(1 - \frac{C_t}{C_{\max}}\right) = -\ln A + kt. \quad (3.2)$$

Таким чином, із використанням експериментальних даних кінетики екстрагування ізовалеріанової кислоти обчислено значення підлогарифмічного виразу $\left(1 - \frac{C_t}{C_{\max}}\right)$, де $\frac{C_t}{C_{\max}}$ – ступінь екстрагування, частка від одиниці. Обчислені вищенаведені значення представлені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Дані для побудови кінетичних залежностей процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти з рослинної сировини у напівлогарифмічних координатах

Корінь валеріани (розмір 3 мм)						
t, c	600	1200	1800	2400	3600	4800
C_t/C_{\max}	0,24	0,38	0,48	0,53	0,68	0,76
$1 - C_t/C_{\max}$	0,76	0,62	0,52	0,47	0,32	0,24
$-\ln(1 - C_t/C_{\max})$	0,27	0,48	0,66	0,75	1,15	1,43

Шишки хмелю (розмір 3 мм)						
t, с	300	600	900	1200	1800	2400
C_t/C_{max}	0,58	0,63	0,71	0,74	0,85	0,87
$1 - C_t/C_{max}$	0,42	0,37	0,29	0,26	0,15	0,13
$-\ln(1 - C_t/C_{max})$	0,87	0,99	1,25	1,35	1,88	2,07
Плоди калини (розмір 3 мм)						
t, с	300	600	900	1200	1800	2400
C_t/C_{max}	0,52	0,59	0,74	0,74	0,86	0,91
$1 - C_t/C_{max}$	0,48	0,41	0,26	0,26	0,14	0,09
$-\ln(1 - C_t/C_{max})$	0,73	0,89	1,35	1,35	1,96	2,36

На рис. 3.2 наведені експериментальні кінетичні дані процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти з рослинної сировини за розміру її подрібнення 3 мм у вигляді напівлогарифмічних кінетичних залежностей.

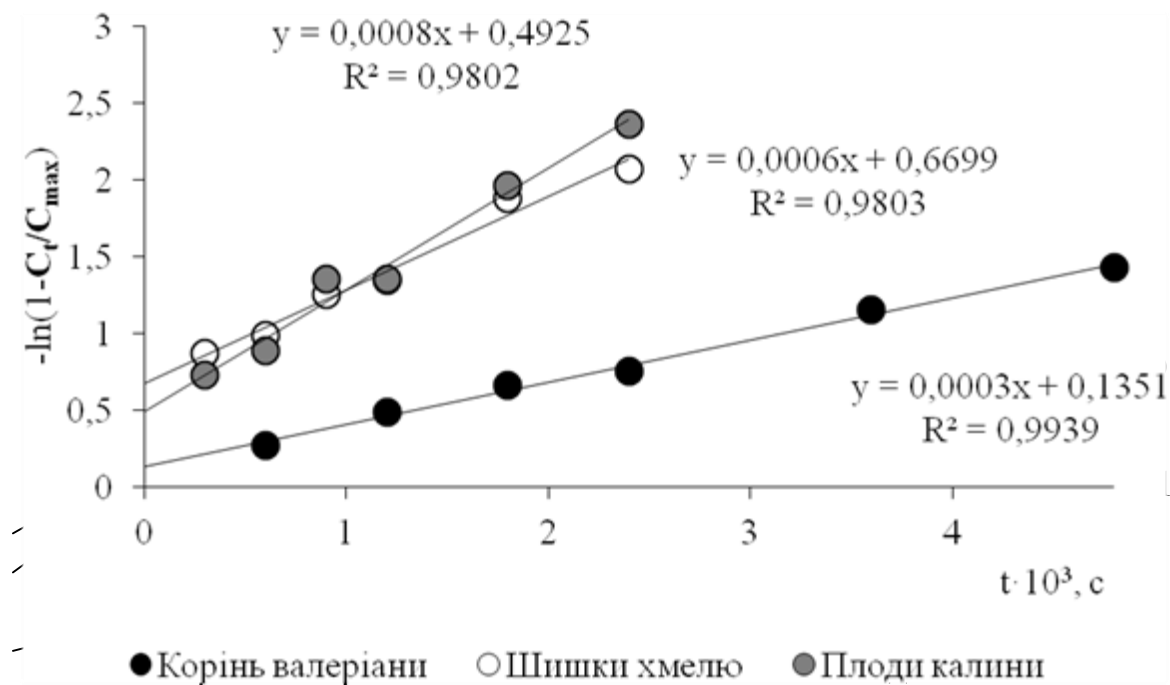


Рис. 3.2. Кінетичні залежності екстрагування ізовалеріанової кислоти за розміру подрібнення рослинної сировини 3 мм

З рис. 3.2 бачимо, що в трьох випадках екстрагування чітко виділяються два періоди екстрагування. Тривалість першого періоду екстрагування відповідає часу швидкого вимивання цільової ізовалеріанової кислоти зі зруйнованих клітин і становить менше 600 с при екстрагуванні подрібненого кореня валеріани та менше 300 с при екстрагуванні подрібнених шишок хмелю та плодів калини.

На основі кінетичних залежностей, які зображені на рис. 3.2, обчислено значення коефіцієнта вимивання - A та коефіцієнта масоперенесення - k . Коефіцієнт масопереносу - k розраховували як тангенс кута нахилу прямої, а при експоненційний множник - A , як відстань, яку відтинає продовження прямого відрізка на осі ординат для кожного дослідженого випадку екстрагування. Обчислені значення A і k наведені в табл. 3.2 [27, 28, 150,151].

З табл. 3.2 бачимо, що найменше значення коефіцієнта масоперенесення спостерігається у випадку екстрагування подрібнених коренів валеріани і становить $2,7 \cdot 10^{-4}$ м/с. Це ж значення коефіцієнта масоперенесення у випадку екстрагування шишок хмелю є у 2,25 рази вищим і становить $6,1 \cdot 10^{-4}$ м/с.

Водночас, найвище значення величини коефіцієнта масоперенесення спостерігається при екстрагуванні подрібнених плодів калини і становить $7,9 \cdot 10^{-4}$ м/с, що в 2,9 раз вище, аніж при екстрагуванні подрібнених коренів валеріани і майже на 30 % вище аніж при екстрагуванні подрібнених шишок хмелю.

Таблиця 3.2

Параметри кінетичної моделі процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти за розміру подрібнення рослинної сировини 3 мм

Рослинна сировина	C_{max} , кг/м ³	$k \cdot 10^4$, м/с	$-\ln(A)$	A	R^2
Корінь валеріани	2,5	2,7	0,1351	0,87	0,9939
Шишки хмелю	1,5	6,1	0,6699	0,51	0,9803
Плоди калини	0,85	7,9	0,4925	0,61	0,9802

З табл. 3.2 бачимо, що обчислене значення коефіцієнта вимивання - A має найбільше значення у випадку екстрагування подрібненого кореня валеріани і складає 0,87. Значно нижчі значення цього параметра кінетичної моделі процесу екстрагування спостерігаються для шишок хмелю і плодів калини, і відповідно, становлять 0,51 і 0,61. Це пояснюється тим, що в коренях з кореневищами найбільший вміст ізовалеріанової кислоти.

З табл. 3.2 також бачимо, що розраховані коефіцієнти детермінації R^2 експериментальних даних у вигляді кінетичних залежностей для досліджених процесів екстрагування подрібнених кореня валеріани, шишок хмелю і плодів калини до розміру 3 мм відповідно становлять 0.9939, 0.9803 і 0.9802 і є близькі до одиниці. Це свідчить про адекватність опису експериментальних даних за допомогою спрощеної кінетичної моделі екстрагування. Таким чином, кінцеві кінетичні рівняння процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти з подрібненої рослинної сировини до розміру 3 мм: кореня валеріани, шишок хмелю і плодів калини матимуть вигляд відповідних рівнянь (3.3), (3.4) і (3.5):

$$C_t = 2,5 \cdot \left(1 - 0,87 \cdot \exp\left(-2,7 \cdot 10^{-4} \cdot t\right)\right), \quad (3.3)$$

$$C_t = 1,5 \cdot \left(1 - 0,51 \cdot \exp\left(-6,1 \cdot 10^{-4} \cdot t\right)\right), \quad (3.4)$$

$$C_t = 0,85 \cdot \left(1 - 0,61 \cdot \exp\left(-7,9 \cdot 10^{-4} \cdot t\right)\right). \quad (3.5)$$

3.4. Визначення оптимальної тривалості екстрагування ізовалеріанової кислоти з лікарської рослинної сировини

Оптимізація технологічного процесу екстрагування будь-якої хімічної сполуки полягає у встановленні оптимальних умов його проведення. Максимально допустимі значення ступеня екстрагування (C_t/C_{\max}) та відповідної продуктивності за цільовою речовиною (Π) є базовими параметрами, що характеризують оптимальні умови процесу екстрагування. Оптимум значень цих двох параметрів відповідає певній оптимальній тривалості його проведення. Для встановлення оптимальної тривалості процесу

екстрагування доцільно використовувати адекватну кінетичну модель цього процесу.

Оптимальну тривалість процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти із рослинної сировини визначали шляхом розв'язку відповідних кінетичних моделей екстрагування відносно часу t (рівнянь 3.3 – 3.5), з підстановкою в останні значення ступеня екстрагування цільової речовини тобто ізовалеріанової кислоти на рівні 95 %. Таким чином, розв'язок рівнянь (3.3 – 3.5) відносно часу t має вигляд:

$$t = -\frac{\ln(-(0,95-1)/A)}{k}, [c]. \quad (3.6)$$

На основі виведеного рівняння (3.6) обчислено тривалість процесів екстрагування ізовалеріанової кислоти за умови їх роздільного проведення із подрібнених до розміру 3 мм кореня валеріани (t_1), шишок хмелю (t_2) та плодів калини (t_3):

$$t_1 = -\frac{\ln(-(0,95-1)/0,87)}{2,7 \cdot 10^{-4}} \approx 10600 \text{ с},$$

$$t_2 = -\frac{\ln(-(0,95-1)/0,51)}{6,1 \cdot 10^{-4}} \approx 3800 \text{ с},$$

$$t_3 = -\frac{\ln(-(0,95-1)/0,61)}{7,9 \cdot 10^{-4}} \approx 3200 \text{ с}.$$

Таким чином, встановлено, що оптимальна тривалість процесу екстрагування ізовалеріанової кислоти за ступеня екстрагування 95 % від її рівноважної концентрації є найвищою у випадку її вилучення із подрібнених коренів валеріани до розміру 3 мм і становить близько 10600 с. Водночас, у випадку використання як сировини подрібнених шишок хмелю і плодів калини такого ж ступеня подрібнення, ця тривалість незначно відрізняється і становить, відповідно, 3800 с і 3200 с.

На основі обчисленої оптимальної тривалості проведення процесів екстрагування, продуктивність за ізовалеріановою кислотою (Π) за умови 95 %

ступеня екстрагування визначається за спрощеним рівнянням (3.7), яке не враховує втрату об'єму екстрагенту внаслідок набухання рослинної сировини:

$$\Pi = \frac{0,95 \cdot C_{\max} \cdot 3600}{t}, \left[\frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{год}} \right]. \quad (3.7)$$

Таким чином, розраховані значення продуктивності за ізовалеріановою кислотою для безперервних процесів екстрагування з подрібнених до розміру 3 мм кореня валеріани (Π_1), шишок хмелю (Π_2) і плодів калини (Π_3) відповідно становлять:

$$\begin{aligned} \Pi_1 &= \frac{0,95 \cdot 2,5 \cdot 3600}{10600} \approx 0,807 \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{год}}, \\ \Pi_2 &= \frac{0,95 \cdot 1,50 \cdot 3600}{3800} \approx 1,350 \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{год}}, \\ \Pi_3 &= \frac{0,95 \cdot 0,85 \cdot 3600}{3200} \approx 0,908 \frac{\text{кг}}{\text{м}^3 \cdot \text{год}}. \end{aligned}$$

З проведеного розрахунку видно, що з точки зору продуктивності екстракційного вузла проведення процесу екстрагування ізовалеріанової кислоти є найдоцільніше з шишок хмелю, оскільки, у цьому випадку вона є найвищою і становить 1,350 кг/(м³·год). Очевидно, це пояснюється проміжною величиною вмісту цієї кислоти в шишках хмелю серед досліджених видів рослинної сировини, який дозволяє досягнути значення її рівноважної концентрації на рівні 1,5 кг/м³ (табл. 3.2), а також майже найнижчою оптимальною тривалістю процесу екстрагування 3800 с за 95 % ступеня екстрагування. З розрахунку також бачимо, що продуктивність за ізовалеріановою кислотою у випадку її екстрагування із подрібнених плодів калини є дещо вищою, аніж для процесу екстрагування із подрібненого кореня валеріани, і, відповідно, становить 0,908 кг/м³ і 0,807 кг/м³. Очевидно, це пояснюється тим, що оптимальна тривалість процесу екстрагування ізовалеріанової кислоти за 95 % ступеня екстрагування для подрібнених плодів калини є більш, ніж у 3,3 рази меншою, аніж для кореня валеріани такого ж ступеня подрібнення.

3.5. Оптимізація одержання ізовалеріанової кислоти за її сумісного екстрагування з лікарської рослинної сировини шляхом математичного моделювання

У літературі практично відсутні експериментальні дані, присвячені вивченню кінетики сумісного екстрагування БАС із рослинної сировини різних анатомо-морфологічних органів (листя, плоди, корені та кореневища тощо). Наведені вище експериментальні кінетичні дані показують, що відмінності в анатомо-морфологічній будові рослинної сировини істотно впливають на кінетику екстрагування ізовалеріанової кислоти. Так, за сумісного екстрагування для сировини, яка легко екстрагується: подрібнених шишок хмелю та плодів калини, рівновага настає за доволі короткий проміжок часу порівняно з коренем валеріани такого ж ступеня подрібнення, для якого ця рівновага досягається приблизно втричі довше. Таким чином, така значна різниця у тривалості досягнення рівноважної концентрації ізовалеріанової кислоти у випадку її сумісного екстрагування з дослідженої подрібненої сировини стане причиною надмірного часу перебування в зоні екстракції подрібнених шишок хмелю та плодів калини, для яких рівновага досягається відносно швидко. Це, в свою чергу, негативно вплине на якість кінцевого фітоекстракту .

Фітоекстракт не тільки забруднюються баластними речовинами (клітковиною, хлорофілами тощо), не кажучи про те, що це також утруднює процес розділення твердої та рідкої фаз під час виділення екстракту, оскільки набухла рослинна сировина через тривалу механічну обробку в зоні екстрагування створює значний гідравлічний опір під час розділення твердої фази від екстракту [133-135].

Поставлене завдання вирішується шляхом інтенсифікування процесу екстрагування із коренів з кореневищами валеріани, час досягнення рівноваги якого є втричі більшим, порівняно з шишками хмелю та плодами калини за розміру їх подрібнення 3 мм. Із виведеного виразу (3.6) бачимо, що найвагомим фактором інтенсифікування внутрішньодифузійних процесів є

значення коефіцієнта масоперенесення, який безпосередньо пов'язаний із розміром твердих частинок рослинної сировини. Таким чином, змінюючи розмір частинки твердої фази, ми зможемо збільшувати або зменшувати час досягнення рівноважної концентрації БАС, а отже – досягнути одночасного настання цієї рівноваги для різних видів рослинної сировини. Враховуючи те, що у випадку проведення процесу екстрагування ізовалеріанової кислоти з подрібненого кореня з кореневищами валеріани спостерігається максимальне значення її рівноважної концентрації серед інших видів рослинної сировини за одночасної, втричі більшої тривалості процесу, то, можна стверджувати, що у випадку її сумісного екстрагування з шишок хмелю та плодів калини, доцільно збільшити ступінь подрібнення кореня валеріани. Це пояснюється тим, що при зменшенні розміру частинки валеріани лікарської зменшуватиметься шлях дифузії цільової ізовалеріанової кислоти з її внутрішнього середовища до границі розділу фаз. Очевидно, збільшення ступеня подрібнення кореня з кореневищами валеріани підвищить тривалість стадії попереднього приготування цієї рослинної сировини, однак, це одночасно призведе до значного підвищення продуктивності за ізовалеріановою кислотою, про що свідчать рівняння (3.6) і (3.7).

Таким чином стало необхідним вивчення кінетики екстрагування досліджуваної лікарської рослинної сировини в значно ширших межах розмірів подрібнення. Відповідно стало необхідним виконання значно більшої кількості аналізів при вивченні кінетики екстрагування рослинної сировини, тому в подальшому використовували більш просту, в порівнянні з потенціометричним визначення вмістом ізовалеріанової кислоти, методику визначення вмісту БАС у екстракті, а саме методику визначення екстрактивних речовин (див. Розділ 2, п. 2.4).

3.6. Кінетичні закономірності екстрагування БАС із коренів та кореневищ валеріани

Експериментальне вивчення кінетики екстрагування цільових речовин із коренів та кореневищ валеріани за розміру подрібнення $2 \cdot 10^{-3}$, $4 \cdot 10^{-3}$, $6 \cdot 10^{-3}$,

$8 \cdot 10^{-3}$, $10 \cdot 10^{-3}$ м вивчали в апараті з мішалкою за температури 20°C . Сировину подрібнювали на лабораторній траворізці методом різання до відповідних розмірів, який встановлювали ситовим аналізом. Біологічно-активні сполуки досліджуваної сировини добре розчинні у водно-спиртових розчинах, тому як екстрагент була вибрана 40% водно-спиртова суміш. Співвідношення фаз вибирали з розрахунку вмісту необхідної кількості діючих речовин у готових екстрактах. Зростання концентрації діючих речовин в екстракті визначали згідно методики 2.4, приведеної у розділі 2. Температуру екстрагенту підтримували за допомогою термостату і вона становила 20°C . Через певні проміжки часу відбирали проби для аналізу, в яких визначали кількість проекстрагованих БАС. Одержані експериментальні дані кінетики екстрагування представлені на рисунках 3.3; 3.4 і таблицях 3.2 та 3.3. Як видно з рисунку, розмір частинок досліджуваної сировини суттєво впливає на тривалість досягнення рівноваги процесу екстрагування. Зі збільшенням розміру твердої фази досліджуваної рослинної сировини збільшується час досягнення рівноваги, що пояснюється збільшенням шляху дифузії цільових речовин із внутрішнього середовища екстрагованої частинки до границі поділу фаз.

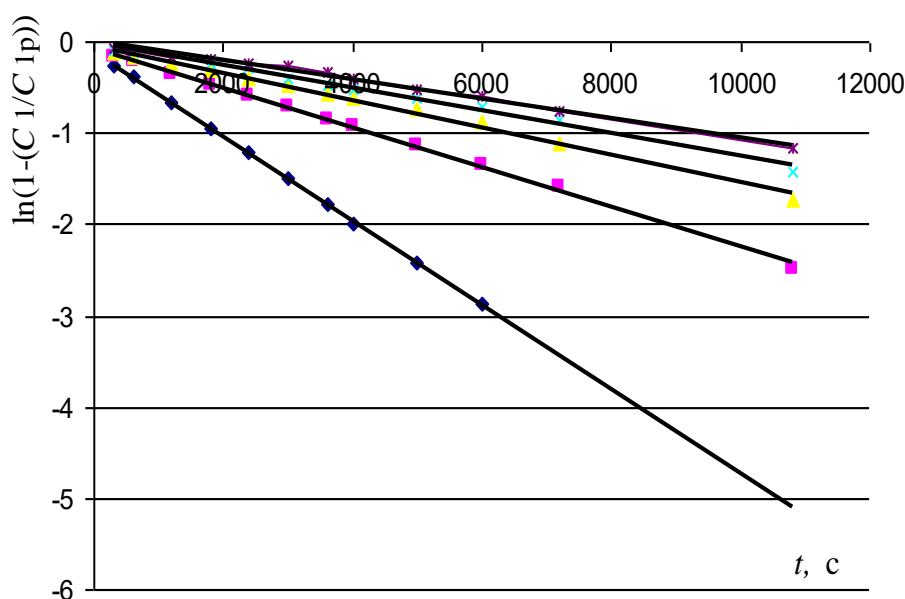


Рис. 3.3. Напівлогарифмічна залежність кінетики екстрагування БАС із подрібнених до певних розмірів коренів та кореневищ валеріани

Таблиця 3.2

Кінетика екстрагування із коренів з кореневищами валеріани

$d; [M]$	$t; [c]$	120	300	600	1200	1800	2400	3000	3600	4000	5000	6000	7200	10800
$2 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/м^{-3}]$ $\ln(1-(C_1/C_{1p}))$	0,93 -0,17	1,32 -0,25	1,92 -0,39	2,88 -0,67	3,61 -0,95	4,16 -1,22	4,58 -1,49	4,90 -1,77	5,10 -1,99	5,37 -2,41	5,57 -2,88	5,72 -	5,90 -
$4 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/м^{-3}]$ $\ln(1-(C_1/C_{1p}))$	0,66 -0,12	0,86 -0,16	1,17 -0,22	1,73 -0,35	2,22 -0,47	2,66 -0,60	3,04 -0,72	3,38 -0,85	3,58 -0,93	4,02 -1,14	4,38 -1,36	4,69 -1,58	5,50 -2,70
$6 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/м^{-3}]$ $\ln(1-(C_1/C_{1p}))$	0,39 -0,07	0,65 -0,12	0,88 -0,16	1,26 -0,24	1,62 -0,32	1,98 -0,41	2,25 -0,48	2,59 -0,58	2,74 -0,62	3,08 -0,74	3,45 -0,88	3,95 -1,11	4,86 -1,74
$8 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/м^{-3}]$ $\ln(1-(C_1/C_{1p}))$	0,27 -0,05	0,44 -0,08	0,59 -0,11	0,86 -0,16	1,12 -0,21	1,38 -0,27	1,61 -0,32	1,83 -0,37	1,97 -0,41	2,31 -0,50	2,61 -0,58	2,99 -0,71	3,90 -1,08
$10 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/м^{-3}]$ $\ln(1-(C_1/C_{1p}))$	0,24 -0,04	0,39 -0,07	0,57 -0,10	0,75 -0,16	0,96 -0,18	1,24 -0,24	1,41 -0,27	1,72 -0,34	1,96 -0,40	2,34 -0,51	2,66 -0,60	3,16 -0,77	4,08 -1,17

Крім цього, аналіз (Рис. 3.3) дозволяє стверджувати про наявність двох областей екстрагування. Перша область – нерегулярного режиму до 400 с, та друга область регулярного режиму екстрагування до 7000 с.

Аналогічно методології, викладеній раніше, за рівнянням (3.2) в логарифмічних координатах графо-аналітичним методом були визначені коефіцієнти масопереносу k для подрібнених до певних розмірів коренів та кореневищ валеріани.

Детальніший аналіз одержаних значень коефіцієнтів масопереносу k в залежності від ступеня подрібненості d дозволяє стверджувати, що вони описується логарифмічною функцією (рис. 3.4).

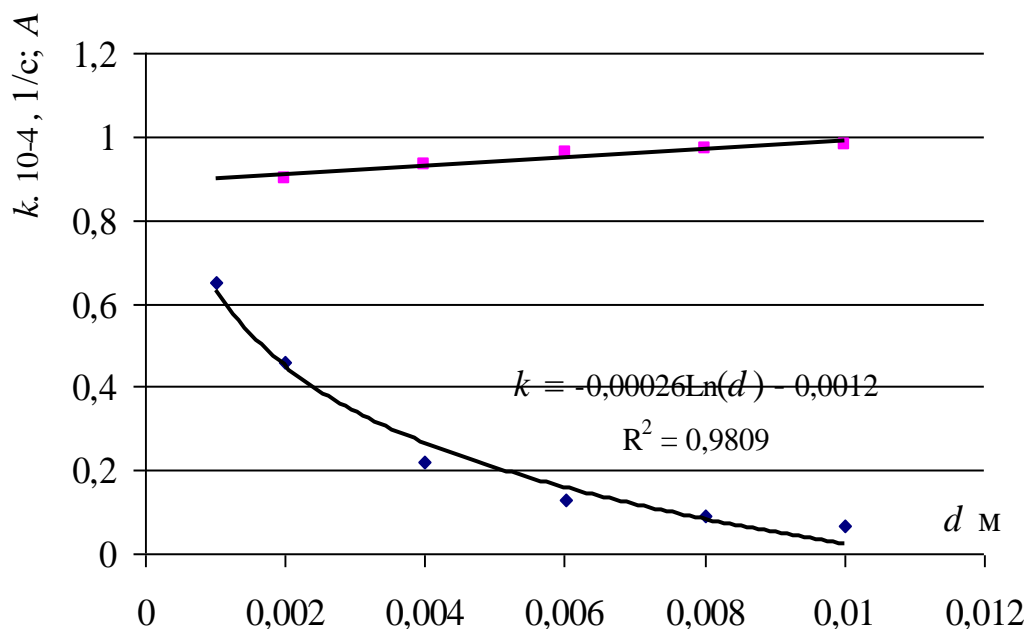


Рис. 3.4. Залежність коефіцієнтів масопереносу - k , та коефіцієнта - A від розміру - d при екстрагуванні БАС із коренів та кореневищ валеріани

Коефіцієнт кореляції опису залежності логарифмічною функцією становить - 0,98, і виражається таким аналітичним рівнянням:

$$k = - 0,00026\ln(d) - 0,0012; \quad (3.8)$$

коефіцієнт вимивання A :

$$A = 10,0 d + 0,88 . \quad (3.9)$$

Загальне кінетичне рівняння екстрагування подрібнених коренів та кореневищ валеріани:

$$C_1 = 5,9(1-(10,0d+0,88) \exp(-(-0,00026\ln(d) - 0,0012)t)) \quad (3.10)$$

Таблиця 3.3

Кінетичні константи екстрагування БАС коренів з кореневищами валеріани

d ; [м]	k ; [м/с]	$\ln A$	A	Кінетичне рівняння
$2 \cdot 10^{-3}$	$4,61 \cdot 10^{-4}$	- 0,11	0,90	$C=5,9(1-0,90\exp(-4,61 \cdot 10^{-4} t))$
$4 \cdot 10^{-3}$	$2,18 \cdot 10^{-4}$	- 0,07	0,93	$C=5,9 (1-0,93\exp(-2,18 \cdot 10^{-4} t))$
$6 \cdot 10^{-3}$	$1,50 \cdot 10^{-4}$	- 0,04	0,96	$C=5,9 (1-0,96\exp(-1,50 \cdot 10^{-4} t))$
$8 \cdot 10^{-3}$	$1,21 \cdot 10^{-4}$	- 0,03	0,97	$C=5,9 (1-0,97\exp(-1,21 \cdot 10^{-4} t))$
$10 \cdot 10^{-3}$	$1,05 \cdot 10^{-4}$	- 0,01	0,98	$C=5,9 (1-0,98\exp(-1,05 \cdot 10^{-4} t))$

3.7. Кінетичні закономірності екстрагування БАС із плодів калини

Експериментальне дослідження кінетики екстрагування цільових речовин із плодів калини проводились традиційно в апараті з мішалкою за температури 20⁰С. Сировину подрібнювали на лабораторній дробарці до розмірів – $1 \cdot 10^{-3}$, $2 \cdot 10^{-3}$, $3 \cdot 10^{-3}$, $4 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-3}$ м, і просіювали через сито з відповідним розміром отворів. Співвідношення фаз вибирали з розрахунку вмісту необхідної кількості діючих речовин у готових екстрактах. Зростання концентрації цільових речовин в екстракті визначали згідно методик, приведених у розділі 2. Одержані експериментальні дані екстрагування представлені на рисунках 3.5, 3.6 та таблиці 3.4. Аналогічно викладеному вище, зі збільшенням діаметра частинки подрібнених плодів збільшується час досягнення рівноваги, що пояснюється збільшенням шляху дифузії цільових речовин із внутрішнього середовища екстрагованої сировини до границі поділу фаз. Чітко спостерігається (рис. 3.5) наявність двох областей екстрагування. Перша

область – нерегулярного режиму до 300 с, та друга область регулярного режиму екстрагування, що підтверджує внутрішньодифузійний механізм екстрагування.

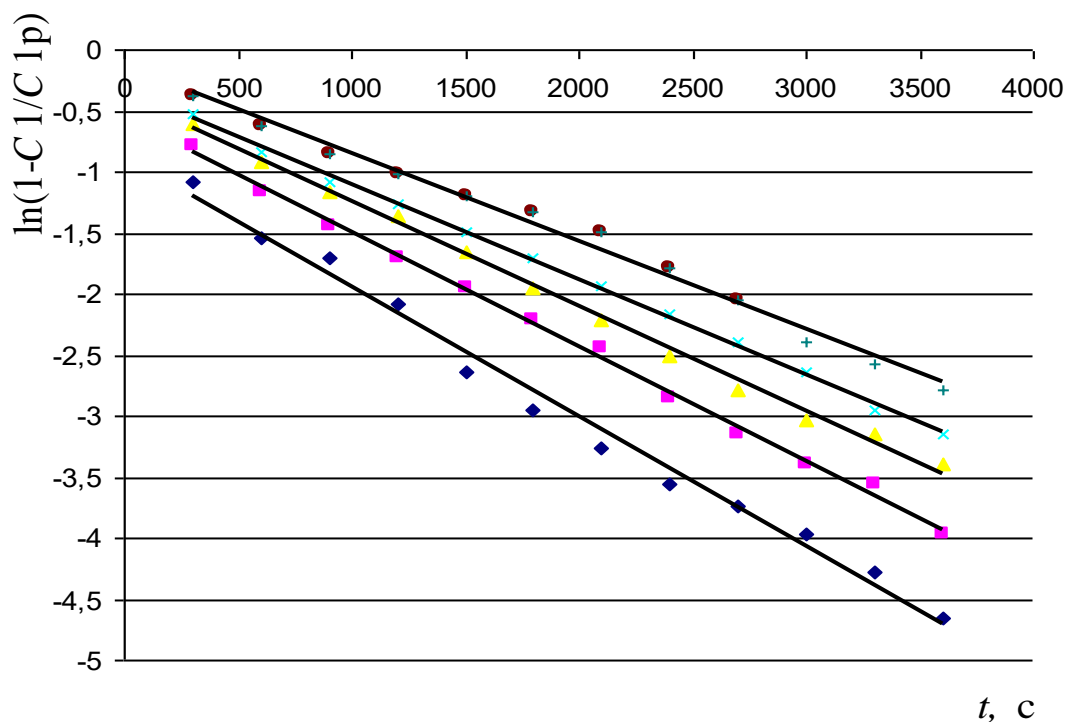


Рис. 3.5. Напівлогарифмічна залежність кінетики екстрагування БАС із подрібнених до певних розмірів плодів калини

Аналогічно методології, викладеній раніше, графо-аналітичним методом були розраховані коефіцієнти масопереносу k для кожного розміру подрібнених плодів калини (рис. 3.5). Аналіз одержаних значень коефіцієнтів масопереносу k в залежності від ступеня подрібненості d дозволяє стверджувати, що ця залежність найкраще описується також логарифмічною функцією (див. рис.3.6), а її аналітичний вигляд запишеться рівнянням:

$$k = -2,33 \cdot 10^{-4} \ln(d) - 5,06 \cdot 10^{-4}; \quad (3.11)$$

величина A визначається за такою залежністю (Рис. 3.6):

$$A = 108d + 0,328 . \quad (3.12)$$

Сумарне кінетичне рівняння екстрагування цільових речовин із плодів калини має наступний вигляд:

$$C_t = 2,1(1 - [108d + 0,328]) \exp(-(-2,33 \cdot 10^{-4} \ln(d) - 5,06 \cdot 10^{-4})t) \quad (3.13)$$

Таблиця 3.4

Кінетика екстрагування плодів калини

$d; [м]$	$t, [с]$	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	2700	3000	3300	3600	3900
$1 \cdot 10^{-3}$	$C_I, \text{кг/м}^3$	1,39	1,65	1,72	1,84	1,95	1,99	2,02	2,04	2,05	2,06	2,07	2,08	2,10
	$\ln(1-C_I/C_p)$	-1,08	-1,54	-1,71	-2,09	-2,64	-2,95	-3,26	-3,55	-3,74	-3,96	-4,28	-4,65	-
$2 \cdot 10^{-3}$	$C_I, \text{кг/м}^3$	1,14	1,44	1,61	1,72	1,80	1,87	1,92	1,98	2,01	2,03	2,04	2,06	2,07
	$\ln(1-C_I/C_p)$	-0,78	-1,16	-1,45	-1,71	-1,95	-2,21	-2,45	-2,86	-3,15	-3,40	-3,55	-3,96	-4,28
$3 \cdot 10^{-3}$	$C_I, \text{кг/м}^3$	0,95	1,26	1,44	1,56	1,70	1,80	1,87	1,93	1,97	2,00	2,01	2,03	2,05
	$\ln(1-C_I/C_p)$	-0,60	-0,91	-1,16	-1,36	-1,65	-1,95	-2,21	-2,51	-2,78	-3,04	-3,15	-3,40	-3,74
$4 \cdot 10^{-3}$	$C_I, \text{кг/м}^3$	0,87	1,18	1,39	1,51	1,63	1,72	1,80	1,86	1,91	1,95	1,99	2,01	2,03
	$\ln(1-C_I/C_p)$	-0,53	-0,83	-1,08	-1,27	-1,49	-1,71	-1,94	-2,17	-2,40	-2,64	-2,95	-3,15	-3,40
$5 \cdot 10^{-3}$	$C_I, \text{кг/м}^3$	0,67	0,98	1,2	1,35	1,47	1,54	1,63	1,75	1,83	1,90	1,97	2,00	2,01
	$\ln(1-C_I/C_p)$	-0,38	-0,63	-0,85	-1,02	-1,20	-1,32	-1,49	-1,70	-2,05	-2,39	-2,57	-2,78	-

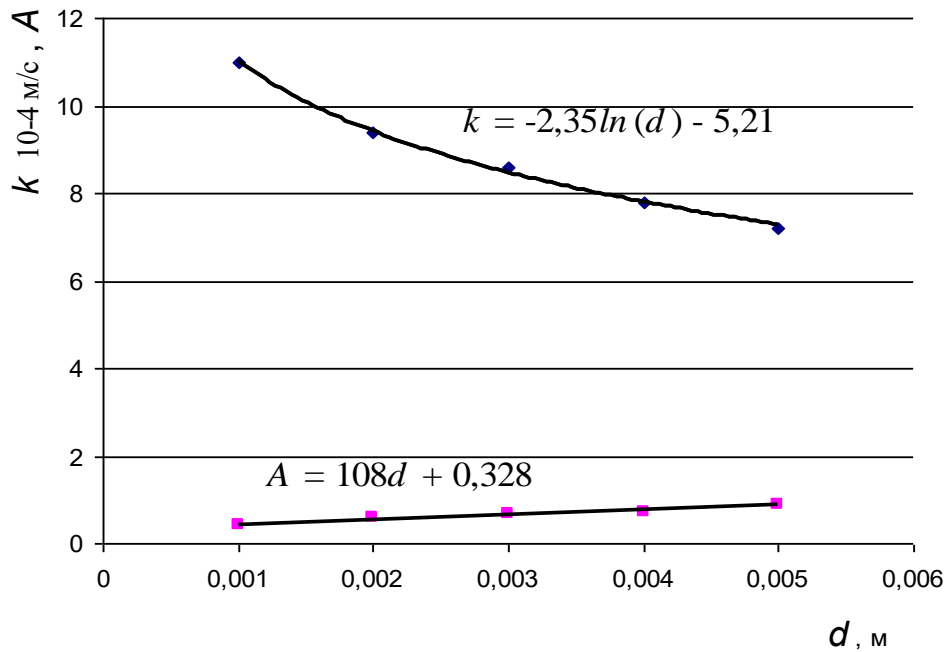


Рис. 3.6. Залежність коефіцієнтів масопереносу k , та коефіцієнта A від розміру d при екстрагуванні БАС із плодів калини

Таблиця 3.5

Кінетичні константи екстрагування БАС із плодів калини

d ; [м]	k ; [м/с]	$\ln A$	A	Кінетичне рівняння
$1 \cdot 10^{-3}$	$11,03 \cdot 10^{-4}$	- 0,89	0,41	$C_I=2,1(1-0,41 \exp(-11,03 \cdot 10^{-4})t)$
$2 \cdot 10^{-3}$	$9,40 \cdot 10^{-4}$	- 0,56	0,57	$C_I=2,1 (1-0,57 \exp(-9,40 \cdot 10^{-4})t)$
$3 \cdot 10^{-3}$	$8,62 \cdot 10^{-4}$	- 0,38	0,68	$C_I=2,1 (1-0,68 \exp(-8,62 \cdot 10^{-4})t)$
$4 \cdot 10^{-3}$	$7,81 \cdot 10^{-4}$	- 0,32	0,73	$C_I=2,1 (1-0,73 \exp(-7,81 \cdot 10^{-4})t)$
$5 \cdot 10^{-3}$	$7,20 \cdot 10^{-4}$	- 0,14	0,87	$C_I=2,1 (1-0,87 \exp(-7,20 \cdot 10^{-4})t)$

3.8. Кінетичні закономірності екстрагування БАС із шишок хмелю

Для з'ясування аналітичної залежності коефіцієнта масопереносу k та коефіцієнта вимивання A від розміру частинки твердої фази d вивчали кінетику екстрагування подрібнених шишок хмелю до розміру $2 \cdot 10^{-3}$, $3 \cdot 10^{-3}$, $4 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-3}$ в апараті з мішалкою згідно методології описаної вище. Зростання концентрації екстрактивних речовин в екстракті визначали за кількістю екстрактивних речовин. Одержані значення кінетики екстрагування приведені в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

Кінетика екстрагування шишок хмелю

d ; [м]	t ; [с]	120	300	600	1200	1800	2400	3000	3600	4000	5000	6000	6300	7200
$2 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ³]	5,00	5,40	5,97	6,80	7,35	7,71	7,94	8,10	8,18	8,29	8,34	8,40	8,40
	$\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	-0,90	-1,03	-1,24	-1,66	-2,08	-2,49	-2,90	-3,33	-3,64	-4,33	-	-	-
$3 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ³]	4,10	4,53	5,16	6,12	6,80	7,28	7,61	7,85	7,96	8,16	8,27	8,28	8,32
	$\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	-0,67	-0,77	-0,95	-1,30	-1,66	-2,01	-2,36	-2,72	-2,95	-3,55	-4,16	-4,25	-
$4 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ³]	3,52	3,92	4,54	5,53	6,28	6,83	7,24	7,54	7,70	7,97	8,14	8,18	8,24
	$\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	-0,54	-0,63	-0,77	-1,07	-1,37	-1,67	-1,98	-2,28	-2,48	-2,97	-3,47	-3,64	-3,96
$5 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ³]	2,73	3,11	3,71	4,71	5,51	6,12	6,60	6,99	7,24	7,59	7,86	7,92	8,05
	$\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	-0,39	-0,46	-0,58	-0,82	-1,06	-1,30	-1,54	-1,78	-1,98	-2,34	-2,74	-2,86	-3,18

Підставивши відповідні експериментальні значення кінетики екстрагування у рівняння (3.2) в логарифмічних координатах, одержуємо серію кінетичних кривих (Рис.3.7), з допомогою яких визначаємо значення коефіцієнта масопереносу k та коефіцієнта вимивання A .

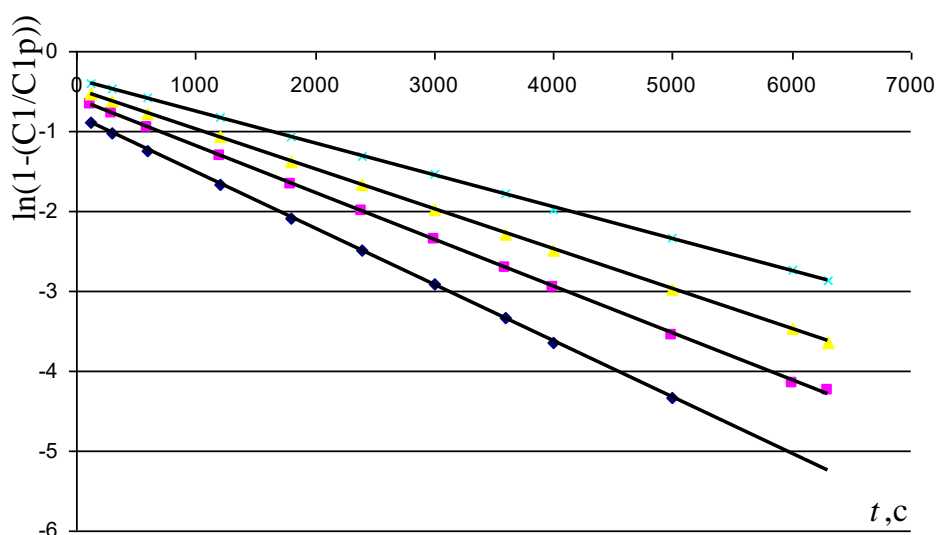


Рис. 3.7. Напівлогарифмічна залежність кінетики екстрагування БАС із подрібнених до певних розмірів шишок хмелю

Аналіз отриманих значень коефіцієнтів масопереносу k та коефіцієнтів вимивання A в залежності від діаметра частинки твердої фази d (табл. 3.5 та рис. 3.8) дозволяє записати наступні аналітичні залежності:

$$k = + 8,94 \cdot 10^{-4} - 0,099 d ; \quad (3.14)$$

Таблиця 3.7

Кінетичні константи екстрагування БАС із шишок хмелю

$d \cdot 10^{-3}$ м	$k \cdot 10^{-4}$ 1/с	A	Кінетичне рівняння
2,0	7,02	0,44	$C=8,4(1-0,44exp(-7,02 \cdot 10^{-4}))t$
3,0	5,93	0,55	$C=8,4(1-0,55exp(-5,93 \cdot 10^{-4}))t$
4,0	5,01	0,62	$C=8,4(1-0,62exp(-5,01 \cdot 10^{-4}))t$
5,0	4,04	0,71	$C=8,4(1-0,71exp(-4,04 \cdot 10^{-4}))t$

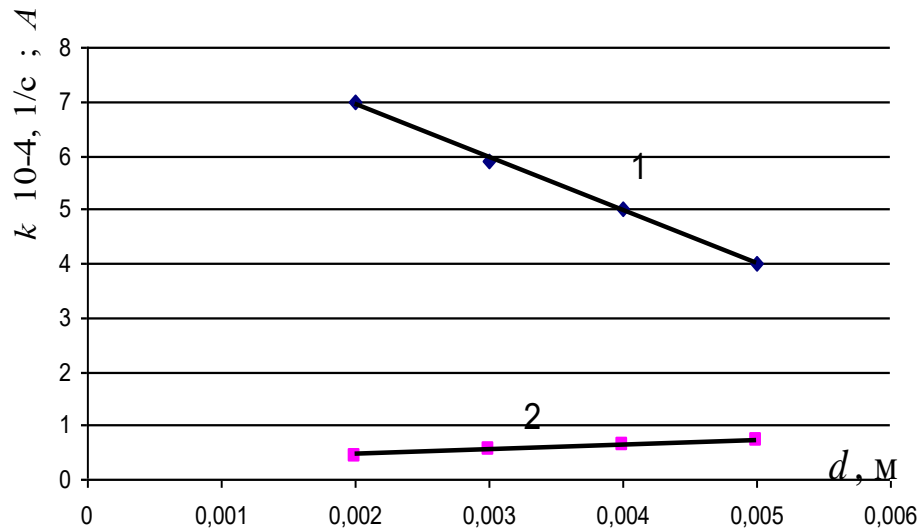


Рис. 3.8. Залежність $k=f(d)$ – пряма 1 та $A=f(d)$ – пряма 2 при екстрагуванні БАР із подрібнених шишок хмелю

$$A = 88,0 d + 0,27 \quad (3.15)$$

Загальне кінетичне рівняння екстрагування подрібнених шишок хмелю в межах від $1 \cdot 10^{-3}$ до $5 \cdot 10^{-3}$ м запишеться:

$$C_1 = 8,4(1 - [88,0d + 0,27] \exp -[0,099d^{-8,94 \cdot 10^{-4}}]t) \quad (3.16)$$

За рисунками 3.4, 3.6, 3.8 експериментально встановлено залежності коефіцієнта масоперенесення - k і приекспонентного множника - A від розміру подрібнення кореня валеріани у діапазоні значень від 1 до 10 мм, плодів калини від 1 до 5 мм та шишок хмелю від 2 до 5 мм. На основі цих залежностей в роботі отримані кінцеві кінетичні рівняння екстрагування БАС із валеріани лікарської за її розміру подрібнення від 2 до 10 мм, плодів калини за розміру від 1 до 5 мм, та шишок хмелю за розміру подрібнення від 2 до 5 мм.

Таким чином, отримані кінетичні рівняння екстрагування можна використати для обчислення оптимального розміру подрібнення кореня валеріани зі забезпеченням тривалості екстрагування, яка рівна для відповідної рослинної сировини, що легко екстрагується: шишок хмелю і плодів калини, за розміру їх подрібнення 3 мм.

Використавши рівняння кінетичних моделей (3.13) і (3.16), з метою порівняння здійснено обчислення оптимального діаметра подрібнення кореня з кореневищами валеріани для забезпечення сумісного екстрагування 40%-им водним розчином етанолу в присутності подрібнених шишок хмелю та плодів калини за розміру їх подрібнення 3 мм

$$\begin{cases} \left[1 - \left(\frac{C_1}{C_t} \right) \right] = (108d + 0,328) \exp - (-2,33 \cdot 10 - 4 \ln(d) - 5,06 \cdot 10 - 4)t \\ \left[1 - \left(\frac{C_1}{C_t} \right) \right] = (88,0d + 0,27) \exp - (0,099d - 8,94 \cdot 10 - 4)t \end{cases}$$

Обчислення відповідних розмірів здійснювали за допомогою пакету символної математики комп'ютерної програми Mathcad із використанням функції *solve*. Для розрахунків прийняли, що оптимальна тривалість сумісного екстрагування відповідає часу екстрагування ізовалеріанової кислоти з подрібнених шишок хмелю, який згідно кінетичної моделі (3.6) становить 3800 с і незначно перевищує цей час у випадку екстрагування плодів калини за однакового розміру 3 мм. Таким чином, обчислено розмір подрібнення кореня валеріани, який згідно прийнятих кінетичних рівнянь (3.13) і (3.16) має становити близько 0,56 мм та 0,83 мм за умови досягнення 95 % ступеня її екстрагування. Різниця в обчислених розмірах часток подрібненого кореня валеріани вказує на властивість кінетичної моделі (3.13) прогнозувати дещо вищі їх значення, ніж за кінетичною моделлю (3.16). Тим не менше, обидві обчислені величини є нижчі за мінімально можливий розмір часток кореня валеріани 1 мм, який можна досягнути внаслідок методу різання на лабораторній дробарці .

Таким чином, нами встановлено, що проведення процесу одержання ізовалеріанової кислоти за її сумісного екстрагування з шишок хмелю та плодів калини за розміру 3 мм можливе за умови подрібнення кореня валеріани до розмірів часток, який становитиме близько 1 мм. Після подрібнення кореня валеріани до часток із відповідним розміром і безпосередньої процедури розділення на лабораторному ситі з діаметром отворів 1 мм було проведено експеримент і досліджено кінетику екстрагування ізовалеріанової кислоти 40%-

им водним розчином етанолу в реакторі з мішалкою. Одержані експериментальні кінетичні дані наведені на рис. 3.9.

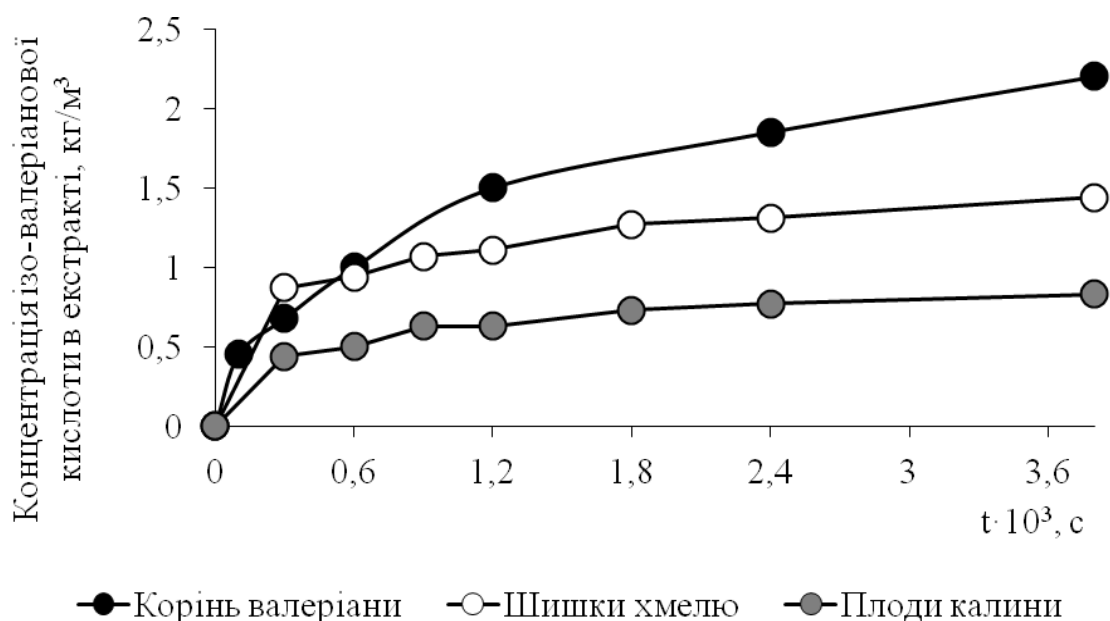


Рис. 3.9. Кінетика екстрагування ізовалеріанової кислоти за розміру подрібнення 1 мм для кореня валеріани та 3 мм для шишок хмелю і плодів калини

З рис. 3.9 бачимо, що підвищення ступеня подрібнення кореня валеріани втричі призвело до відповідного зниження тривалості екстрагування ізовалеріанової кислоти до майже рівноважного значення, яке становить 2,20 г/л екстракту і лишень на 12 % менше від граничної величини при екстрагуванні з цієї рослинної сировини індивідуально. Тому можна вважати, що нами запропонований дієвий метод розрахунку розміру часток рослинної сировини за їх сумісного екстрагування, який має велике практичне значення.

В подальшому він був використаний для розрахунку сумісного екстрагування суміші лікарської рослинної сировини, яка входить до складу фітоекстракту седативної дії.

3.9. Розрахунок кінетики сумісного екстрагування суміші лікарської рослинної сировини комплексного фітоекстракту

Як видно із складу комплексного фітоекстракту суміш рослинної

сировини включає різні анатомо-морфологічні органи, що суттєво буде відбиватися на кінетиці її екстрагування. Так, за умови сумісного екстрагування сировини, що входить до складу фітоекстракту в якийсь момент часу для цього морфологічного органу, що екстрагується легко, рівновага досягається швидше, тоді як для досягнення рівноваги іншого морфологічного органу в суміші, що екстрагується повільніше, необхідно буде витратити ще деякий додатковий час. Це, в свою чергу, негативно вплине на якість кінцевого продукту екстрагування (комплексного фітоекстракту). Останній забруднюється клітковиною, крохмалем, хлорофілами та іншими супутніми речовинами. Крім цього ускладнюється розділення рідкої та твердої фаз.

Для раціонально проведення процесу екстрагування слід створити умови для одночасного досягнення рівноваги різних морфологічних органів рослинної сировини в суміші.

Вагомим фактором інтенсифікації внутрішньодифузійного процесу, як було показано раніше є розмір частинки твердої фази або дисперсність твердої фази. Очевидно, що для того, щоб кожен вид рослинної сировини в суміші досягав одночасно стану рівноваги, частинки подрібненої рослинної сировини, яка важко екстрагується, мають бути менших розмірів порівняно з частинками, які екстрагуються легко. Тим самим можна забезпечити одночасне настання рівноваги різних морфологічних органів в суміші екстрагованої рослинної сировини.

Метод аналітичного розрахунку розміру частинок, до якого слід подрібнювати лікарську рослинну сировину різних морфологічних органів, з метою одночасного досягнення рівноваги за умови сумісного екстрагування базується на розв'язку системи аналітичних рівнянь, які описують кінетику екстрагування цієї ж сировини різних розмірів певних морфологічних органів.

Для цього слід використати одержані кінетичні рівняння екстрагування коренів та кореневищ валеріани (3.10), плодів калини (3.13), шишок хмелю (3.16). Разом із цим у склад пропису засобу седативної дії окрім раніше досліджуваної сировини також входить трави звіробою, листя м'яти, плоди глоду, кінетика екстрагування яких не вивчалася і, очевидно, є невідомими

кінетичні рівняння. Тому першочерговим завданням на даному етапі є з'ясування залежності коефіцієнта масопереносу та коефіцієнта вимивання від розміру частинки заявленої рослинної певних морфологічних органів та отримання кінцевого кінетичного рівняння екстрагування подрібнених до різних розмірів частинок зазначеної сировини.

Для з'ясування аналітичної залежності коефіцієнта масопереносу - k та коефіцієнта вимивання - A від розміру частинки твердої фази d вивчали кінетику екстрагування трави звіробою в апараті з мішалкою згідно методології, описаної раніше. Зростання концентрації екстрактивних речовин в екстракті визначали за кількістю екстрактивних речовин.

Одержані значення кінетики екстрагування приведені в таблиці 3.8. Підставивши відповідні експериментальні значення кінетики екстрагування у рівняння (3.2) у напівлогарифмічних координатах, одержували серію кінетичних кривих (рис.3.10), за якими визначали значення величин коефіцієнта масопереносу - k , числа вимивання – A , під час екстрагування трави звіробою в залежності від розміру екстрагованої частинки (табл. 3.9) та (рис. 3.10).

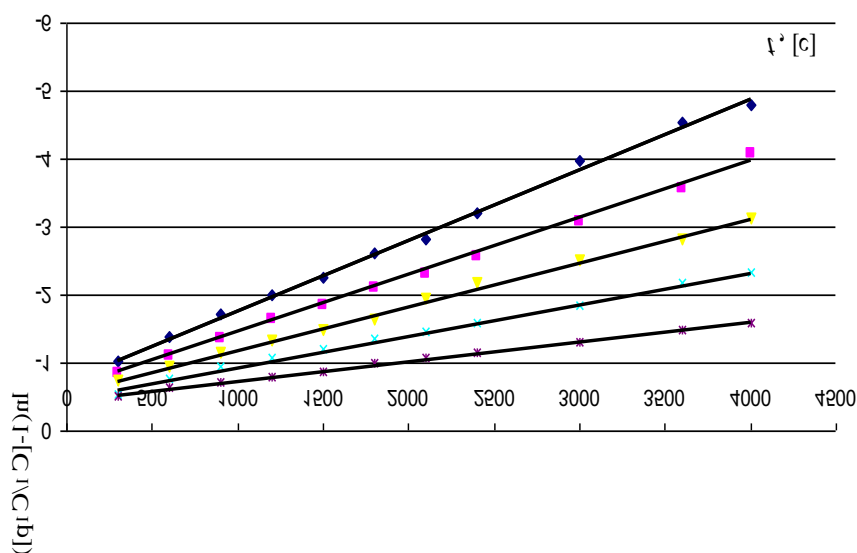


Рис.3.10. Напівлогарифмічна залежність кінетики екстрагування БАС із подрібнених до певних розмірів трави звіробою

Таблиця 3.8

Кінетика екстрагування із трави звіробою

$d; [M]$	$t; [c]$	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	3000	3600	4000	4600	7200
$1 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/М^{-3}]$ $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,238 -1,03	0,277 -1,38	0,304 -1,72	0,320 -2,00	0,331 -2,25	0,343 -2,62	0,348 -2,82	0,355 -3,21	0,363 -3,97	0,366 -4,53	0,367 -4,80	0,368 -	0,370 -
$2 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/М^{-3}]$ $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,218 -0,89	0,253 -1,15	0,281 -1,42	0,301 -1,68	0,315 -1,91	0,327 -2,15	0,335 -2,35	0,343 -2,62	0,354 -3,14	0,360 -3,61	0,364 -4,12	0,366 -4,53	0,370 -
$3 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/М^{-3}]$ $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,194 -0,74	0,227 -0,95	0,253 -1,15	0,272 -1,33	0,287 -1,49	0,299 -1,65	0,318 -1,96	0,328 -2,17	0,340 -2,51	0,348 -2,82	0,354 -3,14	0,359 -3,52	0,370 -
$4 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/М^{-3}]$ $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,172 -0,55	0,200 -0,78	0,225 -0,94	0,243 -1,07	0,260 -1,21	0,274 -1,35	0,284 -1,46	0,294 -1,58	0,312 -1,85	0,328 -2,17	0,334 -2,34	0,343 -2,62	0,363 -3,96
$5 \cdot 10^{-3}$	$C_I; [кг/М^{-3}]$ $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,146 -0,50	0,174 -0,64	0,189 -0,72	0,204 -0,80	0,217 -0,88	0,232 -0,99	0,243 -1,07	0,254 -1,16	0,271 -1,32	0,287 -1,49	0,295 -1,59	0,308 -1,79	0,342 -2,58

Кінетичні константи екстрагування БАС із трави звіробою

d ; [м]	k ; [1/с]	$\ln A$	A	Кінетичне рівняння
$1 \cdot 10^{-3}$	$10,4 \cdot 10^{-4}$	-0,74	0,48	$C=0,37(1-0,48 \exp(-10,4 \cdot 10^{-4}) t)$
$2 \cdot 10^{-3}$	$8,44 \cdot 10^{-4}$	-0,64	0,53	$C=0,37(1-0,53 \exp(-8,44 \cdot 10^{-4}) t)$
$3 \cdot 10^{-3}$	$6,45 \cdot 10^{-4}$	-0,56	0,57	$C=0,37(1-0,57 \exp(-6,45 \cdot 10^{-4}) t)$
$4 \cdot 10^{-3}$	$4,65 \cdot 10^{-4}$	-0,49	0,61	$C=0,37(1-0,61 \exp(-4,65 \cdot 10^{-4}) t)$
$5 \cdot 10^{-3}$	$2,89 \cdot 10^{-4}$	-0,45	0,66	$C=0,37(1-0,66 \exp(-2,89 \cdot 10^{-4}) t)$

$$k = 12,17 \cdot 10^{-4} - 0,187d; \quad (3.17)$$

та величина A визначається за такою залежністю (рис. 3.6):

$$A = 44,0d + 0,44 \quad (3.18)$$

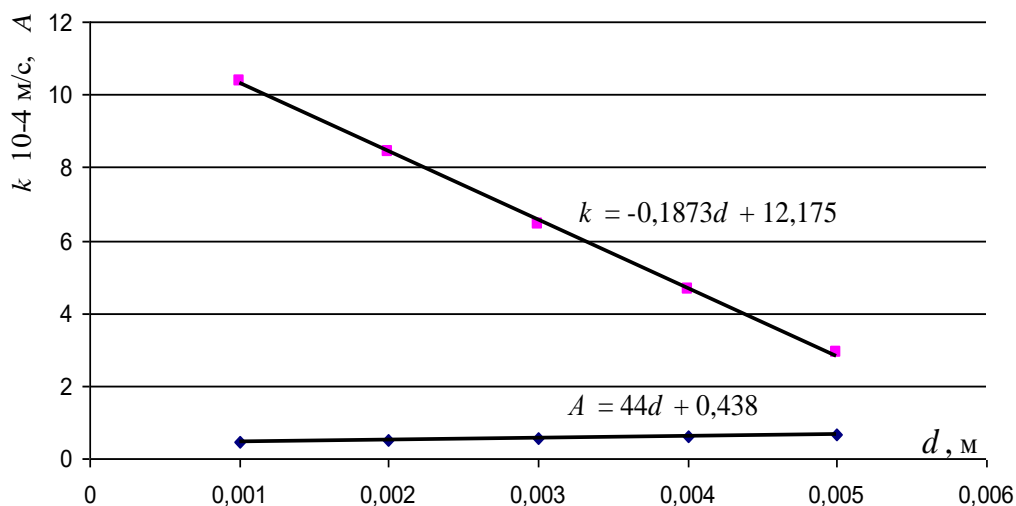


Рис. 3.11. Залежність коефіцієнтів масопереносу k , та коефіцієнта A від розміру d при екстрагуванні БАС із трави звіробою

Сумарне кінетичне рівняння екстрагування трави звіробою:

$$C_I = 0,37(1 - (44,0d + 0,44) \exp(-(12,17 \cdot 10^{-4} - 0,187d)t)) \quad (3.19)$$

Як наголошувалось раніше (див. Розділ 2, рис. 2.2), цільова речовина (ефірні олії) в листі м'яти перцевої містяться у так званих вмістилищах, які знаходяться у міжклітинному середовищі, а не у внутрішньому об'ємі клітини. Отож час екстрагування повинен скорочуватися на величину, рівну часу дифузії середніх молекул через клітинну оболонку. За даними літератури [102] він може бути розрахований за формулою і, відповідно, становить:

$$t = \frac{d\delta_c}{6D_c} \ln 0,5 = \frac{50 \cdot 10^{-6} \cdot 2 \cdot 10^{-6}}{6 \cdot 10^{-14}} 0,69 = 1150,5c \quad (3.20)$$

Тут товщина оболонки рослинної клітинної становить $\delta_c=2$ мкм або $2 \cdot 10^{-6}$ м, її діаметр $d_c=50$ мкм або $5 \cdot 10^{-5}$ м. Порядок коефіцієнта дифузії D_c через клітинну оболонку молекул органічних сполук середньої молекулярної маси згідно літературних джерел складає 10^{-14} м²/с [102].

Кінетика екстрагування ефірних олій із листя м'яти вивчалась за аналогічною методологією в апараті з мішалкою, вміст олій ефірної визначали за методикою (див. Розділ 2, п.2.5) та результати представлено в таблиці 3.10 та 3.11 і на рис. 3.12.

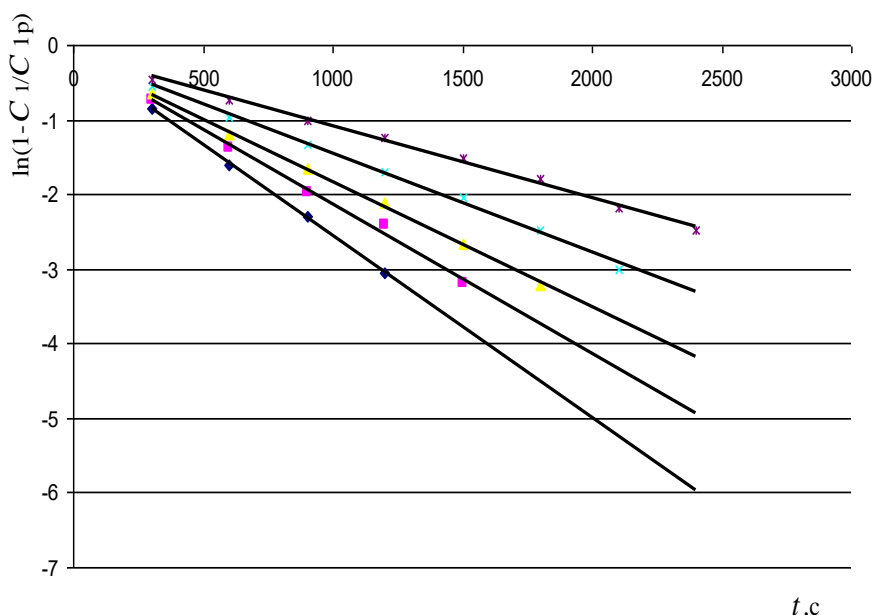


Рис. 3.12. Напівлогарифмічна залежність кінетики екстрагування ефірних олій із листя м'яти, подрібнених до певних розмірів

Таблиця 3.10

Кінетика екстрагування листя м'яти

d ; [м]	t ; [с]	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	2700	3000	3300	3600
$1 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ⁻³] $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,96 -0,84	1,35 -1,61	1,52 -2,30	1,62 -3,05	1,68 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -
$2 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ⁻³] $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,89 -0,73	1,27 -1,38	1,46 -1,97	1,55 -2,41	1,64 -3,20	1,68 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -
$3 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ⁻³] $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,82 -0,65	1,19 -1,20	1,38 -1,66	1,49 -2,12	1,58 -2,66	1,64 -3,21	1,68 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -
$4 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ⁻³] $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,73 -0,56	1,06 -0,97	1,25 -1,33	1,39 -1,70	1,48 -2,04	1,56 -2,49	1,62 -3,01	1,67 -4,04	1,70 -	1,70 -	1,70 -	1,70 -
$5 \cdot 10^{-3}$	C_I ; [кг/м ⁻³] $\ln(1-(C_I/C_{Ip}))$	0,62 -0,45	0,88 -0,73	1,08 -1,00	1,21 -1,24	1,33 -1,52	1,42 -1,80	1,51 -2,19	1,56 -2,49	1,66 -3,75	1,68 -	1,70 -	1,70 -

Таблиця 3.11

Кінетичні константи екстрагування із листя м'яти

d ; [м]	k ; [1/с]	$\lg A$	A	Кінетичне рівняння
$1 \cdot 10^{-3}$	$2,40 \cdot 10^{-3}$	- 0,13	0,88	$C_I=1,7 \cdot 10^{-4}(1-0,88 \exp(-2,40 \cdot 10^{-3})t)$
$2 \cdot 10^{-3}$	$1,99 \cdot 10^{-3}$	- 0,14	0,87	$C_I=1,7 \cdot 10^{-4}(1-0,87 \exp(-1,99 \cdot 10^{-3})t)$
$3 \cdot 10^{-3}$	$1,68 \cdot 10^{-3}$	- 0,15	0,86	$C_I=1,7 \cdot 10^{-4}(1-0,86 \exp(-1,68 \cdot 10^{-3})t)$
$4 \cdot 10^{-3}$	$1,32 \cdot 10^{-3}$	- 0,14	0,87	$C_I=1,7 \cdot 10^{-4}(1-0,87 \exp(-1,32 \cdot 10^{-3})t)$
$5 \cdot 10^{-3}$	$0,96 \cdot 10^{-3}$	- 0,13	0,88	$C_I=1,7 \cdot 10^{-4}(1-0,88 \exp(-0,96 \cdot 10^{-3})t)$

Аналіз експериментальних даних залежності коефіцієнта масопереносу k від розміру d частинки подрібненого листя м'яти в інтервалі від $1 \cdot 10^{-3}$ до $5 \cdot 10^{-3}$ м дозволяє записати наступну лінійну залежність:

$$k=0,355d-27,35 \cdot 10^{-4} \quad (3.21)$$

Коефіцієнт вимивання A в досліджуваному інтервалі розмірів можна вважати постійним (табл. 3.11).

Сумарне кінетичне рівняння екстрагування з листя м'яти перцевої:

$$C_I= 1,7 \cdot 10^{-4}(1- 0,87 \exp(-27,35 \cdot 10^{-4}+0,355d)t) \quad (3.22)$$

Одержані експериментальні дані кінетики екстрагування та інтерпретовані згідно рішення математичної моделі у вигляді кінетичних рівнянь екстрагування пояснюються анатомічною будовою листка.

Враховуючи подібність анатомічної будови плодів, зокрема калини та глоду, можемо припустити подібність кінетичних рівнянь екстрагування, а відтак, аналогічний час досягнення рівноваги чи повного виснаження сировини за умови однакових розмірів подрібнення.

Таким чином, система, яка описує кінетику екстрагування досліджуваної лікарської сировини (3.23), включає п'ять трансцендентних алгебраїчних рівнянь, вирішення якої дозволить знайти розміри, до яких необхідно подрібнити рослинну сировину різних морфологічних органів, що входить до

складу комплексного фітоекстракту, з метою одночасного досягнення рівноваги. Тут: $M = \left(\frac{C_1}{C_{1\max}}\right)$.

$$\begin{cases} (1 - M) = (44,0d + 0,44)\exp[(-12,17 \cdot 10^{-4} + 0,187d)t] \\ (1 - M) = 0,87\exp[(-27,35 \cdot 10^{-4} + 0,355d)t] \\ (1 - M) = (10,0d + 0,88)\exp[-(-2,6 \cdot 10^{-4} \ln(d) - 0,0012)t] \\ (1 - M) = (108d + 0,33)\exp[-(-2,33 \cdot 10^{-4} \ln(d) - 5,06 \cdot 10^{-4} d)t] \\ (1 - M) = (88,0d + 0,27)\exp[-(-8,94 \cdot 10^{-4} + 9,9 \cdot 10^{-2} d)t] \end{cases} \quad (3.23)$$

Для її розв'язку задаються певним ступенем екстрагування, наприклад, $M=95\%$, діаметром частинки одного з виду сировини, наприклад, корені з кореневищами валеріани $d = 2 \cdot 10^{-3}$ м, підставляють ці значення в кінетичне рівняння екстрагування коренів та кореневищ валеріани (третє в системі) (6.22) та знаходять час досягнення заданого ступеня екстрагування t :

$$t = \frac{\ln(1 - 0,95) - \ln(10,0d + 0,88)}{-(-2,6 \cdot 10^{-4} \ln(2 \cdot 10^{-3}) - 1,2 \cdot 10^{-3})} = 5906 \text{ с.} \quad (3.24)$$

Одержане значення $t = 5906$ с підставляють у всі інші рівняння системи (6.23) для цієї ж ступені екстрагування $M = 95\%$ і розв'язують їх числовим методом із використанням пакету комп'ютерної програми Mathcad із використанням функції *solve*. Таким чином знаходячи діаметр, до якого слід подрібнювати інші види рослинної сировини суміші. Так, траву звіробою $d = 2,9 \cdot 10^{-3}$ м, листя м'яти з метою виділення ефірних олій слід подрібнювати до $d = 4,8 \cdot 10^{-3}$ м, плоди глоду та калини до $d = 3,2 \cdot 10^{-3}$ м та шишки хмелю слід подрібнити до $d = 4 \cdot 10^{-3}$ м.

3.10. Коротка технологія одержання комплексного фітоекстракту седативної дії

Суміш попередньо подрібненої рослинної сировини до розмірів, розрахованих вище (кореневища з коренями валеріани, плоди глоду, плоди калини, трава звіробою, листя м'яти перцевої, шишки хмелю), екстрагують

40 %-им спиртом етиловим за кімнатної температури в апараті з мішалкою, відкидним нижнім днищем та паровою оболонкою. Після збігу необхідного проміжку часу одержаний комплексний фітоекстракт відстоюють при температурі 8-10⁰С протягом 48 годин, тоді його фільтрують. Одержаний фітоекстракт ретельно перемішують і використовують як готову лікарську форму у вигляді крапель, розчину для пиття або передають для одержання інших лікарських форм – сиропу, таблеток, гранул тощо.

Проводять відгонку залишків спирту етилового з відпрацьованої суміші рослинної сировини методом подачі насиченої водяної пари в парову оболонку екстрактора з наступною конденсацією та поворотом конденсату в процес.

Склад та технологія препарату захищена патентом на корисну модель №124845 Україна, МПК А61Р 25/20, А61К 36/00, опубл. 25.04.2018 Бюл.№8.-4с.

Висновки до розділу 3

1. Обґрунтовано склад та технологію одержання комплексного фітоекстракту седативної дії та захищено патентом України на корисну модель.

2. На основі результатів вивчення кінетики екстрагування трави звіробою, коренів з кореневищами валеріани, шишок хмелю, трави звіробою, листя м'яти, плодів калини одержано узагальнені кінетичні рівняння екстрагування різного діаметра частинок твердої фази вище зазначеної сировини, що послужило розробці методології розрахунку діаметра, до якого слід подрібнювати рослинну сировину різних морфологічних органів із метою одночасного досягнення рівноваги процесу екстрагування в апараті з мішалкою. Результат, отриманий під час розрахунку, підтверджений експериментом, проведеним у напіввиробничих умовах.

3. Запропонована методологія застосована для розрахунку розмірів частинок твердої фази при сумісному екстрагуванні багатокomпонентної

суміші лікарської рослинної сировини: кореневища з коренями валеріани, плоди калини та глоду, трава звіробою, листя м'яти перцевої, шишки хмелю з метою одночасного досягнення рівноваги при розробці технології одержанні комплексного фітоекстракту седативної дії.

Роботи, опубліковані до даного розділу:

1. **I. Diachok**, O. Pinyazhko, O. Ivankiv. Dynamics of exception of organic acids from mixture of medical vegetable raw material //Pharmaceutical Science. – 2018. – V 3 (13). – P. 37-42. (Scopus, EBSCO, Directory of Open Access Journals (DOAJ), OpenAIRE, Bielefeld Academic Search Engine (BASE), Index Copernicus та ін.). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження виділення біологічно активних сполук, аналіз та розрахунки розмірів частинок рослинної сировини різних морфологічних розмірів). <http://pharma.sr.org.ua/>
2. **Дячок І.Л.**, Піняжко О.Р. Вивчення динаміки сумісного екстрагування суміші лікарської рослини сировини // Клінічна фармація, фармакологічна та медична стандартизація. – 2015. – № 3-4. – с. 25-29. (Фаховий). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження та комплексний аналіз процесів виділення біологічно активних сполук із суміші лікарської рослинної сировини).
3. Дячок В.В., **Дячок І.Л.**, Іванків О.Л. Одержання ізовалеріанової кислоти методом екстрагування із рослинної сировини // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». Серія «Chemistry, Technology and Application of Substances». – Vol. 4 № 1 – 2021. – С. 152-158. Фаховий. (Google Scholar, Google Академія, [eLIBRARY.RU](http://elibrary.ru)). (Особистий внесок здобувача: проведено аналіз основних груп біологічно активних сполук, експериментальні дослідження хімічними комплексного фітополіекстракту).
4. Дячок В.В., Іванків О.Л., **Дячок І.Л.** Про умови сумісного

екстрагування лікарської рослинної сировини // Фармацевтичний журнал. – 2012. – № 4. – С. 90-95. (фаховий) (Особистий внесок здобувача: відбір проб, хімічний аналіз та обробка отриманих даних).

5. **І.Л. Дячок**, О.Л. Іванків, С.І. Мироненко. Аналіз шляхів пошуку антиоксидантів як лікарських засобів // Сучасні аспекти вільнорадикальної патології в експериментальній та клінічній медицині: Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 70-річчю з дня народження професора В.М. Бобирьова, м. Полтава, 7–8 травня 2020 р. – Полтава, 2020. – С. 27–28. (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел та експериментальне підтвердження ефективності лікарських засобів, одержаних на основі біологічно активних сполук із досліджуваних об'єктів).

6. **І.Л. Дячок**, О.Р. Pinyazhko, О.Л. Ivankiv, I.V. Drapak. The dynamics of extraction biologically active compounds from the mixture of the plant raw material // VIII Lviv–Lublin conference of experimental and clinical biochemistry – Lublin 2017. – р. 59. (Особистий внесок здобувача: запропоновано спосіб розрахунку розміру частинок лікарської рослинної сировини з метою одночасного досягнення заданого ступеня вилучення біологічно активних сполук із досліджуваних об'єктів).

7. Патент на корисну модель №124845 Україна, МПК А61Р 25/20, А61К 36/00, опубл. 25.04.2018 Бюл.№8.- 4с.

РОЗДІЛ 4

НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ФІТОЕКСТРАКТУ СЕДАТИВНОЇ ДІЇ

Зростаючі вимоги до якості лікарських засобів, в тому числі й до одержаних із рослинної сировини, обумовлює необхідність розроблення простих у виконанні і досконаліших методик стандартизації фітопрепаратів. Ці завдання можуть бути вирішені при застосуванні принципу основних класів діючих речовин, які входять до складу як готових комплексних фітоекстрактів, так і до вихідної сировини, тобто алкалоїдів, флавоноїдів, поліцукрів, каротиноїдів, органічних кислот і т.д.

Виходячи з хімічного складу діючих речовин, які входять до складу суміші рослинної сировини (корені з кореневищами валеріани, шишки хмелю, листя м'яти перцевої, трава звіробою, плоди глоду та калини) для одержання комплексного фітоекстракту, виду обраного екстрагенту, а також проведених досліджень основними біологічно-активними сполуками, що екстрагуються 40 % спиртом етиловим, є поліфенольні сполуки (флавоноїди, гідроксокоричні кислоти), що є характерними для плодів глоду та калини, трави звіробою, листя м'яти перцевої, шишок хмелю; органічні кислоти, у тому числі ізовалеріанова, що міститься у кореневищах із коренями валеріани, плодах калини, а також частково у листі м'яти перцевої; амінокислоти, що містяться у кореневищах із коренями валеріани; гіперозид і гіперечин в траві звіробою [160]. Відповідно до вимог до аналітичної документації розроблені методики, які дозволяють ідентифікувати (якісно оцінити) в складі комплексного фітоекстракту основні діючі речовини рослинного походження за їх складовим.

Об'єктивно обґрунтованим підходом до вирішення проблеми стандартизації є визначення діючих речовини за найбільш вагомих чи характерним компонентом (наприклад, флавоноїдів за рутином або

кверцетином, поліфенолів за хлорогеновою чи кавовою кислотою, дубильних за таніном, сапонінів за есцином і т. д.).

Проблема кількісного та якісного визначення діючих речовин є досить складним завданням з точки зору вибору аналітичного методу і його інструментального оформлення [164]. Комплексні фітоекстракти мало вивчені з позиції кількісного та якісного визначення. Відповідно до вимог ДФ України для аналітично-нормативної документації, необхідно розробляти методики, що дозволяють ідентифікувати у складі комплексних засобів основні рослинні діючі речовини за їх складовими. Це є завданням написання цього розділу.

4.1. Розроблення методів якісного визначення природніх БАС у комплексному фітоекстракті

Комплексний багатокомпонентний фітоекстракт седативної дії – рідина від ясно-коричневого до коричневого кольору. При тривалому зберіганні можливе утворення незначного осаду. Склад фітоекстракту містить екстракти коренів і кореневищ валеріани, плодів глоду та калини, трави звіробою, листя м'яти перцевої, шишок хмелю.

Для якісного аналізу (ідентифікації) біологічно активних сполук рослинного походження запропоновані методики з використанням методу тонкошарової хроматографії (ТШХ) [155], а також високоефективної газової хроматографії. Умови проведення тесту (тип пластинки, наповнювач колонки, рухома фаза і т. д.) для аналізу фізіологічно активних сполук підібрані з максимальною селективністю хроматографічної системи, що дозволяє без попередньої складної пробопідготовки ідентифікувати та кількісно визначати основні діючі речовини комплексного фітоекстракту седативної дії [164].

Для проведення ідентифікації заявлених вище біологічно активних сполук 20 мл фітоекстракту поміщали у склянку місткістю 50 мл, нагрівали

на киплячій водній бані до видалення запаху спирту. Охолоджували до кімнатної температури та переносили за допомогою 10 мл води до ділильної лійки місткістю 50 мл, додавали 10 мл ефіру і струшували протягом 2 хв. Суміш центрифугували протягом 5 хв при 5000 об/хв. Верхній (ефірний) шар обережно декантували в колбу з притертою пробкою.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Сорбфіл» або Merck «Silica gel» 60 F₂₅₄ розміром 5×15 см наносили 10 мкл препарату. Пластинку сушили на повітрі протягом 30 хв, тоді поміщали в камеру з сумішшю розчинників *бензол - спирт метиловий - метилетилкетон - ацетилацетон* (40:16:3:1) і хроматографували висхідним способом двічі: перший раз пластинку виймали з камери, коли фронт розчинників пройшов близько 6 см від лінії старту, сушили на повітрі протягом 10 хв і знову хроматографували за таких же умов. Коли фронт розчинників пройшов близько 12 см від лінії старту, пластинку виймали з камери, сушили на повітрі протягом 10 хв, тоді обприскували 3 % розчином алюмінію хлориду в 96 % спирті, нагрівали в сушильній шафі за температури 105 °С протягом 1 хв і проглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм.

На хроматограмі досліджуваного розчину виявлено дві плями з блакитною флуоресценцією зі значенням R_f близько 0,10 (*хлорогенова кислота*) і 0,50 (*кислота кавова*); дві плями із зеленувато-жовтою флуоресценцією з R_f близько 0,65 (*кверцетин*) і близько 0,75 (*кемпферол*) – характерні для плодів глоду, трави звіробою, листя м'яти перцевої, шишок хмелю; пляма з червоно-оранжевою флуоресценцією з R_f близько 0,45 характерна виключно для трави звіробою (Рис. 4.1) [173].

При проведенні ідентифікації комплексного фітоекстракту на вміст ізовалеріанової кислоти, основної діючої речовини кореневищ з коренями валеріани, плодів калини і листя м'яти перцевої, пробу попередньо звільняли від спирту, тоді проводили її екстракцію ефіром. При таких умовах інші прості кислоти, які містяться в поліекстракті, наприклад, яблунева і т.д., не переходили в ефірну витяжку.

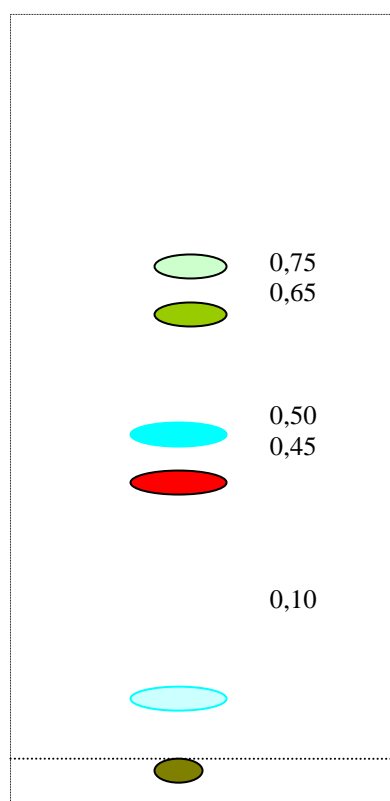


Рис. 4.1. Хроматограма комплексного фітоекстракту

На лінію старту хроматографічної пластинки «Сорбфіл» або Merck «Silica gel» 60 F₂₅₄ розміром 5×15 см наносили у вигляді смуги довжиною 5 мм 30 мкл отриманого ефірного екстракту, паралельно у вигляді круглої плями наносили 15 мкл розчину стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) кислоти ізовалеріанової.

Пластинку сушили на повітрі протягом 5 хв, потім поміщали до хроматографічної камери із сумішшю розчинників: *ацетон - спирт етиловий - аміаку розчин концентрований* (65:15:28) і хроматографували висхідним способом. Коли фронт розчинників пройшов близько 12 см від лінії старту, пластинку виймали, сушили в сушильній шафі при температурі 105 °С протягом близько 3 хв до видалення запаху розчинників, потім легко обприскували розчином метилового червоного до жовтого забарвлення пластинки і прогрівали в сушильній шафі за температури 105 °С протягом 5 хв.

На хроматограмі випробуваного розчину виявляли пляму червоного кольору на оранжевому фоні на рівні плями (СЗРС) ізовалеріанової кислоти (R_f близько 0,6) (Рис. 4.2).

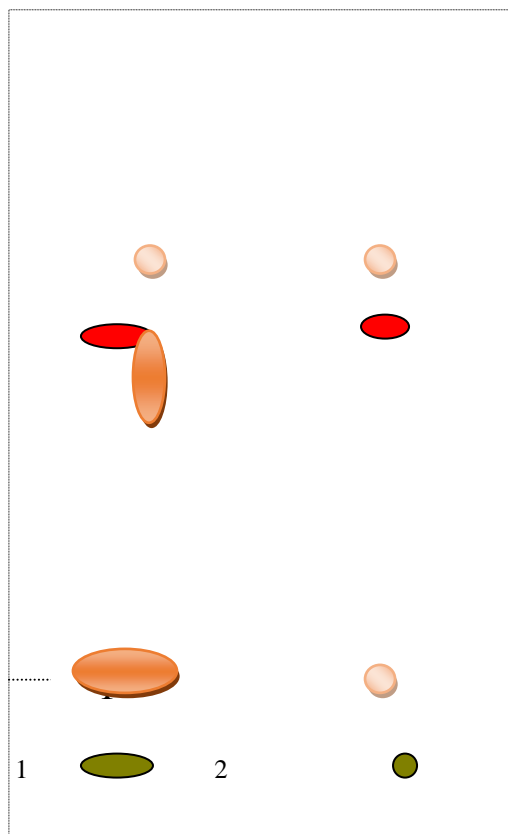


Рис. 4.2. Хроматограма комплексного фітоекстракту -1, СЗРС-2

Приготування розчину СЗРС кислоти ізовалеріанової. 0,01 г СЗ ізовалеріанової кислоти поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, розчиняють у 5 мл 96 % спирту, доводять об'єм розчину 96 % спиртом до мітки і перемішують. Термін придатності розчину 7 діб.

Приготування 3 % розчину алюмінію хлориду. 3,0 г алюмінію хлориду шестиводного (ГОСТ 3759-75, х.ч. або ч.д.а.) поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють в 60 мл 96 % спирту, доводять об'єм розчину 96% спиртом до мітки і перемішують. Термін придатності розчину 3 міс.

Як альтернативу ідентифікації ізовалеріанової кислоти у комплексному фітоекстракті розроблено більш сучасний метод із використанням газової

хроматографії. До того ж такий метод дозволяє кількісно визначати в фітоекстракті вміст спирту етилового.

Розроблено методику ідентифікації ізовалеріанової кислоти газовою хроматографією згідно умов, передбачених у (ДФУ, 1 вид. 2.2.28), на газовому хроматографі з полуменево-іонізаційним детектором за таких умов:

Хроматографують по 1 мкл досліджуваного розчину комплексного фітоекстракту і розчину порівняння на газовому хроматографі з полуменево-іонізаційним детектором за таких умов:

- капілярна колонка довжиною 60 м і внутрішнім діаметром 0,53 мм, покрита шаром *макроголу 20000 Р* товщиною 1 мкм, або аналогічна;
- газ-носіє – *гелій для хроматографії Р*;
- швидкість газу-носія – 5 мл/хв;
- ділення потоку газу-носія – 1:1;
- температуру колонки програмують: початкова температура 100 °С, витримують при цій температурі протягом 5 хв, далі температуру підвищують до 230 °С із швидкістю 10 °/хв і витримують протягом 22 хв;
- температура випарника – 200 °С;
- температура детектора – 300 °С.

На хроматограмі випробовуваного розчину фітоекстракту (Рис. 4.3) час утримування піку ізовалеріанової кислоти повинен співпадати з часом утримування піку ізовалеріанової кислоти на хроматограмі розчину порівняння (Рис. 4.4).

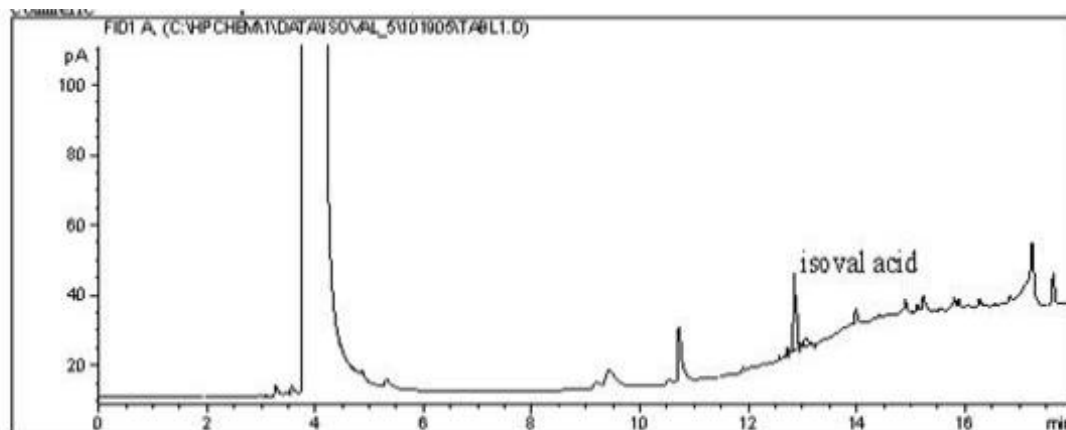


Рис. 4.3. Хроматограма випробуваного розчину фітоекстракту

На хроматограмі Рис. 4.3 розчину порівняння перший пік відповідає спирту етиловому, другий (позначений) – ізовалеріановій кислоті.

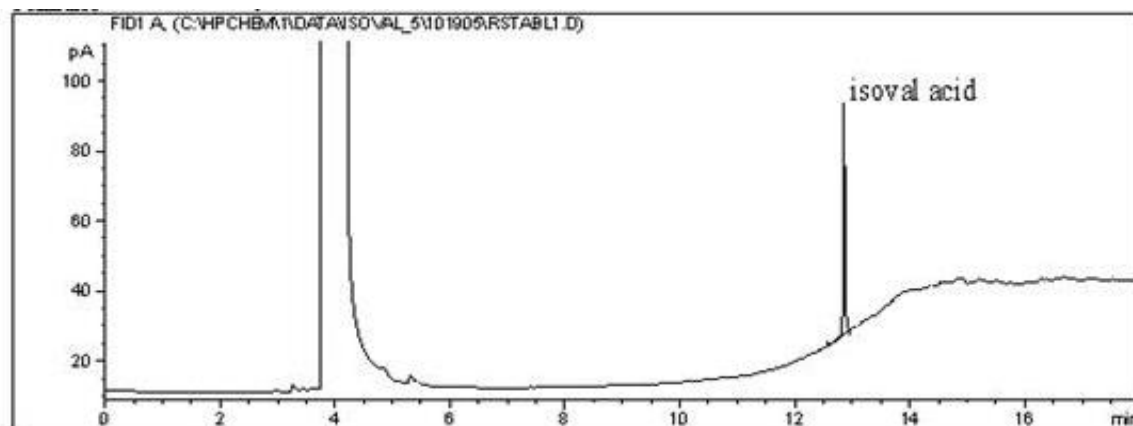


Рис. 4.4. Хроматограма розчину порівняння

Методики якісного визначення використані при розробленні аналітично-нормативної документації на препарат седативної дії в частині ідентифікації.

4.2. Розроблення та валідація методів кількісного визначення природних БАС у комплексному фітоекстракті

Виходячи з хімічного складу рослинних компонентів, а також літературних даних [157,160,167,174] та експериментальних досліджень, основними біологічно активними сполуками, які потенційно потрапляють до складу фітоекстракту, є поліфенольні сполуки (флавоноїди), що є характерними для плодів глоду та калини, трави звіробою, листя м'яти перцевої, шишок хмелю; органічні кислоти, в тому числі ізовалеріанова, що міститься переважно у кореневищах з коренями валеріани, а також частково у листі м'яти перцевої, шишках хмелю, плодах калини; амінокислоти, що містяться переважно у кореневищах з коренями валеріани; гіперозид і гіперецин з трави звіробою. Для визначення вмісту органічних кислот

низької концентрації слід застосовувати інструментальні, безіндикаторні методи аналізу: потенціометрію або кондуктометрію.

Потенціометричний метод аналізу є точним і надійним, однак, основним його недоліком є тривалість встановлення точки еквівалентності, внаслідок тривалого встановлення постійного значення потенціалу після додавання чергової порції титранту.

Тому у випадку визначення точки еквівалентності при титруванні розчинів органічних кислот низької концентрації більш економним з точки зору затрати часу є метод кондуктометричного титрування, який полягає в залежності електропровідності розчинів електролітів від їх складу.

Лінійність та діапазон застосування методу за результатами попередніх досліджень знаходиться в межах концентрацій органічних кислот від $1 \cdot 10^{-4}$ до $8 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

4.2.1. Сума органічних кислот в перерахунку на ізовалеріанову кислоту

Методика кондуктометричного визначення точки еквівалентності при титруванні розчинів органічних кислот, які присутні в комплексному фітоекстракті, полягає в наступному: відібрану пробу фітоекстракту, яка становила від 5 до 10 мл, вносили до склянки для титрування і розводили дистильованою водою до об'єму 100 мл. У розведений розчин занурювали електроди кондуктометра. Після цього отриманий розчин титрували водним розчином 0,025 М КОН порціями по 1 мл і фіксували значення питомої електропровідності. За отриманими значеннями питомої електропровідності будували кондуктометричну криву титрування (рис. 4.5).

Детальний аналіз отриманої кондуктометричної кривої титрування дозволяє виділити дві ділянки - плато. Перша, можна прогнозувати, відповідає вмісту кислоти ізовалеріанової, друга – сумарному вмісту інших органічних кислот, зокрема яблукової, лимонної та іншим. Прямолінійні ділянки кондуктометричної кривої зміни електропровідності розведеного розчину фітоекстракту до і після точки еквівалентності дозволяють провести

прямі лінії та записати їх аналітичні рівняння (рис. 4.5). Сумісне вирішення отриманих аналітичних рівнянь відносно X здійснювали за допомогою пакету символічної математики комп'ютерної програми Mathcad із використанням функції *solve*. Отриманий результат дозволив обчислювати об'єм титранту ($V_{T.E.}$), який витратився на титрування сумарного вмісту органічних кислот.

Масову концентрацію органічних кислот у фітоекстракті обчислювали за нижче приведеною формулою, використовуючи обчислений об'єм титранту ($V_{T.E.}$), який пішов на титрування до точки еквівалентності:

$$C = \frac{C_{\text{кон}} \cdot V_{T.E.} \cdot 102}{V_{\text{проби}}}$$

де C_t – значення масової концентрації органічних кислот у комплексному фітоекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислоту, г/л;

$C_{\text{кон}}$ – концентрація приготованого розчину КОН, моль/л;

$V_{\text{проби}}$ – об'єм відібраної проби фітоекстракту, мл;

102 – молекулярна маса ізовалеріанової кислоти, г/моль.

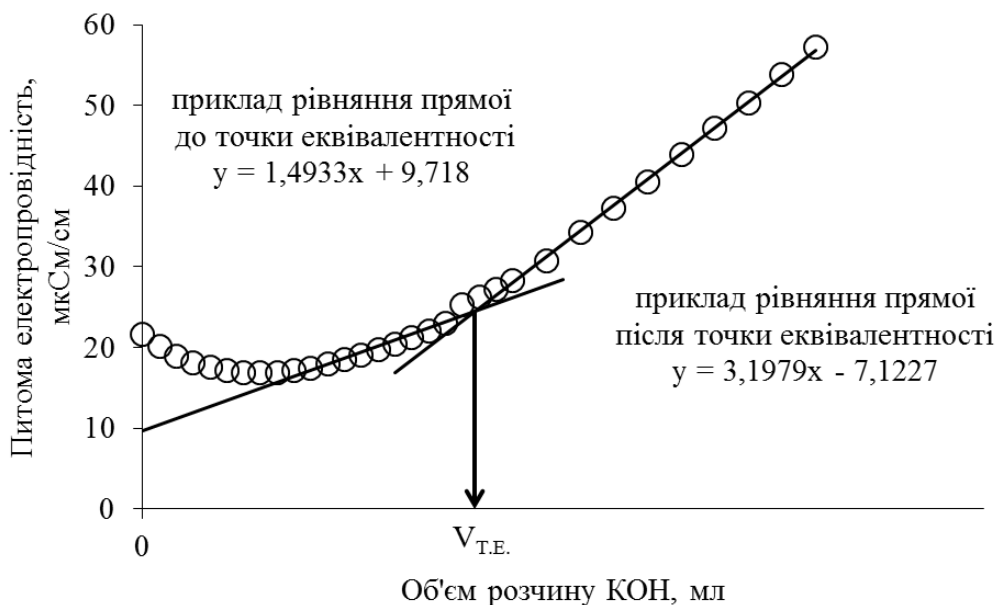


Рис. 4.5. Кондуктометрична крива титрування розчину комплексного фітоекстракту розчином 0,025 М КОН

Таблиця 4.1

Метрологічні характеристики визначення вмісту органічних кислот у комплексному фітоекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислоту

№.	X, моль/л	f	X _{ср}	S ²	S	P	t	ΔX _{ср}	ε	d
1	6,041	0								
2	6,053	1								
3	6,038	2								
4	6,051	3								
5	6,035	4	6,043	0.00005	0.007	0,95	2,78	0.0066	0,13%	

Відповідно до вимог ДФУ проведено валідацію розробленої аналітичної методики згідно зі стандартизованою процедурою валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів методом стандарту [155,164,165]. У ході процедури окрім лінійності визначено інші валідаційні характеристики, а саме прецизійність, правильність, робасність.

Лінійність та діапазон застосування встановлюються на основі результатів досліджень. Вони пропорційні концентрації речовини, що аналізується, у зразку в межах аналітичної методики $A = kb + a$.

Для підтвердження лінійності аналітичної методики використовуються наступні параметри: коефіцієнт регресії, кут нахилу лінії регресії і залишкова сума площ. Аналітичну ділянку, в межах якої дотримується лінійна залежність, вибирають такою, щоб охоплювала інтервал $\pm 20\%$ відносно мінімально допустимої межі вмісту речовини, що аналізується. В інтервалі цих меж такий метод забезпечує кількісне визначення з прецизійністю і правильністю, які вимагаються. Поза межами цих ділянок відхилення від прецизійності і правильності не чинитиме вирішального впливу на оцінку якості фітоекстракту. Аналітичну ділянку виражали в тих самих одиницях, що і результати досліджень, отримані за допомогою цієї методики (%).

Для дослідження лінійності побудовано графік залежності концентрації ізовалеріанової кислоти від об'єму титранту (0,025 М КОН), який витратився на титрування сумарного вмісту органічних кислот, знайденим за

кондуктометричною кривою випробовуваного розчину комплексного фітоекстракту.

Для цього були приготовлені 12 розведень препарату з концентраціями від 50 до 150 % від номінального вмісту ізовалеріанової кислоти в комплексному фітоекстракті.

Для приготування модельних розчинів ізовалеріанової кислоти точну наважку РСЗ ізовалеріанової кислоти поміщали в мірну колбу та розчиняли у воді *P*, доводили об'єм розчину до 100 мл та перемішували. Одержаний розчин у відповідних об'ємах від 4 до 10 мл переносили в склянку для титрування занурювали електроди і титрували. Результат представлено в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Результати вивчення лінійності модельних розчинів

Концентрація, моль/л $\times 10^{-4}$	Об'єм титранту, $V_{T.E.}$	Концентрація, моль/л $\times 10^{-4}$	Об'єм титранту, $V_{T.E.}$
4,0	0,16	7,0	0,27
4,5	0,18	7,5	0,28
5,0	0,20	8,0	0,30
5,5	0,22	8,5	0,32
6,0	0,24	9,0	0,34
6,5	0,26	9,5	0,36

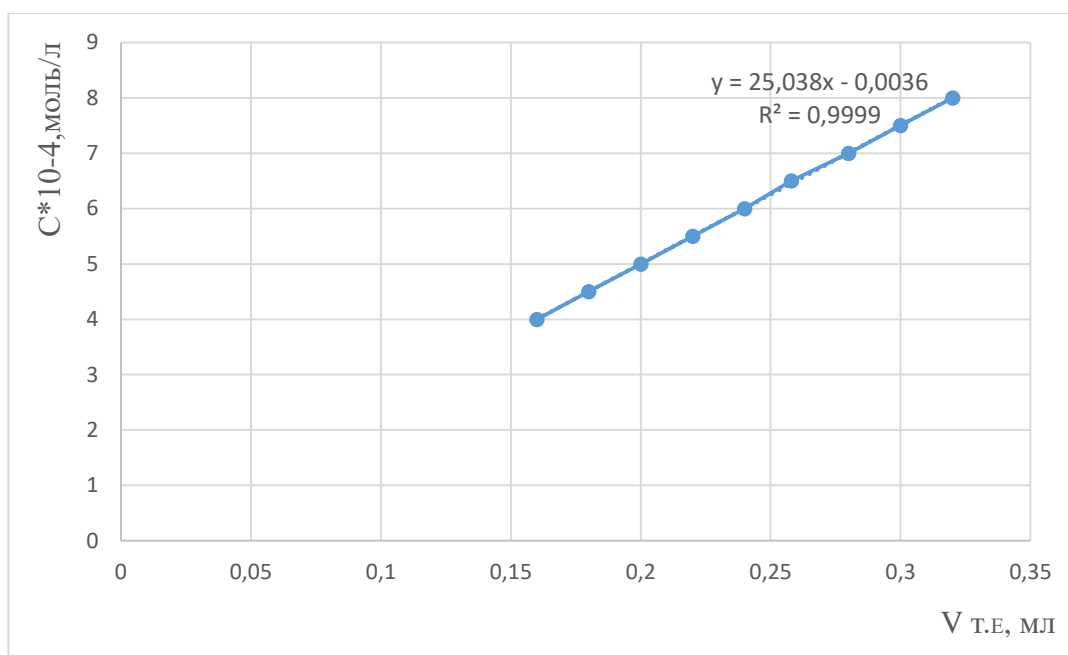


Рис. 4.5. Графік лінійної залежності концентрації ізовалеріанової кислоти C від об'єму титранту V

Як видно з графіка (рис. 4.5), вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються в усьому діапазоні застосування методики (50-150 %).

Таблиця 4.3

Параметри лінійності методики кількісного визначення органічних кислот у перерахунку на ізовалеріанову в комплексному фітоекстракті

Параметр	Результат	Критерій
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності, b	25,04	-
Вільний член лінійної залежності, a	0,0036	< 5,1
Коефіцієнт кореляції R ²	0,9999	> 0,99236

Правильність і прецизійність. *Правильність* характеризує ступінь відповідності між відомим справжнім значенням або довідковою величиною і значенням, одержаним за цією методикою. Показником правильності методу є значення систематичної похибки. У разі кількісного визначення речовини в лікарській формі правильність аналітичної методики встановлюється за

результатами її застосування при аналізі модельної суміші з усіма компонентами лікарської форми і відомою кількістю речовини, яку визначають.

Для перевірки правильності методики було приготовано 3 окремі суміші з точно відомим вмістом ізовалеріанової кислоти, які охоплювали діапазон застосування методики. Для кожної модельної суміші було проведено по три паралельні дослідження. Відповідно до ДФУ розраховано такі критерії: систематичну похибку $\delta\%$ (для правильності) і відносний довірчий інтервал Δ_Z (для прецизійності) [158]:

$$s_Z(\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Z_i - Z)^2}{n-1}} \quad (4.1)$$

$$\Delta_Z = s_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) \leq \Delta_{As}, \quad (4.2)$$

$$\delta\% = |Z - 100| \leq \frac{\Delta_Z}{\sqrt{n}} \quad (4.3)$$

де s_Z – відносне стандартне відхилення, % (розраховане для співвідношення «знайдено/введено»);

n – обсяг вибірки;

Δ_Z – відносний довірчий інтервал;

Δ_{As} – критичне значення для збіжності результатів;

t – одnobічний критерій Стюдента для ймовірності 95 % і числа ступенів свободи $\nu = n - 1$;

$\delta\%$ – систематична похибка;

Z – знайдений вміст, % до введеного;

– Z_{cp} – середнє значення Z .

Результати вимірювань та проведених розрахунків наведені в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

Результати дослідження правильності та прецизійності методики кількісного визначення органічних кислот у перерахунку на ізовалеріанову у комплексному фітоекстракті

Вміст у модельній суміші, у % до номінального	Об'єм титранту, $V_{т.е.}$	Знайдено вміст до номінального, %	Знайдено вміст до введеного, %
80	0,128	79,80	99,72
80	0,129	80,89	101,11
80	0,127	78,97	98,33
100	0,165	100,89	100,89
100	0,164	98,87	98,97
100	0,163	99,78	99,78
120	0,201	120,89	100,74
120	0,199	119,62	99,45
120	0,200	120,33	100,28
Середнє значення Z_{cp}			99,87
Відносне стандартне відхилення Sz %			0,98
Відносний довірчий інтервал Δ_z			1,81
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{As}			< 3,2
Систематична похибка $\delta\%$			0,13
Критерій невизначеності систематичної похибки			< 0,60

Експериментальні результати прецизійності характеризуються припустимим розкидом відносно середнього \bar{i} , відповідно, низьким стандартним відхиленням Sz % (Sz % = 0,98 < 3,2) на всьому діапазоні концентрацій (80-120 %).

Систематична похибка методики становить $\delta\% = 0,13$, що значно нижче встановленого критерію невизначеності, та характеризує достатню близькість середнього результату до його номінального значення.

Прецизійність аналітичної методики виражає ступінь близькості (або ступінь розкиду) результатів для серії вимірів, виконаних за цією методикою на різних пробах одного і того самого однорідного зразка.

Робасність методики характеризує її стійкість до незначних змін умов експерименту. Для випробовуваного розчину ми перевірили його стійкість до зберігання, термін зберігання становив 2 години. Проводили визначення кількості титранту (0,025 М КОН), який витратився на титрування сумарного вмісту органічних кислот кондуктометричним методом випробовуваного розчину фітоекстракту протягом усього проміжку часу та порівнювали з початковою. Результати досліджень наведені в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Результати визначення стабільності досліджуваного розчину при кількісному визначенні органічних кислот у перерахунку на ізовалеріанову у комплексному фітоекстракті

Час зберігання, хв	Концентрація досліджуваного розчину		
	Об'єм титранту, V _{т.е.}	зміна, %	різниця, % від початкової
0	0,181	100,00	0,00
15	0,178	98,34	-1,66
30	0,183	101,66	1,66
60	0,180	99,45	-0,55
90	0,182	101,10	1,10
120	0,180	99,45	-0,55
RSD,%	1,32		

Розраховане відносне стандартне відхилення (RSD) результатів вимірювання оптичної густини становить 1,32, що не перевищує межі абсолютної допустимої похибки.

4.2.2. Визначення виїсту сума флавоноїдів

У роботі проведена розробка методики кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин. На основі попередніх досліджень кількісне визначення проведено спектрофотометричним методом у видимій області (ДФУ, 2.2.25^N) з використанням алюмінію хлориду як комплексоутворювача. При розробці методики визначали спектральні характеристики, умови проведення аналізу, час утворення комплексу і його стійкість [159]. Ця методологія широко використовується при розробці методик контролю якості на фітозасоби, що містять флавоноїди [161].

Як видно з рис. 4.6 при довжині хвилі 412 нм інші компоненти не заважають визначенню флавоноїдів, оскільки їх поглинання компенсоване використанням розчину, що не містить алюмінію хлорид як розчин порівняння. При цьому на диференціальному спектрі поглинання враховується тільки поглинання флавоноїдів, для яких характерна реакція взаємодії з алюмінієм хлоридом та утворенням комплексу, в якого максимум поглинання – при 412 нм.

Кількісне визначення флавоноїдів базується на диференціальному спектрофотометруванні спиртово-водного розчину фітоекстракту після взаємодії з розчином алюмінію хлориду за довжини хвилі 412 нм. Попередньо з проби фітоекстракту видаляють спирт і проводять екстракцію флавоноїдів етилацетатом. Далі з рівних аліквот екстракту випарюють розчинник на водяній бані, сухі залишки переносять у мірні колби за допомогою спирту і готують випробовуваний розчин із додаванням розчину алюмінію хлориду та розчин порівняння без реактиву.

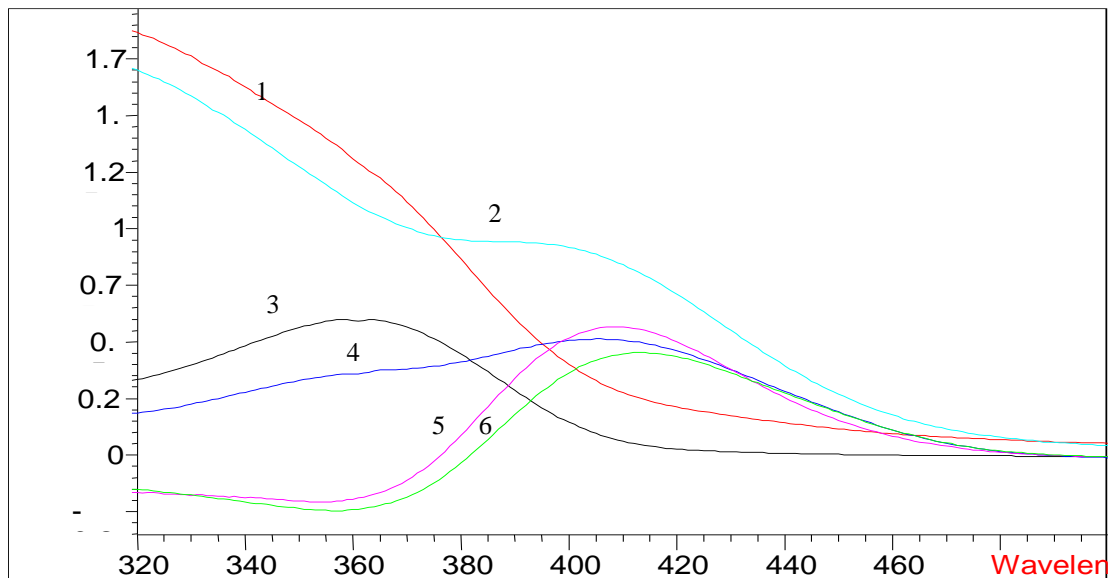


Рис. 4.6. Спектр поглинання, одержаний при кількісному визначенні суми флавоноїдів у комплексному фітоекстракті седативної дії

- 1 – спектр поглинання розчину фітоекстракту;
- 2 – спектр поглинання розчину комплексу фітополіекстракту з алюмінієм хлоридом;
- 3 – спектр поглинання розчину рутину;
- 4 – спектр поглинання розчину комплексу рутину з алюмінієм хлоридом;
- 5 – диференціальний спектр поглинання розчину комплексу фітоекстракту з алюмінієм хлоридом, що записаний із використанням розчину фітоекстракту як розчину порівняння;
- 6 – диференціальний спектр поглинання розчину комплексу рутину з алюмінієм хлоридом, що записаний з використанням розчину рутину як розчину порівняння.

Розрахунок вмісту суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин, у фітоекстракті проводиться за формулою із застосуванням величини питомого показника поглинання рутину. Величина даного показника визначена нами експериментально на стандартному зразку СЗ рутину (ФС 42-2508-97) за

результатами вимірювань поглинання його комплексу з хлоридом алюмінію, проведених в аналогічних умовах, і співпадає з величиною даного показника, описаного в літературі [157,164] .

Методика полягає в наступному: 10 мл фітоекстракту поміщали у скляну місткість 50 мл, нагрівали на киплячій водяній бані до видалення запаху спирту (до близько 7 мл). Охолоджували до кімнатної температури, переносили за допомогою 10 мл води у ділильну лійку місткістю 100 мл, додавали 40 мл *етилацетату Р* і енергійно струшували протягом 3 хв. Після розділення шарів, водний (нижній) зливали, а (верхній) етилацетатний шар фільтрували через паперовий фільтр «біла стрічка» у мірну колбу місткістю 50 мл. Фільтр промивали 10 мл *етилацетату Р*, доводили об'єм розчину *етилацетатом Р* до мітки і перемішували.

По 5 мл одержаного розчину поміщали у склянки місткістю 50 мл, випаровували до сухого залишку на киплячій водяній бані. Сухий залишок переносили за допомогою 15 мл *спирт (70 %, об/об) Р* у мірні колби 1 і 2 місткістю по 25 мл. До колби 1 додавали 5 мл 3 % розчину алюмінію хлориду у *спирт 96 Р* , доводили об'єм розчину 70 % спиртом до мітки і перемішували. Через 10 хв додавали 2 мл суміші: *оцтова кислота льодяна Р* – *спирт (70 %, об/об) Р* (5 : 95), доводили об'єм розчину *спиртом (70 %, об/об) Р* до мітки і перемішували (розчин Б).

Через 30 хв вимірювали оптичну густину одержаного розчину на УФ-спектрофотометрі за довжини хвилі 412 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння розчин у колбі 2, доведений до мітки *спиртом (70 %, об/об) Р* і перемішаний.

Вміст суми флавоноїдів (X_1) у 1 мл препарату, в перерахунку на рутин, у грамах, вираховували за формулою:

$$X_1 = \frac{D \times 50 \times 25}{215 \times 10 \times 5 \times 100} = \frac{D}{215 \times 4};$$

де D – оптична густина випробовуваного розчину;

215 – питомий показник поглинання комплексу рутину з алюмінію хлоридом в 70 % спирті при довжині хвилі 412 нм.

Вміст суми флавоноїдів у 1 мл препарата, в перерахунку на рутини, повинно складати не менше за 0,3 мг.

Метрологічні характеристики визначення суми флавоноїдів у 1 мл препарата, в перерахунку на рутин представлено у таблиці 4.6 .

Таблиця 4.6.

Метрологічні характеристики визначення суми флавоноїдів у 1 мл комплексного фітоекстракту, в перерахунку на рутини.

№ .	X, мг/мл	f	X _{ср}	S ²	S	P	t	dX	e	d
1	0,36	0								
2	0,33	1								
3	0,38	2								
4	0,34	3								
5	0,35	4	0,35	3,7E-10	1,92354E-05	0,95	2,78	2,39145E-05	6,793881887	

Критерії прийнятності. Визначення прийнятності валідаційних характеристик аналітичної методики відповідно до валідаційних критеріїв проводили за розрахунками, підходи до яких наведені у ДФУ. Валідаційні критерії для методик кількісного визначення БАР у фітозасобах вираховують, виходячи з допусків вмісту діючих речовин $\pm 10\%$ [164, 165].

Невизначеність аналізу. Прогнозована повна невизначеність результатів аналізу не має перевищувати критерій до максимально припустимої невизначеності результатів аналізу:

$$\max \Delta A_S \leq 3.2\% ;$$

Для розрахунку повної невизначеності аналітичної методики користувалися формулою [163]:

$$\Delta A_S = \sqrt{\otimes_{SP} + \otimes_{FAO}^2} ;$$

де Δ_{SP} – невизначеність пробопідготовки;

Δ_{FAO} – невизначеність кінцевої аналітичної операції.

Невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} вираховували за формулою [9, 11,4]:

$$\Delta SP = \sqrt{\otimes_{V,r}}$$

де $\Delta_{v,r}$ – складова невизначеності пробопідготовки, пов’язана з певною операцією пробопідготовки (зважування наважки, аліквоти малого об’єму, доведення до об’єму в мірній колбі та ін.).

Як складові невизначеності використовували граничні допуски припустимих похибок мірного посуду, рекомендовані ДФУ. Результати розрахунку повної невизначеності наведені у табл. 4.7.

Таблиця 4.7

Розрахунок невизначеності пробопідготовки методики кількісного визначення суми флавоноїдів у комплексному фітоекстракті спектрофотометричним методом

Пробопідготовка	Параметр розрахункової формули	Невизначеність, %
Компенсаційний розчин		
Узяття аліквоти піпеткою 1 мл	1	0,6
Доведення до об’єму мірної колби місткістю 25 мл	25	0,17
Випробовуваний розчин		
Узяття аліквоти піпеткою 5 мл	5	0,6
Доведення до об’єму мірної колби місткістю 100 мл	100	0,12
Узяття аліквоти піпеткою 1 мл	1	0,6
Доведення до об’єму мірної колби місткістю 50 мл	25	0,17
Повна невизначеність пробопідготовки		
$\Delta_{SP} \sqrt{= 0.17^2 + 0.6^2 + 0.17^2 + 0.6^2 + 0.12^2 + 0.6^2} = 1.07\%$		

Для спектрофотометричних методик при прогнозі невизначеності кінцевої аналітичної операції Δ_{FAO} рекомендується виходити з відносного стандартного відхилення оптичної густини з рандомізацією положення кювет, одержаного в міжлабораторному експерименті, що складає 0,52 % (число паралельних вимірювань не менше 3) [4].

Повна невизначеність аналітичної методики становить:

$$\Delta A_s = \sqrt{\otimes_{SP} + \otimes_{FAO}^2} = 1.19\%$$

Тобто, основний внесок у повну невизначеність методики спектрофотометричного визначення суми флавоноїдів робить пробопідготовка (1,07 %).

Для розробленої методики був обраний діапазон застосування 70-130 % відносно кількості комплексного фітоекстракту, що беруть для аналізу, ця кількість складає 0,70 – 1,30 мл. Для визначення *лінійності, збіжності та відтворюваності* були оцінені результати 15 значень оптичних густин випробовуваних розчинів для п'яти різних концентрацій, дослідження проводили у двох різних лабораторіях. Графік лінійної залежності будували у координатах залежності оптичної густини від концентрації флавоноїдів у комплексному фітоекстракті. Результати вивчення лінійності наведені на рис. 4.8.

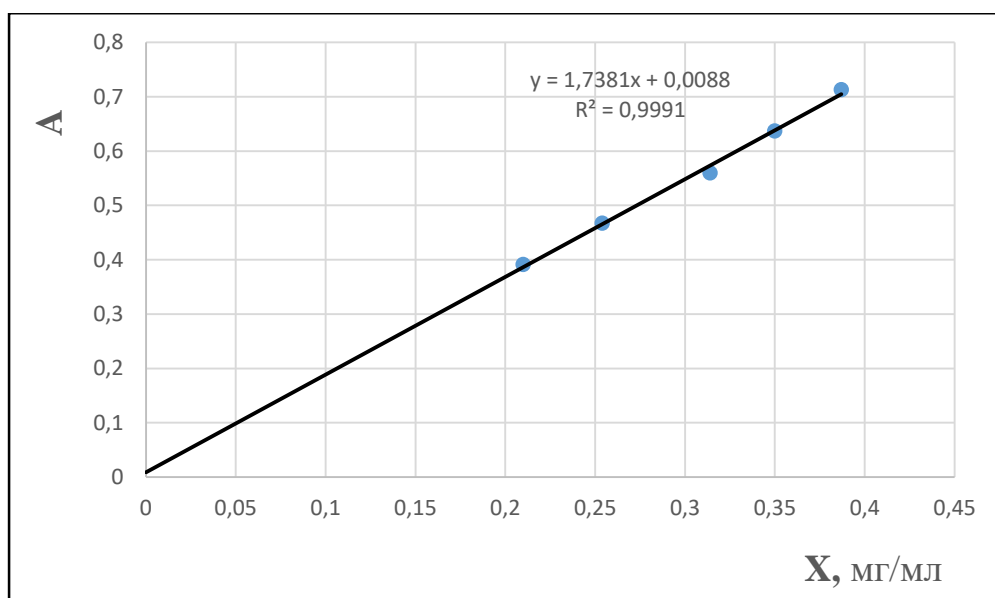


Рис. 4.8. Графік лінійної залежності оптичної густини від концентрації флавоноїдів у комплексному фітоекстракті седативної дії (лабораторія 1).

Отримані результати кутового коефіцієнту, вільного члена лінійних рівнянь, коефіцієнта кореляції підтверджують лінійний статистичний зв'язок між кількістю фітоекстракту, що беруть для аналізу, та оптичною

густиною. Вимоги до параметрів лінійної залежності витримуються, тобто лінійність методик підтверджується на всьому досліджуваному діапазоні концентрацій.

Таблиця 4.8

Результати визначення лінійності методики кількісного визначення суми флавоноїдів у комплексному фітоекстракті седативної дії

Метрологічні параметри	Лабораторія 1	Лабораторія 2
b	0,0088	-0,0268
Sb	0,0058	0,0039
a	1,7381	1,6869
Sa	0,5885	0,4025
So	0,4730	0,3235
r	0,9991	0,9999
RSDrange	21,9578	21,9578
Ro	0,9998	0,9999

За принципом паралельного проведення валідації *збіжність* визначали одночасно з дослідженням лінійності, вимірювали оптичну густину всіх 15 випробовуваних розчинів при встановленій довжині хвилі, знаходили відношення знайденої концентрації до теоретично введеної за методикою і перераховували у відсотках. Результати визначення метрологічних характеристик аналізу двох лабораторій наведені у табл. 4.9, 4.10.

Таблиця 4.9

Результати визначення лінійності та збіжності у лабораторії № 1

№ досліджу	Аліквота мл	введено (X _i ,%)	оптична густина	знайдено (Y _i %)	Z _i =100(Y _i /X _i)
1	0,70	70,00	0,391	70,77	101,10
2	0,70	70,00	0,392	70,78	101,12
3	0,70	70,00	0,390	70,55	100,79
4	0,85	85,00	0,466	84,34	99,23
5	0,85	85,00	0,467	84,57	99,50

6	0,85	85,00	0,468	84,65	99,59
7	1,00	100,00	0,552	99,80	99,80
8	1,00	100,00	0,553	99,91	99,91
9	1,00	100,00	0,553	100,08	100,08
10	1,15	115,00	0,637	115,25	100,23
11	1,15	115,00	0,637	115,24	100,20
12	1,15	115,00	0,636	115,15	100,14
13	1,30	130,00	0,713	129,05	99,24
14	1,30	130,00	0,713	129,05	99,28
15	1,30	130,00	0,712	129,02	99,31
Середнє Z%					99,97
Відносне стандартне відхилення, Sz%					0,65
Відносний довірчий інтервал Δz%					1,14

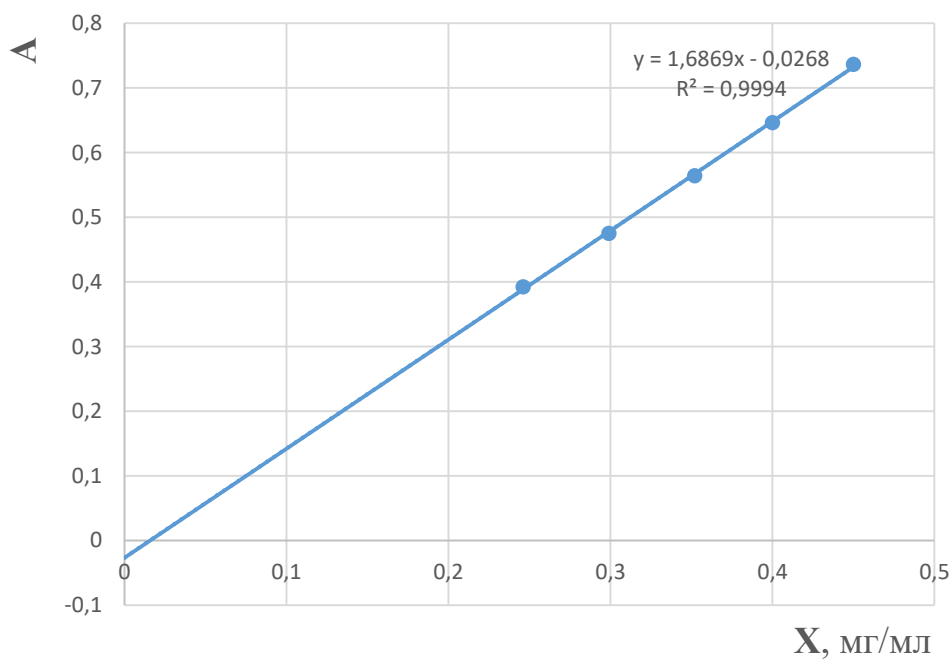


Рис. 4.9. Графік лінійної залежності оптичної густини від концентрації флавоноїдів у комплексному фітоекстракті седативної дії (лабораторія 2).

Таблиця 4.10

Результати визначення лінійності та збіжності у лабораторії № 2

№ досліду	Аліквота, мл	Введено ($X_i, \%$)	Оптична густина	Знайдено ($Y_i \%$)	Знайдено $Z_i = 100(Y_i/X_i)$
1	0,70	70,00	0,392	69,13	98,75
2	0,70	70,00	0,392	69,13	98,75
3	0,70	70,00	0,391	68,99	98,55
4	0,85	85,00	0,476	84,07	98,91
5	0,85	85,00	0,475	84,21	99,07
6	0,85	85,00	0,474	84,06	98,90
7	1,00	100,00	0,564	99,59	99,59
8	1,00	100,00	0,566	99,88	99,88
9	1,00	100,00	0,576	100,03	100,03
10	1,15	115,00	0,646	114,09	99,21
11	1,15	115,00	0,646	114,09	99,21
12	1,15	115,00	0,647	114,23	99,33
13	1,30	130,00	0,735	129,76	99,81
14	1,30	130,00	0,736	129,90	99,93
15	1,30	130,00	0,736	129,90	99,93
Середнє $Z\%$					99,32
Відносне стандартне відхилення, $Sz\%$					0,50
Відносний довірчий інтервал $\Delta z\%$					0,88

Методика є коректною, оскільки для Δ_z , розрахованої за відношенням, виконуються вимоги: $\Delta_z\% \leq \max \Delta_{As} = 3,2 \%$, а також експериментально отримані значення систематичної похибки не перевищують розраховані критерії практичної невизначеності систематичної похибки.

Проведення досліджень на різному обладнанні, в різні дні, в двох різних лабораторіях, різними аналітиками дозволило оцінити *відтворюваність* методики. Оцінка ступеня близькості результатів послідовних вимірювань оптичної густини випробовуваних розчинів, які виконані у двох різних лабораторіях, наведена у табл. 4.11.

Таблиця 4.11

Результати дослідження відтворюваності методики кількісного визначення у міжлабораторному експерименті

№	Лабораторія 1	Лабораторія 2
1	101,10	98,75
2	101,12	98,75
3	100,39	98,54
4	99,63	98,90
5	99,50	99,07
6	99,59	98,90
7	99,80	99,59
8	99,91	99,88
9	100,08	100,03
10	100,23	99,21
11	100,20	99,21
12	100,14	99,33
13	99,74	99,81
14	99,58	99,93
15	99,36	99,93
Середнє	99,97	99,32
Об'єднане середнє Z	99,65	
Відносне стандартне відхилення, Szi%	0,6456	0,5043
Відносний довірчий інтервал ΔZ%	1,1372	0,8882
Об'єднане δ	0,36	

Наведені дані є результатом порівняння статистичних відхилень двох різних експериментів: відносного стандартного відхилення, об'єднаного середнього значення, відносного довірчого інтервалу, систематичної похибки. Отримані метрологічні дані свідчать, що методика може бути відтворена в інших лабораторіях з довірчою вірогідністю 95 %, загальна систематична похибка – 0,36 %, відносні довірчі інтервали $\Delta Z\%$ для двох лабораторій – 0,65 % та 0,5 % не перевищують значення максимальної невизначеності аналізу.

При дослідженні *робастності* методики необхідним є вивчення стійкості результатів аналізу до впливу різноманітних факторів. Для досліджуваної методики спектрофотометричного визначення суми флавоноїдів такими факторами є час перебігу фотоколориметричної реакції та рН випробовуваного розчину [163,164].

Стабільність оптичної густини визначали у період 40-80 хв після додавання реактиву, оскільки відомо, що стійкий комплекс флавоноїдів з алюмінію хлоридом (III) утворюється не менше, ніж через 30 хв. Результати досліджень приведені в табл. 4.12.

Таблиця 4.12

Дослідження оптичної густини випробовуваного розчину у часі

Час дослідження стабільності, хв					Середнє	RSD _t , %	$\Delta t, \%$	$\delta_{\max}, \%$
40	50	60	70	80				
0,5507	0,5510	0,6505	0,5480	0,5452	0,5491	0,46	0,97	1,02
0,5514	0,5509	0,6508	0,5476	0,5442				
0,5525	0,5512	0,6512	0,5481	0,5440				
0,5515	0,5512	0,6508	0,5479	0,5446				

Результати, наведені у таблиці 4.12, свідчать, що прийнятна стабільність аналітичного розчину спостерігається від 40 до 80 хв після додавання реактиву. Статистична оцінка впливу часу на аналізований розчин відповідає критеріям прийнятності, що доводить надійність результатів

аналізу при невеликих змінах у часі проведення вимірювань оптичної густини випробовуваного розчину.

Відомо, що на показник оптичної густини та характер спектру поглинання значно впливає кислотність середовища. За умовами методики підкислення випробовуваного розчину проводять оцтовою кислотою, що дозволяє задати необхідні умови для стабілізації отриманого комплексу та проведення аналізу. Тому прогнозованим є те, що відхилення у *pH* комплексному фітополіекстракті на $\pm 10\%$ не впливає на кінцевий результат аналізу.

За результатами визначення метрологічних характеристик встановлено, що методика відповідає розробленим критеріям та може бути використана для контролю якості комплексного фітоекстракту седативної дії.

4.2.3. Визначення вмісту суми амінокислот

В роботі запропонована методика кількісного визначення суми амінокислот у комплексному фітоекстракті, яку пропонується проводити методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій і видимій ділянках (ДФУ, 2.2.25^N) [158].

В основі методу аналізу амінокислот лежить складна реакція взаємодії амінокислот із нінгідрином з утворенням забарвленого продукту – фіолетового Руеманна [166]. В залежності від *pH* середовища забарвлення розчину може бути від червоного до синього. При проведенні аналізу запропонованим методом умови максимуму поглинання випробовуваного розчину спостерігаються при 573 нм (рис. 4.10).

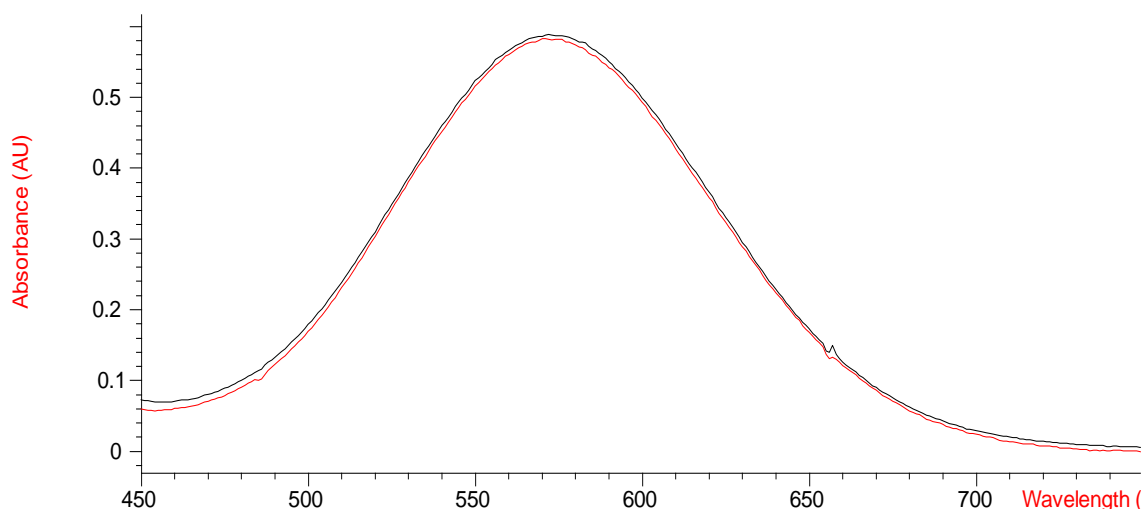


Рис. 4.10. Спектри поглинання, одержані при кількісному визначенні суми амінокислот у комплексному фітоекстракті седативної дії
1 - випробуваний розчин; 2 - стандартний зразок лейцину.

Розрахунок вмісту суми амінокислот пропонується проводити в перерахунку на лейцин за питомим показником поглинання.

Величина питомого показника поглинання визначена в роботі експериментально з використанням зразку лейцину (Sigma № 5652, L-Leucine, 99 %) за результатами вимірювань поглинання його комплексу з нінгідрином, проведених в аналогічних умовах. Метрологічні характеристики розрахунку величини показника питомого поглинання комплексу лейцину з нінгідрином приведені у таблиці 4.13.

Проведення пробопідготовки.

Випробовуваний розчин (а): 2 мл фітоекстракту поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину 96 % етанолу *P* до мітки і перемішували. Отриманий розчин фільтрували, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

2 мл фільтрату поміщали в круглодонну колбу місткістю 50 мл, додавали 2 мл 0,2 % розчину нінгідрину, приєднували зворотний холодильник і нагрівали в киплячій водяній бані протягом 5 хв. Тоді розчин охолоджували до кімнатної температури, переносили за допомогою двох порцій по 10 мл спирту *ізопропілового P* в мірну колбу

місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину *спиртом ізопропіловим Р* до мітки і перемішували.

Вимірювали оптичну густина отриманого розчину на УФ-спектрофотометрі за довжини хвилі 573 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння *спирт ізопропіловий Р*.

Вміст суми амінокислот (X) в 1 мл фітоекстракту, у перерахунку на лейцин, у грамах, вираховували за формулою:

$$X = \frac{D \times 25 \times 25}{862 \times 2 \times 2 \times 100} = \frac{D \times 25}{862 \times 16}$$

де D – оптична густина випробовуваного розчину;

862 – питомий показник поглинання комплексу лейцину з нінгідрином у *спирті ізопропіловому Р* за довжини хвилі 573 нм.

Вміст суми амінокислот у препараті, у перерахунку на *лейцин В*, становив не менше 0,15 мг у 1 мл

Таблиця 4.14

Метрологічні характеристики визначення суми амінокислот у 1 мл комплексного фітоекстракту седативної дії, в перерахунку на *лейцин В*.

№ оп.	X, мг/мг	f	X _{ср}	S ²	S	P	t	dX	e	d
1	0,18	0								
2	0,15	1								
3	0,17	2								
4	0,14	3								
5	0,16	4	0,16	2,5E-10	1,58114E-05	0,95	2,78	1,96576E-05	5,460435699	

Розрахована невизначеність встановленого питомого показника поглинання становить 1,3 %, невизначеність пробопідготовки – 0,88 %, сумарна невизначеність – 1,57 %. Таким чином, використане в процесі аналізу обладнання має забезпечити необхідну точність вимірювань.

Далі була проведена валідація розробленої методики та досліджені її основні валідаційні характеристики: специфічність, правильність, прецизійність, лінійність, робастність [164,165,169, 170,171].

Специфічність. При дослідженні на специфічність аналітичний метод повинен забезпечувати ідентифікацію діючих речовин в присутності інших сполук, близьких за хімічною структурою.

Специфічність методу кількісного визначення амінокислот у комплексному фітоекстракті седативної дії доводили шляхом порівняння спектрів досліджуваного розчину і розчину стандартного зразку *лейцину В*, приготованих за описаною вище методикою. Отримані спектри мають максимум поглинання при довжині хвилі 573 нм.

Поглинання холостого розчину ($A_{bs} = 0,00212$) становить 1,12 % від оптичної густини препарату при номінальному вмісті діючої речовини. Отримані результати свідчать, що використовувана методика відповідає вимогам ДФУ, яка допускає відхилення не більше 10 % від ширини вимірюваного діапазону [158]. В експерименті цей показник не перевищив 2,6 %.

Правильність і прецизійність. Правильність характеризує ступінь відповідності між відомим справжнім значенням або довідковою величиною і значенням, одержаним за цією методикою. Показником правильності методу є значення систематичної похибки. У разі кількісного визначення речовини в лікарській формі правильність аналітичної методики встановлюється за результатами її застосування при аналізі модельної суміші, з усіма компонентами лікарської форми і відомою кількістю речовини, яку визначають.

Прецизійність аналітичної методики виражає ступінь близькості (або ступінь розкиду) результатів для серії вимірів, виконаних за цією методикою на різних пробах одного і того самого однорідного зразку.

Для перевірки правильності методики було приготовано 3 окремі суміші з точно відомим вмістом *лейцину В*, які охоплювали діапазон

застосування методики (з концентраціями 80, 100, 120 від номінальної). Для кожної модельної суміші було проведено 3 паралельні аналізи. Відповідно до ДФУ розраховано такі критерії: систематична похибка $\delta\%$ (для правильності) і відносний довірчий інтервал Δ_Z (для прецизійності) [4]:

$$s_Z (\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}},$$

$$\Delta_Z = s_Z (\%) \cdot t(95\%, n-1) \leq \Delta_{As},$$

$$\delta\% = Z - 100 \frac{\Delta_Z}{\bar{Z}},$$

де s_Z – відносне стандартне відхилення, % (розраховане для співвідношення «знайдено/введено»);

n – обсяг вибірки;

Δ_Z – відносний довірчий інтервал;

Δ_{As} – критичне значення для збіжності результатів;

t – односторонній критерій Стюдента для імовірності 95 % і числа ступенів свободи $\nu = n - 1$;

$\delta\%$ – систематична похибка;

Z – знайдений вміст, % до введеного;

\bar{Z} – середнє значення Z .

Результати вимірювань та проведених розрахунків наведені в табл. 4.15.

Експериментальні результати прецизійності характеризуються припустимим розкидом відносно середнього \bar{Z} , відповідно, низьким стандартним відхиленням $S_Z\%$ ($S_Z\% = 0,98 < 3,2$) на всьому діапазоні концентрацій (80-120 %).

Систематична похибка методики становить $\delta\% = 0,13$, що значно нижче встановленого критерію невизначеності та характеризує достатню близькість середнього результату до його номінального значення.

Таблиця 4.15

Результати дослідження правильності та прецизійності методики кількісного визначення амінокислот у комплексному фітоекстракті седативної дії

Вміст у модельній суміші, у % до номінального	Оптична густина A_1	Знайдено вміст до номінального, %	Знайдено вміст до введеного, %
80	0,227	79,78	99,72
80	0,229	80,89	101,11
80	0,225	78,67	98,33
100	0,297	100,89	100,89
100	0,290	98,78	98,67
100	0,294	99,88	99,78
120	0,362	120,89	100,74
120	0,357	119,22	99,35
120	0,360	120,33	100,28
Середнє значення Z			99,87
Відносне стандартне відхилення S_z %			0,98
Відносний довірчий інтервал Δ_z			1,81
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{As}			< 3,2
Систематична похибка $\delta\%$			0,13
Критерій невизначеності систематичної похибки			< 0,60

Лінійність та діапазон застосування встановлюються на основі результатів досліджень. Вони пропорційні концентрації речовини, що аналізується, в зразку в межах аналітичної методики $A = kb + a$.

Для підтвердження лінійності аналітичної методики використовуються такі параметри: коефіцієнт регресії, кут нахилу лінії регресії і залишкова сума площ. Аналітичну ділянку, в межах якої дотримується лінійна залежність, вибирали такою, щоб охоплювала інтервал ± 20 % відносно мінімально допустимої межі вмісту речовини, що аналізується (включаючи ці межі). В інтервалі таких меж цей метод забезпечує кількісне визначення з прецизійністю і правильністю, які вимагаються. Поза межами цих ділянок

відхилення від прецизійності і правильності не чинитиме вирішального впливу на оцінку якості препарату. Аналітичну ділянку виражали в тих самих одиницях, що і результати досліджень, отримані за допомогою цієї методики (%).

Для дослідження лінійності були приготовлені 11 розведень комплексного фітоекстракту з концентраціями від 50 до 150 % від номінального вмісту амінокислот у фітополіекстракті седативної дії. Розчини готували ваговим способом.

Методика розведення стандартного розчину нінгідрину. 0,1 г нінгідрину *B* поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 30 мл *спирту ізопропілового Р*, доводять об'єм розчину тим же розчинником до мітки, перемішують і одержують 0,2 % розчину нінгідрину (*a*).

2 мл комплексного фітоекстракту поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину *спиртом (96 % об/об) Р* до мітки і перемішують. Отриманий розчин (*e*) фільтрують, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

В окремі колби місткістю 50 мл поміщали від 1 до 3 мл розчину (*e*) з кроком 0,1 мл, додавали 0,2 мл розчину (*a*), приєднували зворотний холодильник і нагрівали в киплячій водяній бані протягом 5 хв. Потім розчин охолоджували до кімнатної температури, переносили за допомогою двох порцій по 10 мл *спирту ізопропілового Р* у мірну колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину *спиртом ізопропіловим Р* до мітки і перемішували.

Вимірювали оптичну густину отриманого розчину на УФ-спектрофотометрі за довжини хвилі 573 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння *спирт ізопропіловий Р*.

Одержані дані оптичної густини і результати їх обробки наведені в табл. 4.16 і 4.17.

Таблиця 4.16

Результати вивчення лінійності модельних розчинів суми амінокислот у 1 мл у комплексному фітоекстракті седативної дії, в перерахунку на лейцин В.

Концентрація, мг/мл	Оптична густина	Концентрація, %	Оптична густина, %
0,0185	0,092	51,31	51,24
0,021	0,108	60,08	60,22
0,052	0,126	69,21	69,94
0,091	0,146	81,08	80,86
0,127	0,164	90,56	91,12
0,160	0,180	100,00	100,00
0,196	0,198	109,44	110,14
0,232	0,219	122,16	121,84
0,268	0,234	128,46	129,77
0,204	0,253	141,29	140,58
0,242	0,275	152,31	152,66

Таблиця 4.17

Параметри лінійності методики кількісного визначення амінокислот

Параметр	Результат	Критерій
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності, b	1,97	-
Вільний член лінійної залежності, a	0,236	< 5,1
Коефіцієнт кореляції, R^2	0,9997	> 0,99236

Графік лінійної регресії наведений на рисунку. 4.11. Як видно з графіка (рис. 4.11), вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються в усьому діапазоні застосування методики (50-150 %).

Робастність методики характеризує її стійкість до незначних змін умов експерименту. Для випробовуваного розчину перевірено його стійкість до зберігання, термін зберігання становив 2 год.

Проводили вимірювання оптичної густини випробовуваного розчину протягом усього проміжку часу та порівнювали з початковою.

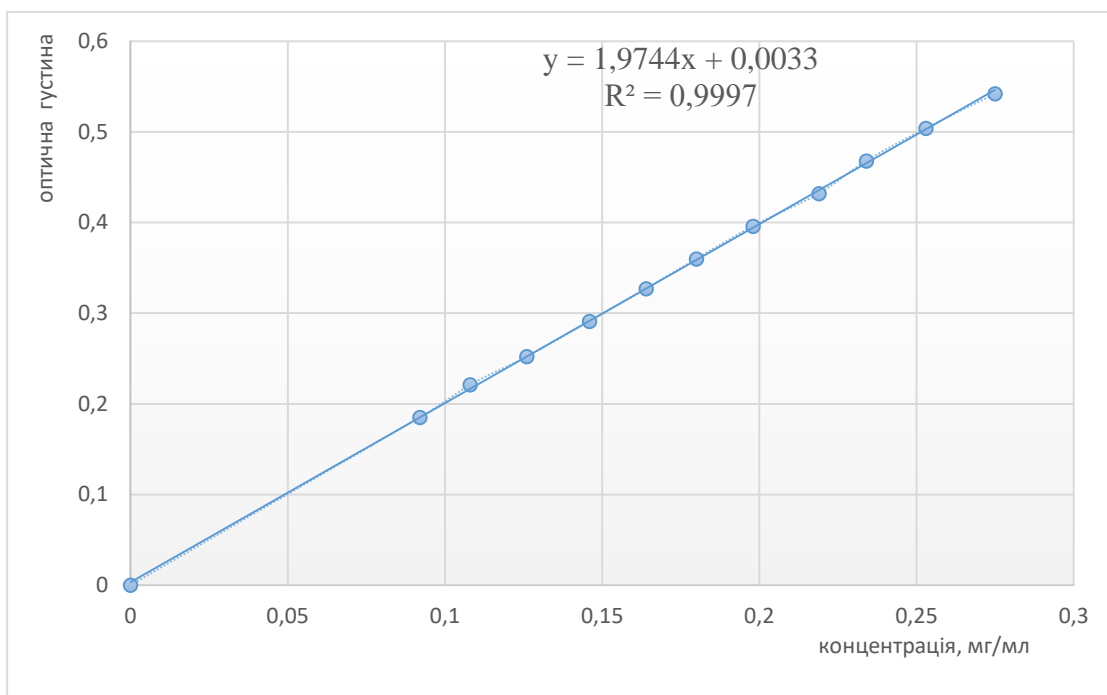


Рис. 4.11 Графік лінійної залежності оптичної густини від концентрації амінокислот у комплексному фітоекстракті

Результати досліджень наведені в табл. 4.18. Розраховане відносне стандартне відхилення (RSD) результатів вимірювання оптичної густини становить 1,32, що не перевищує межі абсолютної допустимої похибки.

Таблиця 4.18

Результати визначення стабільності досліджуваного розчину при кількісному визначенні амінокислот у комплексному фітоекстракті

Час зберігання, хв	Концентрація досліджуваного розчину		
	оптична густина, A	зміна, %	різниця, % від початкової
0	0,181	100,00	0,00
15	0,178	98,34	-1,66
30	0,184	101,66	1,66
60	0,180	99,45	-0,55
90	0,183	101,10	1,10
120	0,180	99,45	-0,55
RSD,%	1,32		

4.2.4. Визначення вмісту спирту в комплексному фітоекстракті седативної дії.

Методика визначення спирту полягає в наступному; у мірну колбу місткістю 10 мл поміщали 5 мл розчину н-бутанолу (внутрішній стандарт), додавали близько 0,4 мл комплексного фітоекстракту, перемішували до повного розчинення, доводили об'єм колби розчином н-бутанолу (внутрішній стандарт) до мітки і перемішували.

По 1 мкл одержаного розчину і розчину СЗ спирту етилового поперемінно хроматографували на газовому хроматографі 3700, з полум'яно-іонізаційним детектором, одержуючи не менше 5 хроматограм кожного розчину за наступних умов:

- колонка мікронасадочна, розміром 2 м x 6 мм, з нерухомою фазою: твердий носій 5% інертон АW-101, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- температуру колонки задають 50 °С і відразу ж підвищують до 100 °С зі швидкістю 30°С/хв;

- температура детектора – 250 °С;

- температура інжектора – 210 °С;

- чутливість – 64×10^2 .

- швидкість газу-носія (азот) – 30 мл/хв.

Вміст спирту етилового (X) в препараті, у відсотках, вираховували за формулою:

$$X = \frac{V_1 \cdot m_0 \cdot 10 \cdot 100}{V_0 \cdot m_1 \cdot 10} = \frac{V_1 \cdot m_0 \cdot 100}{V_0 \cdot m_1} ;$$

де: V_1 – середнє значення відношень площ піків спирту етилового до площ піків н-бутанолу (внутрішній стандарт), вираховане з хроматограм випробовуваного розчину;

V_0 – середнє значення відношень площ піків спирту етилового до площ піків н-бутанолу (внутрішній стандарт), вираховане з хроматограм розчину СЗ спирту етилового;

m_1 – маса наважки фітоекстракту, в грамах;

m_0 – маса наважки СЗ спирту етилового, в грамах.

Вміст спирту етилового у фітоекстракті має бути не менше 37 %.

Результати аналізу вважаються достовірними, якщо виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи».

Перевірка придатності хроматографічної системи. Хроматографічна система вважається придатною, якщо:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком спирту етилового на хроматограмах розчину СЗ спирту етилового, має бути не менше 400 теоретичних тарілок (ДФУ 2001, 2.2.28);

- ступінь поділу піків, розрахований для піку н-бутанолу з хроматограм розчину СЗ спирту етилового, має бути не менше 1,9 (ДФУ 2001, 2.2.28);

- відносне стандартне відхилення відношень площ піків спирту етилового до площ піків внутрішнього стандарту, розраховане з хроматограм розчину СЗ спирту етилового, має бути не більше 2,5 % (ДФУ 2001, 2.2.28);

- висота піку спирту етилового на хроматограмах розчину СЗ спирту етилового має бути не менше 10 % шкали реєструючого приладу.

Приготування розчину СЗ спирту етилового. В мірну колбу місткістю 10 мл поміщають 5 мл розчину н-бутанолу (внутрішній стандарт), додають близько 0,2 мл спирту етилового (для хроматографії), перемішують і доводять об'єм розчину розчином н-бутанолу (внутрішній стандарт) до мітки і перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

Приготування розчину н-бутанолу (внутрішній стандарт). 5 мл н-бутанолу (для хроматографії) поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 50 мл води, доводять об'єм розчину водою до мітки і перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

Висновки до розділу 4

1. Розроблено та апробовано методики якісного та кількісного визначення біологічно активних сполук у комплексному фітоекстракті седативної дії.

2. Розроблено нову чутливу, економічну та експресивну методику кількісного визначення органічних кислот у комплексному фітоекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислот, проведено її валідацію.

3. Проведено валідацію методик кількісного визначення діючих речовин, які забезпечують фармакологічну дію лікарського засобу.

Роботи опубліковані до даного розділу

1. **Дячок І.Л., Пінязько О.Р.,** Розроблення методу кількісного визначення органічних кислот в комплексному фітополіекстракті // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики (2016), №2. С. 52-57. Входить до переліку ВАК України.

2. **I.L. Diachok, O. R. Pinyazhko, O. L.Ivankiv.** Considering the question of standardization of sedative poliextracts // International Scientific Congress., Modern directions in chemistry, biology, pharmacy and biotechnology. - Lviv, 2015. - P. 25-26.

РОЗДІЛ 5. ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ФІТОЕКСТРАКТУ СЕДАТИВНОЇ ДІЇ

Комплексний фітоекстракт містить у своєму складі суміш лікарської рослинної сировини, офіційно дозволеної до медичного застосування. Фармакологічна дія комплексного фітоекстракту обумовлена властивостями біологічно активних сполук, які містить рослинна сировина, що входить до його складу. З точки зору фармакології це – в основному седативні та анксиолітичні ефекти.

Прогнозована область клінічного застосування препаратів на основі комплексного фітоекстракту в основному стосується лікування неврастеній, які супроводжуються роздратованістю, тривогою, втомою, розсіяністю, порушенням пам'яті, психічними розладами, а також легкими ознаками порушення сну, головними болями, мігренню, підвищеною нервово-м'язевою збудливістю, клімактичним синдромом. Для лікування таких патологій сьогодні застосовують препарати на основі лікарської рослинної сировини в комплексі з синтетичними субстанціями, іноді вітамінами [154,176,177].

Експериментальну оцінку фармакологічної активності комплексного фітоекстракту проводили на інтактних тваринах, а також на тваринах із моделями, близькими до патогенезу з відповідною клінічною патологією. Як препарат порівняння був вибраний відомий лікарський засіб – розчин Ново-Паситу, до складу якого входить подібна за фармакологічною дією лікарська рослинна сировина, а сам комплексний фітоекстракт володіє аналогічною фармакологічною дією.

Об'єктом дослідження був стандартизований комплексний фітоекстракт, до складу якого входять дозволені до медичного застосування лікарські рослини (корені та кореневища валеріани, плоди глоду, трава звіробою, листя м'яти перцевої, шишки хмелю, плоди калини) у рівних співвідношеннях [178]. За власними даними фармакологічних досліджень фітоекстракт володіє

седативною дією та відноситься до нетоксичних речовин (V- клас токсичності).

Дослідження проводились із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 року, Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 року про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 року № 944 «Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» та Закону України від 21 лютого 2006 року № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Тварин, залучених до експерименту, утримували в стандартних умовах віварію за температури повітря 22-24 °С та відносної вологості 50-70 % з вільним доступом до корму та води. Групи тварин формували за методом рандомізації. Період карантину та акліматизації тривав 7 діб. План експерименту схвалений Комітетом з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами, дотримані.

5.1. Дослідження на інтактних тваринах

Дані дослідження в дослідах на інтактних тваринах дозволяють оцінити вплив комплексного фітоекстракту на спонтанні форми поведінки – рухову активність із реєстрацією горизонтальних і вертикальних переміщень у щурів, працездатність – примусове плавання у мишей, а також взаємодію препарату зі снодійними і наркотичними речовинами – феномен потенціювання барбітурового сну в щурів.

5.1.1. Визначення впливу комплексного фітоекстракту на спонтанну рухову активність у щурів методом «відкритого поля».

З літературних джерел відомо, що речовини як природного, так і синтетичного походження спричиняють седативну дію, знижують рухову активність в інтактних тварин [210-211]. Одним із найпростіших, достовірним і добре зарекомендованим експериментом, що дозволяє виявити седативний ефект на центральну нервову систему, є метод «відкритого поля», який дозволяє кількісно оцінити рухову активність щурів за двома основними компонентами (горизонтального й вертикального переміщення).

5.1.1.1. Методи дослідження

Дослідження проводились на 50 нелінійних щурах-самцях масою 200-220 г. Тварини перебували в умовах віварію з вільним доступом до води та їжі. Всі тварини були розділені на 5 груп по 10 особин у кожній. На трьох групах щурів вивчали специфічну дію досліджуваного комплексного фітоекстракту в дозах, відповідно, 0,5; 1,0 і 2,0 мл/кг, на четвертій групі щурів досліджували дію препарату порівняння «Ново-Пасит» (1,5 мл / кг), п'ята – служила контролем (тварини не отримували лікування).

Вивчення поведінки тварин проводили за методикою «відкритого поля» [212]. Для дослідження поведінки тварин у відкритому полі використовували майданчик круглої форми діаметром 1 м із бортиком висотою 35 см, що має радіально-кругову розмітку на сектори. Для освітлення установки на висоті 1,5 м від центру поля розташовували лампу потужністю 150 Вт. Тварин поміщали в центр поля і візуально реєстрували горизонтальні та вертикальні переміщення протягом 3 хв. Горизонтальні переміщення враховували за числом перетину кордонів секторів, коли більше половини тваринного тіла потрапляло в наступний сектор. За вертикальне переміщення (стійки) приймали підйом щура на задні кінцівки незалежно від того, спирався він на бортик чи ні.

Протягом експерименту всіх щурів тестували у відкритому полі два рази: до введення досліджуваних препаратів (початковий рівень рухової активності) і через 24 год після їх застосування. Препарати щурам вводили за 30 хв до повторного тестування в них рухової активності одноразово внутрішньо-шлунково за допомогою металевого зонду у вигляді лікарського засобу в дозах: комплексного фітоекстракту - 0,5; 1,0 і 2,0 мл/кг, що в перерахунку на суму діючих речовин, становить, відповідно, 92, 184 і 368 мг/кг; «Ново-Пасит» – у порівнянні з розробленим препаратом у дозі – 1,5 мл/кг або 180 мг/кг за сумою діючих речовин. Досліджувані препарати вводили з розрахунку 0,05; 0,1 і 0,2 мл комплексного фітоекстракту, або 0,15 мл «Ново-Пасит» на 100 г маси тіла тварин. Середня доза комплексного фітоекстракту, вибрана для дослідження, є співставною з терапевтичними дозами аналогічних лікарських засобів на основі комплексу лікарських трав. Контрольна група щурів отримувала еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

Седативний ефект комплексного фітоекстракту оцінювали за його впливом на зміну рухової активності щурів (число горизонтальних або вертикальних переміщень – протягом 3 хв перебування у відкритому полі), по відношенню до контрольних, нелікованих тварин (тварин, що не отримували жоден препарат) і групи щурів, які отримували препарат порівняння.

Всі показники рухової активності оцінювали як в абсолютних величинах, так і в % від вихідних даних, зареєстрованих при першому поміщенню щурів у відкрите поле окремо для кожної тварини. Статистичну обробку даних проводили загальноприйнятим методом з використанням критерію Стьюдента. ED_{50} визначали за методом Б.М. Штабського [182, 215].

5.1.1.2. Результати дослідження

Отримані результати дослідження відображають зміни рухової активності щурів у відкритому полі. Ці результати для тварин контрольної та

піддослідних груп представлені в табл. 5.1. і на рис. 5.1. З наведених даних видно, що початковий рівень рухової активності у піддослідних і контрольних тварин практично збігається, а їхні незначні відмінності статистично не достовірні. З цих даних також видно, що у контрольних тварин число як горизонтальних, так і вертикальних переміщень при повторному тестуванні, в основному, не відрізняється від результатів, зареєстрованих при першому поміщенні щурів у відкрите поле. При повторному тестуванні щурів, які отримували комплексний фітоекстракт у дозах (92, 184 і 368 мг/кг), і препарат порівняння – «Ново-Пасит» у дозі (180 мг/кг), при одноразовому внутрішньошлунковому введенні за 30 хв до поміщення тварин у відкрите поле спостерігається чітке зниження їх рухової активності. Так, спостереження за поведінкою щурів у відкритому полі протягом 3 хв показало, що введення комплексного фітоекстракту викликає щодо вихідних показників зменшення числа пройдених секторів, відповідно, на 29,3; 56,0 і 71,6% і стійок – на 17,3; 29,2 і 56,7%. При цьому статистично значимі величини спостерігаються при застосуванні дози 184 і 368 мг/кг (горизонтальне переміщення) і при дозі 368 мг/кг (вертикальні переміщення). Розрахунок ED_{50} комплексного фітоекстракту за даним тестом показав, що при визначенні горизонтального компонента рухової активності (що найсильніше змінюється) вона складає 215,3 (115,9 ÷ 314,6) мг/кг.

Застосування препарату порівняння – «Ново-Паситу» у дозі (180 мг/кг) також викликає зниження горизонтальних і вертикальних переміщень щурів, відповідно, на 51,4 і 33,2%, відносно їх вихідного рівня.

Таким чином, проведений експеримент показав, що одноразове внутрішньошлункове введення інтактним щурам комплексного фітоекстракту в дозах (92, 184 і 368 мг/кг), відповідно, знижує рухову активність тварин у відкритому полі.

Таблиця 5.1.

Вплив комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу»
на реакції поведінки (спонтанна рухова активність) щурів,
що знаходяться в «відкритому полі»

Препарат, доза мг/кг	Горизонтальні переміщення (пройдені квадрати):				Вертикальні переміщення (стійки):		
	до дослід	після дослід	ефект, %	ЕД ₅₀ , мг/кг	до дослід	після дослід	ефект, %
Контроль, неліковані	44,2±3,7	42,7±3,8	-3,8±1,7	-	8,0±1,1	7,6±1,0	-4,5±2,0
комплексний фітоекстракт 92	40,4±5,5	27,4±4,6	-29,3±7,1**	215,3 (115,9 ÷ 314,6)	8,2±1,2	6,7±1,0	-17,3±4,2**
комплексний фітоекстракт 184	39,7±4,9	16,8±2,1 *	-56,0±5,8**		9,1±1,3	6,0±0,8	-29,2±7,2**
комплексний фітоекстракт 368	46,2±4,5	11,4±1,0 *	-71,6±2,4**		8,4±1,1	3,6±0,5*	-56,7±5,4**
«Ново-Пасит» 180	40±5,7	18,7±2,4 *	-51,4±3,6**	-	8,3±0,9	5,4±0,7*	-33,2±5,9**

Примітки: ефект,% - зміни показників щодо вихідного рівня (до дослід), в%.

* - $P \leq 0,05$ відносно вихідного рівня.

** - $P \leq 0,05$ відносно контролю.

Кількість тварин у кожній групі - 10.

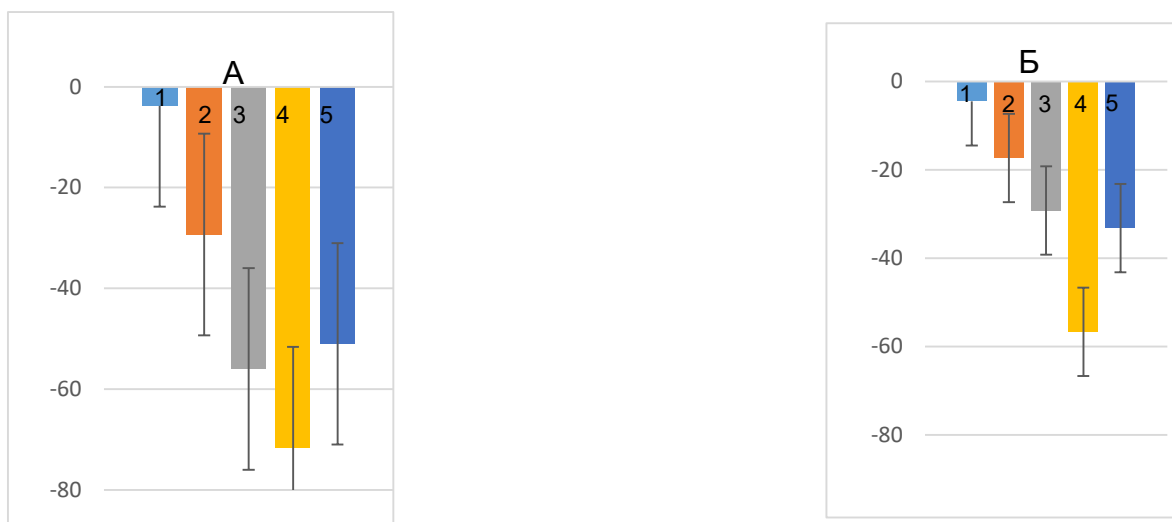


Рис. 5.1. Зниження спонтанної рухової активності у щурів при одноразовому введенні комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу».

А - горизонтальні переміщення. Б - вертикальні переміщення
 1- контроль, ті що не ліковані; 2-4 – комплексний фітоекстрак у дозах (92, 184 і 368 мг/кг); 5 – «Ново-Пасит» у дозі (180 мг/кг).

По осі ординат: на А - число пройдених квадратів, на Б - число стійок сумарно за 3 хв спостереження у відкритому полі в % щодо їх вихідного рівня.

Отриманий результат свідчить про наявність у комплексного фітоекстракту чітко вираженого седативного ефекту. У співставленні з препаратом порівняння – «Ново-Паситом» при застосуванні його в рівній з комплексним фітоекстрактом дозі, статистичних достовірних відмінностей у рівні їх седативної активності не встановлено.

5.1.2. Визначення впливу комплексного фітоекстракту на працездатність у мишей методом примусового плавання

Тест на працездатність дозволяє виявити у препаратів, які

володіють седативною дією, можливий несприятливий ефект на рухову активність, що розвивається у тварин, головним чином за рахунок порушення координації рухів [210].

5.1.2.1. Методи дослідження

Дослідження проведені на 30 нелінійних мишах обох статей масою 20-25 г. Тварини перебували в умовах віварію з вільним доступом до води та їжі. Всі тварини були розділені на 3 групи по 10 особин у кожній. На двох групах мишей вивчали специфічну дію розробленого препарату – комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу», третя слугувала контролем (тварини не отримували препарату, тобто умовно неліковані).

Вивчення поведінки тварин в умовах фізичних навантажень проводили за модифікованим методом примусового плавання [210]. З цією метою використовували резервуар діаметром 40 см, заповнений водою (температура води $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$). Висота водяного стовпа в резервуарі становила 25 см. Для скорочення тривалості плавання на корінь хвоста миші поміщається вантаж, який дорівнює 6% маси її тіла. При тестуванні на працездатність мишу поміщають у резервуар з водою, де вона під впливом важкості вантажу знаходиться в умовах постійного вимушеного активного плавання (ритмічні рухи передніми і задніми кінцівками). Миша вважається знесиленою при зануренні її під воду більш ніж на 7 секунд. Після закінчення цього часу мишей негайно витягують з води. Реєструють час активного (примусового) плавання тварин. Досліджувані препарати мишам вводили одноразово внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду у вигляді готового розчину в дозі 215 мг/кг (за сумою діючих речовин), з розрахунку: для комплексного фітоекстракту 0,01 мл на 10 г маси тіла, для «Ново-Паситу» - 0,015 мл, за 30 хв до проведення тесту на працездатність (занурення тварин в резервуар із водою). Зазначена доза була визначена

раніше для комплексного фітоекстракту як середньо ефективна. Контрольна група тварин отримувала еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

Фармакологічний ефект комплексного фітоекстракту оцінювали за його впливом на вимірювання тривалості активного плавання мишей по відношенню до контролю: тваринам чи групі мишей, які не отримували жоден препарат, умовно нелікованим, і групі мишей, які отримували препарат порівняння.

5.1.2.2. Результати дослідження

Визначення поведінки мишей в умовах примусового плавання показало, що одноразова внутрішньошлункова (за допомогою металевого зонду у вигляді розчину) доза введення комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» в обсязі 215 мг/кг (за сумою діючих речовин) за 30 хв до проведення досліду не пригнічує працездатність тварин. Як видно з наведених у табл. 5.2 даних, середня тривалість плавання у піддослідних мишей склала: в групі тварин, що одержувала комплексний фітополіекстракт – 284 сек, в групі тварин, які отримували «Ново-Пасит» – 264 сек. За наявними літературними даними [176,177] середня тривалість плавання інтактних мишей не повинна бути нижчою 240 сек. Встановлено також, що при введенні досліджуваних препаратів спостерігається тенденція до посилення працездатності у мишей. Так, тривалість плавання у мишей при введенні комплексного фітоекстракту і «Ново-Паситу» збільшилася в порівнянні з групою контрольних, нелікованих тварин відповідно на 27,2 і 16,0%.

Таким чином, проведений експеримент показав, що застосування комплексного фітоекстракту в дозі (215,0 мг/кг, одноразово внутрішньошлунково) не порушує рухову активність (координацію рухів) у мишей в умовах примусового плавання і в деякій мірі покращує працездатність тварин, що виражається в збільшенні тривалості їх активного плавання відносно контрольних, нелікованих мишей.

У співставленні застосування комплексного фітоекстракту з препаратом порівняння – «Ново-Паситом» статистично достовірних відмінностей в інтенсивності їх впливу на працездатність мишей не виявлено.

Таблиця 5.2.

Вплив комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» на працездатність мишей в умовах примусового плавання

Препарат, доза мг/кг	Тривалість примусового плавання у мишей:	
	сек	ефект, %
Контроль, неліковані	226,5±28,5	-
комплексний фітоекстракт, 215,0	283,9±18,0	27,2±7,0
«Ново-Пасит», 215,0	264,0±14,0	16,0±6,1

Примітки: ефект,% - зміна показників щодо контролю в%.

Кількість тварин у кожній групі - 10.

5.1.3. Взаємодія комплексного фітоекстракту зі снодійними речовинами за методом барбітурового сну у щурів

Можливість визначення клінічної ефективності седативних засобів заснована, у тому числі, і на їх здатності підсилювати ефекти наркозних засобів. У зв'язку з цим у даних експериментах вивчали вплив комплексного фітоекстракту на час настання і тривалість барбітурового сну у щурів.

5.1.3.1. Методи дослідження

Досліди проведені на 15 нелінійних щурах-самцях масою 250-300 г. Тварини перебували в умовах віварію з вільним доступом до води та їжі. Всі тварини були розділені на 3 групи по 5 особин у кожній. На двох групах

щурів вивчали специфічну дію комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу», третя – слугувала контролем (тварини не отримували лікування).

Вплив досліджуваних препаратів на потенціювання ефектів барбітуратів проводили за методом [210] із використанням тіопентал-натрію. Комплексний фітоекстракт і «Ново-Пасит» щурам вводили одноразово внутрішньошлунково з допомогою металевого зонду у вигляді розчину в дозі 215 мг / кг у перерахунку на суму діючих речовин, з розрахунку відповідно 0,1 і 0,15 мл на 100 г маси тіла, за 30 хв до внутрішньошлункового введення тіопенталу (100 мг/кг). За літературними даними обрана доза тіопенталу є оптимальною для виникнення у щурів стабільного наркозу [206]. Контрольна група тварин за 30 хв до введення наркозу отримувала еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

Фармакологічну дію розробленого препарату – комплексного фітоекстракту оцінювали за його впливом на тривалість латентного періоду до настання наркозу (бічне положення щурів) і на його тривалість по відношенню до контрольних, нелікованих тварин і групи щурів, які отримували препарат порівняння.

5.1.3.2.Результати дослідження

У ході експерименту встановлено, що латентний період, необхідний для настання сну (бічне положення тварин), був практично однаковим у щурів, які отримували досліджувані препарати, і в контрольних тварин. Так, середній час настання сну в групі тварин, відповідно: які отримували комплексний фітоекстракт склав $3,77 \pm 0,3$ хв, які отримували «Ново-Пасит» – $3,8 \pm 0,4$ хв, у контрольних, нелікованих тварин – $3,84 \pm 0,4$ хв (табл. 5.3.).

Таблиця 5.3.

Вплив комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» на деякі показники барбітурового сну (тіопентал, 100 мг / кг) у щурів

Препарат, доза мг/кг	Латентний період настання сну:		Тривалість сну:	
	Хв	ефект, %	хв	ефект, %
Контроль, нелікованих	3,84±0,4	-	119,8±21,0	-
комплексний фітоекстракт 215,0	3,77±0,3	-1,8±0,2	168,2±27,3*	55,3±17,1
«Ново-Пасит», 215,0	3,8±0,4	-1,0±0,3	137,4±16,9	26,0±10,6

Примітки: ефект,% - зміна показників щодо контролю в%.

* - $P \leq 0,05$ відносно контролю.

Кількість тварин у кожній групі - 5.

Поряд із цим встановлено, що одноразове внутрішньошлункове введення досліджуваних препаратів за 30 хв до застосування тіопенталу викликає чітке збільшення тривалості сну у щурів у порівнянні з тваринами контрольної групи. Середня тривалість барбітурового сну в групах піддослідних тварин склала: у щурів, які отримували комплексний фітоекстракт – 168,2±27,3 хв, у тварин, які отримували «Ново-Пасит» – 137,4±16,9; це більше ніж у контрольних, нелікованих тварин, відповідно, на 48,4 і 17,6 хв, що відповідає 55,3 і 26%. При цьому слід зазначити, що збільшення тривалості сну в щурів, які отримували комплексний фітоекстракт, відносно контрольних тварин є статистично достовірною.

Таким чином, проведений експеримент показав, що, виходячи з отриманого ефекту (збільшення тривалості барбітурового сну у щурів), комплексний фітоекстракт є препаратом, що володіє чіткою седативною дією, вираженість якого перевершує «Ново-Пасит».

5.2. Дослідження на тваринах з експериментальними моделями патології

Дані дослідження дозволяють в умовах моделі стану тривожності у тварин оцінити седативний і анксиолітичний ефекти комплексного фітоекстракту.

5.2.1. Оцінка седативної дії комплексного фітоекстракту на моделі патологічно тривожного стану у щурів, викликаного ампутацією вібриси

Препарат, що володіє седативною дією, повинен знижувати відчуття тривоги і володіти заспокійливим ефектом [215, 216]. Виходячи з цього, седативну дію комплексного фітоекстракту вивчали на моделі, при якій розвивається патологічна складова тривожної реакції, зумовлена потужним стресогенним чинником – ампутацією вібриси у щурів [211]. Відомо, що вібриси у гризунів мають чітко окреслене і досить потужне представництво в корі головного мозку [217]. Вони компенсують слабкість зорового аналізатора, що необхідно для нормальної просторової орієнтації тварин [210-212]. Їх ампутація (депривація основного сенсорного входу) призводить до підвищення сенсорних порогів, зниження сприйняття і орієнтовної реакції [203]. Як тест для вивчення поведінки тварин в умовах стресу (ампутації вібриси) був обраний загальноприйнятий метод – «відкрите поле», що дозволяє швидко оцінити зазначені показники.

5.2.1.1. Методи дослідження

Дослідження проведені на 30 нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г. Тварини перебували в умовах віварію з вільним доступом до води та їжі. Всі тварини були розділені на 3 групи по 10 особин у кожній. На двох групах щурів вивчали специфічну дію розробленого препарату –

комплексного фітоіекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу», третя – слугувала контролем (тварини не отримували лікування).

Вивчення поведінки тварин проводили за методикою відкритого поля [212] (принцип методу і хід його проведення див. 5.1.1.1.). Протягом експерименту всіх щурів тестували у відкритому полі чотири рази. При першому поміщенні щурів у відкрите поле в них визначали результативну рухову активність (вихідний рівень). Відразу після визначення вихідного рівня щурам проводили ампутацію вібриси (вібриси підстригали так, щоб їх довжина від шкіри до кінчика зрізу становила 2-3 мм) і повторно вимірювали рухову активність через 2, 24 і 48 годин. Досліджувані препарати щурам вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду у вигляді розчину в дозі 215 мг / кг (в перерахунку на суму діючих речовин) з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси тіла для комплексного фітоекстракту або 0,15 мл на 100 г маси тіла для «Ново-Паситу», за 30 хв до повторних тестувань (поміщення тварин у відкрите поле). Дана доза в попередньо проведених експериментах була визначена для комплексного фітоекстракту як середньоефективна. Контрольна група тварин отримувала еквівалентний об'єм фізіологічного розчину. Седативний ефект розробленого препарату оцінювали за його впливом на зміни рухової активності щурів – число горизонтальних (пройдені сектори) і вертикальних (стійки) переміщень – протягом 3 хв їх перебування у відкритому полі, по відношенню до контрольних, нелікованих тварин і групи щурів, які отримували препарат порівняння.

5.2.1.2. Результати дослідження

Проведений експеримент показав, що ампутація вібриси у контрольних щурів викликає стрес, пов'язаний зі зменшенням необхідної сенсорної інформації, внаслідок чого у тварин відзначається зниження горизонтальної і вертикальної рухової активності. Зазначена дія спостерігається вже через 2 години після ампутації вібриси, максимальне

зниження активності реєструється через 24 години, в подальшому – до 48 годин відзначається тенденція до її відновлення (табл. 5.4., рис. 5.2.).

Таблиця 5.4.

Седативна дія комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» в умовах моделі тривожності щурів (викликаної ампутацією вібриси), дослідженням методом «відкритого поля»

Препарат, доза мг/кг	Період спостережен ня	Горизонтальні переміщення (пройдені сектори):		Вертикальні переміщення (стійки):	
		кількість протягом 3-х хвилин	ефект, %	кількість протягом 3-х хвилин	ефект, %
Контроль, нелікованих	Початковий рівень	53,6±1,7	-	9,7±1,1	-
	Через 2 години	15,6±4,1*	-70,8±7,8	1,7±0,7*	-84,1±6,5
	Через 24 години	4,9±0,71*	-90,4±1,9	0,2±0,1*	-98,3±1,1
	Через 48 години	25,4±4,9*	-60,8±6,0	1,8±1,0*	-89,8±7,8
комплексний фітоекстракт, 215,0	Початковий рівень	50,3±1,5	-	8,5±1,3	-
	Через 2 години	24,3±2,3*	-50,9±5,5	4,9±1,2	-53,2±13**
	Через 24 години	12,3±1,6*	-75,6±3,1**	1,3±0,5*	-91,1±4,1
	Через 48 години	42,3±2,1*	-18,3±3,5**	6,0±0,8	34,1±5,3**
«Ново- Пасит», 215,0	Початковий рівень	54,1±2,9	-	8,9±1,3	-
	Через 2 години	23,8±1,1*	-55,1±2,8	4,6±1,5*	71,3±10,1
	Через 24 години	12,6±2,1*	-75,8±4,3**	1,1±0,7*	82,2±10,2
	Через 48 години	40,0±3,8*	-31,9±7,6**	6,6±0,8	29,6±8,9**

Примітки: ефект,% - зміна показників щодо вихідного рівня в%.

* - $P \leq 0,05$ відносно вихідного рівня.

** - $P \leq 0,05$ відносно контролю.

Кількість тварин у кожній групі - 10.

У групах щурів, які отримували комплексний фітоекстракт і препарат порівняння – «Ново-Пасит» (по 215 мг/кг, за одноразового

внутрішньошлункового за 30 хв до поміщення тварин у відкрите поле), спостерігається схожа з контрольними, нелікованими тваринами картина розвитку стресу.

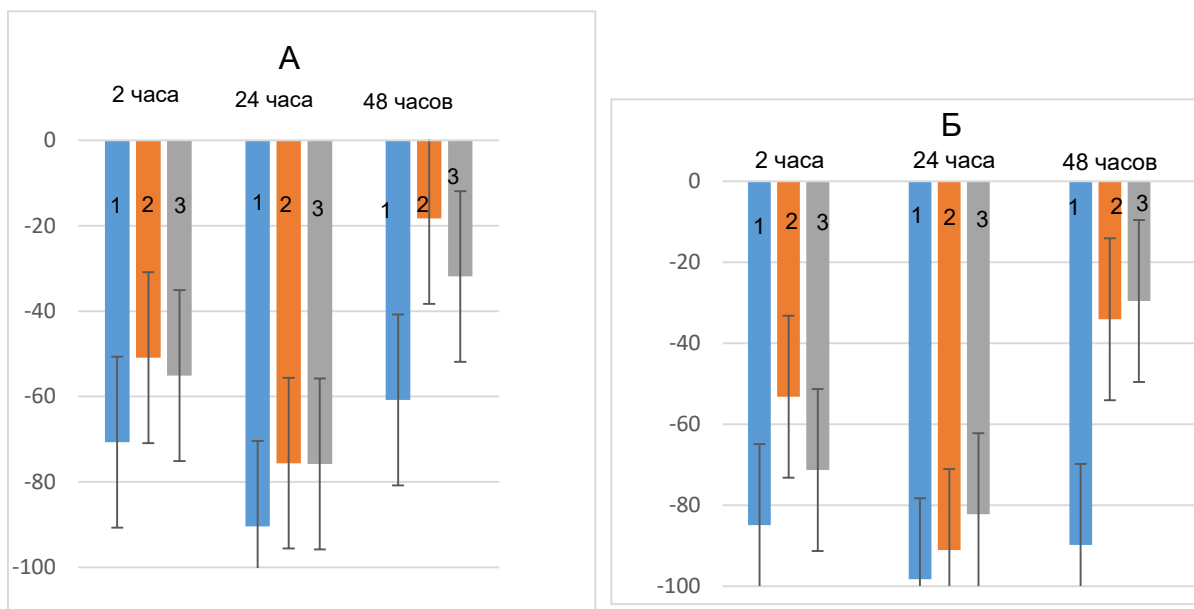


Рис.5.2. Вплив комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» на рухову активність (РА) щурів в умовах моделі тривожності (ампутація вібриси).

А - горизонтальні переміщення. Б - вертикальні переміщення.

1- контроль, нелікованих; 2 – комплексний фітоекстракт
3 – «Ново-Пасит».

По осі абсцис - періоди часу визначення (РА) після ампутації вібриси.

По осі ординат: на А - число пройдених секторів, на Б - число стійок сумарно за 3 хв спостереження у відкритому полі в % щодо їх вихідного рівня.

Однак застосування препаратів значною мірою запобігає силі прояву стресу, що виражається меншою пригніченістю рухової активності в лікованих щурів у порівнянні з групою контрольних тварин. Так, попереднє введення комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» вже при першому повторному тестуванні тварин у відкритому полі (через 2 год) знижує число пройдених секторів (горизонтальні переміщення), відповідно, на 50,9 і 55,1% відносно вихідного рівня проти 70,8% у

контрольних тварин. Надалі ця тенденція зберігається і до 24 та 48 год спостереження є статистично значущою. Число стійок (вертикальні переміщення) у піддослідних щурів під впливом досліджуваних препаратів знижується в значно меншій мірі, ніж у контрольних тварин (комплексний фітоекстракт – 53,2; 91,1; 34,1%, «Ново-Пасит» – 71,3; 82,2; 29,6%, контроль – 84,1; 98,3; 89,8, відповідно, на 2-у, 24-у і 48-у годину спостереження). Статистично значимі величини при тестуванні тварин по даному компоненту рухової активності зустрічаються на 2 і 48 годину спостереження у щурів, які отримували комплексний фітоекстракт, і на 48 годину спостереження у щурів, які отримували «Ново-Пасит».

Відомо, що в патогенезі тривожних станів велике значення має неспецифічне збудження [212, 213], яке при збудженні підтримується природним рівнем активності сенсорних систем, тобто збудженням з боку органів чуття. Депривація або, навпаки, зусилля активності з боку сенсорних систем, порушує нормальну роботу мозку. У механізмах адаптації мозку при сенсорній депривації важливу роль відіграє посилення слабкого сигналу за рахунок неспецифічного підвищення збудливості відповідних структур; ймовірно також підвищення активності інших сенсорних систем, які прагнуть по інших каналах компенсувати брак інформації [203].

Проведений експеримент показав, що застосування комплексного фітоекстракту при одноразовому внутрішньошлунковому введенні в дозі 215 мг/кг за сумою діючих речовин (середньоефективна доза) в значній мірі усуває пригнічення рухової активності тварин, викликане стресом. Це вказує на те, що комплексний фітоекстракт в умовах моделі тривожного стану у щурів проявляє чітку седативну дію за рахунок посилення слабкого сенсорного сигналу і, можливо, підвищення активності інших сенсорних систем, які прагнуть по інших каналах компенсувати недолік інформації, викликаний ампутацією вібриси. У співставленні з препаратом порівняння – «Ново-Паситом» при застосуванні його в порівнянні з комплексним

фітоекстрактом статистично достовірних відмінностей у рівні їх седативної активності не виявлено.

5.2.2. Оцінка анксиолітичної дії комплексного фітоекстракту на моделі тривожності у мишей

В основі даної моделі лежить відомий рефлекс уникнення мишами яскраво освітленого простору (світлого відсіку камери) [215], а також фактор висоти («зоровий обрив»), при якому тварина відчуває страх перед можливістю впасти, провалитися на "відсутній" (прозорий) підлозі при переході з темного в світлий відсік камери [215,216]. Модель дозволяє кількісно оцінити анксиолітичний ефект досліджуваного препарату (щодо збільшення часу перебування тварин у світлому відсіку камери) і віднести його (щодо зміни числа перебіжок тварин між темним і світлим відсіками камери) до близьких класичних (збільшення числа перебіжок) або атипових (зменшення числа перебіжок) анксиолітик [217].

5.2.2.1. Методи дослідження

Досліди проведені на 70 безпородних мишах обох статей масою 18 -22 г при природному освітленні (з 9 до 12 години ранку). До досліду тварини знаходилися в умовах віварію з вільним доступом до води та їжі. Всі тварини були розділені на 7 груп по 10 особин у кожній. На шести групах щурів вивчали специфічну дію відповідно комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» в дозах 0,5; 1,0 і 2,0 мл/кг, сьома група слугувала контролем (тварини не отримували лікування).

Вивчення поведінки тварин в умовах моделі тривожності проводили за методом [179]. Для проведення експерименту була сконструйована камера, що складалася з двох відсіків – світлого і темного. Світлий відсік камери являє собою куб ребром 15 см, зроблений з прозорого органічного скла, передня стінка якого служить дверима, а задня є спільною з передньою

стілкою темного відсіку. На рівні підлоги є овальний прохід (висотою 6 см, шириною 8 см). Темний, світлонепроникний відсік вищий від світлового на 10 см, і в 2 рази довший при тій же ширині. Світлий відсік не торкається столу, а нависає над ним на висоті 10 см. Тварин поміщали в світловий відсік камери і тестували протягом 3 хв, упродовж яких реєстрували в них час перебування у світлому відсіку і кількість пробіжок між світлим і темним відсіками камери.

Досліджувані препарати щурам вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду у вигляді розчину в дозах 92, 184 і 368 мг/кг (в перерахунку на суму діючих речовин) з розрахунку 0,005; 0,01 і 0,015 мл на 10 г маси тіла за 30 хв до тестування (поміщення тварин у світлий відсік камери). Контрольна група тварин отримувала еквівалентний обсяг фізіологічного розчину. Про наявність анксиолітичного ефекту в досліджуваних препаратах судили по збільшенню часу перебування тварин у світлому відсіку камери в порівнянні з контрольними, нелікованими тваринами. Зміна числа перебіжок мишей між відсіками камери під впливом досліджуваних препаратів розцінювали як приналежність їх до атипових (зменшення) або близьких до класичних (збільшення) анксиолітиків.

5.2.2.2. Результати дослідження

Результати дослідження з представлених в табл.5.5. і на рис. 5.3 даних видно, що одноразове введення мишам комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» проведене за 30 хв до тестування у них стану тривожності, супроводжується статистично значущим збільшенням часу перебування тварин у світлому відсіку і зменшенням кількості перебіжок між світлим і темним відсіками камери в порівнянні з контрольними, нелікованими тваринами.

Таблиця 5.5.

Анксиолітична дію комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» в умовах моделі тривожності на мишах

Препарат	Доза мг/кг	Час перебування мишей у світлому відсіку камери:		Переміщення мишей між темним і світлим відсіками камери:	
		сек.	ефект, %	число переміщення	ефект, %
Контроль, нелікованих		78,7±10,1	-	7,9±1,3	-
комплексний фіто- екстракт	92,0	107,0±6,7*	+36,0±8,5	5,4±0,6	-35,4±10,0
	184,0	116,7±6,2*	+48,3±7,9	4,2±0,4*	-46,8±4,9
	368,0	136,6±9,5*	+73,6±12,1	4,0±0,7*	-49,5±9,2
«Ново- Пасит»	92,0	107,1±7,7*	+35,4±10,0	5,3±0,6*	-33,0±7,7
	184,0	118,2±7,5*	+49,5±9,8	4,2±0,5*	-46,8±6,5
	368,0	132,8±8,5*	+68,7±10,8	3,9±0,7*	-50,8±8,7

Примітки: ефект,% - зміни показників щодо контролю в%.

* - $P \leq 0,05$ відносно контролю. Кількість тварин у кожній групі – 10

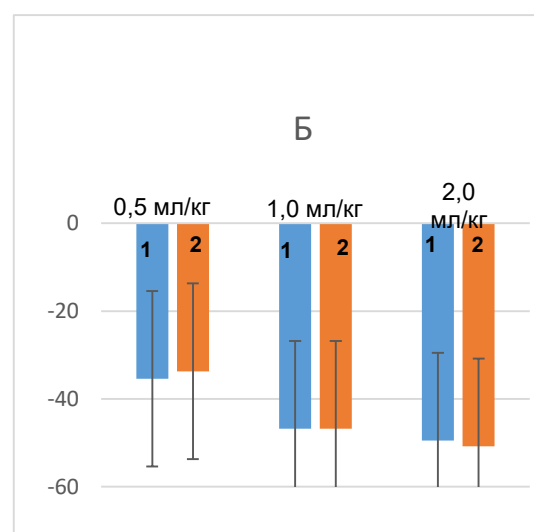
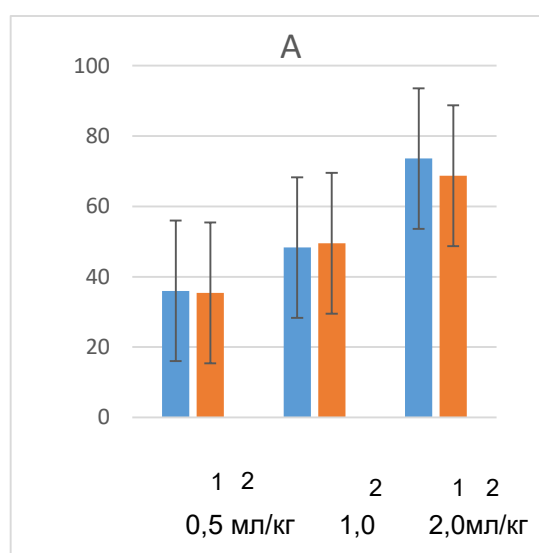


Рис. 5.3. Вплив комплексного фітоекстракту і препарату порівняння – «Ново-Паситу» на поведінку мишей в умовах моделі тривожності.

1 – комплексного фітоекстракту; 2 – «Ново-Паситу».

По осі абсцис – доза препарату при одноразовому внутрішньо-шлунковому застосуванні. По осі ординат: на А – час перебування мишей у світлому відсіку камери, на Б – кількість переміщень мишей між світлим і темним відсіками камери сумарно за 3 хв спостереження в % щодо контролю.

Так, по відношенню до контрольних, нелікованих тварин тривалість знаходження мишей у світлому відсіку камери за 3 хв тестування збільшилася, залежно від вживаної дози, на 36, 48 і 74% (при введенні комплексного фітоекстракту) і на 35, 49 і 69% (при введенні «Ново-Паситу»). Зменшення числа перебіжок мишей між відсіками камери при застосуванні комплексного фітоекстракту склало, відповідно, 35, 47 і 49%, «Ново-Паситу» – 33, 47 і 51%, відносно групи контрольних тварин. Слід зазначити, що зареєстроване посилення відповідної реакції в залежності від збільшення дози досліджуваних препаратів не є статистично достовірним. Таким чином, проведений експеримент показав, що застосування комплексного фітоекстракту у вивчених дозах надає запобіжну дію на появу страху і тривоги у мишей (збільшення тривалості перебування лікованих мишей в освітленому відсіку, щодо групи контрольних тварин), що вказує на наявність у розробленого препарату анксиолітичної дії.

Зниження числа перебіжок мишей між освітленим і темним відсіками камери під впливом комплексного фітоекстракту дозволяє віднести останній до атипових анксиолітиків. У порівнянні з препаратом порівняння – «Ново-Паситом» при застосуванні його в рівних із комплексного фітоекстракту дозах статистично достовірних відмінностей в рівні їх анксиолітичної активності не виявлено.

5.3. Дослідження хронічної токсичності комплексного фітоекстракту

За власними даними фармакологічних досліджень комплексний фітоекстракт володіє чітко вираженою седативною дією та відноситься до нетоксичних речовин (V- клас токсичності).

5.3.1. Методи дослідження

Дослідження з вивчення хронічної токсичності комплексного фітоекстракту проводили на нелінійних статевозрілих щурах вихідною масою 135 - 160 г. Хронічну токсичність оцінювали при щоденному пероральному введенні в дозах 1,0 мл /кг (ефективна доза) і 5,0 мл/кг (1/2 від максимально випробуваної в дослідах з вивчення гострої токсичності) протягом двох місяців. Враховуючи наявність у препараті спирту етилового, контролем служили щурі, які отримували 5 мл/кг спирту етилового 35%. Отримані результати порівнювали з показниками інтактних тварин (інтактний контроль). У кожній експериментальній групі нараховувалось по 10 тварин (5 самців і 5 самок).

Для визначення параметрів хронічної токсичності використовували фізіологічні показники життєдіяльності. Фізіологічні методи дослідження включали спостереження за поведінковими реакціями, загальним станом, споживанням їжі і води, реєстрацією динаміки ваги тварин, функціонального стану центральної нервової системи. Оцінку впливу фітоекстракту на стан ЦНС проводили у щурів методом "відкритого поля" [212]. Достовірність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стюдента [182] при рівні значущості 95% ($P \leq 0,05$).

5.3.2. Результати дослідження

У результаті проведених досліджень встановлено, що тривале введення фітоекстракту не змінює поведінкових реакцій щурів. При введенні фітоекстракту та проведенні експериментів у тварин дослідних груп спостерігалася природна зворотна реакція. Стан шкірних покривів, слизових оболонок, споживання їжі і води у дослідних тварин та тварин контрольної груп не відрізнялися від інтактних тварин. У самок всіх груп патологічних виділень і видимих відхилень слизової піхви не спостерігалось.

До кінця експерименту тварини всіх експериментальних груп мали достовірну прибавку ваги (табл. 5.6). Однак, у самців щурів, які отримували

фітекстракт, прибавка ваги через 2 місяці склала 25 % (доза 1 мл /кг) і 37% (доза 5 мл/кг). При цьому інтактні самці прибавляли у вазі на 21,6 %, ті що одержували спирт – на 10,0 %. У самок контрольної групи і самок, які отримували фітоекстракт в дозі 1 мл/кг, збільшення ваги в середньому становило 13-14 %, тоді як при введенні фітоекстракту в дозі 5 мл/кг прибавка ваги становила значно більше – до 31 %.

Вивчення функціонального стану центральної нервової системи щурів проводили з використанням методики "відкритого поля". Отримані результати засвідчують про різні тенденції зміни показників у ході експерименту в самців і самок щурів усіх груп.

Таблиця 5.6

Зміна ваги тіла щурів при хронічному впливі комплексного фітоекстракту

Групи експерименту	Період спостереження	Маса щурів, г	
		Самці	Самки
Інтактний контроль	Вихідні дані	153,13 ± 2,98	147,50 ± 6,12
	2 тижні	158,75 ± 2,45	58,13 ± 6,05
	1 місяць	185,60 ± 4,86 ¹	173,13 ± 7,50 ¹
	2 місяці	186,25 ± 5,81 ¹	168,75 ± 8,60
Контроль (спирт етиловий 35%)	Вихідні дані	143,75 ± 1,83	151,25 ± 4,79
	2 тижні	136,25 ± 4,09 ²	126,88 ± 4,53 ^{1,2}
	1 місяць	162,50 ± 3,54 ^{1,2}	160,00 ± 8,07
	2 місяці	158,75 ± 4,41 ^{1,2}	171,88 ± 7,90 ¹
комплексний фітоекстракт доза 1 мл/кг	Вихідні дані	155,00 ± 5,09	139,40 ± 4,27
	2 тижні	146,25 ± 4,41 ²	137,50 ± 4,23 ²
	1 місяць	181,90 ± 5,50 ^{1,3}	157,50 ± 5,59 ¹
	2 місяці	198,10 ± 5,08 ^{1,3}	157,50 ± 6,61 ¹
комплексний фітоекстракт доза 5 мл/кг	Вихідні дані	157,50 ± 3,27	147,50 ± 5,09
	2 тижні	150,00 ± 4,72 ³	145,60 ± 4,95 ³
	1 місяць	188,10 ± 4,72 ³	171,30 ± 7,66 ¹
	2 місяці	216,30 ± 5,24 ^{1,2,3}	193,10 ± 3,65 ^{1,2,3}

Примітка : ¹ - відмінності достовірні щодо вихідних даних

² - відмінності достовірні щодо інтактного контролю

³ - відмінності достовірні щодо контролю на спирт

Так, у інтактних тварин самців із групи спиртового контролю на протязі терміну спостереження горизонтальна і вертикальна рухова

активність знижувалася щодо вихідного фону. Однак, через 2 місяці у самців, які отримували спирт, зменшення горизонтальної та вертикальної рухової активності було достовірно нижче показників інтактних тварин.

Таблиця 5.7

Показники функціонального стану ЦНС самців щурів, які отримували комплексний фітоекстракт

Показники	Інтактний контроль	Контроль (спирт етиловий 35%)	комплексний фіто-екстракт 1 мл/кг	комплексний фіто-екстракт 5 мл/кг
Вихідні дані				
Кількість: пересічених квадратів	28,63 ± 2,43	25,75 ± 1,00	22,63 ± 1,38	23,13 ± 2,24
стійок	5,00 ± 1,18	4,88 ± 0,92	3,63 ± 0,80	4,25 ± 1,24
умивань	0,88 ± 0,30	1,13 ± 0,40	1,13 ± 0,40	2,13 ± 0,52
дефекацій	1,25 ± 0,65	1,38 ± 0,46	0,88 ± 0,35	1,25 ± 0,16
Два тижні				
Кількість: пересічених квадратів	20,88 ± 1,91 ¹	27,13 ± 2,79	27,25 ± 2,23	16,13 ± 2,49 ^{1,3}
стійок	2,38 ± 0,75	4,88 ± 1,43	10,38 ± 1,00 ^{1,2,3}	5,50 ± 1,12 ²
умивань	0,25 ± 0,16	0,38 ± 0,18	0,38 ± 0,18	0,50 ± 0,27
дефекацій	1,75 ± 0,73	2,25 ± 1,29	0,00 ± 0,00 ²	1,50 ± 1,00
1 місяць				
Кількість: пересічених квадратів	11,63 ± 2,97 ¹	12,88 ± 2,92 ¹	20,50 ± 2,78 ¹	18,25 ± 3,34 ¹
стійок	1,00 ± 0,46 ¹	1,25 ± 0,56 ¹	3,25 ± 0,75	3,88 ± 1,34
умивань	0,87 ± 0,52	0,75 ± 0,25	1,00 ± 0,33	0,88 ± 0,23
дефекацій	1,25 ± 0,53	0,50 ± 0,27	0,88 ± 0,23	1,88 ± 1,04
2 місяці				
Кількість: пересічених квадратів	17,25 ± 0,68 ¹	7,38 ± 1,57 ¹	17,13 ± 2,01 ^{1,3}	11,13 ± 2,88 ^{1,3}
стійок	2,13 ± 0,58 ¹	0,13 ± 0,13 ^{1,2}	2,13 ± 0,61 ³	1,63 ± 0,98
умивань	1,00 ± 0,38	0,75 ± 0,41	1,13 ± 0,44	0,63 ± 0,32
дефекацій	0,63 ± 0,37	1,25 ± 0,49	0,88 ± 0,52	0,75 ± 0,41

Примітка : ¹ - відмінності достовірні щодо вихідних даних

² - відмінності достовірні щодо інтактного контролю

³ - відмінності достовірні щодо контролю на спирт

Вплив фітополіекстракту в дозі 1 мл/кг через 2 тижні призводить до значного збільшення числа стійок у самців (відмінності достовірні щодо як

вихідних даних, так і показників контрольних тварин). При введенні препарату самцям щурів в дозі 5 мл/кг достовірні зміни показників щодо інтактного контролю відсутні (табл. 5.7).

На відміну від самців, у самок щурів із групи спиртового контролю не спостерігалось пригнічуючого впливу спирту на ЦНС. Навпаки, через два тижні впливу в цій групі спостерігали достовірне (щодо вихідного і інтактного контролю) збільшення числа пересічених квадратів і стійок. У дослідних групах самок на протязі всього терміну спостереження простежується тенденція до збільшення рухової активності (відмінності достовірні щодо інтактного контролю через 1 і 2 місяці) (табл. 5.8).

Згідно даних експериментальних досліджень (табл. 5.7 та табл. 5.8) комплексний фітоекстракт у субтоксичній дозі не змінює функціонального стану ЦНС самців щурів, в ефективній – підвищує їх дослідницьку активність. Певна збудлива дію на самок, найімовірніше, обумовлена вмістом етилового спирту [186,187].

Підводячи підсумки проведених досліджень, можна зробити висновки:

- у процесі експериментальних досліджень протягом двох місяців ознак хронічної токсичності не встановлено;
- двомісячне введення комплексного фітоекстракту в ефективній і субтоксичній дозі (1 мл/кг та 5 мл/кг відповідно) не спричиняють токсичного впливу на загальний стан, поведінку та приріст ваги тварин;
- комплексний фітоекстракт у субтоксичній дозі не змінює функціонального стану ЦНС самців щурів, а в ефективній – підвищує їх дослідницьку активність. Певна збудлива дія на самок обумовлена вмістом етилового спирту.

Таблиця 5.8

Показники функціонального стану ЦНС самок щурів, які отримували комплексний фітоекстракт

Показники	Інтактний контроль	Контроль (спирт етиловий 35%)	Фіто-екстракт 1 мл/кг	Фіто-екстракт 5 мл/кг
Вихідні дані				
Кількість: пересічених квадратів	28,88 ± 3,45	25,50 ± 1,94	24,88 ± 2,57	23,88 ± 2,08
стійок	5,35 ± 1,44	4,88 ± 1,34	3,63 ± 1,00	3,63 ± 1,36
умивань	1,00 ± 0,33	1,50 ± 0,63	1,49 ± 0,27	2,38 ± 0,80
дефекацій	1,00 ± 0,50	1,13 ± 0,44	1,25 ± 0,31	1,63 ± 0,37
Два тижня				
Кількість: пересічених квадратів	19,13 ± 5,80	44,13 ± 3,52 ^{1,2}	29,63 ± 3,81 ³	34,00 ± 4,46
стійок	3,75 ± 1,70	12,13 ± 1,73 ^{1,2}	7,50 ± 1,32 ³	8,00 ± 1,60
умивань	1,00 ± 0,76	0,50 ± 0,19	2,75 ± 0,70 ^{1,3}	1,63 ± 0,80
дефекацій	2,38 ± 0,75	0,13 ± 0,13 ¹	1,38 ± 0,65 ³	2,50 ± 0,89 ³
1 місяць				
Кількість: пересічених квадратів	12,00 ± 1,97 ¹	23,50 ± 5,89	27,50 ± 3,91 ²	34,38 ± 4,59
стійок	0,75 ± 0,41 ¹	2,75 ± 1,53	5,25 ± 1,00 ²	8,75 ± 1,95 ^{2,3}
умивань	0,50 ± 0,27	1,00 ± 0,53	3,13 ± 0,52 ^{1,2,3}	1,75 ± 0,49 ²
дефекацій	2,63 ± 1,10	0,50 ± 0,27	3,75 ± 1,03 ^{1,3}	1,75 ± 0,98
2 місяця				
Кількість: пересічених квадратів	15,57 ± 1,82 ¹	19,13 ± 6,25	22,38 ± 4,29	22,00 ± 1,67 ²
стійок	0,87 ± 0,70 ¹	2,63 ± 0,41	5,75 ± 1,49 ²	7,88 ± 1,34 ^{2,3}
умивань	1,43 ± 0,63	1,13 ± 0,48	1,75 ± 0,41	1,25 ± 0,31
дефекацій	1,14 ± 0,59	0,88 ± 0,35	1,88 ± 0,61	1,00 ± 0,50

Примітка : ¹ - відмінності достовірні щодо вихідних даних² - відмінності достовірні щодо інтактного контролю³ - відмінності достовірні щодо контролю на спирт

Висновки до розділу 5

1. Відповідно до вимог наказу №220 МОЗ України від 19.08.2000 р. [6] та, враховуючи Керівництво з експериментального (доклінічного) вивчення нових фармакологічних речовин [182], комплексний фітоекстракт був віднесений до групи 4.2.3. - Нові композиції, що мають у своєму складі офіційні види природної сировини та / або містять дозволені до медичного застосування компоненти.

У зв'язку з цим, до переліку доклінічних досліджень комплексного фітоекстракту були включені експерименти, спрямовані на виявлення та кількісну оцінку специфічних фармакологічних ефектів, характерних для тих, які входять до його складу діючих речовин.

2. У ході проведених експериментальних досліджень встановлено, що одноразове і курсове (14 діб) внутрішньошлункове застосування комплексного фітоекстракту (215,3 мг/кг за сумою діючих речовин – середньоефективна доза) як у інтактних тварин, так і в тварин із моделями, близькими по патогенезу до відповідної клінічної патології, справляюча фармакологічна дія, обумовлена властивостями рослин, які входять у його склад, з переважно седативними і анксиолітичними ефектами.

Седативна дія комплексного фітоекстракту виражається в зниженні рухової активності щурів (метод «відкрите поле»), а також в усуненні пригнічуючої дії на поведінку щурів в умовах моделі тривожного стану, викликаного у них ампутацією вібриси.

3. Комплексний фітоекстракт спричиняє запобіжну дію на виникнення страху і тривоги (анксиолітична дія), що виражається в збільшенні тривалості перебування тварин в освітленому відсіку камери, в умовах моделі тривожності у мишей, потенціює тривалість тіопенталового сну у щурів, а також спричиняє деяке посилення дієздатності тварин за рахунок покращення енергозабезпечення м'язової тканини, що виражається в

подовженні тривалості плавання у мишей в умовах максимального фізичного навантаження (примусове плавання).

За впливом на ЦНС і на переносимість фізичних навантажень комплексний фітоекстракт відповідає і навіть незначно перевершує ефекти, порівняно з розчином «Ново-Паситу», який застосовується при лікуванні хворих неврастенією і неврастенічними реакціями, а також при тривалих фізичних і нервових навантаженнях на організм.

4. Отримані результати дозволяють стверджувати про доцільність застосування комплексного фітоекстракту для розроблення найрізноманітніших лікарських засобів із чітко вираженою седативною та анксиолітичною дією, а також засобу, що збільшує здатність організму переносити фізичні та емоційні навантаження.

Роботи опубліковані до розділу 5

1. Дячок І.Л., Піняжко О.Р., Іванків О.Л. Дослідження хронічної токсичності комплексного фітополіекстракту седативної дії // Фармацевтичний журнал. – 2017. – № 5-6. С.42-48. Фаховий .
2. Дячок І.Л., Піняжко О.Р., Іванків О.Л. Вивчення деяких параметрів хронічної токсичності комплексного фітоекстракту // Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: Матеріали І Міжнародної науково практичної конференції (30 – 31 березня 2017 року) / у 2 – х томах: НФаУ2017 – Т.1 – 119 -123 (Серія «Наука»).
3. Дячок І.Л., Піняжко О.Р., Іванків О.Л. Фармакологічні дослідження комплексних фітозасобів седативної дії // Матеріали міжнародної науково – практичної конференції «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності» м. Дніпро, 13 – 14 січня 2017р. – С.23.
4. Дячок І.Л., Піняжко О.Р., Іванків О.Л. Фармакологічні дослідження фітополіекстракту седативної дії // Матеріали XXXIII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів. «Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» 8 квітня 2016 р. Харків. С. 73.

6. ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Обґрунтовано склад, розроблено технологію одержання та методи контролю якості комплексного фітоекстракту седативної дії, одержаного з лікарської рослинної сировини.

2. Запропоновано методологію розрахунку розмірів частинок твердої фази при сумісному екстрагуванні багатокомпонентної суміші лікарської рослинної сировини з метою одночасного досягнення рівноваги при одержанні комплексного фітоекстракту.

3. На основі отриманих кінетичних рівнянь та експериментальних даних кінетики екстрагування виведено аналітичні залежності коефіцієнта масопереносу – k , та коефіцієнта вимивання – A від розміру частинки рослинної сировини – d , $k=f(d)$ та $A=f(d)$ для різних морфологічних органів.

4. Розроблено та апробовано методики якісного та кількісного визначення біологічно активних сполук у комплексному фітоекстракті седативної дії, зокрема, методику ідентифікації ізовалеріанової кислоти в комплексному фітоекстракті седативної дії методом газової хроматографії та нову чутливу, економічну та експресивну методику кількісного визначення органічних кислот у комплексному фітоекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислоту.

5. Проведено валідацію методик кількісного визначення діючих речовин, які забезпечують фармакологічну дію лікарського засобу.

6. В результаті проведених експериментальних досліджень встановлено, що справляюча фармакологічна дія обумовлена властивостями рослин, які входять у його склад, з переважно седативними і анксиолітичними ефектами.

Седативна дія комплексного фітоекстракту виражається в зниженні рухової активності щурів (метод «відкрите поле»), а також в усуненні пригнічуючої дії на поведінку щурів в умовах моделі тривожного стану, викликаного у них ампутацією відрісу.

7. Комплексний фітоекстракт спричиняє запобіжну дію на виникнення страху і тривоги (анксіолітична дія), що виражається в збільшенні тривалості перебування тварин в освітленому відсіку камери в умовах моделі тривожності у мишей, потенціює тривалість тіопенталового сну в щурів, а також спричиняє деяке посилення дієздатності тварин за рахунок покращення енергозабезпечення м'язової тканини, що виражається в подовженні тривалості плавання у мишей в умовах максимального фізичного навантаження (примусове плавання). За впливом на ЦНС і на переносимість фізичних навантажень комплексний фітоекстракт відповідає і навіть незначно перевершує ефекти порівняно з розчином Ново-Паситу, який застосовується при лікуванні хворих неврастенією і неврастенічними реакціями, а також при тривалих фізичних і нервових навантаженнях на організм.

8. Отримані результати дозволяють стверджувати про доцільність застосування комплексного фітоекстракту для розроблення найрізноманітніших лікарських засобів із чітко вираженою седативною та анксіолітичною дією, а також засобу, що збільшує здатність організму переносити фізичні та емоційні навантаження.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Das-Munshi J., Goldberg D., Bebbington P.E. et al. // The British J. of Psychiatry. – 2008. – Vol. 192. – P. 171-177.
2. Албаков А.Ю. Создание, технологические исследования и стандартизация многокомпонентных фитопрепаратов антистрессорного действия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Пятигорск, 2004. - 20 с.
3. Бондаренко О.В. Розробка і стандартизація промислових технологій виробництва твердих лікарських форм на основі валеріани лікарської, м'яги перцевої і меліси: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. - Х., 2008. - 20 с.
4. Турищев С.Н. Современная фитотерапия. - М.: ГЭОТАР - Медицина, 2007. – 448 с.
5. Degner D., Grohmann R., Kropp S. et al. // Pharmacopsychiatry. – 2004. – Vol. 37, Suppl. 1. – P. 39-45.
6. Дмитрик Е. Аптечный рынок Украины по итогам I кв. 2016г.: HelicopterView / Е. Дмитрик // Еженедельник Аптека. – 2016. – № 1039 (18). – С. 12-13.
7. Григорьева Л. М., Пястолова С. О. О использовании лекарственных средств растительного происхождения в психиатрии. Современные тенденции развития науки и технологий. 2016. № 1-3. С. 25-29.
8. С. А. Гладишева, Аль Насир Эйяд, В. В. Луць, А. П. Гудзенко. Аналіз стану та перспективи розвитку седативних лікарських засобів на сучасному фармацевтичному ринку України. Електронний ресурс. <http://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/13395/1/c114-119.pdf>
9. Державний реєстр лікарських засобів України. URL : <http://www.drlz.kiev.ua>
10. Шпичак О.С. Маркетингові дослідження фармацевтичного ринку седативних лікарських засобів рослинного походження для використання у спортивній медицині. Вісник Фармації 3(75)2013.

11. Бурчинский С. Г. Депрессивные и дистимические расстройства при психосоматической патологии и пути их фармакологической коррекции. *Практикуючий лікар*. 2015. № 2. С. 51-56.
12. Савельева О. В., Владимирова. Анализ номенклатуры седативных та снодійних препаратів в Україні. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 3. [Електронний ресурс.edu.ua/index.php/pharm-chas/article/view/4932/4548](http://edu.ua/index.php/pharm-chas/article/view/4932/4548)
13. Бурчинский С. Г. Препараты валерианы как комплексные корректоры психоэмоциональных и когнитивных расстройств в неврологии: новые возможности. *Практикуючий лікар*. 2015. № 3. С. 49-53.
14. Гетало О. В. Ретроспективне дослідження структури українського ринку препаратів на основі валеріани лікарської . *Електронний ресурс.edu.ua/wp-content/uploads/2015/02/*
15. Иванов А. И. Принципы обеспечения качества производства лекарственных средств на современном этапе развития мирового фармацевтического рынка / А. И. Иванов // *Фармация*. – 2009. – №2. – С.21–23.
16. Bulgakov V., Bandura V., Arak M., Olt J. Intensification of rapeseed drying process through the use of infrared emitters. *Agronomy Research*. 2018. 16(2). P. 349-356.
17. Bandura V., Mazur V., Yaroshenko L., Rubanenko O. Research on sunflower seeds drying process in a monolayer tray vibration dryer based on infrared radiation. *Inmateh agricultural engineering*. Vol. 57, №. 1. 2019. P.233-242.
18. Александров А.В. Статистическое управление отклонениями / А.В. Александров // *Фармацевтическая отрасль*. – 2011. – № 3 (26). – С. 100–104.
19. Алгоритмизация радиационного анализа в контроле качества лекарственного растительного сырья / А.А. Абрамов, Ю.П. Борисов, Н.В. Петров, В.А. Попков // *Вестн. моск. ун-та. – Сер. 2. Химия*. – 2002. – Т. 43, № 3. – С. 194–199.

20. Кравченко Н.В. Про співвідношення розмірів частинок при екстрагуванні суміші різних видів рослинної сировини, що входять у склад проносного збору // Фармацевтичний журн . – 1978. - №3. –С 74-79.
21. Дячок В. В., Мальований М. С. Вплив подрібнення на коефіцієнт масопереносу при екстрагуванні кореневищ з коренями / Вісник Вінницького політехнічного інституту. 2009. № 6, С. 125-128.
22. Хрещенюк С.І. Вплив способу подрібнення на процес екстрагуванні лікарської рослинної сировини / С.І. Хрещенюк, Г.О. Гончаренко, О.П. Прокопенко // Фармацевтичний журн. - 1974.- №2. –С. 61-63.
23. Оптимізація технології екстракції ліпофільних комплексів з лікарської рослинної сировини. (Повідомлення III). Подрібнення рослинної сировини та оцінка її якості для екстрагування / С. В. Гарна [та ін.] // Запорозж. мед. журн. - 2011. - Т. 13, N 1. - С. 55-57.
24. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.; Доп. 2., 2008. – 620 с.; Доп. 3., 2009. – 280 с.; Доп. 4., 2011. – 540 с.
25. Технологічні дослідження у розробці лікарських форм з рослинної сировини / Л. І. Вишневська, Ю. Г. Пісковацький, В. К. Яковенко та ін. // Запорозжский медицинский журнал. – 2007. – № 4. – С. 167–170.
26. Технология и стандартизация лекарств: в 2 т. / Под ред. В. П. Георгиевского, Ф. А. Конева. – Х.: ООО «РИРЕГ», 1996. –Т. 1. – 778 с.
27. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья. - М.: Медицина, 1976. – 203 с.
28. Чуешов В.И. Промышленная технология лекарств. Т.1. – Харьков: Изд-во. УкрФа , 1999. – 557 с.
29. Казуб В.Т. Кошкарлова А.Г. Интенсификация процессов экстрагирования импульсным электрическим полем высокой напряженности / Вестник ТГТУ.2014. Том 20. № 3 – С. 496-501.

30. Ряшко Г.М. Перспективы внедрения процесса экстрагирования в электромагнитном поле / Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій. - Випуск 32. - 2008 - С. 217-221.
31. Бойко В. Д., Мизенко И. В. Экстракция растительного сырья с применением электрического разряда в жидкости / В. Д. Бойко, И.В. Мизенко // Хим.-фарм. журн.- 1970.- №9.- С. 60 – 63.
32. Бурдо О. Г., Буйвол С. М., Бандура В. М. Кінетика процесу екстрагування в електромагнітному полі/ *ОНАХТ*. – Вип. 38, т. 2., Одеса – 2010. – С. 330–333.
33. Коляновська Л.М., Бандура В.М. Вплив електромагнітного поля на екстрагування олії із насіння сої. *Збірник наукових праць ВНАУ*. 2010. Вип.5. Том 3. С.7-11.
34. Бандура В.М., Коляновська Л.М. Інтенсифікація екстрагування рослинних олій електромагнітним полем. *Наукові праці ОНАХТ*. Вип. 39, Том 2. 2011. С.186-190.
35. Гришаева И.Н. Способ получения пантовых экстрактов на ультразвуковой установке высокой интенсивности / Вестник КрасГАУ. 2020 №2. – С.142-146.
36. Казарновский Л.С. Применение ультразвука при получении препарата «Сплении»/ Л.С. Казарновский, В.Н. Солонько, Л.А. Шинянский // Мед. промышленность СССР. - 1967. - №7. - С. 28-32.
37. Burdo O., Bandura V., Zykov A., Zozulyak I., Levtrinskaya J., Marenchenko E. Development of wave technologies to intensify heat and mass transfer processes. *Eastern-European Journal of Enterprise Tehnologies*. Vol.4, №11 (88). 2017. Technology and Equipment of Food Production, P.34-42.
38. Oleg Burdo, Valentyna Bandura, Ludmyla Kolianovska, Ilmars Dukulis. Experimental Research of oil exstraction from canola by using microwave technology. *16th International Scientific Conference Engineering for rural development*. Proceedings. Vol.16, May 24-26. 2017. Jelgava, Latvia. P.296-303

39. Bandura V., Mazur V., Yaroshenko L., Rubanenko O. Research on sunflower seeds drying process in a monolayer tray vibration dryer based on infrared radiation. *Inmateh agricultural engineering*. Vol. 57, №. 1. 2019. P.233-242.
40. Burdo O., Bezbah I., Kepin N., Zykov A., Yarovyi I., Gavrillov A., Bandura V., Mazurenko I. Studying the operation of innovative equipment for thermomechanical treatment and dehydration of food raw materials. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, Vol.5, №11(101). 2019. P. 24-32
41. Burdo O.G., Bandura V.N., Levtrinskaya Y.O. Electrotechnologies of Targeted Energy Delivery in the Processing of Food Raw Materials. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 2018. 54(2).P. 210-218
42. Burdo O.G., Terziev S.G., Bandura V.N. Principles Of Directed Energy Action In Food Nanotechnologies. *Problemele Energeticii Regionale*, 2015, V.1. C. 79-86
43. Украинский рынок растительных препаратов по лекарственным формам: предпочтения и перспективы / Е. П. Пивень, С. И. Дихтярев, В. В. Левченко та ін. // Фармаком. – 2008. – № 4. – С. 102–107.
44. Филимонов Д. А. Прогноз спектра биологической активности органических соединений / В.В. Поройков, Д. А. Филимонов // Рос. хим. журн. – 2006. – Т. L, № 2. – С. 66–75.
45. Георгиевский В.П., Конев Ф.А. Технология стандартизация лекарств. Сборник научных трудов. Т 2.-Харьков: РИГЕР. - 2000. - 784 с.
46. Результаты влияния кавитационных эффектов ультразвука на степень экстракции биологически активных веществ из растительного сырья / И.Ю. Потороко //Аграрный вестник Урала.–2017.–Том 10(164).– С.30-35.
47. И.Н. Зилфикаров, А.М. Алиев. Сравнительное фитохимическое исследование эфирного масла и сверхкритического флюидного СО₂-экстракта из листьев эвкалипта прутовидного / Сверхкритические флюиды: теория и практика. Том 3, №2, 2008.- С. 43-51.
48. Ветров П.П. Применение сжиженных газов для получения физиологички

- активных веществ из лекарственного растительного сырья / П.П. Ветров, П.П. Прокопенко, Л.И. Драник // Хим.-фарм.-журн. -1976. - №6. - С. 115-118.
49. Грабов Л.Н., Мерщий В.И., Посунько Д.В., Малышева А.В. Термодиффузионная технология и установка извлечения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья / Л.Н. Грабов, В.И. Мерщий, Д.В. Посунько, А.В. Малышева // Промышленная теплотехника. — 2009. — Т. 31, № 3. — С. 34-41.
50. Могилюк В., Добровольный А. Сверхкритическая флюидная экстракция растительного сырья: перспективная технологическая платформа для фармацевтической промышленности. Технологии: сверхкритическая флюидная экстракция. Фармацевтическая отрасль. 2015. Февраль № 1 (48). С. 62-68.
51. Зилфикаров И.Н., Челомбитько В.А., Алиев А.М. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами / И.Н. Зилфикаров, В.А. Челомбитько, А.М. Алиев; под редакцией В.А. Челомбитько. - Пятигорск, 2007.– 244 с.
52. Crimmet C. The use of liquid carbon dioxide for the extraction natural products. // Chem. and Ind. - 1981, V.60, -№8,- p. 559-562.
53. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review /Q. Zhang, L. Lin, W. Ye. Published 2018.- Computer Science, Medicine.
54. Prasoud R. Application of supercritical etraction. // J. Chem. Eng. World. - 1989, №7. - P. 47- 49.
55. Application of supercritical CO2 in lipid extraction – A review / F.Sahena, I.S.M.Zaidul, S.Jinap, A.A.Karim, K.A.Abbas, N.A.N.Norulaini, A.K.M.Omar. - Journal of Food Engineering. Volume 95, Issue 2, November 2009, P. 240-253.
56. Volibrecht R. Extraction of hops with supercritical CO₂. // Chem. and Ind. - 1982. №2. P. 397-399.

57. S.C. Kupski, E.J. Klein, E.A. da Silva, F. Palú, R. Guirardello, Reginaldo Adeodato Vieira, M. Gurgel. Mathematical modeling of supercritical CO₂ extraction of hops (*Humulus lupulus* L.) *The Journal of Supercritical Fluids* Volume 130, December 2017, P. 347-356.
58. Bot R. Fundamentals of carbon dioxide in solvent extraction. // *Chem. and Ind.* - 1982. №2. P. 394-396.
59. Camila G. Pereira, M. Angela A. Meireles. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. - *Food and Bioprocess Technology* volume 3, p. 340–372 (2010).
60. Кошевой Е.П., Обрезкова И.К., Попова С.А. Хладоны в экстракционной технологии. Обзоная информация. Сер. «Парфюмерно-косметическая и эфирно- масляничная промышленность». М.: ЦНИИТЭИ Пищевая промышленность, 1977. - 24 с.
61. Могилюк В., Добровольный А. Сверхкритическая флюидная экстракция растительного сырья: перспективная технологическая платформа для фармацевтической промышленности. Технологии: сверхкритическая флюидная экстракция. Фармацевтическая отрасль. 2015. Февраль № 1 (48). С. 62-68.
62. Szlavik I. High pressure extraction state of the art present applications and future prospects // *Rapp Ingenjorsvetens Kapsakad.* -1988, №354. p. 6-25.
63. G. Alberti, M. Casciola. Solid state protonic conductors, present main applications and future prospects. *Solid State Ionics* Volume 145, Issues 1–4, 1 December 2001, Pages 3-16.
64. Brogle H. Installaties en processen wood hoge-drukextractive // *Procestech.* -1988, №2. p. 37-41
65. Чураев М.В. Физико-химия процессов массопереноса в пористых средах / М.В. Чураев. - М.: Химия, 1990. - 272 с.
66. Экстракция высокого давления с помощью сжиженных газов, находящихся в сверх критических состояниях. Проспект №145-83, ФРГ.

67. Гумницький Я.М., Юрим М.Ф., Сеньків В.М. Тверда фаза, інтенсифікація екстрагування в умовах вакуумування системи. // «Хімічна промисловість України», № 1, 2005, - С. 28-30.
68. Kotov B., Bandura V. Construction of a mathematical model of extraction process in the system solid body liquid in a microwave field. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2018. 5 (6-95). P. 33-43.
69. Bulgakov V., Bandura V., Arak M., Olt J. Intensification of rapeseed drying process through the use of infrared emitters. *Agronomy Research*. 2018. 16(2). P. 349-356.
70. Bandura V., Bulgakov V., Adamchuk V., Ivanovs S. Investigation of oil extraction from the canola and soybean seeds, using a microwave intensifier. *INMATEH–Agricultural Engineering*. 2018. 55(2). P. 45-52
71. Bandura V., Kalinichenko R., Kotov B., Spirin A. Theoretical rationale and identification of heat and mass transfer processes in vibration dryers with ir-energy supply. *Eastern European Journal of Enterprise Technologies*, 2018. 4(8-94). P. 50-58.
72. Бурдо О.Г., Буйвол С.М., Бандура В.М. Кінетика екстрагування олії із рослинної сировини з використанням мікрохвильового поля. *Збірник статей IV Всеукраїнської науково-практичної конференції «Новітні тенденції у харчових технологіях та якість і безпечність продуктів».* Додатковий випуск *Вісника Львівського інституту економіки і туризму*. 05-06 квітня 2012. Львів. С.29-33
73. Várvölgyi E., Gere A., Szöllősi D., Sipos L., Kovács Z., Kókai Z., Csóka M., Mednyánszky Zs., Fekete A., Korány K. Application of sensory assessment, electronic tongue and GC-MS to characterize coffee samples // *Arabian Journal for Science and Engineering*, 2015. Vol. 40, Is. 1. P. 125-133
74. Chan C.-Hung, Lima J.-J., Yusoff R., Ngoh G.-C. A generalized energy-based kinetic model for microwave-assisted extraction of bioactive compounds from plants // *Water Environment Research*, 2015. Vol. 88, Num. 10. P. 1192-1229

75. Bhuyan D.J., Vuong Q.V., Chalmers A.C., van Alena I.A., Bowyer M.C., Scarlett C.J. Microwave-assisted extraction of *Eucalyptus robusta* leaf for the optimal yield of total phenolic compounds // *Industrial Crops and Products*, 2015. Vol. 69. P. 1-10
76. Dahmoune F., Nayak B., Moussi K., Remini H., Madani K. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves // *Food Chemistry*, 2015. Vol. 166. P. 585-595
77. Flyrez N., Conde E., Domínguez H. Microwave assisted water extraction of plant compounds // *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2015. Vol. 90, Is. 4. P. 590-607
78. Tewari S., Ramalakshmi K., Methre L., Mohan Rao L.J. Microwave-Assisted Extraction of Inulin from Chicory Roots Using Response Surface Methodology // *J. Nutr. Food Sci.*, 2015. Vol. 5. P. 342-349
79. Liu F., Hou R.-H., Liao S.-T., Zou Y.-X., Xiao G.-S. Optimisation of Ultrasonic-Microwave-Assisted Extraction Conditions for Polysaccharides from Mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb) Leaves and Evaluation of Antioxidant Activities in vitro // *Med chem*, 2015. Vol. 5 (2). P. 090-095
80. Rahmati, Abdullah A., Momeny E., Kang O.L., Optimization studies on microwave assisted extraction of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel pectin using response surface methodology // *International Food Research Journal*, 2015. Vol. 22 (1). P. 233-239
81. Jacotet-Navarro M., Rombaut N., Fabiano-Tixier A.-S., Danguien M., Bily A., Chemat F. Ultrasound versus microwave as green processes for extraction of rosmarinic, carnosic and ursolic acids from rosemary // *Ultrasonics Sonochemistry*, 2015. Vol. 27. P. 102-109
82. Kadam S.U., Tiwari B.K., Smyth T.J., O'Donnell C.P. Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology // *Ultrasonics Sonochemistry*, 2015. Vol. 23. P. 308-316

83. Zhao P., Zhao L., Qi C., Wang G., Hou X. A hierarchical cluster analysis of ten index constituents based on microwave-assisted extraction by UHPLC-MS/MS for the evaluation and quality control of Cortex Juglandis Mandshuricae // *Anal. Methods*, 2015. № 7. P. 1816-1824
84. Wu C.-Hsin, Kuo C.-Y., Guan S.-S. Adsorption Kinetics of Lead and Zinc Ions by Coffee Residues // 2015. Vol. 24, No. 2. P. 761-767
85. Chung-Hung C., Jian-Jiun L., Yusoff L., Gek-Cheng R., Gek-Cheng N. A Generalized Energy-Based Kinetic Model for Microwave-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Plants // *Separation and Purification Technology*, 2015. Vol. 143. P. 152-160.
86. Mestdagh F., Davidek T., Chaumonteuil M., Folmer B., Blank I. The kinetics of coffee aroma extraction // *Food Research International*, 2014. Vol. 63. P. 271-274
87. Chemat F., Cravotto G. Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds: Theory and Practice. Food Engineering Series, 2013. 238 p.
88. Zhou T., Xiao X., Li G. Hybrid Field-Assisted Solid-Liquid-Solid Dispersive Extraction for the Determination of Organochlorine Pesticides in Tobacco with Gas Chromatography // *Anal. Chem.*, 2012. Vol. 84. P. 420-427 .
89. Bartel C., Mesías M., Morales F.J. Investigation on the extractability of melanoidins in portioned espresso coffee // *Food Research International*, 2015. Vol. 67. P. 356-365.
90. Krishnaswamy K., Orsat V., Gariépy Y., Thangavel K. Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic antioxidants from grape seeds (*Vitis vinifera*) // *Food and Bioprocess Technology*, 2013. Vol. 6. P. 441-455.
91. Lebovka E., Vorobiev F. Chemat Enhancing Extraction Processes in the Food Industry. By Taylor & Francis Group, LLC CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an Informa business, 2012. 518 p.
92. Mussatto S.I., Machado E.M.S., Martins S., Teixeira J.A. Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues // *Food Bioprocess Technol*, 2011. Vol. 4. P. 661-672

93. Кузнецова М. А., Рыбачук И. З., Фармакогнозия. – М.: Медицина, 1984. - 399 с.
94. Гребинский С.С. Биохимия растений. – Львов, Изд. ЛГУ, 1970. – 270 с.
95. Максютин Н.П. Растительные лекарственные средства. – К.: Здоровье, 1985. – 279 с.
96. Кудрицкая С.Е. Каротиноиды плодов и ягод. –К.: Высшая школа, 1990. - 211 с.
97. Яковенко В. К. Науково-теоретичне обґрунтування складу рослинного препарату та його дослідження / В. К. Яковенко, І. А. Вишневський // Клінічна фармація. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 50–55.
98. Блажей А. Фенольные соединения растительного происхождения / А. Блажей, Л. Шутий. – М.: Мир, 1977. – 240 с.
99. Фармацевтична енциклопедія. Київ, - Моріон.- 2005.- 845 с.
100. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние., 1990. – 333 с.
101. Почему растения лечат / [Ловкова М.Я., Рабинович А.М., Пономарева С.М. и др.]. – М.: Наука, 1989.— 256 с.
102. Inessa Pavliuk, Vasyl Dyachok, Volodymyr Novikov, Nataliya Ilkiv // Chemistry & chemical technology // 2017. - Vol. 11, №4. pp. 487–491.
103. Прокопенко А.П. Створення та впровадження у практику рослинних лікарських засобів //Фармацевтичний журнал. – 1995. -№2. – С 49-52.
104. Жуков В.О. Розроблення і реалізація екологічно-безпечних і ресурсозберігаючих процесів у хіміко-фармацевтичній промисловості // Фармацевтичний журнал. - 1991. - №3. – С. 68-69.
105. Биоскрининг. Лекарственные средства. Под редакцией чл.-корр. АМН Украины, д.б.н., проф. А.В.Стефанова. К.: Издательский дом «Авицена», 1998. - С. 12.
106. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М.: Медицина, 1974. – 143 с.

107. Козловский В. Л., Прахье И.В. Диазепам снимает тревожное состояние, вызванное ампутацией вибрисс (модель оценки тревожного поведения) // Журнал высшей нервной деятельности. - 1995, 45. - № 5. - С. 1057 – 1061.
108. Lat J. The spontaneous exploratory reactions as a tool for psychopharmacological studies. A contribution towards a theory of contradictory results in psychopharmacology // Pharmacology of conditioning, learning and retention / Eds. Mikhel son M. J. et al. N. Y.: Pergamon Press, 1995. V. 1. – P. 47.
109. Штабский Б.М., Бжегодский М.И., Бжегодский М.Р. и соавт. // Гигиена и санитария, 1980, №10. - С. 49-51.
110. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. и соавт. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Вища школа. – 1983. – С. 377.
111. Энтони Дж. Тревор, Уолтер Л. Вэй. Седативные и снотворные средства. В кн. Бертрам Г. Катцунг Базисная и клиническая фармакология: в 2-х т.
112. Пер. с англ. – М. – СПб.: Бином-Невский Диалект, 1998 – С. 411.
113. Woolsey T. A., Van der Loos H. The structural organization of layer IV in the somatosensory region (S1) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units // Brain Res. 1970 V. 17.
114. Голикова Т.В. Постнатальное созревание функции вибриссной моторной области коры у крыс: Автореф. дис.канд биол. наук. Л., 1990.
115. Дембовский Я. Психология животных. М.: Изд-во. иностр. Лит., 1959.– 385 с.
116. Доклинические исследования лекарственных средств. Методические рекомендации. Государственный фармакологический центр МЗ Украины, К., 2002.- 566 с.

117. Zhang, D. Phenolic compounds, ascorbic acid, carotenoides and antioxidant properties of green, red and yellow bell peppers [Text] / D. Zhang , Y. Namaizu // J. Food Agric. Environ.- 2003.- № 1.- P. 22–27.
118. Патенті Росії №2281 111 [МПК7: А61К 36/185, опубл. в Бюл. №22, 2006р.
119. Патент України №28670, МПК7:А61К35/78, опубл. в Бюл. №5, 2000р.
120. Реєстраційне посвідчення № UA /1830/01/01, Рекламний проспект МОЗ України.
121. Патент України №84761 (МПК 2013.01; А61К 36/00, опубл. в Бюл. №20, 2013 р.
122. Патенті України №12228 (МПК2006:А61К36/00, опубл. в Бюл. №1, 2006р.
123. Павлюк, І. В. Оптимізація умов технологічного процесу переробки шроту *Origanum vulgare*, *Daucus carota*, *Humulus lupulus* / І. В. Павлюк, Н. Є. Стадниціка // Вісник НУ Львівська політехніка.- 2015.- № 812.- С. 251-256.
124. Moure, A. Natural antioxidants from residual sources / A. Moure, J. M. Cruz, D. Franco, J. M. Dominguez, J. Sineiro, H. Dominguez, M. J. Nunez, J. C. Parajo // Food Chem.- 2001. - V. 72 (2).- P. 145-171
125. Schieber, A. By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments / A. Schieber, F. C. Stintzing, R. Carle // Trends in Food Science & Technology.- 2001.- № 12.- P. 401–413.
126. Balasundram, N. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses / N. Balasundram, K. Sundram, S. Samman // Food Chemistry.- 2006.- № 99.- P. 191-203.
127. <http://www.xumuk.ru/encyklopedia/691.html>
128. <https://ru.wikipedia.org/wiki> - Ізо - валеріанова кислота
129. <http://referat-ok.com.ua/biologiya-prirodnavstvo/otruini-roslini-ukrajini>
130. <http://zillya.in.ua/valeriana-volzka-farmakologichni-vlastivosti-ta-preparati>.

131. Племенков В. В. Химия изопреноидов. Глава 4. Гемитерпены // Химия растительного сырья : журнал. - 2005. - № 4. - С. 93-103.
132. Іонний обмін та іонообмінна хроматографія / В. О. Мінаєва. – Черкаси: Вид. від. ЧНУ імені Богдана Хмельницького, 2013. – 128 с.
133. Гарна, С. В. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини / С. В. Гарна, П. П. Ветров, В. А. Георгіянц // Технологія вироб. ліків.- 2012.- №1 (8).- С. 54-57.
134. Павлюк, И. В. Усовершенствование технологии переработки промышленного растительного сырья для нужд животноводства / И. В. Павлюк, Н. Е. Стадницкая, Г. В. Рудык, И. Я. Коцюмбас, Н. В. Новиков // Материалы XI междунар. науч.- практ. конф. daRostim - 2015.- С. 122-124.
135. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е., Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние. – 1990. – 333 с.
136. <http://pharmspravka.ru/farmatsevticheskie-vorosyi-i-otvetyi/cto/cto-takoe-organicheskie-kisl.html>.
137. Громовик Б.П., Сятиня М.Л., Кульчицький Л.І. Моніторинг пропозицій іноземних фармацевтичних компаній // Еженедельник «Аптека».- 1997.- №19.- С.7.
138. Українська фармацевтична асоціація пропонує своє бачення розвитку фармацевтичного ринку України / Ю.Спіженко, М.Пономаренко, В.Чумак, К.Курищук // Ліки України.- 1999.-№4. - С.18-27.
139. Воробьева О. В. Психовегетативный синдром, ассоциированный с тревогой (вопросы диагностики и терапии) / О. В. Воробьева // РМЖ. – 2006. – Т. 14, № 23. – С. 1696–1699.
140. Карвасарский Б. Д. Неврозы / Б. Д. Карвасарский. – М. : Медицина, 1990. – 574 с.
141. Heinz K. Stress-induced functional cardiovascular pathology / K. Heinz // J. Funct. Neurol. Pathol. – 2003. – Vol. 8. – P. 198–209

142. Kertner D. K. Psychosomatic Medicine. – Chicago: Chicago Univ. Press, 2005. – 346 p
143. Samuelsson G. Drugs of Natural Origin. A textbook of Pharmacognosy / G. Samuelsson. – 5-th revised edition. – London, 2004. – 620 p.
144. Компендиум. Лекарственные препараты on-line: специализированное медицинское интернет-издание для врачей, провизоров, фармацевтов, студентов медицинских и фармацевтических вузов [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://compendium.com.ua>.
145. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая волна, 2008. – 1206 с. 7. Мнушко З.М., Левченко І.П., Ольховська А.Б. // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії: матер. Всеукр. наук.-практ. семінару, м. Харків, 26 листоп. 2004 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2004. – С. 318-321.
146. Мнушко З.М., Тіманюк І.В. // Вісник фармації. – 2007. – №1 (49). – С. 52-55.
147. Ушкалова А. В. Эффективность и безопасность антидепрессивных и седативных средств растительного происхождения / А. В. Ушкалова, Т. С. Илларионова // Фарматека. – 2007. – № 20. – С. 10–14.
148. Hohmann J. Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation / J. Hohmann // *Planta Med.* – 1999. – № 65. – P. 576–578.
149. Іонний обмін та іонообмінна хроматографія / В. О. Мінаєва. – Черкаси: Вид. від. ЧНУ імені Богдана Хмельницького, 2013. – 128 с.
150. Dyachok, V. On the mechanism of extraction from solid bodies cellular structure / V. Dyachok, I. Ilkiv // *Chemistry & chemical technology*. - 2013. - Vol. 7, № 1. P. – 23-27.
151. Pavlyuk, I. A Study of the Chemical Composition and Biological Activity of Extracts from Wild Carrot (*Daucus carota* L.) Seeds Waste / I. Pavlyuk, N.

- Stadnytska, I. Jasicka-Misiak, B. Górka, P. P. Wieczorek, V. Novikov // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.- 2015.- № 6 (2).- P. 603-611.
152. Титова, Л. М. Исследование кинетики процесса экстрагирования в технологии комплексной переработки цитрусовых / Л. М. Титова, И. Ю. Алексанян // Вестник АГТУ.- 2013.- № 1 (55).- С. 35-38.
153. Запорожець, Ю. В. Особливості безперервного віброекстрагування цільових компонентів з хмельової сировини / Ю. В. Запорожець, В. Л. Зав'ялов, О. П. Лобок // Вібрації в техніці та технологіях.- 2009.- №3 (55).- С.98-103.
154. Зейгорник М. Седативные препараты растительного происхождения доступны и безопасны // Ремедиум, 2000. - №9. – С. 85-86.
155. Безуглая Е.П. Методологический подход к фармацевтической разработке лекарственных препаратов и его стандартизация / Е. П. Безуглая, Н. А. Ляпунов, В. А. Бовтенко // Промышленное обозрение. – 2008. – №6 (11). – С. 36–41.
156. Diachok I. L., Pinyazhko O. R., Ivankiv O. L. Considering the question of standardization of sedative polyextracts // International Scientific Congress., Modern directions in chemistry, biology, pharmacy and biotechnology.- Lviv, 2015.- P. 25-26.
157. Блажей А. Фенольные соединения растительного происхождения / А. Блажей, Л. Шутий. – М.: Мир, 1977. – 240 с.
158. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.; Доп. 2., 2008. – 620 с.; Доп. 3., 2009. – 280 с.; Доп. 4., 2011. –540 с.
159. Гризодуб А. И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ / А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 42–50.

160. Георгиевский В. П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В. П. Георгиевский, Н. Ф. Комиссаренко, С. Е. Дмитрук. – Новосибирск: Наука, 1990. – 333 с.
161. ГОСТ Р 31000-2010 Менеджмент риска. Принципы и руководство (ISO 31000:2009 Risk management – Principles and guidelines, IDT). – М.: Стандартинформ, 2012. – 24 с.
162. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1990. – 399 с.
163. Гризодуб А. И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ / А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 42–50.
164. Гризодуб А. И. Особенности фармакопейных подходов к количественному определению лекарственного растительного сырья и суммарных фитопрепаратов / А. И. Гризодуб, О. А. Евтифеева, К. И. Проскурина // Фармаком. – 2012. – № 3. – С. 7–30.
165. Гризодуб А. И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. – № 1-2. – С. 35–44.
166. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / В.М. Ковальов, С.М. Марчишин, О.П. Хво- рост та ін. ; за ред. В.М. Ковальова, С.М. Марчишин. – Тернопіль : ТДМУ, 2014. – 264 с.
167. Lebeda, A. F., Dzhurenko, N. I., Isajkina, A. P., & Sobko, V. G. (2010). Lekarstvennyye rasteniya. Samaya polnaya e'nciklopediya [Medicinal plants. The most complete encyclopedia]. Moscow: AST-PRESS KNIGA. [in Russian].
168. Kyslychenko, V. S., Zhuravel, I. O., Bukharina, O. V., et al. (2009). Syrovynni dzherela produktiv biotekhnolohii ta yikh analiz. [Raw material

sources of biotechnology products and it's analysis]. Kharkiv: NFaU : Zoloti storinky. [in Ukrainian].

169. Валидация аналитических методик для производителей лекарств: Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств / под. ред. В. В. Береговых. – М.: Литерра, 2008. – 132 с.
170. Валидация в производстве лекарственных средств / В. В. Береговых, Н. В. Пятигорская, В. В. Беляев – М.: Издательский дом «Русский врач», 2010. – 286 с.
171. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / В. Л. Багиров, А. И. Гризодуб, Т. Х. Чибилев и др. – М., 2007. – 48 с.
172. Ermer J. Method validation in pharmaceutical analysis / J. Ermer, Miller J. H. McV. (Eds.). – Germany: 1st Ed., Wiley-VCH Pub., 2005. – 403 p.
173. Идентификация органических кислот методом ТСХ в извлечениях из растительных объектов / О.В.Тринеева, И.И.Сафонова, Е.Ф.Сафонова, А.И.Сливкин// Сорбционные и хроматографические процессы. – 2013.- Т.13.- Вып. 6.- С. 896-901.
174. Лекарственные растения. Самая полная энциклопедия / А.Ф. Лебеда, Н.И. Джуренко, А.П. Исайкина, В.Г. Собко. – М. : АСТ-ПРЕСС КНИГА, 2010. – 496 с.
175. Дячок І.Л., Піняжко О.Р. Розроблення методу кількісного визначення органічних кислот в комплексному фітополіекстракті // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики . - 2016. - №2. - С. 52-57.
176. Зейгорник М. Седативные препараты растительного происхождения доступны и безопасны // Ремедиум, 2000. - №9. – С. 85-86.
177. Коваленко В.Н., Викторов А.П. Компендиум – лекарственные препараты.- К.: МОРИОН, 2016. - 2270 с.
178. Савельева О. В., Владимирова І.М. Аналіз номенклатури седативних та снодійних препаратів в Україні. // Фармацевтичний часопис. - 2015.- №3. – С. 40-43.

179. Пилягина Г.Я. Лечение невротических расстройств с помощью фитопрепарата «Антистресс» // Фитотерапия в Украине. – 2000. – №3-4. – С. 19-21.
180. Яковенко В.К, Вишневський І.А. Науково-теоретичне обґрунтування складу рослинного препарату та його дослідження. // Клінічна фармація. - 2013. - Т. 17, №1. - С. 50 -55.
181. Наказ МОЗ України №220 від 19.08.2000р. «Порядок проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних документів протягом дії реєстраційного посвідчення. – К.: Морион. Еженедельник аптека, 2000. – 40. – С. 60-63.
182. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Минздрав РФ. ЗАО «ИИА «Ремедиум». 2000. – 398 с.
183. Справочник практического врача. Ю. Е. Вельтищев, Ф.И.Комаров С.М.Навашин и др.; Под ред. А.И.Воробьева; Сост. В.И.Бородулин. 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Баян, 1992. – С.431.
184. Краткая медицинская энциклопедия: В 3-х т. АМН СССР. Гл. ред. Б.В.Петровский. -. – 2-е изд. - М.: Советская энциклопедия. –т. 2. – С. 226.
185. Бертрам Г. Катцунг Базисная и клиническая фармакология. в 2-х т. Том1/ Пер. с англ. – М. – СПб: Бином-Невский Диалект, 1998. – С. 411-430.
186. Киселев Т.Л. Разработка методологических подходов к созданию лекарственных средств природного происхождения на основе опыта традиционной медицины: Автореф. Дис. ... д-ра. фарм. Наук. – СПб, 2000. – 44 с.
187. Предложения по развитию здравоохранения в Центральной и Восточной Европе // Pharmedicum. – 1994. - № 1. – С. 14-15.

188. Фарнсворт Н.Р., Акереи О., Бингел О.С. и соавт. Терапия лекарственными растениями // Бюлл. ВОЗ. – 1985. – Т. 63. - № 6. – С. 1-16.
189. Лесиовская Е.Е. Повышение индивидуальной устойчивости организма к комплексу экстремальных воздействий с помощью новых фармакологических средств: Автореф. дисс. ... д-ра мед. Наук. – СПб, 1993. – 42 с.
190. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Фитотерапия // Методические рекомендации № 200/63, утв. 24.04.2000. / Карпеев А.А., Киселева Т.Л., Коршикова Ю.И. и др. – М.: Изд-во НПЦТМГ МЗРФ, 2000. – 27 с.
191. Belaiche P. Traite de Phytotherapie et d Aromatherapie. Vol. 2. Les Maladies infectieuses. – Paris, 1999. – 442 p.
192. Galle K., Muller-Jakic B., Proebstle K. et al. Analytical and pharमतological studies on Mahonia aguifolium // Phytomedicine. – 1998. - № 1. – P. 59-62.
193. Muller K., Ziereis K. The antipsoriatic Mahonia aguifolium and its active constituents. 1. Proand antioxydant proprieties and inhibition of 5-lipoxygenase // Planta Med. – 1999. – Vol. 60. – P. 421-424.
194. Гриневич М.А. Информационный поиск перспективных лекарственных растений (Опыт изучения традиционной медицины стран Восточной Азии с помощью ЭВМ). – Л.: Наука, 1990. – 141 с.
195. Geng J., Huand W., Ren T., Ma X. Practical Traditional Chinese and Pharmacology: Herbal Formulas. – Beijing: New World Press, 1991. – 259 p.
196. Talbot-Montgomery E, Joseph Ch. OTC choices in Central Europe and Russia (Scrip Magazine. – May 1997. – P.31-34.) //Фарматека.–1997. - № 5. – С. 11-13.
197. Киселева Т.Л. Вековые традиции народной медицины в современных седативных и анксиолитических лекарственных средствах. VIII Российский Национальный конгресс «Человек и лекарство».

- Материалы сателитного симпозиума. – М.: Галена АС. – 2001. – С. 8-21.
198. Эвербайн Б. Не второсортные лекарства // *Pharmedicum*. – 1994. - № 1. – С.12-13.
199. Киселева Т.Л. Лекарственное растительное сырье и растительные лекарственные средства из него, используемые в лечении сердечно-сосудистых и сопутствующих заболеваний // *Гомеопатия и фитотерапия в лечении сердечно-сосудистых болезней* / Под ред. Т.Л.Киселевой, А.А.Карпеева. – М.: Мосгорпечать, 1997. – Т. 2. – С. 383.
200. Справочник Видаля. Лекарственные препараты в России: Справочник. М.: АстраФармСервис, 2000. – 1536 с.
201. Биоскрининг. Лекарственные средства. Под редакцией чл.-корр. АМН Украины, д.б.н., проф. А.В.Стефанова. К.: Издательский дом «Авицена», 1998. - С. 12.
202. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ М.: Медицина, 1974. – 143 с.
203. Штабский Б.М., Бжегодский М.И., Бжегодский М.Р. и соавт. // *Гигиена и санитария*, 1980, №10. - С. 49-51.
204. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. и соавт. *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*. К.: Вища школа. – 1983. – С. 377.
205. Энтони Дж. Тревор, Уолтер Л. Вэй. Седативные и снотворные средства. В кн. Бертрам Г. Катцунг Г. *Базисная и клиническая фармакология: в 2-х т. Том 1./ Пер. с англ.* – М. – СПб.: Бином-Невский Диалект, 1998 – С. 411.
206. Машковский М.Д. *Лекарственные средства. В двух томах Т. 1. – 14-е изд., испр. и доп.* – М.: ООО «Изд-тво. Новая Волна» : Издатель С.Б.Дивов, 2001. С. 87.
207. Woolsey T. A., Van der Loos H. The structural organization of layer IV in the somatosensory region (S1) of mouse cerebral cortex. The description of a

- cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units // *Brain Res.* 1970 V. 17.
208. Голикова Т.В. Постнатальное созревание функции вибриссной моторной области коры у крыс: Автореф. дис. ... канд биол. наук. Л., 1990.
209. Дембовский Я. Психология животных. М.: Изд-во. иностр. Лит., 1959.– 385 с.
210. Шеперд Г. Введение в нейробиологию. М.: Мир, 1987. Т. 1. 285 с.
211. Изард К. Эмоции человека. М.: Изд-во. иностр. лит., 1959. 385 с.
212. Хайнд Р. Поведение животных: Синтез этиологии и сравнительной психологии. – М., 1975. – С. 609-614.
213. Chopin P., Briley M. // *Trends pharmacol. Scil* – 1987. - Vol. 8, N 10. – P. 383-388.
214. Itoh J., Nabeshima T., Kameyama T.// *Ibid.*– 1991. – Vol. 194, N 1.– P. 71-76.
215. Асрян А.Б., Джагацпанян И.А. Эксперим. и клин. фармакол. – 1993. – Т. 56. № 4. – С. 58-60.
216. Белай И.М., Дунаев В.В., Тишкина В.С. Фармакологическая оценка метаболической эффективности ацефена, ноотропила и рибоксина // *Фармакология и токсикология. Респ. межвед. сборн. К.: Здоровья, 1988.- Вып.23.- С.3-6.*
217. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. - М.: Высшая школа, 1988.- 240 с.