

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Фітьо Ірина Валеріївна

УДК 615.014.2.07:615.451.6:615.322:582.685/933

ДИСЕРТАЦІЯ

Розробка складів та технологій спреїв для лікування захворювань дихальних шляхів на основі екстрактів моху ісландського та евкаліпту

Спеціальність 226 - Фармація, промислова фармація

22 - Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

І.В.Фітьо

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: Стадницька Наталія Євгенівна, кандидат хімічних наук,
доцент

Львів 2021

АНОТАЦІЯ

Фітьо І.В. Розробка складів та технологій спреїв для лікування захворювань дихальних шляхів на основі екстрактів моху ісландського та евкаліпту. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація. Національний університет «Львівська політехніка», Львів, 2021.

Дисертаційна робота присвячена створенню нових лікарських засобів для лікування захворювань органів верхніх дихальних шляхів на основі густих екстрактів моху ісландського слані та евкаліпту кулястого листя.

У роботі узагальнено дані щодо питання лікування захворювань верхніх дихальних шляхів (ВДШ) в Україні, а також щодо сучасної класифікації та стану лікування даних хвороб. Встановлено, що для їх лікування використовуються препарати чотирьох груп згідно анатомо-терапевтично-хімічної (АТХ) класифікації. Проаналізовано та систематизовано дані літературних джерел щодо об'єктів дослідження: евкаліпту кулястого листя та моху ісландського слані, як перспективної сировини для створення нових препаратів. Наведено ботанічні характеристики, хімічний склад, застосування сировини *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*. Опрацьовані літературні джерела світчать про доцільність використання лікарської рослинної сировини (ЛРС) досліджуваних рослин для розробки нових лікарських засобів для лікування хвороб ВДШ.

Описано методики ідентифікації із використанням тонкошарової (ТШХ), газової (ГХ) та високоефективної рідинної (ВЕРХ) хроматографій та кількісного виявлення біологічно активних речовин (БАР) за допомогою спектрофотометричного (СФ) та гравіметричного методів у ЛРС, екстрактах та готових лікарських формах. Цими методами відповідно визначено наявність та кількісний вміст ефірної олії та її компонентів, хлорофілів, фенольних сполук, полісахаридів тощо.

Досліджено асортимент лікарських засобів (ЛЗ) вітчизняного ринку щодо наявності препаратів рослинного та синтетичного походження, які застосовуються при лікуванні захворювань ВДШ. Встановлено, що станом на грудень 2020 року на ринку України зареєстровано 187 лікарських засобів, які застосовуються при захворюваннях порожнини носа. З них 48,31 % виготовлені на фармацевтичних підприємствах України. Також на ринку України представлена група препаратів, що застосовуються при захворюваннях горла, 26 % з даної групи препарати у вигляді спреїв та аерозолів. На фармацевтичному ринку є 138 найменувань засобів для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів, 21,01 % з яких складають препарати, виготовлені в Україні. Значну увагу при аналізі фармацевтичного ринку приділено відхаркувальним засобам, 62 % номенклатури яких займають препарати синтетичного походження і лише 34 % - рослинного. Одержані дані свідчать про доцільність розробки нових засобів для лікування хвороб ВДШ у формі спрею на основі рослинної сировини.

Вивчено технологічні властивості ЛРС евкаліпту кулястого листя та моху ісландського слані, а саме: здібненість ЛРС (2-4 мм для евкаліпту кулястого листя та 0,1-0,4 мм для моху ісландського слані), вологість ($10,1 \pm 0,5$ % для евкаліпту кулястого листя та $9,8 \pm 0,5$ % для моху ісландського слані), насипна густина ($0,49 \pm 0,06$ г/мл для евкаліпту кулястого листя та $0,35 \pm 0,06$ г/мл для моху ісландського слані) та після усадки ($0,58 \pm 0,05$ г/мл для евкаліпту кулястого листя та $0,48 \pm 0,05$ г/мл для моху ісландського слані), здатність до усадки ($20,0 \pm 0,05$ % евкаліпту кулястого листя та $18,0 \pm 0,05$ % для моху ісландського слані), коефіцієнти набухання (5,0 мл/г для евкаліпту кулястого листя та 20,0 мл/г для моху ісландського слані) та коефіцієнти поглинання (2,0 мл/г для евкаліпту кулястого листя та 10,0 мл/г для моху ісландського слані).

Запропоновано технологію екстрактів евкаліпту кулястого листя *Eucalyptus globulus* та моху ісландського слані *Cetraria islandica* для розробки препаратів для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів.

Експериментально встановлено, що ремацерація з перемішуванням протягом 20 год є оптимальним методом екстрагування хлорофілів та ефірної олії, зокрема її компоненту 1,8-цинеолу, з евкаліпту кулястого листа при використанні 96 % спирту етилового як екстрагента. Оптимальний ступінь подрібнення ЛРС визначали за вмістом суми ефірних олій в одержаних екстрактах. Виявлено, що найдрібніша серед досліджуваних фракцій (2, 4, 10 мм) забезпечує найвищий вихід відповідних БАР. З врахуванням технологічних властивостей ЛРС евкаліпту кулястого встановлено оптимальне співвідношення сировина:екстрагент 1:5. Для приготування лікарського засобу «Хлорофіліпт» на ПАТ «Галичфарм» використовують густий екстракт евкаліпту прутувидного. Діюча технологія була оптимізована для виробництва густого екстракту з евкаліпту кулястого. Встановлено, що оптимальним режимом згущення рідкого екстракту з цієї сировини є температура випаровування екстрагента 50-60 °С та розрідження вакууму - 0,8 кгс/см². В розробленій технології запропоновано заміну розчинника для очищення органічного шару екстракту. Замість вживаного раніше хлороформу обґрунтовано використання етилацетату, як дешевшого та більш безпечного для людини та навколишнього середовища. При співвідношенні компонентів 1:4 досягнуто граничної межі, при якій вміст хлорофілів максимальний, а запах екстракту задовільний. З метою підвищення антибактеріальної активності екстракту із евкаліпту кулястого листа проведено його модифікацію за допомогою солей купрум хлориду або купрум сульфату. Катіони міді беруть участь у заміні магнію в молекулах хлорофілів на купрум з утворенням більш активних мідних комплексів. Встановлено, що використання 4 % купрум сульфату забезпечувало вищий вихід модифікованих хлорофілів. Важливим фактором був вибір оптимального часу відстоювання, при якому відбувається розділення органічного та неорганічного шарів, яке наставало через 23-24 год. Для промивки органічного шару підібрано оптимальне співвідношення кількості води очищеної до загального об'єму розчину - 10:1. На фінальній стадії проводять випаровування етилацетату із екстракту евкаліпту кулястого листа до залишкового вмісту не більше 0,5 %.

Для екстракції моху ісландського *Cetraria islandica* слані використовували воду питну у співвідношенні кількості сировини до екстрагента 1:20. Екстракцію проводили методом ремацерації з перемішуванням протягом чотирьох годин при температурі 50-55 °С та при використанні сировини, подрібненої до частинок розміром від 0,1 до 0,4 мм. Згущення рідкого екстракту проводили при діапазоні температури 85-95 °С. Встановлено, що поступове збільшення вмісту полісахаридів у екстракті моху ісландського слані спостерігається до 4-ої год, після зазначеного часу цей показник практично не змінювався.

Для розробки оптимального складу та технології спреїв на основі стандартизованих густих екстрактів евкаліпту кулястого листа («Хлорофіліпт-спрей») та моху ісландського слані («Фітолор-спрей») використовували методи математичного планування експерименту.

Для лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей» досліджено 4 групи допоміжних речовин (ДР), а саме: розчинники, співрозчинники, поверхнево-активні речовини (ПАР) та коригенти смаку. Як розчинники розглядали спирт етиловий 96 % та макрогол 400, співрозчинниками були запропоновані гліцерин та пропіленгліколь. Твін-80 був розглянутим у якості ПАР, а в якості коригента смаку сахаринат натрію. На основі даних чотирьохфакторного експерименту дисперсійного аналізу встановлено залежності впливу кожної з ДР на антимікробну активність, прозорість, смак та однорідність маси спрею. Найвищі показники антимікробної активності виявлено при використанні етилового спирту (середнє значення 11,78 мкг/мл), гліцерину (11,81 мкг/мл), без використання ПАР (11,79 мкг/мл) та при додаванні сахаринату натрію (11,78 мкг/мл). Дослідження впливу ДР на прозорість спрею показали, що найкращі результати отримано при використанні етилового спирту (4,41 балів), пропіленгліколю (3,7 балів), без використання ПАР (3,9 балів) та при додаванні натрію сахаринату (3,6 балів). На смакові властивості кращий вплив мав спирт етиловий (3,63 балів), при цьому сахаринат натрію погіршував смакові якості. Введення ПАР покращувало показник однорідності маси спрею (середнє значення $26,68 \pm 0\%$), без коригента смаку

однорідність маси показала середнє значення $20 \pm \%$, при використанні макроголу та гліцерину досягалось краще значення даного відгуку ($26,71 \pm \%$ та $27,5 \pm \%$ відповідно). Встановлено оптимальний склад засобу в перерахунку на 100 мл: 0,2 г екстракту евкаліпту кулястого густого, 14 мл етилового спирту 96 % та 86 мл пропіленгліколю.

Поєднання різних класів ДР для спрею «Фітолор-спрей» підбирали за допомогою чотирьохфакторного плану дисперсійного аналізу на двох рівнях з повторними дослідями. Досліджено 4 групи ДР, а саме: розчинники, співрозчинники, ПАР та мукоадгезивні речовини. Запропоновано наступні ДР: спирт етиловий 96 % та макрогол 400, пропіленгліколь та мальтитол, твін-80 та кремофор L, ксантанова камедь та трагакант. На основі даних чотирьохфакторного експерименту дисперсійного аналізу встановлено залежності впливу кожної з ДР на дозування, кількісний вміст полісахаридів, смак та густину спрею. Найкраще на дозування впливає система розчинників спирт етиловий:вода очищена (середнє значення 1,13 мг/мл), мальтитол (1,04 мг/мл), кремофор L (1,104 мг/мл), ксантанова камедь (1,102 мг/мл). Найвищий вміст полісахаридів у готовому спреї одержано при використанні спирту (2,17 мг), пропіленгліколю (1,96 мг), твіну-80 (1,9 мг), трагаканту (1,97 мг). Кращі смакові властивості було одержано при використанні системи розчинників спирт етиловий:вода очищена (4,38 балів), кремофору L (3,88 балів), ксантанова камедь (3,56 балів). Дисперсійний аналіз показав, що густина спрею також змінювалась від поєднання різних компонентів. Суттєво впливала на даний показник ксантанова камедь ($1,14 \text{ г/см}^3$), середнє значення для трагаканту було нижчим - $1,1 \text{ г/см}^3$; твін-80, пропіленгліколь та макрогол 400 підвищували значення густини ($1,13 \text{ г/см}^3$, $1,14 \text{ г/см}^3$ та $1,15 \text{ г/см}^3$ відповідно). В результаті досліджень встановлено оптимальний склад спрею «Фітолор-спрей» в перерахунку на 100 мл: 0,2 г екстракту евкаліпту кулястого густого, 6 г моху ісландського екстракту густого, 14 мл етилового спирту 96 %, 72 мл пропіленгліколю, 7 мл води очищеної, 0,75 г твіну-80 та 0,05 г ксантанової камеді.

Розроблено технологічні схеми виробництва готових препаратів. Схема виробництва лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей» складається із таких стадій: розчинення, перемішування, фільтрація та фасування. Схема виробництва лікарського засобу «Фітолор-спрей» містить такі технологічні етапи: розчинення, перемішування, фільтрація, змішування та фасування.

Запропоновано речовини для сертифікації моху ісландського *Cetraria islandica* слані та евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* листя. Для дослідження евкаліпту обрано хлорофіли та 1,8-цинеол, а для сировини моху ісландського - полісахариди. Досліджено якісний та кількісний вміст цих речовин у досліджуваних об'єктах. Зокрема хлорофіли А та В мали червону флуоресценцію. В екстракті *Eucalyptus globulus* та комплексному екстракті виявлено характерну пляму 1,8-цинеолу, а в екстракті моху ісландського - пляму глюкози.

Кількісною характеристикою для моху ісландського слані та його екстракту обрано вміст полісахаридів, який відповідно становив 1,08 % та 6-8 % у перерахунку на суху речовину. Для евкаліпту кулястого листя стандартизацію проведено по кількості ефірної олії (15,22 мл/кг) та хлорофілів (0,71 %). Екстракт евкаліпту кулястого стандартизували за вмістом хлорофілів, який становив 0,8 %.

На підставі сучасних фармакопейних вимог і отриманих фармако-технологічних та фізико-хімічних характеристик, розроблено та обґрунтовано специфікацію на спрей «Хлорофіліпт-спрей», до якої входять такі показники якості: опис, ідентифікація, густина від 0,99 г/см³ до 1,02 г/см³, обсяг вмісту упаковки не менше 25 мл, однорідність маси в межах від $\pm 25-35$ %, мікробіологічна чистота (МБЧ) загальна кількість аеробних мікроорганізмів 10⁴ КУО в 1 мл і загальна кількість дріжджових і плісневих грибів 10² КУО в 1 мл, антибактеріальна активність стосовно тест культури *Staphylococcus aureus*, кількісне визначення спирту етилового в межах від 12,9 % до 15,9 % та хлорофілів не менше 9*10⁻⁴ %. Проведено дослідження антибактеріальної активності лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей», який виявляв антимікробну активність стосовно *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteum*, *Candida tenuis*

та *Aspergillus niger*. Стосовно *Staphylococcus aureus* встановлено мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК) 25 мкг/мл і мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) 12,5 мкг/мл). Вивчено антиоксидатну активність спрею і встановлено, що ІС₅₀ для «Хлорофіліпт-спрей», визначене методом АВТS, дорівнює 0,55 мг/мл, а для методу DPPH - 0,16 мг/мл.

Для спрею «Фітолор-спрей» встановлено наступні показники якості: опис, ідентифікація та кількісне визначення полісахаридів, МБЧ 10⁴ КУО в 1 мл і загальна кількість дріжджових і плісневих грибів 10² КУО в 1 мл, антибактеріальна активність стосовно тест культури *Staphylococcus aureus*. Методом DPPH встановлено значення радикал поглинаючої активності (86 %) та антирадикальної активності (0,417 %).

Здійснено вибір оптимального виду упаковки для готових спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей», а саме обрано пластиковий флакон та механічний розпилювач. Дослідження готових препаратів показали, що протягом встановленого терміну зберігання спреїв всі результати випробувань знаходяться в допустимих межах, які закладені в специфікації на готовий спрей. На основі результатів дослідження стабільності запропоновано умови зберігання - при температурі не вище 25 °С; термін придатності - 2 роки.

Проведено доклінічні дослідження розроблених засобів. Вивчено цитотоксичність на клітинах сполучної тканини ссавців *in vitro* та подразнюючу дію на кролях. «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» виявилися безпечними для живих організмів, побічних реакцій на третю добу не проявлялось. При дослідженні цитотоксичності не спостерігалось змін у структурі культур тканин. Також проводили вивчення гострої системної токсичності спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» на піддослідних щурах. У результаті досліджень протягом 72 годин не було виявлено коефіцієнту зміни маси тварин.

Ключові слова: технологія, евкаліпт кулястий, мох ісландський, густі екстракти, спреї, допоміжні речовини, специфікація, стандартизація, промислове виробництво, методи контролю якості.

ANNOTATION

Fito I.V. “Development of formulations and technologies of sprays for the treatment of respiratory diseases based on extracts of iceland moss and eucalyptus”. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of philosophy of a specialty 226 Pharmacy, industrial pharmacy. Lviv Polytechnic National University, Lviv, 2021.

The dissertation is devoted to the creation of new drugs for the treatment of diseases of the upper respiratory tract on the basis of moss and eucalyptus.

The paper summarizes the data on the treatment of diseases of the upper respiratory tract (URT) in Ukraine, as well as on the current classification and state of treatment of these diseases. It is established that for their treatment drugs of four groups according to anatomical-therapeutic-chemical (ATX) classification are used. The data of literature sources on the objects of research were analyzed and systematized: *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*, as a promising raw material for the creation of new drugs. The botanical characteristics, chemical composition, application of raw materials *Eucalyptus globulus* and *Cetraria islandica* are given. The processed literature sources shed light on the expediency of using medicinal plant raw materials (MPR) of the studied plants for the development of new drugs for the treatment of URT diseases.

Methods of identification using thin-layer (TLC), gas (GC) and high-performance liquid (HPLC) chromatography and quantitative detection of biologically active substances (BAS) using spectrophotometric (SF) and gravimetric methods in medicinal plant raw materials (LCTs) are described. preparations. These methods, respectively, determine the presence and quantitative content of essential oil and its components, chlorophylls, phenolic compounds, polysaccharides etc.

The range of medicines (drugs) of the domestic market on the availability of medicines of herbal and synthetic origin, which are used in the treatment of diseases of the upper respiratory tract, has been studied. It is established that as of December 2020, 187 drugs used in diseases of the nasal cavity are registered on the market of Ukraine. Of

these, 48.31% are manufactured at pharmaceutical companies in Ukraine. Also on the Ukrainian market is a group of drugs used in diseases of the throat, 26% of this group of drugs in the form of sprays and aerosols. In the pharmaceutical market there are 138 names of drugs for the treatment of obstructive airways diseases, 21.01% of which are drugs made in Ukraine. Considerable attention in the analysis of the pharmaceutical market is paid to expectorants, 62% of the nomenclature of which are drugs of synthetic origin and only 34% - herbal. The obtained data testify to the expediency of developing new means for the treatment of URT diseases in the form of a spray based on plant raw materials.

The technological properties of MPR of *Eucalyptus globulus* leaves and *Cetraria islandica* slan were studied, namely: the ability of MPR (2-4 mm for *Eucalyptus globulus* and 0.1-0.4 mm for *Cetraria islandica*), humidity (10.1 ± 0.5 % for *Eucalyptus globulus* and 9.8 ± 0.5 % for *Cetraria islandica*), bulk density (0.49 ± 0.06 g/ml for *Eucalyptus globulus* and 0.35 ± 0.06 g/ml for *Cetraria islandica*) and after shrinkage (0.58 ± 0.05 g/ml for *Eucalyptus globulus* and 0.48 ± 0.05 g/ml for *Cetraria islandica*), shrinkage ability (20.0 ± 0.05 % *Eucalyptus globulus* and 18.0 ± 0.05 % for *Cetraria islandica*, swelling coefficients (5.0 ml/g for *Eucalyptus globulus* and 20.0 ml/g for *Cetraria islandica*) and absorption coefficients ml/g for *Eucalyptus globulus* and 10.0 ml/g for *Cetraria islandica*).

The technology of extracts of *Eucalyptus globulus* leaves and *Cetraria islandica* slan for the development of drugs for the treatment of diseases of the upper respiratory tract has been proposed.

It has been experimentally established that remaceration with stirring for 20 h is the optimal method of extraction of chlorophylls and essential oil, in particular its component 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* using 96% ethyl alcohol as an extractant. The optimal degree of grinding of MPR was determined by the content of the sum of essential oils in the obtained extracts. It was found that the smallest among the studied fractions (2, 4, 10 mm) provides the highest yield of the corresponding BAS. Taking into account the technological properties of MPR *Eucalyptus globulus*, the

optimal ratio of raw materials: extractant 1:5. For the preparation of the drug "Chlorophyllipt" at PJSC "Galichpharm" use a thick extract of *Eucalyptus viminalis*. The current technology has been optimized for the production of a thick extract of *Eucalyptus globulus*. It is established that the optimal mode of thickening of the liquid extract from this raw material is the temperature of evaporation of the extractant 50-60 °C and vacuum - 0.8 kgf/cm². In the developed technology it is proposed to replace the solvent to purify the organic layer of the extract. Instead of the previously used chloroform, the use of ethyl acetate as cheaper and safer for humans and the environment is justified. When the ratio of components 1:4 reached the limit at which the content of chlorophyll is maximum, and the smell of the extract is satisfactory. In order to increase the antibacterial activity of extract of *Eucalyptus globulus*, its modification was performed using salts of copper chloride or copper sulfate. Copper cations are involved in the replacement of magnesium in chlorophyll molecules by copper with the formation of more active copper complexes. It was found that the use of 4 % copper sulfate provided a higher yield of modified chlorophyll. An important factor was the choice of the optimal settling time, at which the separation of organic and inorganic layers, which occurred after 23-24 hours. To wash the organic layer, the optimal ratio of the amount of purified water to the total volume of the solution - 10: 1. In the final stage, the ethyl acetate is evaporated from the eucalyptus extract of spherical leaves to a residual content of not more than 0.5 %.

For the extraction of *Cetraria islandica* slant used drinking water in a ratio of raw material to extractant 1:20. The extraction was performed by the method of remaceration with stirring for four hours at a temperature of 50-55 °C and using raw materials crushed into particles ranging in size from 0.1 to 0.4 mm. Thickening of the liquid extract was performed at a temperature range of 85-95 °C. It was found that a gradual increase in the content of polysaccharides in the extract of *Cetraria islandica* is observed up to the 4-th hour, after this time this indicator has not changed.

To develop the optimal composition and technology of sprays based on standardized thick extracts of *Eucalyptus globulus* leaves ("Chlorophyll-spray") and

Cetraria islandica slan ("Phytolor-spray") used the methods of mathematical planning of the experiment.

For the drug "Chlorophyllipt-spray" studied 4 groups of excipients, namely: solvents, co-solvents, surfactants (surfactants) and flavoring agents. Ethyl alcohol 96% and macrogol 400 were considered as solvents, glycerol and propylene glycol were proposed as co-solvents. Twin-80 was considered as a surfactant, and as a flavor corrector sodium saccharin. Based on the data of a four-factor experiment of analysis of variance, the dependences of the effect of each of the excipients on antimicrobial activity, transparency, taste and homogeneity of the spray mass were established. The highest rates of antimicrobial activity were found when using ethanol (11.78 µg/ml), glycerin (11.81 µg/ml), without the use of surfactants (11.79 µg/ml) and with the addition of sodium saccharin (11.78 µg/ml). Studies of the effect of excipients on the transparency of the spray showed that the best results were obtained when using ethyl alcohol (4.41 points), propylene glycol (3.7 points), without the use of surfactants (3.9 points) and with the addition of sodium saccharin (3.6 points). Ethyl alcohol had the best effect on taste (3.63 points), while sodium saccharin deteriorated the taste. The introduction of surfactants improved this rate of homogeneity of the mass of the spray (average value 26.68 ±%), without flavor corrector the homogeneity of the mass showed an average value of 20 ±%, using macrogol and glycerin achieved a better value of this response (26.71 ±% and 27.5 ±% respectively). The optimal composition of the product in terms of 100 ml was determined: 0.2 g of *Eucalyptus globulus* extract, 14 ml of 96% ethanol and 86 ml of propylene glycol.

The combination of different classes of excipients for the spray "Phytolor-spray" was selected using a four-factor plan of analysis of variance at two levels with repeated experiments. 4 groups of excipients were studied, namely: solvents, co-solvents, surfactants and mucoadhesive substances. The following excipients are proposed: 96% ethyl alcohol and macrogol 400, propylene glycol and maltitol, tween-80 and cremophor L, xanthan gum and tragacanth. Based on the data of a four-factor experiment of analysis of variance, the dependences of the effect of each of the excipients on the dosage,

quantitative content of polysaccharides, taste and density of the spray. The dosage is best affected by the solvent system of ethyl alcohol: purified water (average 1.13 mg/ml), maltitol (1.04 mg/ml), cremophor L (1.104 mg/ml), xanthan gum (1.102 mg/ml). The highest content of polysaccharides in the finished spray was obtained using alcohol (2.17 mg), propylene glycol (1.96 mg), tween-80 (1.9 mg), tragacanth (1.97 mg). The best taste properties were obtained using a system of solvents ethyl alcohol: purified water (4.38 points), cremophor L (3.88 points), xanthan gum (3.56 points). Analysis of variance showed that the density of the spray also varied from the combination of different components. Xanthan gum (1.14 g/cm³) had a significant effect on this indicator, the average value for tragacanth was lower - 1.1 g/cm³; tween-80, propylene glycol and macrogol 400 increased the density values (1.13 g/cm³, 1.14 g/cm³ and 1.15 g/cm³, respectively). As a result of researches the optimum structure of spray "Phytolor-spray" in terms of 100 ml is established: 0,2 g of *Eucalyptus globulus* extract, 6 g of ta *Cetraria islandica* extract, 14 ml of ethanol of 96 %, 72 ml of propylene glycol, 7 ml of purified water, 0,75 g of tween-80 and 0.05 g of xanthan gum.

Technological schemes for the production of finished drugs have been developed. The production scheme of the drug "Chlorophyllipt-spray" consists of the following stages: dissolution, mixing, filtration and packaging. The scheme of production of the medicinal product "Phytolor-spray" contains the following technological stages: dissolution, mixing, filtration, mixing and packing.

Chlorophylls and 1,8-cineole were selected for the study of *Eucalyptus globulus*, and polysaccharides were selected for the raw material of *Cetraria islandica*. The qualitative and quantitative content of these markers in the studied objects was studied. In particular, chlorophylls A and B had red fluorescence. A characteristic spot of 1,8-cineole was found in the extract of *Eucalyptus globulus* and the complex extract, and a spot of glucose in the extract of *Cetraria islandica*.

The content of polysaccharides, which was 1.08 % and 6-8 % in terms of dry matter, was chosen as a quantitative characteristic for *Cetraria islandica* and its extract. For *Eucalyptus globulus* leaves, standardization was performed on the amount of essential

oil (15.22 ml/kg) and chlorophylls (0.71 %). *Eucalyptus globulus* extract was standardized for chlorophyll content, which was 0.8 %.

Based on modern pharmacopoeial requirements and obtained pharmaco-technological and physico-chemical characteristics, developed and substantiated the specification for the spray "Chlorophyllipt-spray", which includes the following quality indicators: description, identification, density from 0.99 g/cm³ to 1.02 g/cm³, the volume of the contents of the package not less than 25 ml, the homogeneity of the mass in the range from ±25-35 %, microbiological purity (MBP) total number of aerobic microorganisms 10⁴ CFO in 1 ml and the total number of yeasts and molds 10² CFO in 1 ml, antibacterial activity against the test culture of *Staphylococcus aureus*, quantitative determination of ethyl alcohol in the range from 12.9% to 15.9% and chlorophyll not less than 9*10⁻⁴%. A study of the antibacterial activity of the drug "Chlorophyllipt-spray", which showed antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteum*, *Candida tenuis* and *Aspergillus niger*. *Staphylococcus aureus* has a minimum bactericidal concentration (MBC) of 25 µg/ml and a minimum inhibitory concentration (MIC) of 12.5 µg/ml). The antioxidant activity of the spray was studied and it was found that the IC₅₀ for "Chlorophyllipt-spray", determined by the ABTS method is 0.55 mg/ml, and for the DPPH - 0.16 mg/ml.

For the spray "Phytolor-spray" established the following quality indicators: description, identification and quantification of polysaccharides, MBP 10⁴ CFO in 1 ml and the total number of yeasts and molds 10² CFO in 1 ml, antibacterial activity against the test culture of *Staphylococcus aureus*. DPPH was used to determine the values of radical absorbing activity (86 %) and antiradical activity (0.417%).

The optimal type of packaging for ready-made sprays "Chlorophyllipt-spray" and "Phytolor-spray" was chosen, namely a plastic bottle and a mechanical spray were chosen. Studies of finished products have shown that during the established shelf life of sprays, all test results are within acceptable limits, which are laid down in the specifications for the finished spray. Based on the results of the stability study, the

following are proposed: storage conditions of the drug - at a temperature not exceeding 25 °C; shelf life - 2 years.

Preclinical studies have been conducted. The cytotoxicity of mammalian connective tissue cells in vitro and the irritant effect in rabbits were studied. "Chlorophyllipt-spray" and "Phytolor-spray" were safe for living organisms, no side effects on the third day. No changes in tissue culture structure were observed in the cytotoxicity study. Acute systemic toxicity of "Chlorophyllipt-spray" and "Phytolor-spray" on experimental rats was also studied. As a result of the research, the coefficient of change of animal weight was not revealed for 72 hours.

Key words: technology, *Eucalyptus globulus*, *Cetraria islandica*, thick extracts, sprays, excipients, specification, standardization, industrial production, quality control methods.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Статті

1. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Губицька І.І., Лиліо В.В., Петрикевич В.Р. Використання моху ісландського при лікуванні інфекційних захворювань дихальних шляхів та перспективи створення нових препаратів на його основі. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2017. № 868. С. 234-241. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).

2. Новіков В.П., Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Губицька І.І., Місик Я.Т., Драпак І.В. *Nuregium perforatum* в сучасних фармацевтичних препаратах ринку України. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 2. С. 43-45. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).

3. Новіков В.П., Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Губицька І.І., Місик Я.Т., Болібрех Л.Д. *Spring precious* presentation - source of phenol compounds with antioxidant activity. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2019. № 1. С. 94-98. (Особистий внесок - участь у постановці завдань, визначення якісного складу

та кількісного вмісту основних груп БАР, математична обробка результатів, написання статті).

4. Stadnytska N.E., Diakon I.V., Hubytska I.I., Mylyanych A.O., Novikov V.P. Development of the spray composition based on extract of *Eucalyptus globulus*». *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2019. № 3. Р. 76-82. (Особистий внесок - участь у постановці завдань дослідження, проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання статті).

5. Стадницька Н.Є., Мілянич А.О., Матпиз І.С., Фітьо І.В., Федоришин О.М., Комар А.В., Новіков В.П. Асортимент лікарських препаратів для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів, представлених на ринку України. *Фармацевтичний часопис*. 2020. Т. 1. № 53. С. 59-64. (Особистий внесок - участь у постановці завдань дослідження, узагальненні результатів, оформленні статті).

6. Stadnytska N., Fito I., Novikov V., Jasicka-Misiak I., Wieczorek P. Effect of extraction solvent on total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity of *Cetraria islandica*. *Journal of PharmTech Research*. 2020. № 3. Р. 198-205. (Особистий внесок - участь у постановці завдань, визначення вмісту поліфенолів, аналіз одержаних результатів, написання статті).

7. Fito I., Stadnytska N. Standardization of *Eucalyptus globulus* leaves and *Cetraria islandica* slan. *Journal Eureka: Health sciences*. 2001. № 2. С. 59-63. (Особистий внесок - участь у постановці завдань дослідження, стандартизації екстрактів, узагальненні результатів, оформленні статті).

Монографії

8. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є. Концепція створення аерозольних лікарських форм для лікування захворювань дихальних шляхів. *Conceptual options for the development of medical science and education* : collective monograph / Medical University of Lublin. Riga: Baltija Publishing, 2020. Р. 636-655. (Особистий внесок - написання розділу монографії).

Тези доповідей

9. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Оптимізація технології виробництва таблеток Мукалтину. Вплив вибору сировини на вихід полісахаридів. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 107-108. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

10. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Особливості вибору емульгаторів при створенні нових лікарських засобів. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць, м. Харків, 13 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 96-98. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

11. Стадницька Н.Є., Новіков В.П., Дякон І.В., Петрикевич В.Р. Лікарська рослинна сировина, що використовується при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів». *Science and life: proceedings of articles the international scientific conference, Karlovy Vary, 22 грудня 2017. Karlovy Vary, 2017. P. 240-243.* (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

12. Stadnytska N., Diakon I., Novikov V. New Methods of Fighting with Staphylococcus Aureus BY *Eucalyptus viminalis* and *Cetraria islandica*. *From Molecular Modeling to Nano- and Biotechnology: 4-th PolishTaiwanese Conference, Opole, 2018. Opole. P. 59*(Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

13. Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Місик Я.Т., Губицька І.І., Новіков В.П. Дослідження настоянки первоцвіту весняного на вміст фенольних сполук. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: тези доповідей Всеукр. Наук.-практ. Конф. З міжнар. Учасстю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О.М. Гайдукевича, м.

Харків, 12-13 квітня 2018 р. Харків, 2018. С. 295-256. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

14. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Милянч А.О., Новіков В.П. Розробка методологічних підходів до технологічних процесів виробництва екстракту евкالیпту. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : збірник наукових праць, м. Харків, 1 березня 2019 р. Харків, 2019. С. 75-79. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

15. Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Новіков В.П. Залежність антиоксидантної активності екстрактів моху ісландського від вмісту етилового спирту в екстрагенті. *Хімія природних сполук*: Всеукраїнська науково-практична конференція, Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 141-142. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

16. Diakon I., Stadnytska N, Novikov V. Alternative methods for replacing propellants in the medical form spray. *Chemical technology and engineering* : 2-nd International scientific conference, м. Львів, 24-28 червня 2019 р. Львів, 2019. С. 392-393. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

17. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Вміст пігментів в рідких спиртових екстрактах *Eucalyptus globulus*. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України: матеріали конференції, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р. Харків, 2019. С. 248-250. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

18. Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Новіков В.П. Залежність антиоксидантної активності екстрактів моху ісландського від вмісту етилового спирту в екстрагенті. *Хімія природних сполук*: матеріали V Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 141-142. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

19. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Малтиз І.С., Милянч А.О., Комар А.В., Новіков В.П. Статистичний аналіз лікарських препаратів для лікування кашлю та простудних захворювань, які представлені на ринку України. *Planta+*. *Досягнення та перспективи*: Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 20-21 лютого 2020 року, Київ, 2020. С. 184-188. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

20. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Підбір екстрагенту для екстракції *Cetraria islandica*. *Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії* : науково-практична конференція з міжнародною участю, м. Харків, 2020 р. Харків, 2020. С. 47. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

21. Стадницька Н.Є., Фітьо І.В. Оптимізація отримання густого екстракту хлорофіліпту. *Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів* : конференція, м. Львів, 24-25 квітня 2020 р. Львів, 2020. С. 114-116. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

22. Фітьо І.В. Стадницька Н.Є. Новіков В.П. Вибір маркерів при дослідженні вмісту біологічно активних речовин у комплексному рослинному лікарському засобі на основі *Cetraria islandica* та *Eucalyptus globulus*. *Organization of scientific research in modern conditions* : матеріали конференції, м. Сіетл, 14-15 травня 2020 р. Сіетл, 2020. С. 177-179. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

23. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Курка М.С., Новіков В.П. Аналіз препаратів на основі листя евкаліпту. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали конференції, м. Харків, 11 березня 2020 р. Харків, 2020. С. 183-184. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

24. Фітьо І.В., Киричук А.О., Стадницька Н.Є. Стандартизація *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*. *Науково-технічний прогрес і оптимізація*

технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали VIII науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р., Тернопіль, 2020. С. 52-53. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

25. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є. Дослідження водної фракції при виготовленні екстракту із *Eucalyptus globulus*. *Wissenschaftliche Ergebnisse und Errungenschaften* : міжнародна конференція, м. Мюнхен, 25 грудня 2020 р. Мюнхен, 2020. С. 77-78. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

26. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є. Допоміжна терапія при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів. *Planta+*. *Наука, практика та освіта: матеріали міжнародної науково-практичної конференції*, м. Київ, 19 лютого 2021 р., Київ. С. 253-255. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	24
ВСТУП.....	25
РОЗДІЛ 1 ЗАГАЛЬНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ТА СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> ТА <i>CETRARIA ISLANDICA</i> (огляд літератури)	32
1.1 Класифікація, види та особливості захворювань верхніх дихальних шляхів та препаратів для їх лікування.....	32
1.2. Ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування в медицині та сільському господарстві <i>Eucalyptus globulus</i> та <i>Cetraria islandica</i>	36
1.2.1 Ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування <i>Eucalyptus globulus</i>	37
1.2.2 Ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування в медицині та народному господарстві <i>Cetraria islandica</i>	45
1.3. Форми випуску та системи упаковки лікарських засобів, які застосовуються при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів	49
РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	54
2.1. Формулювання цільового профілю спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей».....	54
2.2 Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів та допоміжних речовин як об'єктів дослідження	54
2.2.1 Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів.....	55
2.2.2 Характеристика допоміжних речовин.....	55
2.3 Характеристика основних методів досліджень.....	57
2.4 Планування експерименту та обробка результатів.....	62

РОЗДІЛ 3 АНАЛІЗ РИНКУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ	63
3.1. Аналіз вітчизняного фармацевтичного ринку лікарських засобів для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів	63
3.1.1 Засоби, що застосовуються при захворюваннях порожнини носа	63
3.1.2 Засоби, що застосовуються при захворюваннях горла	66
3.1.3 Засоби для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів.....	67
3.1.4 Відхаркувальні лікарські засоби.....	72
3.2 Рослинні лікарські засоби, які застосовуються при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів, представленні на світовому ринку	75
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНИХ СКЛАДІВ ТА ТЕХНОЛОГІЙ НОВИХ ЗАСОБІВ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТІВ МОХУ ТА ЕВКАЛІПТУ	78
4.1 Розробка технології густого екстракту евкаліпту кулястого листа та готового спрею на його основі.....	78
4.1.1 Розробка технології густого екстракту евкаліпту кулястого листа.....	78
4.1.2 Розробка раціонального складу та технології спрею «Хлорофіліпт-спрей»	93
3.2 Розробка технології густого екстракту моху ісландського слані та комбінованого засобу на основі екстрактів моху та евкаліпту	107
4.2.1 Розробка технології густого екстракту моху ісландського слані.....	107
4.2.2 Обґрунтування складу готового спрею «Фітолор-спрей».....	116
РОЗДІЛ 5 ЯКІСНЕ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ОСНОВНИХ ГРУП БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СИРОВИНИ, ЕКСТРАКТІВ ТА ГОТОВИХ ЗАСОБІВ. ВСТАНОВЛЕННЯ СПЕЦИФІКАЦІЙ ЯКОСТІ ДЛЯ СИРОВИНИ, ЕКСТРАКТІВ ТА ГОТОВИХ ЗАСОБІВ. ВИБІР РАЦІОНАЛЬНОГО ПАКУВАННЯ ТА ВИВЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ГОТОВИХ ЗАСОБІВ	134
5.1 Дослідження та стандартизація евкаліпту кулястого листа	134

5.2 Дослідження та стандартизація густого екстракту евкаліпту кулястого листя	137
5.3 Фізико-хімічні дослідження спрею «Хлорофіліпт-спрей»	146
5.3.1 Вибір оптимальної упаковки для спрею «Хлорофіліпт-спрей»	152
5.3.2 Дослідження стабільності спрею «Хлорофіліпт-спрей»	152
5.4 Дослідження та стандартизація моху ісландського слані	154
5.5 Дослідження густого екстракту моху ісландського слані	156
5.6 Фізико-хімічні дослідження спрею «Фітолор-спрей»	159
5.6.1 Вибір оптимальної упаковки для спрею «Фітолор-спрей»	160
5.6.2 Дослідження стабільності препарату «Фітолор-спрей»	160
РОЗДІЛ 6 ФАРМАКОЛОГІЧНІ ТА ТОКСИКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАСОБІВ «ХЛОРОФІЛІПТ-СПРЕЙ» ТА «ФІТОЛОР-СПРЕЙ»	165
6.1 Випробування цитотоксичності спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор- спрей»	165
6.2 Дослідження подразнюючої дії спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор- спрей»	167
6.3 Дослідження гострої системної токсичності спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей»	169
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	173
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	177
ДОДАТКИ	200

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АТХ - анатоμο-терапевтично-хімічна класифікація

АФІ - активні фармацевтичні інгредієнти

БАР - біологічно активні речовини

ВДШ - верхні дихальні шляхи

ВМП - вироби медичного призначення

ГЛЗ - готовий лікарський засіб

ДД - дієтичні добавки

ДР - допоміжні речовини

ДФУ - Державна Фармакопея України

ЄФ - Європейська Фармакопея

КУО - колонієутворюючих одиниць

ЛЗ - лікарський засіб

ЛР - лікарська речовина

ЛРС - лікарська рослинна сировина

ЛФ - лікарська форма

МБК - мінімальна бактерицидна концентрація

МІК - мінімальна інгібуюча концентрація

МФК - мінімальна фунгіцидна концентрація

ТШХ - тонкошарова хроматографія

ФСЗ - фармакопейний стандартний зразок

ЕМА - Європейська медична агенція

ТАМС - загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів

ТУМС - загальна кількість грибів

ВСТУП

Актуальність теми. Одними із найпоширеніших сезонних захворювань є хвороби верхніх дихальних шляхів, такі як: нежить, синусит, фарингіт, тонзиліт, ларингіт, гострі респіраторні інфекції, які можуть мати різну природу виникнення найчастіше це вірусні або бактеріальні інфекції. Для їх лікування використовують комплексну терапію, яка включає лікарські засоби, які безпосередньо впливають на причину хвороби в комбінації з препаратами, що полегшують перебіг та служать супутніми засобами. Досить часто застосовують синтетичні препарати, діючі речовини яких володіють спектром побічних ефектів на організм людини. Зважаючи на це, є актуальною розробка лікарських засобів рослинного походження, які володіють антибактеріальною та муколітичною діями.

На сьогодні значний інтерес при розробці лікарських засобів приділяється перевіреним лікарським рослинам з необхідною фізіологічною активністю. При лікуванні захворювань дихальної системи в складі препаратів часто використовують як компонент з антимікробною дією евкаліпт кулястий *Eucalyptus globulus* [В.Л. Надтока та співавт., 1994; А.М. Комісаренко та співавт., 2020; О.М. Кошовий та співавт., 2013; Л.В. Павлова та співавт., 2013]. Складником препаратів з вираженою муколітичною дією є мох ісландський *Cetraria islandica* [К.Л. Борисова та співавт., 2014; Г.П. Кононенко та співавт., 2015]. Однак не виявлено на фармацевтичному ринку України жодного препарату з вмістом цих двох рослин, що обумовлює інтерес по розробці лікарського засобу з їх вмістом.

Ключовим моментом фармацевтичної розробки є вибір лікарської форми готового препарату. Враховуючи фізіологічні особливості органів дихальної системи найбільш ефективними та комфортними у застосуванні є препарати у формі спреїв та аерозолів котрі забезпечують чітке дозування та мають направлену дію на осередки інфекції (Guideline on the Pharmaceutical Quality of Inhalation and Nasal Products: EMEA/CHMP/QWP/49313/2005 та Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 06.06.2002 р.). Беручи до уваги фізіологічну активність евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* та моху ісландського *Cetraria islandica* є

актуальною розробка технологій їх екстрактів та фітопрепаратів у формі спреїв з їх вмістом.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації відповідає науковому напрямку кафедри біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка». Дисертаційна робота включає дослідження, виконані згідно з планом науково-дослідних робіт кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» в межах науково-дослідних тем «Дослідження хімічного складу та вивчення фармакологічних властивостей рослин Карпатського регіону» (№ держреєстрації 0107U009425), «Розробка та вдосконалення технології одержання рослинних екстрактів та фітопрепаратів» (№ держреєстрації 0119U102132), «Біотехнологічні та фітохімічні аспекти дослідження процесу одержання біологічно активних сполук з лікарських рослин» (№0119U101965), «Створення нових лікарських засобів, фіто- та біопрепаратів» (№0119U101957), державної науково-технічної програми 03.06. «Нові екологічно безпечні лікувальні засоби».

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було теоретичне та експериментальне обґрунтування складів, розробка технологій та дослідження препаратів «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» на основі густих екстрактів евкаліпту кулястого та моху ісландського для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- систематизувати та проаналізувати дані стосовно загального стану проблеми лікування захворювань верхніх дихальних шляхів; досліджень сировини *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica* стосовно хімічного складу, фармакологічної дії та практичного застосування; провести огляд різновидів сучасних упакувань для лікарської форми спреїв;
- провести аналіз сучасного асортименту лікарських засобів вітчизняного фармацевтичного ринку, що застосовуються для лікування захворювань верхніх

дихальних шляхів, а також з вмістом моху ісландського та евкаліпту кулястого з урахуванням складу, діючих речовин, форм випуску, виробників. Розглянути одержані результати на наявність продуктів у лікарській формі спреї;

- навести характеристику використаних об'єктів та методів дослідження;
- оптимізувати технології густих екстракту евкаліпту кулястого та моху ісландського;
- дослідити якісний склад та кількісний вміст біологічно активних речовин у листі евкаліпту кулястого та моху ісландського слані;
- обґрунтувати кількісний та якісний склад та розробити технологію фітопрепаратів на основі густих екстрактів евкаліпту кулястого та моху ісландського;
- запропонувати методи стандартизації сировини, екстрактів та готових лікарських;
- здійснити вибір раціонального пакування та вивчити стабільність лікарських засобів «Фітолор-спрей» та «Хлорофіліпт-спрей» у процесі зберігання;
- провести фармакологічні та токсикологічні дослідження одержаних спреїв.

Об'єкт дослідження: комплексне дослідження листя *Eucalyptus globulus* та слань *Cetraria islandica*, густих екстрактів, одержаних на їх основі, та готових лікарських форм для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів.

Предмет дослідження: вітчизняний та світовий фармацевтичний ринок щодо наявності лікарських засобів рослинного походження для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів; технологічні параметри виробництва густих екстрактів з *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*; розробка нових лікарських засобів на основі екстрактів *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*; встановлення специфікацій якості та методів контролю для ЛРС, екстрактів та готових лікарських форм; дослідження цитотоксичності, подразнювальної дії та гострої системної токсичності для розроблених спреїв.

Методи дослідження: Для вирішення поставлених завдань були застосовані методи: тонкошарова хроматографія (ТШХ), газова (ГХ) та високоефективна

рідинна хроматографія (ВЕРХ), спектрофотометрія (СФ) у видимій ділянці спектру, гравіметричні методи. Аналіз асортименту препаратів здійснено згідно з Державним реєстром лікарських засобів України та класифікаційною системою АТС (Anatomical Therapeutic Chemical classification system). Робота виконана з використанням статистичного, логічного і графічного методів. Фізико-хімічні дослідження об'єктів та готових лікарських засобів виконано на базі Національного університету «Львівська політехніка» та ПАТ «Галичфарм».

Наукова новизна одержаних результатів. Науково обґрунтовано та експериментально підтверджено можливість використання сировини евкаліпту кулястого листа *Eucalyptus globulus* при одержанні густого екстракту для розробки готової форми замість традиційно вживаної сировини евкаліпту прутувидного *Eucalyptus viminalis*. Запропоновано технологію та стандартизовано готову форму «Хлорофіліпт-спрей» для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густого екстракту *Eucalyptus globulus* з використанням етилацетату для очищення органічного шару в технологічному процесі.

Вперше розроблено технологію водного екстракту моху ісландського слані, який пропонується застосовувати в складі комплексного фітопрепарату «Фітолор-спрей» у поєднанні із екстрактом евкаліпту кулястого.

На основі фармако-технологічних та фізико-хімічних результатів досліджень, за допомогою планів дисперсійного та регресійного аналізу вперше теоретично та експериментально обґрунтовано якісний і кількісний склад спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей». Досліджено залежність технологічних параметрів від властивостей ряду допоміжних речовин та їх вмісту.

Досліджено показники якості готових форм «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» на основі густих екстрактів евкаліпту кулястого та моху ісландського, розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин; на основі досліджень стабільності встановлено умови зберігання та термін придатності запропонованих спреїв.

Експериментально підтверджено антиоксидантну та антимікробну активність досліджуваних субстанцій.

В експериментах на лабораторних тваринах підтверджено відсутність подразнювальної дії, цитотоксичності та гострої системної токсичності «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей».

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено технології та склади готових форм «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» на основі густих екстрактів евкаліпту кулястого листя та моху ісландського слані для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів, впровадження яких сприятиме розширенню номенклатури вітчизняних препаратів та підвищенню їх доступності для широких верств населення.

Розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) на густі екстракти та готові форми, а також проекти технологічних регламентів (ТР) їх одержання. Технологію густих екстрактів, проекти технологічних регламентів та МКЯ на розроблені екстракти та готові лікарські форми передано для подальшого впровадження у виробництво на ПАТ «Галичфарм» (акти апробації від 06.01.2021).

Окремі фрагменти наукових досліджень впроваджено у навчальний процес кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (акт впровадження від 07.09.2020), кафедри технологій фармацевтичних препаратів Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 01.02.2021) та кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» (акт впровадження від 20.01.2021).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеною самостійною працею. Спільно з науковим керівником визначено мету, задачі наукових досліджень та стратегію та їх виконання.

Безпосередньо автором здійснено:

- інформаційний пошук та аналіз джерел літератури за темою дисертації;

- дослідження показників якості евкаліпту кулястого листя та моху ісландського слані, розробку проєктів нормативної документації;
- розробку технології густих модифікованих екстрактів з евкаліпту кулястого листя та моху ісландського слані;
- визначення якісного складу та кількісного вмісту основних груп БАР у сировині досліджуваних видів ЛРС, в одержаних первинних та модифікованих екстрактах;
- встановлення взаємозв'язку технологічних параметрів одержання густих екстрактів та якісними характеристиками готових лікарських засобів;
- розробку фізико-хімічних методик стандартизації сировини, екстрактів та готових лікарських засобів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня, а саме: конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2017 р.); Science and life: Proceedings of articles the international scientific conference (Чехія, 2017 р.); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О.М. Гайдукевича (Харків, 2018 р.); 4-th Polish Taiwanese Conference (Польща, 2018 р.); Всеукраїнська науково-практична конференція «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2019 р.); 2-nd International scientific conference “Chemical technology and engineering” (Львів, 2019 р.); Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (Харків, 2019 р.); Міжнародна науково-практична конференція «Planta+. Досягнення та перспективи» (Київ, 2020 р.); Науково-практична конференція з міжнародною участю "Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії" (Харків, 2020); Конференція «Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів» (Київ, 2020); Конференція «Organization of scientific research in modern conditions ‘2020» (Харків, 2020); Сучасні досягнення

фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження (Харків, 2020); Міжнародна конференція *Wissenschaftliche Ergebnisse und Errungenschaften* (Мюнхен, 2020); Міжнародній науково-практичній конференції «Planta+. Наука, практика та освіта» (Київ, 2020).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 26 наукових праць, з них 7 статей у наукових фахових виданнях України та інших держав, з яких 2 реферуються у міжнародних базах, 1 розділ монографії та 18 тез доповідей.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ТА СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ *EUCALYPTUS GLOBULUS* ТА *CETRARIA ISLANDICA* (огляд літератури)

1.1 Класифікація, види та особливості захворювань верхніх дихальних шляхів та препаратів для їх лікування

Одними із найпоширеніших сезонних захворювань є захворювання верхніх дихальних шляхів, які можуть мати вірусну або бактеріальну природу. На сьогоднішній час не вирішено більшість проблемних питань, пов'язаних із причинами виникнення даних захворювань [196, 202]. З метою чіткого розподілу захворювань верхніх дихальних шляхів на групи розроблена міжнародна класифікація хвороб (МКХ) [183, 187, 202]. Згідно з цією класифікацією, захворювання системи дихання поділяють на групи, наведені у табл. 1.1.

На рис. 1.1 представлено власне системний розподіл захворювань верхніх дихальних шляхів, за яким класифікують захворювання органів дихання [196].



Рис. 1.1 Системний розподіл на групи захворювань органів дихання

Розподіл на групи захворювань системи дихання [202]

(J00-J06) Гострі респіраторні захворювання верхніх дихальних шляхів	
(J00)	Гострий назофарингіт (нежить)
(J01)	Гострий синусит
(J01.0)	Гострий синусит верхньої щелепи
(J01.1)	Гострий фронтальний синусит
(J01.2)	Гострий етмоїдальний синусит
(J01.3)	Гострий сфеноїдальний синусит
(J01.4)	Гострий пансинусит
(J01.8)	Інший гострий синусит
(J01.9)	Гострий синусит неуточнений
(J02)	Гострий фарингіт
(J02.0)	Стрептококковий фарингіт
(J02.8)	Гострий інфекційний фарингіт
(J03)	Гострий тонзиліт
(J03.0)	Стрептококковий тонзиліт
(J03.8)	Гострий тонзиліт, спричинений іншою інфекцією
(J03.9)	Гострий тонзиліт, неуточнений
(J04)	Гострий ларингіт та трахеїт
(J04.0)	Гострий ларингіт
(J04.1)	Гострий трахеїт
(J04.2)	Гострий ларинготрахеїт
(J05)	Гострий обструктивний ларингіт (круп) та епіглотит
(J05.0)	Гострий обструктивний ларингіт (круп)
(J05.1)	Гострий епіглотит
(J06)	Гострі респіраторні інфекції верхніх дихальних шляхів
(J06.0)	Гострий ларингофарингіт
(J06.8)	Інші гострі інфекції верхніх дихальних шляхів з багатьма локалізаціями
(J06.9)	Гостра інфекція верхніх дихальних шляхів, неуточнена

Також часто використовується поділ даних захворювань на дві великі групи [202]:

1. хвороби нижніх дихальних шляхів,
2. хвороби верхніх дихальних шляхів.

Групу захворювань верхніх дихальних шляхів, згідно з табл. 1.1, складають захворювання J00 - J06, а саме нежить, синусит, фарингіт, тонзиліт, ларингіт та трахеїт, гострий обструктивний ларингіт та епіглотит, а також гострі респіраторні інфекції верхніх дихальних шляхів [187, 202]. Тобто це захворювання носової порожнини з приносковими пазухами, ротової та носової частин глотки.

Для лікування групи J00 та J01 згідно АТХ класифікації використовуються препарати групи R01 - засоби, що застосовуються при захворюваннях порожнини носа.

Для лікування захворювань груп J02 та J05 використовують засоби: R02 - препарати, що застосовуються при захворюваннях горла; R03 - засоби для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів та R05 - лікарські засоби, що використовуються при лікуванні кашлю та простудних захворювань [129]. Остання група лікарських засобів, а саме R05, використовується також при лікуванні захворювань останньої групи J06 [174].

Ці групи препаратів поділяють на певні підгрупи, що охоплюють весь діапазон захворювань завдяки використанню в їх рецептурі речовин як природного так і синтетичного походження. Дослідженню їх різноманіття присвячено підрозділ в третьому розділі дисертації.

На рис. 1.2 представлено ще один вид класифікації лікарських засобів, які застосовуються при лікуванні верхніх дихальних шляхів, - за клініко-фармакологічною характеристикою [183, 187, 196].

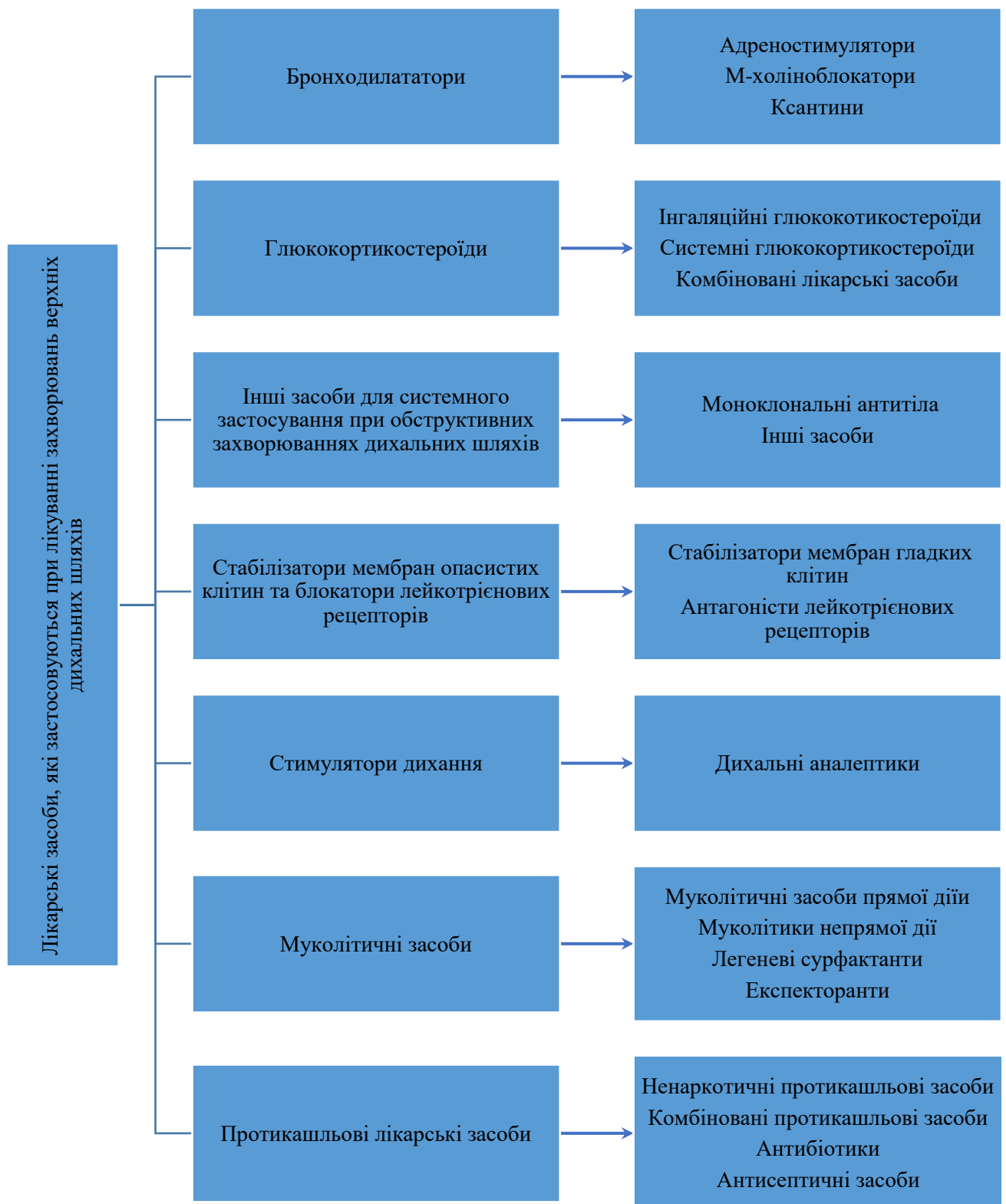


Рис. 1.2 Класифікація лікарських засобів за клініко-фармакологічною характеристикою, які застосовуються при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів

Можна зробити висновок, що захворювання верхніх дихальних шляхів, як і захворювання органів дихання в цілому, є широко представленими та піддаються різним видам класифікації. Для їх лікування використовуються препарати чотирьох груп згідно АТХ-класифікації. Доцільним є аналіз їх асортименту, форм випуску, складу та виробників.

1.2. Ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування в медицині та сільському господарстві *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*

Беручи до уваги значну кількість груп захворювань верхніх дихальних шляхів, а також аналізуючи симптоми, які їх супроводжують, можна зробити висновок щодо доцільності розробки нового лікарського засобу для лікування захворювань дихальної системи, котрий містив би у своєму складі компоненти з антимікробною та муколітичною діями. Цей засіб дозволить усунути кашель та біль у горлі, як перші симптоми захворювань верхніх дихальних шляхів при застосуванні одного препарату, що дуже зручно для хворого. На даний час на фармацевтичному ринку України такого препарату немає [174].

Оскільки лікарські засоби із вмістом рослинних субстанцій є популярними серед населення України у зв'язку із їх ефективністю та безпечністю, увагу було спрямовано на вибір рослинних компонентів для нових препаратів. Серед офіційних лікарських рослин вираженою антимікробною активністю володіє представник родини Миртові Myrtaceae евкалипт кулястий *Eucalyptus globulus*, а представник родини пармелієві Parmeliaceae мох ісландський *Cetraria islandica* є джерелом полісахаридів з муколітичною дією. Дані покази для застосування підтверджуються аналізом інструкцій для медичного застосування відповідних препаратів з їх вмістом [174]. Саме тому *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica* було обрано як об'єкти досліджень для розробки нових фітозасобів вище згаданої дії. Детальний аналіз ринку препаратів на основі моху ісландського та евкалипту представлено у третьому розділі дисертації.

1.2.1 Ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування *Eucalyptus globulus*

Eucalyptus як окремий рід нараховує більше 800-та видів рослин [105]. Згідно з вимогами Державної фармакопеї для виробництва фітопрепаратів, призначених для вітчизняного фармацевтичного ринку, дозволено використання листя евкаліпту прутовидного *Eucalyptus viminalis* Labill., проте цей вид не є внесеним до Європейської фармакопеї, тому не може використовуватись у виробництві лікарських засобів, призначених для європейського та світового ринків. Стандартизованою рослинною сировиною для зовнішніх фармацевтичних ринків є *Eucalyptus globulus* [47]. Для розширення ринків збуту вітчизняним фармацевтичним підприємствам доцільно перейти на використання рослинної сировини, регламентованої нормативними документами Європейського Союзу, тобто необхідна заміна виду евкаліпту для виробництва препаратів на його основі.

Eucalyptus globulus - високе вічнозелене дерево до 70 м заввишки [27]. Коренева система потужна, кора стовбура гладка, проте зовнішній шар схильний відшаровуватись. Молоді гілки дерев чотиригранні, ребристі, покриті воскоподібним нальотом. Листя рослини супротивно розміщене, сидяче, часто стеблообгортне, яйцеподібне із серцевидною основою листової пластинки. Листки та гілки вкриті блакитно-сірим восковим шаром [172]. Під шаром епідермісу щільно розташовуються клітини стовпчастого мезофілу видовжено-прямокутної форми, з великою кількістю хлоропластів, а також виявлено ендогенні секреторні структури, в яких накопичується ефірна олія [206]. Квітки білі, великі, двостатеві, поодинокі розташовані в пазухах листків, віночок відсутній, чашечка чотиригранна. Плід у вигляді напів кулястої коробочки [172]. Лікарською сировиною *Eucalyptus globulus* є листя, яке має приємний ароматний запах, а смак гострий і злегка гіркий [75]. У промисловості використовується як цільна, так і подрібнена сировина з розміром частинок 2-10 мм [47].

У літературних джерелах знайдено інформацію про хімічний склад *Eucalyptus globulus*, в листі якого виявлено ефірну олію, основним компонентом якої є 1,8-

цинеол [181, 137, 76, 79, 109, 20, 88]; фенольні сполуки, в тому числі флавоноїди та дубильні речовини [15, 43, 103, 84, 9, 60]; органічні кислоти [16]; глікозиди, представлені сапонінами тритерпенової групи [115]; смоли та віск [181, 172]. З лікувальною метою також використовують пилок евкаліпту кулястого в якому виявлені білки, амінокислоти, вуглеводи, антибіотики та стимулятор росту [172].

Ефірна олія, одержана з листя *Eucalyptus globulus*, окрім значної кількості 1,8-цинеолу, містить α -пінен, транс-пінокарвеол, глобулол, *n*-цимен, β -евдесмол, аромандрен, віридифлорен [181], а також β -пінен, α -фелландрен, D-лімонен, γ -терпен та терпен-4-ол [186]. Вміст ефірної олії в деревині і гілках *Eucalyptus globulus* значно менший, ніж у листі, та змінюється з віком рослини. У роботі Шіфєро Й. та ін. [137] продемонстровано результати дослідження евкаліпту кулястого листя вирощеного у Ефіопії та зібраних з дерев різного віку. Встановлено, що якісний склад ефірної олії зберігається протягом усього життя рослини, але зменшується кількісний вміст компонентів, лише кількість 1,8-цинеолу збільшується з віком рослин і становить від 61 до 73 %. У літературних джерелах [137, 76, 79, 109, 20] присутня інформація, яка дозволяє порівняти кількісний вміст 1,8-цинеолу у листі *Eucalyptus globulus* з різних країн світу, зокрема найбільший вміст 1,8-цинеолу присутній у представників Ефіопії та Індії, дещо менша кількість спстерігається у *Eucalyptus globulus* із Тунісу та Алжиру.

Ефективним методом екстракції ефірної олії з евкаліпту кулястого листя є мікрохвильова екстракція у водному середовищі. Протягом 60-ти хвилин та потужності мікрохвиль до 600 Вт з листя рослини вченим вдалося вилучити 38,77 % 1,8-цинеолу [151]. Найефективнішим органічним екстрагентом для екстрагування ефірної олії виявився метанол. Порівнюючи вміст 1,8-цинеолу у метанольному, хлороформному та гексановому екстрактах, найвищий вміст компонента виявлено саме у метанольному екстракті (48,2 %), у хлороформному знайдено 35,5 % 1,8-цинеолу, а у гексановому лише 5,8 % [103]. Варто зазначити, що представники роду евкаліпт, в тому числі і *Eucalyptus globulus*, виділяють у повітря значну кількість монотерпенів за рік. Зокрема кількість ізопрену, яка

виділяється молодими деревами за одну годину, становить 1,6 мг, - така концентрація вважається фактором забруднення повітря. Дане питання активно регулюється з метою контролю викиду монотерпенів на ділянках, де ростуть дерева [45]. Відомими є і алелопатичні властивості α -терпенолу, який входить до складу евкаліптової олії. При концентрації 1,6 мкл/см³ в ґрунті його інгібуюча активність становить 51 %, що впливає на рослини, які ростуть поруч [11].

Є дані про вміст фенольних сполук у листі *Eucalyptus globulus*, зокрема ідентифіковано 30 галотанінів, елаготаніни та поліфеноли. А також виявлено вісім дубильних речовин, включаючи галотаніни: три- β -D-глюкозу, тетра-O-галоїл- β -D-глюкозу та пента-O-галоїл- β -D-глюкозу, та елаготаніни: педункулагін, телімаграндин I, казуаринін, казуариктин та телімаграндин II [15]. Було досліджено [54] концентрації основних поліфенольних сполук за площами піків методом ВЕРХ. Більшість фенольних сполук були ідентифікованими як галотаніни (72,60 %) та похідні кверцетину (21,07 %), тоді як похідні галоїлової кислоти становили лише 6,33 % досліджуваних фенольних сполук. Вміст поліфенолів у готовому екстракті із евкаліпту кулястого листя залежить від екстрагента. Проведено порівняльні дослідження щодо вмісту поліфенолів у метанольному та ацетоновому екстрактах. Результати демонструють, що метанольний екстракт містив хінони, сапоніни, вуглеводи, дубильні речовини, феноли, флавоноїди та жир, тоді як в ацетоновому екстракті були присутні лише хінони, флавоноїди та жир. Також було визначено, що загальний вміст фенольних сполук у метанольному екстракті становить 11,41 %, а вміст поліфенолів - 35,88 % [30]. В іншому дослідженні [103] автори демонструють порівняльні результати щодо визначення поліфенолів у метанольному, хлороформному та гексановому екстрактах. Найвищий вміст поліфенолів знайдено у метанольному екстракті - 52,5 мкг/мг, у хлороформному - 40,8 мкг/мг, найменше у гексановому - 24,6 мкг/мг. Авторами [9] порівняно загальний вміст поліфенолів в етанольному (237 мг/г) та хлороформному 34 мг/г екстрактах. Також у етанольному екстракті було визначено вміст фенольних сполук, що становив $235,87 \pm 4,38$ мг/г, вміст хлорогенової кислоти -

менше 0,02 мг/г, кверцетину - 287 мг/г, ізокверцетину - 38 мг/г, рутину - 48 мг/г [35]. Метанол виявився ефективнішим екстрагентом для вилучення фенольних кислот: $17142,3 \pm 702,2$ мкг/г з листя евкаліпту у порівнянні з етанолом, де вміст фенольних кислот становив $5883,1 \pm 203,6$ мкг/г [60].

Ефективним методом екстракції фенольних сполук з евкаліпту кулястого є ультразвукова екстракція в етиловому спирті. Контроль проводили згідно досліджень загального вмісту поліфенолів, - за 7 хв.н із сировини було вилучено $79,4 \pm 2,1$ мг/г поліфенолів [64].

У листі евкаліпту кулястого встановлено наявність міристинової, гексадеканової, 3,5-ди-трет-бутил-4-гідроксицинамонової та лінолевої кислот [26]. Крім того, у листі *Eucalyptus globulus* виявлено два глікозиди флороглюцинолу - евкалоглобузиди А та В [123].

Антиоксидантна активність евкаліпту кулястого листя визначається вмістом ефірної олії, зокрема 1,8-цинеолу, та поліфенольних сполук. В результаті дослідження антиоксидантної активності методом DPPH евкаліптової олії одержаної із *Eucalyptus globulus*, вирощеного в Ефіопії, визначено значення ефективної концентрації IC_{50} 0,577 мг/мл. У даній олії міститься 77 % 1,8-цинеолу та 10 % α -пінену [2].

Інші літературні дані демонструють значення антиоксидантної активності ефірної олії евкаліпту кулястого, вирощеного в Алжирі - IC_{50} $33,33 \pm 0,55$ мг/мл [69] та вирощеного у Португалії - IC_{50} 4,48 мкл/мл [23].

Антиоксидантна активність екстрактів *Eucalyptus globulus* залежить від типу та концентрації екстрагента, який у свою чергу впливає на вивільнення поліфенолів. Хлороформний екстракт зі свіжого евкаліпту кулястого листя у ході дослідження проявляв значення ефективної концентрації IC_{50} 162,7 мкг/мл, вміст загальних поліфенолів становив 34 мг/г; 96 % етанольний екстракт мав значення ефективної концентрації IC_{50} 23,5 мкг/мл, вміст поліфенолів становив 237 мг/г; етанольний 50 % екстракт проявляв значення IC_{50} 19,1 мкг/мл, маючи при цьому вміст поліфенолів 548 мг/г [8].

Проявляють антиоксидантну активність також і метанольні екстракти листя *Eucalyptus globulus*, зокрема встановлено ефективну концентрацію IC₅₀ 23 мкг/мл для евкаліпту, вирощеного в Тунісі [76], та IC₅₀ 48,42 мкг/мл для евкаліпту з Індії [115].

Проведено порівняльне дослідження антиоксидантної активності екстрактів, приготованих з листя та плодів *Eucalyptus globulus*. Порівняно з екстрактом, листя (вміст поліфенолів 432,63 мг/г), екстракт плодів (вміст поліфенолів 464,71 мг/г) проявив вищу антиоксидантну активність, що демонструє можливість використання у якості лікарської рослинної сировини не лише листя, але і плодів евкаліпту кулястого [16]. Крім того, є дослідження, які описують вивчення антиоксидантної активності водних та спиртових екстрактів, приготованих із кори *Eucalyptus globulus* [155].

Ряд робіт [87, 102, 42, 21] витримки з яких представлено нижче, присвячено вивченню антимікробної активності ефірної олії *Eucalyptus globulus*. Методом дисків встановлена зона інгібування росту тест культур мікроорганізмів *Streptococcus mutans* - 0,20 см [87]; *Pseudomonas aeruginosa* - 6,57 ± 0,21 мм [102], в той час в іншому дослідженні [33] цей показник становив 20 мм; *Haemophilus influenzae* - 28 мм [42]; *Rhizoctonia solani* - 20 мм [53]; також виявлена протигрибкова активність стосовно тест-культури *Aspergillus niger* зона інгібування - 21 мм та *Candida albicans* (зона інгібування - 21 мм) [21].

У ході дослідження [100] було виявлено, що ефірна олія евкаліпту кулястого проявляє вищу антимікробну активність, ніж 0,5 % розчин хлоргексидину стосовно золотистого стафілокока *Staphylococcus aureus* та кишкової палички *Escherichia coli*. Ефірна олія *Eucalyptus globulus* пригнічує розвиток *Escherichia coli*, що має значення при лікуванні печінкової коми [71], а також значно знижує концентрацію *Candida albicans* у печінці та нирках тварин, які хворіють цукровим діабетом [18]. Є інформація [131] щодо ефективності ефірної олії евкаліпту кулястого стосовно різних тест-культур роду *Candida*, а саме *Candida albicans*, *Candida diversa* та *Candida rugosa*.

Ряд робіт присвячено вивченню впливу ефірної олії *Eucalyptus globulus* на тест-культури ряду мікроорганізмів та визначено мінімальні інгібуючі концентрації (табл. 1.2) [23, 59, 96, 102, 154, 71].

Таблиця 1.2

Мінімальна інгібуюча концентрація евкалиптової олії листя
Eucalyptus globulus на різні штами мікроорганізмів

Мінімальні інгібуючі концентрації тест культур, мг/мл / використані літературні джерела						
<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella gallinarum</i>
0,63 / [23, 59]	0,29 / [96]	0,01 / [102]	0,01 / [102]	2,25 / [154]	0,13 / [71]	0,69 / [166]

Аналізуючи результати табл. 1.2, бачимо, що найчутливішими штамами до дії евкалиптової олії листя *Eucalyptus globulus* є *Proteus mirabilis* та *Pseudomonas aeruginosa*.

У літературних джерелах [69, 147] є інформація про дію евкалиптової олії на 12 бактеріальних штамів, серед яких шість штамів грамнегативних бактерій (*Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29522, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, ATCC 49417, HW24D1 і W83) та шість грампозитивних каріогенних бактерій (*Staphylococcus mutans* ATCC 35668, ATCC 33535, ATCC 25175, *Staphylococcus sobrinus* ATCC 33478, ATCC 27607, ATCC 27352). Авторами Тардугно Р. та ін. [147] методом розведень встановлено мінімальну інгібуючу концентрацію евкалиптової ефірної олії стосовно *Streptococcus mutans*, яка дорівнює 64 мкг/мл. Евкалиптова олія *Eucalyptus globulus* виявляє активність стосовно *Mycobacterium tuberculosis*, зокрема мінімальним активним розведенням є 1 до 100 [41]. Також є дослідження [159], які доводять, що при введенні ефірної олії *Eucalyptus globulus* піддослідним щурам із запаленням легень в кількості 300 мг/кг живої маси тварини протягом чотирьох тижнів спостерігається повне пригнічення росту *Klebsiella pneumoniae*. Евкалиптова олія

евкаліпту кулястого проявляє активність стосовно *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum* [166].

Антимікробну дію ацетонового екстракту *Eucalyptus globulus* досліджували методом дисків [3]. Встановлено зони інгібування росту тест культур *Aspergillus niger* (22 мм), *Penicillium species* (17 мм), *Aspergillus fumigatus* (16 мм), *Aspergillus flavus* (10 мм), *Trichoderma species* (20 мм). Метанольні, хлороформні та етанольні екстракти із евкаліпту кулястого листа проявляють активність стосовно кишкової палички *Escherichia coli* (ATCC 25722) у концентрації від 16 до 17 мг/мл [48] та у концентрації від 1,25 до 5 г/мл [168]. Ефективність метанольних екстрактів стосовно *Escherichia coli* підтверджується проведенням відповідних доклінічних досліджень [86]. Описаними є дослідження антимікробних властивостей екстрактів листа *Eucalyptus globulus* та *Eucalyptus camaldulensis*, які отримані методом мікрокапсулювання [107]. Мікрокапсулювання водного екстракту *Eucalyptus globulus* проводили у поєднанні із наночастинками оксиду міді. Отриманий екстракт проявив антибактеріальну активність як до грампозитивних, так і до грамнегативних мікроорганізмів, таких як *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* [7]. Схожими є дослідження щодо створення наноемульсій із екстракту евкаліпту кулястого листа, які демонструють альтернативні методи створення лікарських та косметичних засобів із *Eucalyptus globulus* [58]. Завдяки вмісту фенольних сполук, евкаліпт може використовуватись для виготовлення нанокompatитних плівок, - їх отримують з 5-10 %-го водного розчину евкаліпту [56].

Доклінічні дослідження евкаліпту кулястого демонструють покращення фізіологічного стану при діабеті. Залежно від підбраної індивідуальної дози водний екстракт *Eucalyptus globulus* покращує стан шляхом часткового відновлення β -клітин підшлункової залози. Курс лікування повинен тривати 7 днів, а концентрація водного екстракту листа евкаліпту 2,5 г/л [92]. Властивість водного екстракту евкаліпту кулястого пригнічувати дипептидилпептидазу-4 за рахунок

наявності макрокарпалу С дає підставу пропонувати рослину при лікуванні діабету [82].

Противірусні властивості водного екстракту евкаліпту кулястого листя вперше були описаними у 2018 році [24]. Рослина виявляла ефективність проти вірусу герпесу, дослідження проводили у порівнянні з ацикловіром, концентрація, при якій виявляється противірусна активність, становила 210 мкг/мл [24].

Евкаліптова олія у кількості від 500 мг/кг живої маси тварини приглушувала імпульси рухової активності у піддослідних щурів. На думку авторів [165] дані результати дослідження цінні для розробки комбінованих психотропних лікарських засобів.

Описаними є дослідження цитотоксичності ефірних олій *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus robusta* [38], *Eucalyptus Camaldulensis* [138] та *Eucalyptus citriodora* [70]. Евкаліптова олія вище перелічених видів евкаліпту показала значну пригнічувальну дію щодо інгібування рівнів експресії білка, тим самим притуплюючи розмноження клітин [70].

Водний екстракт листя евкаліпту проявляв антигіпертензивну та вазорелаксантну дію [6]. Випробування проводились на ізольованій грудній аорті піддослідного щура, добова доза становила 160 мг/кг.

Доведена гепатопротекторна дія поліфенольних сполук метанольного екстракту евкаліпту кулястого листя при дослідженні печінки піддослідних щурів, уражених циклофосфамідом [55].

Описано антипаразитарні властивості евкаліптової олії з вмістом 1,8-цинеолу не менше 71,7 % [157]. Проведено дослідження акарацидної дії стосовно кліщів спиртових розчинів евкаліптової ефірної олії. Різними колективами авторів встановлено відповідні концентрації, що спричиняли смерть паразитів, а саме: 10 % [4], 67,55 мкг/мл [95], 35,78 % [13] та 20 мг/мл [128]. Вченими було також досліджено ефективність олії евкаліпту кулястого при боротьбі з лупою. Отримані дані свідчать про можливість використання евкаліпту при створенні лікувальних протигрибкових шампунів [133, 67]. У якості гербіцидів запропоновано

використовувати наступні витяжки із евкаліпту кулястого листа: 10 % спиртовий екстракт [44], водні екстракти [122], а також поєднання 2,5 % евкаліптової олії *Cymbopogon citratus* та 2,5 % олії *Eucalyptus globulus* [139]. Для створення потенційного гербіциду евкаліпту кулястого листа поєднують із синтетичними сполуками [112, 113].

З даних опрацьованих джерел можна зробити висновок, що ефірна олія та екстракти евкаліпту кулястого мають антибактеріальну [94, 132, 43, 66], протигрибкову [18], противірусну [24], кровоспинну [86], протизапальну [117, 156, 134], антиоксидантну [1, 101, 155, 83], антидіабетичну [92], репелентну [4, 91], гербіцидну [68, 162], протипухлинну дії [38, 138]. Вони використовуються для лікування захворювань, які мають мікробіологічне походження та пов'язані з патологіями запального характеру.

1.2.2 Ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування в медицині та народному господарстві *Cetraria islandica*

Ще однією рослиною, яка використовується при лікуванні захворювань органів дихання, є мох ісландський *Cetraria islandica*. Це рослина-представник родини Пармелієвих (*Parmeliaceae*). Слань *Cetraria islandica* є неправильно розділеною і складається з голих, жорстких, ламких смуг, що мають довжину до 15 см, ширину 0,3-1,5 см і товщину близько 0,5 мм. Зовнішня поверхня слані зеленувата або зеленувато-коричнева, внутрішня - сірувато-біла або світло-коричнева подекуди з білими плями. На верхівках розгалужених часток слані знаходяться плодові тіла - дископодібні апотеції [12, 160].

Cetraria islandica росте в арктичних і субарктичних районах, у північній та східній Європі, Північній Америці, а також у горах Німеччини, Північної Італії, Чехії, Словаччини, Польщі, Росії [132, 145], Швеції, Ісландії [110], Естонії, Боснії та Болгарії [57]. Існує два хемотипи ісландського моху: *Cetraria islandica* та *Cetraria ericetorum*, які можна розділити та розпізнати виключно за допомогою

хімічного профілювання, що полягає у скануванні ДНК рослини. За іншими ознаками розпізнати цих два види *Cetraria* неможливо [164].

У слані *Cetraria islandica* виявлено ряд речовин, які так чи інакше визначають фармакотерапевтичну дію рослини. В основному, це лишайникові кислоти [12, 160] та мікотоксини [121]; жирні кислоти [158]; альдегіди [158]; феноли [158]; олефіни [158]; мікроелементи [121]; меланін [28]; поліфеноли [170] та полісахариди [72, 73].

Лишайникові кислоти становлять до 85 % компонентного складу *Cetraria islandica* [49]. До групи лишайникових кислот входять фумаропротоцетрарова (2,6-11,5 %), протолістеринова (0,1-1,5 %), уснінова (0,04 %) [12], цетрарова кислоти [160]. Уснінова кислота у *Cetraria islandica* може бути нерівномірно розподіленою та відрізнитись кількісним вмістом у верхній та нижній надземних частинах рослини. Зокрема, середнє значення уснінової кислоти у верхній частині *Cetraria islandica* становить 15 мг/г, а у нижній - 18 мг/г [85]. Таку ж варіабельність у різних частинах лишайника проявляють мікотоксини: у верхній частині рослини максимальне значення мікотоксинів дорівнює 602 нг/г в той час як у нижній частині *Cetraria islandica* 1985 нг/г [121, 150]. Лишайникові кислоти *Cetraria islandica* є шкідливими для живих організмів, при вмісті 50 % у водних екстрактах моху ісландського дані кислоти проявляли токсичний вплив на піддослідних щурів. Для нейтралізації лишайникових кислот необхідно обробляти слань *Cetraria islandica* гарячою водою [5].

Похідні жирних кислот слані *Cetraria islandica* представлені етилпальмітатом, етилінолеатом та етилолеатом [158]. У складі слані *Cetraria islandica* виявлено такі альдегіди як гексанал та 2,4-дигідрокси-6-метилбензальдегід [158]. Феноли *Cetraria islandica* представлені в основному ефірами: 3-метокси-5-метилфенолом, 5-метил-1,3-дигідроксибензолом, 4,5-диметил-1,3-дигідроксибензолом, метил-2,4-диметокси-6-метилбензоатом, метил-2,4-дигідрокси-3,6-диметилбензоатом, етил-2,4-дигідрокси-6-метилбензоатом та етил-2,4-дигідрокси-3,5,6-триметилбензоатом [158]. У *Cetraria islandica* містяться олефіни, зокрема цис- та транс-неофітадієн [158]. *Cetraria islandica* містить також

і метали: натрій (8470 мг/кг), калій (3330 мг/кг), кальцій (3600 мг/кг), магній (820 мг/кг) [121]. [158, 74]. Із моху ісландського слані виділено хінон, що має назву ісландохінон [19].

Для життєдіяльності *Cetraria islandica* потрібне достатнє утворення меланіну в рослині. Є дослідження, які доводять збільшення кількості меланіну у слані *Cetraria islandica* у 5,4 рази завдяки дії ультрафіолетового світла [28]. Мох ісландський, вирощений у Арктиці, також демонструє високий вміст сонцезахисних сполук (меланіну та парієтину), незважаючи на низький рівень ультрафіолетового світла середовища, в якому він зростає [108]. Є дослідженням меланін *Cetraria islandica*, зокрема, встановлено вміст мікроелементів: С (41 %), Н (6,5 %), N (1,3) [125].

Мають місце у компонентному складі *Cetraria islandica* і водорозчинні поліфеноли, які представлені фенілпропаноїдами, серед яких є похідні пара-гідроксибензойної кислоти, похідні ванілінової та протокатехової кислот [170]. Із слані *Cetraria islandica* виділено такі каротиноїди як β -каротин, зеаксантин, лютеїн, астаксантин, кантаксантин, лютеоксантин, β -криптоксантин та епоксид лютеїну [163]. Склад *Cetraria islandica* представлений ще й вмістом деяких терпенів та стероїдів, таких як монотерпеноїд карвон, сесквітерпеноїд баккенолід А/фукінанолід А [163]. Полісахариди *Cetraria islandica* представлені ліхеніном та ізоліхеніном [136], сахарозою, трегалозою, галактозил-арабітом, галактозил-пентитолом, галактозил-рибітолом, глюкозил-манітом та галактозил-манітом [72]. Крім того, з *Cetraria islandica* виділено глюкани (β -1,3- та β -1,3/1,6-глюкани) [169] та, як згадувалось раніше, фумаропротоцетрарову кислоту, які є похідними полісахаридів, виділених із водних фракцій *Cetraria islandica* [74, 61]. Із моху ісландського слані при екстракції гарячою водою виділено також полісахарид, який складається із (1 \rightarrow 3) та (1 \rightarrow 4) - β -D-глюкопіранозилових одиниць. Молярна маса даного полісахариду, визначена методом хроматографії, становить $328,7 \cdot 10^3$ г/моль [146].

Метанольний екстракт *Cetraria islandica* проявляє помірне зниження активності вільних радикалів при значенні ефективної концентрації IC_{50} 678,38 мг/мл. Авторами Гулсін І. та ін. [63] визначено антиоксидантну активність водних екстрактів *Cetraria islandica* з використанням тіоціанатного методу, що базується на інгібуванні окиснення лінолевої кислоти. Метанольні екстракти *Cetraria islandica* проявляють антимікробну дію стосовно *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Trichoderma harsianum*, *Penicillium purpurescens*, *Fusarium oxysporum*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* у концентраціях від 0,312 до 5 мг/мл [61] та стосовно *Helicobacter pylori* при мінімальній концентрації від 16 до 64 мг/мл [74]. Дослідження проводили методом розведень. Інгібуючу дію стосовно *Salmonella enteridis bacteria* проявляють етанольний екстракт *Cetraria islandica* при мінімальній концентрації 57,02 % та ацетоновий екстракт при 63,16 % [116]. Проведеними є дослідження [148] щодо діаметрів зон затримки росту тест культур мікроорганізмів при дії на них водного та метанольного екстрактів *Cetraria islandica*.

У літературних джерелах є загальна інформація щодо антимікробної дії ацетонових, метанольних, ацетонових та хлороформних екстрактів лишайників стосовно таких штамів як *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* [140, 80, 29, 81, 34, 141], *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* [80], *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica* [152, 25], *Streptococcus mutans* [167], *Candida parapsilosis* [111, 99]. Згадується протипухлинна дія метанольних [98], етанольних [65], водних [153], ацетонових та хлороформних [17] екстрактів *Cetraria islandica*. Метанольні екстракти *Cetraria islandica* проявляють протипухлинну дію при значенні ефективної концентрації IC_{50} від 22,68 до 33,74 мкг/мл [61], в той час як етанольні екстракти ефективні при концентрації 125 мг/мл [65]. При концентрації 20 мкг/мл протолістерінова кислота, виділена із *Cetraria islandica*, проявляє протипухлинну активність при терапії раку легень [149]. Водні екстракти *Cetraria islandica* можуть бути використані при лікуванні діабету. Для проведення відповідних досліджень діабетичні та контрольні зразки крові тварин протягом 48 год обробляли водним

екстрактом *Cetraria islandica*. При концентрації екстракту *Cetraria islandica* 5-10 мг/мл спостерігалось підвищення життєздатності клітин крові піддослідних тварин, хворих на цукровий діабет [31]. Той же самий колектив авторів у іншому своєму дослідженні доводить, що водний екстракт *Cetraria islandica* у дозах 250 та 500 мг/кг може бути використаним при лікуванні діабету I-го типу [30].

Доведено ефективність водних екстрактів *Cetraria islandica* при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів [118]. Європейське агентство з лікарських засобів рекомендує вживання водних екстрактів ісландського моху при сухому та вологому кашлі, а також при запальних захворюваннях верхніх дихальних шляхів [12]. Є запатентованою розробка нового лікарського засобу на основі водного екстракту моху ісландського слані для лікування синуситів та ринітів [119]. Протизапальна дія водного екстракту *Cetraria islandica* вивчалась на піддослідних щурах [51], при добовій дозі 2,5 мг/кг живої маси тварини спостерігалось полегшення симптомів артриту. Водні екстракти *Cetraria islandica* у концентрації 0,1 мг/мл проявляють дію проти вірусу грипу [189]. *Cetraria islandica* проявляє також і акарицидну (репелентну) дію [127], вторинні метаболіти, зокрема фууроцентрарова кислота має здатність відлякувати рослинних кліщів, що може бути використано для розробки нових акарицидних засобів для сільського господарства.

Завдяки наявності у *Cetraria islandica* різних класів біологічно активних речовин, таких як лишайникові кислоти, мікотоксини, жирні кислоти, альдегіди, феноли, олефіни, мікроелементи, меланін, поліфеноли та полісахариди, екстракти даного лишайника мають значну антиоксидантну [61, 63, 67, 114], протипухлинну [17, 153, 124], антимікробну [61, 74, 32, 52], антидіабетичну [31], відхаркувальну [12] та репелентну [127] дії.

1.3. Форми випуску та системи упаковки лікарських засобів, які застосовуються при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів

При лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів найчастіше використовують лікарські засоби у формі аерозолів, спреїв, крапель, розчинів тощо [174]. Найзручнішими для пацієнта є препарати у формі аерозолів та спреїв, оскільки ці лікарські форми можуть забезпечити рівномірний розподіл лікарського засобу на слизову оболонку. Для кращого розуміння понять «аерозоль» та «спрей» запропоновано проаналізувати визначення даних термінів. Медичний аерозоль - це лікарська форма, що складається з розчину однієї або декількох твердих чи рідких лікарських речовин. Фармацевтичний аерозоль складається із балону, клапанно-розпилювальної системи та вмісту різної консистенції, яка за допомогою пропеленту виводиться із балону [175]. У свою чергу спрей - лікарська форма, яка складається з балону (флакону), клапанно-розпилювальної системи та вмісту лікарського засобу різної консистенції. На відміну від аерозолів, тиск, необхідний для виходу лікарської форми, досягається за допомогою механічних пристроїв, а саме за допомогою механічного розпилювача насосного типу або завдяки стисканню полімерного балону (флакону) [188]. До складу спреїв та аерозолів входять активні та допоміжні речовини, такі як солюбілізатори, розчинники, емульгатори та суспендуючі речовини. Основна відмінність між цими двома лікарськими формами полягає у способі видачі лікарського засобу.

Як вже згадувалось, лікарський засіб із первинної упаковки аерозолу та спрею може вивільнятися за допомогою перепаду тисків, який створює пропелент, або ж за допомогою механічно-клапанної системи, - від цього і залежить принцип дії даних лікарських форм. Пропеленти - це зріджені гази під тиском, які повинні бути нетоксичними та сумісними з матеріалами первинної упаковки та із самим лікарським засобом [126, 104]. Крім цього, пропеленти мають відповідати вимогам специфікації з якості щодо відносної густини, температури кипіння та тиску всередині балону. Для можливості створення перепаду тисків та вивільнення лікарського засобу балон має бути герметичним [171, 130, 62]. Згідно з настановою GMP ЄС існують два способи виробництва та наповнення аерозолів. Перший полягає у принципі подвійного наповнення, коли діючу речовину розчиняють у

пропеленті з високою температурою кипіння, дозу розчину подають у балон, вставляють та затискають клапан, а далі вводять під тиском пропелент із низькою температурою кипіння. Другий процес виробництва полягає у однократному наповненні. При такій схемі виробництва діючу речовину розчиняють у суміші пропелентів і утримують під тиском або при низькій температурі, або одночасно під тиском і при низькій температурі. Після цього дозують розчин у балон в один прийом [46]. Оскільки більшість пропелентів взаємодіють з алюмінієм, для виробництва спреїв під тиском використовують балони з алюмінію, які мають внутрішнє захисне лакове покриття [171]. Якщо ж для спреїв назальних та оромукозних застосовується пластикова упаковка, то обов'язковими є дослідження взаємодії та міграції між упаковкою та лікарським засобом. У даних дослідженнях оцінюються критичні функціональні характеристики системи упаковки та підтверджуються показники якості [182]. На початку ХХ-го століття набув попити новий тип упаковки, - bag on valve. Технологія bag on valve відповідає сучасним регуляторним вимогам щодо безперервного розпилення препарату [182]. Дана система упаковки складається із алюмінієвого балону, спреї-насадки (розпилювача) та внутрішнього клапан-пакету, в який поміщають лікарський засіб. Між стінки балону та клапан-пакету нагнітають повітря або інший газ. Основні переваги даної системи - це безперервне розпилення препарату та забезпечення високого захисту препарату протягом усього терміну придатності [14].

Принцип дії на респіраторну систему аерозолів під тиском полягає у рівномірному розподілі діючої речовини, яка вивільняється з балону у складі лікарського засобу. Важливими параметрами при вивільненні є швидкість потоку та розмір частинок [161]. Розмір та розподіл аерозольних частинок є важливими факторами оптимальної доставки аерозольних препаратів [93, 135]. Дрібні агломерати частинок під час вивільнення та розпилення можуть відокремлюватися, - на цей процес впливає швидкість потоку повітря [40, 120]. Після розпилення частинки із розчину лікарського засобу осідають на поверхню слизової оболонки носа, рота чи легень [106, 39]. З розвитком науки вчені удосконалюють медичні

аерозолі з метою ефективної доставки ліків, досліджуючи геометрію дихальних шляхів, моделюючи частинки та їхню траєкторію руху при розпиленні [90]. Найбільш технологічно якісними та сучасними є аерозолі, які містять наночастинки, оскільки такі препарати є найбільш стабільними [77, 78]. Аерозолі у більшості випадків використовуються для лікування захворювань дихальних шляхів, зокрема ринітів, фаринготонзилітів [10], алергічних ринітів [36], а також для лікування інфекційних захворювань бронхів та легень [89].

Висновки до розділу 1

1. Представлено системний розподіл, за яким класифікують захворювання органів дихання. Встановлено, що більшість захворювань (фарингіт, ларингіт, тонзиліт, трахеїт) супроводжуються болем у горлі та кашлем. Для їх лікування використовуються препарати групи R01, R02, R03 та R05.

2. Подано інформацію стосовно ботанічних характеристик, хімічного складу, застосування *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica* та перспективу введення до спрею екстрактів з сировини даних лікарських рослин.

3. Проаналізовано інформацію про хімічний склад *Eucalyptus globulus*, в листі якого виявлено ефірну олію, основним компонентом якої є 1,8-цинеол; фенольні сполуки, в тому числі флавоноїди та дубильні речовини; органічні кислоти; глікозиди, представлені сапонінами тритерпенової групи; смоли та воски. Встановлено, що *Eucalyptus globulus* проявляє антибактеріальну, протигрибкову, противірусну, кровоспинну, протизапальну, антиоксидантну, антидіабетичну, репелентну, гербіцидну та протипухлинну дії.

4. Систематизовано дані про хімічний склад *Cetraria islandica*, - в основному, це лишайникові кислоти та мікотоксини; жирні кислоти; альдегіди; феноли; олефіни; мікроелементи; меланін; поліфеноли та полісахариди. Екстракти даного лишайника мають значну антиоксидантну, протипухлинну, антимикробну, антидіабетичну, відхаркувальну та репелентну дії.

5. Описано переваги лікарських форм аерозоль та спрей. Проаналізовано відмінності у принципах дії цих двох лікарських форм із технологічної точки зору.

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Diakon I., Stadnytska N., Novikov V. Alternative methods for replacing propellants in the medical form spray. *Chemical technology and engineering* : 2-nd International scientific conference, м. Львів, 24-28 червня 2019 р. Львів, 2019. С. 392-393.
2. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Курка М.С., Новіков В.П. Аналіз препаратів на основі листя евкаліпту. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали конференції, м. Харків, 11 березня 2020 р. Харків, 2020. С. 183-184.

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Формулювання цільового профілю спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей»

Запропоновано розробку лікарських засобів на основі ЛРС *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*, а саме спреїв оромукозних «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей». У ході встановлення складу та технології даних препаратів передбачалось отримання препаратів з наступними характеристиками:

- фармако-технологічні характеристики діючих речовин, проміжних та готових лікарських засобів повинні забезпечувати якість, стабільність та високу продуктивність технологічного процесу;

- спреї повинні відповідати загальним вимогам ДФУ/ЄФ до назальних та оромукозних спреїв, що містять рослинні компоненти;

- упаковка повинна відповідати регуляторним вимогам і забезпечувати якість препаратів протягом усього терміну придатності [173, 47].

З урахуванням кількості БАР у готових засобах «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» були розрахованими кількості діючих речовин для 100 мл кожного препарату.

Проміжною задачею у ході досліджень була розробка густих екстрактів евкаліпту кулястого та моху ісландського.

2.2 Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів та допоміжних речовин як об'єктів дослідження

З метою теоретичного обґрунтування складу та оптимізації технологічних параметрів спреїв оромукозних «Хлорофіліпт-спрей» та

«Фітолор-спрей» досліджено густі екстракти евкаліпту кулястого та моху ісландського.

2.2.1 Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів

Сировина *Eucalyptus globulus* - листя з цільним, рівним або хвилястим краєм з багаточисленними вкрапленнями (вмістищами з ефірною олією). Колір листя від світло-зеленого до сірувато-зеленого, іноді з фіолетовим відтінком та слабким сизуватим нальотом. Запах ароматний, який підсилюється при розтиранні, смак пряно-гіркий [172]. Для дослідження використовували евкаліпту кулястого листя постачальника «Heinrich Klenk», Німеччина, серій 2011В 180329 та 2011В190606.

Сировина *Cetraria islandica* - слань, що складається з вертикальних лопатей, заввишки до 10 см і завширшки 0,3-5,0 см, зеленувато-коричневого кольору [12]. Для дослідження використовували слань моху ісландського постачальника «Muggenburg» Німеччина, серії 2017-1204С та 2017-1804С.

2.2.2 Характеристика допоміжних речовин

При розробці складу та технології «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» використовували різні групи допоміжних речовин (ДР): поверхнево-активні речовини (ПАР), підсолоджувачі, розчинники та ін.

Використані в роботі речовини, розчинники та реактиви відповідають вимогам ДФУ/ЄФ, НТД та дозволені до медичного використання. ДР та їх функціональне призначення з посиланням на НТД наведено у табл. 2.1.

Допоміжні речовини, що використовувались при розробці складу і технології «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей»

Назва допоміжної речовини та виробник	Функціональне призначення	Нормативно-технічна документація
Етанол, 96 % ДП «Укрспирт»	Розчинник	ЄФ 9.0, 01/2015:1317, С. 2417
Гліцерин Евуар Sabun, Малазія	Підсолоджувач, розчинник, структурутворювач	ЄФ 9.0, 01/2017:0496, С. 2595
Хлороформ, Lotte Fine Chemical, Корея	Органічний розчинник	ДФУ 2.0, 4.1.1, С.736
Етилацетат, Перечинський ЛХК, Україна	Органічний розчинник	ЄФ 9.0, 01/2008:0899, С. 2427
Вода питна, ПАТ «Галичфарм», Україна	Розчинник	ДСТУ 7525:2014
Вода очищена, ПАТ «Галичфарм», Україна	Розчинник	ЄФ 9.0, 01/2009:0008, С. 3935
Пропіленгліколь, DOW Chemical, Німеччина	Підсолоджувач, розчинник, структурутворювач	ЄФ 9.0, 01/2017:0430, С. 3437
Кремофор, BASF, Німеччина	Емульгатор	ЄФ 9.0, 01/2017:1082, С. 2951
Твін-80, OLEON N.V., Бельгія	Емульгатор	ЄФ 9.0, 01/2017:0428, С. 3370
Мальтитол, ТРА, США	Підсолоджувач	ЄФ 9.0, 01/2009:1236, С. 2974
Камедь ксантанова, Система оптимум, Україна	Емульгатор	ЄФ 9.0, 04/2009:1277, С. 3970
Трагакант Е413, Squires Kitchen, Англія	Емульгатор	ЄФ 9.0, 04/2009:0532, С. 1543

2.3 Характеристика основних методів досліджень

Евкалипту кулястого листя та екстракти і готові лікарські форми найчастіше стандартизують за вмістом ефірної олії, зокрема такого її компонента як 1,8-цинеол (ДФУ 2.0, п. 2.2.27) [173], а також за кількістю хлорофілів (ДФУ 2.0, п. 2.2.25) [173]. В той же час для слані моху інформаційним є вміст моно- та полісахаридів (ДФУ 2.0, п. 2.2.29) [173]. Ті ж групи БАР є показниками кількісного вмісту. Крім цього, проведено визначення фумарової кислоти (ДФУ 2.0, п. 2.2.29) [173] та поліфенолів (ДФУ 2.0, п. 2.2.25) [173], сухого залишку (ДФУ 2.0, п. 2.8.17) [173], антибактеріальної активності (ДФУ 2.0, п. 2.6.13) та мікробіологічної чистоти в досліджуваних об'єктах (ДФУ 2.0, п. 2.6.12) [173].

Якісне визначення хлорофілів проводять методом спектрофотометрії (ДФУ 2.0, 2.2.25). 40 мг субстанції поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 15 мл *хлороформу Р*, збовтують до розчинення, доводять об'єм розчину *хлороформом Р* до мітки і перемішують. Спектр поглинання отриманого розчину в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (649 ± 3) нм [173].

Якісне визначення 1,8-цинеолу у листі евкалипту кулястого проводять методом тонкошарової хроматографії (ДФУ 2.0, 2.2.27). Для цього 3 г подрібненого листя змішують з 5 мл *толуолу Р*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл, декантують та фільтрують. Для розчину порівняння беруть 25 мкл транс-неролідолу Р і 50 мкл цинеолу Р розчиняють у *толуолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 5 мл. На хроматограмі розчину порівняння в середній частині повинна виявлятися зона, що відповідає цинеолу. Для дослідження екстрактів та ГЛЗ визначення ефірних олій проводять методом газової хроматографії (ДФУ 2.0, 2.2.28). Для цього 0,5 г екстракту розчиняють в 25 мл *етилового спирту (96 %) Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50 мл. Для розчину порівняння беруть 5 мг *1,8-цинеолу Р* розчиняють в 10 мл *етилового спирту (96 %) Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл, у якості контрольного розчину використовують *етанол (96 %) Р*. На хроматограмі випробовуваного розчину повинен бути присутнім пік, який

співпадає за часом утримування з піком 1,8-цинеолу на хроматограмі розчину порівняння [173]. Аналогічним методом проводять визначення хроматографічного профілю ефірних олій у листі, екстракті та готовому препараті на основі евкالیпту кулястого. Для цього у якості розчинів порівняння беруть по 0,01 г ароматрену, глобулолу, 1,8-цинеолу, терпен-4-олу [173].

Визначення кількісного вмісту ефірної олії методом перегонки (ДФУ 2.0, 2.8.11 та 2.8.12). Використовують 10 г сировини, яку поміщають в круглодонну колбу місткістю 500 мл, 300 мл *води Р* як дистиляційну рідину. Перегонку проводять зі швидкістю (2-3) мл/хв. протягом 1 год у градуйованій трубці [173].

Визначення кількісного вмісту хлорофілів (ДФУ 2.0, 2.2.25). Для проведення дослідження 0,1 г екстракту поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 15 мл *етилового спирту (96 %) Р*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки та перемішують. Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі (649±3) нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості розчину порівняння *етанол (96 %) Р*. Вміст суми хлорофілів (*X*), у перерахунку на хлорофіл В, у відсотках, розраховують за формулою [173]:

$$X = \frac{A \times 50 \times 1 \times 100 \times 100}{m \times 380 \times 100 \times W} = \frac{A \times 50 \times 100}{m \times 380 \times W} \quad (2.1)$$

де: *A* - оптична густина випробовуваного розчину;

380 - питомий показник поглинання хлорофілу В, при довжині хвилі 649 нм;

m - маса наважки субстанції, у грамах;

W - сухий залишок, %.

Якісне визначення моносахаридів методом тонкошарової хроматографії з попереднім гідролізом полісахаридів (ДФУ 2.0, 2.2.7). Для визначення мономерного складу полісахаридів проводять кислотний гідроліз 10 % сульфатною кислотою. До 1 мл досліджуваного розчину додають 4 мл 96 %-го етилового спирту і витримують на водяній бані при 70 °С протягом 10 хв. Охолоджують пробірки і центрифугують

протягом 10 хв при швидкості 3000 об/хв. Спирт зливають, осад переносять у віали, додають по 3 мл трифтороцтової кислоти. Після цього трифтороцтову кислоту випаровують, додають суміш метанол-вода (2:1), фільтрують і наносять на пластинки із силікагелем у системі розчинників ацетонітрил-вода (85:15), як розчин порівняння використовували 0,05%-ий водний розчин глюкози [173].

Якісне визначення фумарової кислоти методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.0, 2.2.29). 5 мл *вихідного розчину* фільтрують через шприц-фільтр з діаметром пор 0,45 μm . 10 мг *фумарової кислоти P* переносять у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 20 мл *води P*, витримують 10 хв в ультразвуковій бані при температурі 50 °С. Розчин охолоджують до кімнатної температури, доводять тим самим розчинником до мітки і перемішують. 2,0 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу місткістю 20 мл, доводять об'єм до мітки рухомою фазою і перемішують. Як рухому фазу використовують 10 мл 0,5 М *розчину сірчаної кислоти*, як нерухому фазу - *силікагель для хроматографії октадецилсілільний P* з розміром частинок 5 мкм [173].

Визначення кількісного вмісту полісахаридів гравіметричним методом (ДФУ 2.0, 2.9.12, гравіметрія). 5 г сировини поміщають у колбу із шліфом місткістю 250 мл, додають 75 мл *води P* і кип'ятять протягом 30 хв, охолоджують та центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у мірну колбу місткістю 250 мл. Екстрагування подоводять тричі. Кожний витяг охолоджують, центрифугують зі швидкістю 5000 об/хв протягом 10 хв і декантують у ту саму мірну колбу. 50 мл *вихідного розчину* відбирають у склянку місткістю 250 мл, додають 100 мл 96 % спирту етилового, нагрівають, відстоюють 1 год та фільтрують. Осад переносять на фільтр за допомогою суміші *вода P - 96 % спирт P* (1:2) і промивають 10 мл 96 % *спирту P*, 15 мл *етилацетату P* та 15 мл *ацетону P*. Фільтр висушують до постійної маси при температурі 100 - 105 °С. Вміст цукрів (X) у перерахунку на суху речовину в відсотках розраховують за формулою [173]:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 50000}{m_2 \cdot (100 - W)} \quad (2.2)$$

де: m_1 - маса фільтра, у грамах;

m_2 - маса фільтра із залишком, у грамах;

W - втрата в масі при висушуванні, %.

Кількісне визначення поліфенолів проводять методом абсорбційної спектрофотометрії (ДФУ 2.0, 2.2.25). 3,0 г сировини поміщають у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додають 10 мл *води Р* порціями по 2 мл, ретельно перемішуючи після кожної доданої порції. Витримують в ультразвуковій бані протягом 10 хв. Додають 140 мл *води Р*. Нагрівають протягом 30 хв на водяній бані при температурі 60 °С, охолоджують під проточною водою та кількісно переносять у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскують *водою Р*, промивні води переносять у мірну колбу і доводять об'єм розчину *водою Р* до 250,0 мл. Дають осадити осісти та рідину фільтрують через фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Безпосередньо перед випробуванням розчиняють 50,0 мг *пірогалолу Р* у *воді Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять *водою Р* до об'єму 100,0 мл. Для приготування розчину порівняння суміш 2,0 мл *вихідного розчину*, 1,0 мл *фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р* і 10,0 мл *води Р* доводять розчином 290 г/л *натрію карбонату Р* до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційний розчин *воду Р* [173]. Вміст поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, розраховують за формулою [185]:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 5 \cdot 250 \cdot P \cdot 100 \cdot 100 \cdot 2 \cdot 25}{A_0 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100 \cdot (100 - W) \cdot 25 \cdot 3} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 25}{A_0 \cdot m_1 \cdot (100 - W) \cdot 3} \quad (2.3)$$

де: A_0 - оптична густина розчину порівняння;

m_1 - маса випробовуваного зразка, г;

m_0 - маса пірогалолу, г;

W - втрата в масі при висушуванні, %;

P - вміст пірогалолу, вказаний у сертифікаті, %.

Визначення сухого залишку (ДФУ 2.0, 2.8.17). Дві точні наважки по 1,00 г поміщають у бюкси 50 мм і заввишки 30 мм, висушують до постійної маси при температурі 105 °С протягом 2 годин. Охолоджують над кальцієм хлоридом *P* і зважують [173]. Результат втрати в масі при висушуванні *X* розраховують за формулою:

$$X=100-\frac{(m_1-m_0)\cdot 100}{m_2} \quad (2.4)$$

де: m_0 - маса пустого бюкса, в грамах;

m_1 - маса бюкса з наважкою після прожарювання, в грамах;

m_2 - маса сировини, взята для проведення аналізу, в грамах.

Визначення залишкових кількостей органічних розчинників методом парофазної хроматографії (ДФУ 2.0, 2.2.28). Для приготування розчину внутрішнього стандарту (1) беруть 3,0 мл бутанолу *P* розчиняють в диметилсульфоксиді *P*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл і перемішують. Для приготування розчину внутрішнього стандарту (2) бувають 0,4 мл пропанолу *P* розчиняють в диметилсульфоксиді *P*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50 мл і перемішують. Вихідний розчин (1) готують наступним чином: 5,0 мл диметилсульфоксиду *P* поміщають в мірну колбу об'ємом 20,0 мл, додають 0,60 г *C3* етилового спирту або *PC3*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують. Для вихідного розчину (2) 5,0 мл диметилсульфоксиду *P* поміщають у мірну колбу об'ємом 100,0 мл, додають 0,05 г етилацетату *P*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують. Далі готують випробовуваний розчин 0,5 г субстанції поміщаючи у мірну колбу об'ємом 20,0 мл, потім додають 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту (1), 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту (2) і 5,0 мл диметилсульфоксиду *P*, перемішують до повного розчинення, доводять об'єм розчину диметилсульфоксидом *P* до мітки і перемішують. По 5,0 мл отриманого

розчину поміщають у 3 флакони об'ємом 20 мл. Для розчину порівняння беруть 5,0 мл диметилсульфоксиду *P* поміщають у мірну колбу об'ємом 20,0 мл, додають 5,0 мл вихідного розчину (1) і 5,0 мл вихідного розчину (2), 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту (1) і 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту (2). По 5,0 мл отриманого розчину поміщають у 3 флакони об'ємом 20 мл. Хроматографування проводять на газовому хроматографі з полуменево-іонізаційним детектором [173].

2.4 Планування експерименту та обробка результатів

Одним із методів системного підходу до фармацевтичної розробки є математичне планування експерименту. Під математичним описом хіміко-технологічного процесу розуміють систему рівнянь, яка пов'язує функцію відгуку з впливаючими факторами. Даний математичний опис називають математичною моделлю хіміко-технологічного процесу. За допомогою математичних методів моделювання досліду можливо одержати математичну модель хіміко-технологічного процесу навіть при відсутності інформації про механізм його перебігу. При плануванні експерименту складається план, який дозволяє скоротити загальну кількість дослідів, але при цьому добре проаналізувати експеримент і отримати достовірні результати. У ході досліджень методом повного факторного експерименту було реалізовано серії дослідів, які відрізнялися комбінацією ДР. При проведенні експериментальних досліджень використовували чотирьохфакторний експеримент дисперсійного аналізу на основі двох рівнів з повторними дослідями. Обробку результатів дослідження проводили за допомогою Microsoft Excel 2016, що забезпечувало обчислення значення вивчених показників для досліджуваних груп ДР та похибку експерименту.

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ РИНКУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

3.1. Аналіз вітчизняного фармацевтичного ринку лікарських засобів для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів

3.1.1 Засоби, що застосовуються при захворюваннях порожнини носа

Як зазначалося у розділі 1, для лікування захворювання верхніх дихальних шляхів використовують препарати груп R01, R02, R03 та R05. Аналізуючи ринок щодо лікарських засобів за АТХ-класифікацією, варто більш детально зупинитись на кожній із груп.

Першою групою препаратів є група R01 - Засоби, що застосовуються при захворюваннях порожнини носа. Дана група поділяється на підгрупи:

- R01A - протинабрякові та інші препарати для місцевого застосування при захворюваннях порожнини носа;
- R01B - протинабрякові та інші препарати системної дії при захворюваннях порожнини носа.

Препарати даної групи чинять судинозвужувальну, симпатоміметичну, протівірусну, імуномодулюючу, протизапальну та антиоксидантну дії. В результаті їх впливу зменшується набряк слизової оболонки носа та носоглотки, виділення з носа, відновлюється носове дихання. При їх використанні відбувається відновлення аерації порожнини середнього вуха, придаткових пазух, що запобігає розвитку бактеріальних ускладнень таких як гайморит, синусит та отит.

Станом на грудень 2020 року на вітчизняному ринку препарати групи R01, в основному, представлено у формі крапель, спреїв, гелів та ін. У формі крапель: Офтамірин, Окомістин, Назофен бейбі, Назол бейбі, Називін сенситив, Нокспрей малюк, Назокраплі, Галазолін, Евкабал, Отривін, Нафтизин.

Велика частка представлена у формі спрею: Назол кідс, Назолонг, Синекс, Називін сенситив, Ринт, Нокспрей актив, Назо-спрей з екстрактом алоє, Сінумакс, Лоратек, Мераліс, Евкабал, Тизин біо, Ксилометазолін, Ринофлю, Мультигрип назаль фіто, Фармазолін, Снуп, Отривін, Санорин, Грипоцитрон риніс, Віброцил, Аллертек назо [174].

Згідно проведеного маркетингового дослідження, загальна кількість препаратів групи R01 на ринку України складає 187 найменувань. Переважають у цьому переліку препарати із лікарською формою спрей назальний (рис. 3.1).

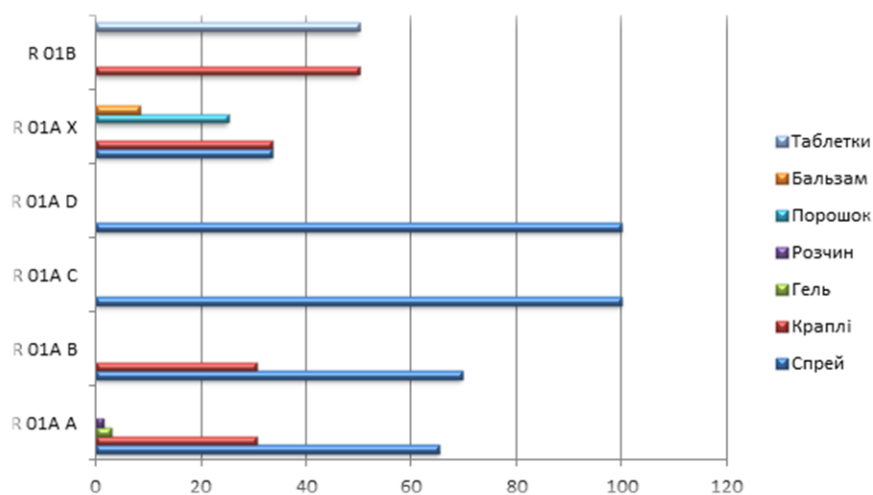


Рис. 3.1 Частка лікарських форм у підгрупах R01A представлених на фармацевтичному ринку України

Встановлено, що найчисельнішою підгрупою є R01A A, яка включає 72 позиції. До складу препаратів входять симпатоміметики: ксилометазолін (35 препаратів), оксиметазолін (29 препаратів), нафазолін (4 препарати), фенілефрин (3 препарати), трамазолін (1 препарат). Дані представлено на рис. 3.2.

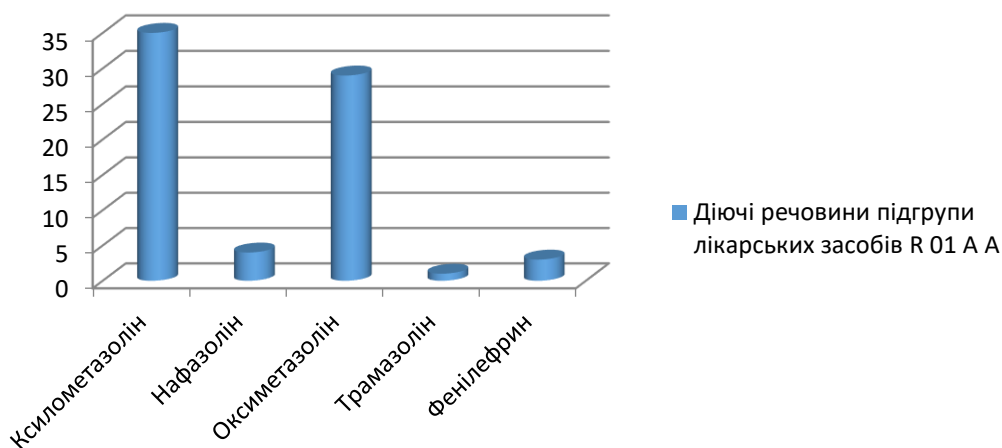


Рис. 3.2 Розподіл препаратів підгрупи R01A A за вмістом діючих речовин

Більшість препаратів із кодом АТХ R01 вироблені на фармацевтичних підприємствах України (48,31%). Серед препаратів іноземного виробництва представлено лікарські засоби, виготовлені в Німеччині (24,08 %) та Польщі (27,61 %) [5] (рис. 3.3).

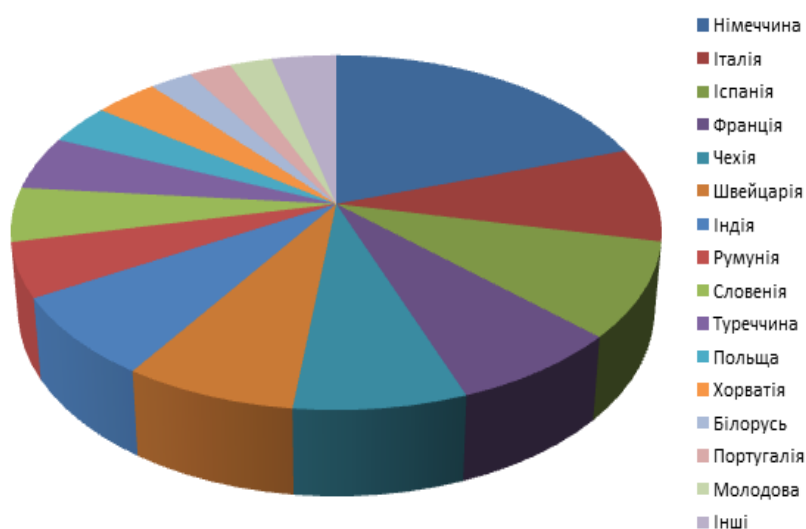


Рис. 3.3 Країни - виробники лікарських засобів групи R 01 представлені на фармацевтичному ринку України

Лідером серед вітчизняних фірм-виробників (рис. 3.4) є ПАТ «Фармак» (41,18 %), другу позицію займає ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» (25,49 %), дещо меншу кількість препаратів випускають СП «Сперко» (9,81 %) та ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» (7,84 %).

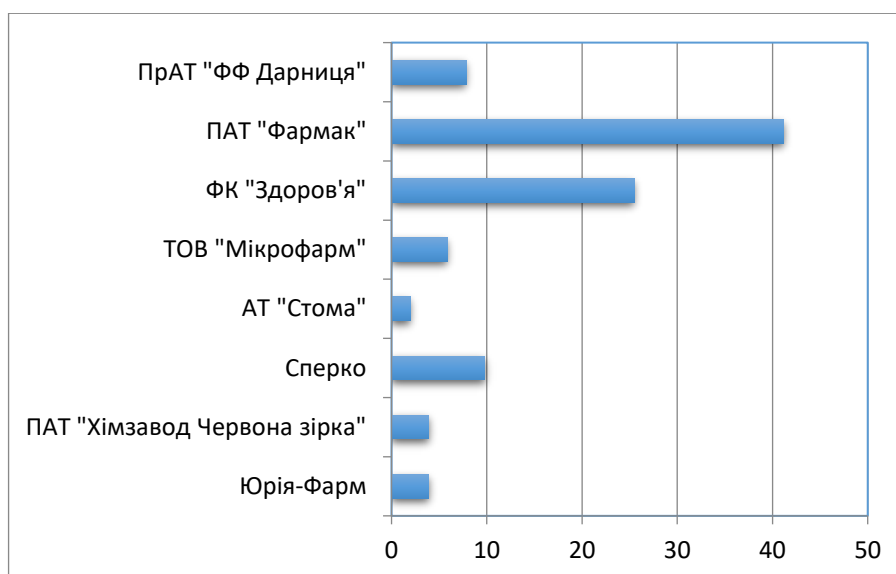


Рис. 3.4 Виробники лікарських засобів групи R01 в Україні

3.1.2 Засоби, що застосовуються при захворюваннях горла

Наступним симптомом, після нежитю, який супроводжує захворювання дихальних шляхів, є біль у горлі. Лікарські засоби, що використовуються при захворюванні горла мають назву R02 і поділяються на такі групи:

- R02AA - антисептики;
- R02AB - антибіотики;
- R02AD - місцеві анестетики;
- R02AX - інші засоби, які застосовуються при захворюваннях горла.

Основна дія препаратів групи R02 - протимікробна [202].

Препарати цієї групи активні стосовно широкого спектра грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, стрептококів та пневмококів (*Pneumococcus sp.*, *Streptococcus haemolyticus*, *Streptococcus viridans*). Саме ці види бактерій поширюють інфекцію в ротовій порожнині та верхніх дихальних шляхах [187].

Дана група представлена переважно у формі таблеток, льодяників, пастилок та спреїв. До таблеток, пастилок та льодяників належать: Ларитилен, Деквадол, Трахісан, Ісла-мосс, Декатилен, Фарисіл, Фарингосепт, Стрепсілс з медом та лимоном, Септолете, Лізак, Лісобакт дуо, Лісобакт [174]. У свою чергу, до спреїв належать: Стрепсілс інтенсив, Каметон здоров'я, Інгаліпт здоров'я, Ангілекс

здоров'я, Хепілор, Гексаспрей. Поділ даних препаратів за лікарською формою представлено на рис. 3.5.

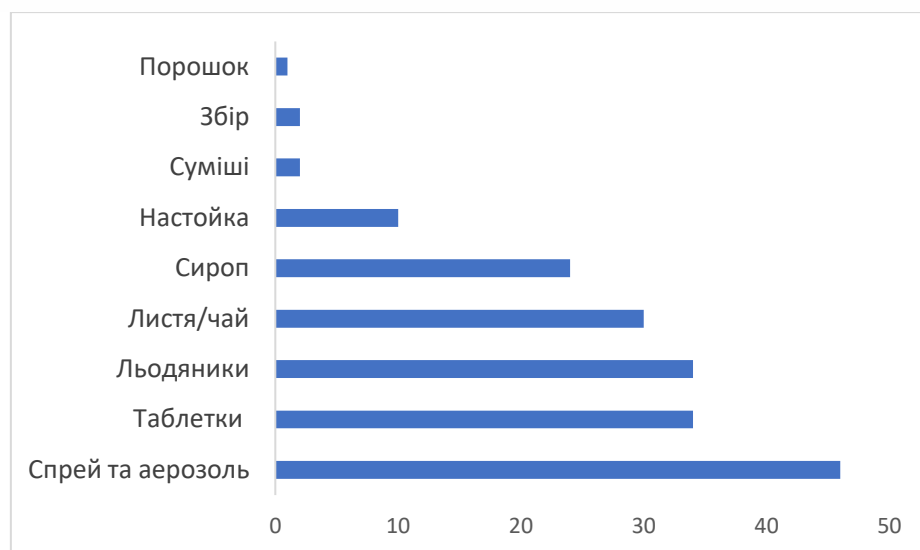


Рис. 3.5 Розподіл лікарських засобів групи R02 за лікарською формою

3.1.3 Засоби для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів

При лікуванні обструктивних захворювань дихальних шляхів використовується група лікарських засобів, що за класифікацією АТХ має код R03 - засоби, що застосовуються при обструктивних захворюваннях дихальних шляхів. Ця група в свою чергу поділяється на чотири підгрупи:

- R03A - адренергічні препарати для інгаляційного застосування;
- R03B - інші інгаляційні препарати для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів;
- R03C - адренергічні засоби для системного застосування;
- R03D - інші засоби для системного застосування при обструктивних захворюваннях дихальних шляхів.

Препарати підгрупи А викликають розслаблення мускулатури бронхів та мають протизапальну дію. Препарати підгрупи В зменшують секрецію залоз слизової оболонки порожнини носа та бронхіальних залоз, проявляючи спазмолітичну дію [192].

На фармацевтичному ринку України виявлено препарати даної групи у наступних формах:

- інгаляції під тиском: Сальбутамол-Нео, Вентолін небули, Беровент, Сірдупла, Сальбутвол;
- аерозолі: Асталін, Форатек, Аіртек, Серофло-125, Серидит евохалер, Фостер, Іпрадуал, Беродуал, Бенклофорт евохалер, Гленбекар;
- таблетки: Неофілін, Теотард, Сингуляр, Мулукант [173].

Станом на грудень 2020 р. на фармацевтичному ринку України є 138 найменувань засобів для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів препаратів з кодом АТХ R03 (згідно з Державним реєстром лікарських засобів. На рис. 3.6 наведено результати проведеного аналізу препаратів за лікарською формою, узятих з Державного реєстру лікарських засобів України. Більшість з них представлена у вигляді порошків і аерозолів для інгаляцій (18,84 % та 17,39 % відповідно) та таблеток (34,78 %), в тому числі жувальних таблеток (14,49 %) та таблеток вкритих плівковою оболонкою (12,32 %). Найменшу кількість складають розчини для інфузій, гранули та суспензії для розпилення - 0,72 % (рис. 3.6) [204].

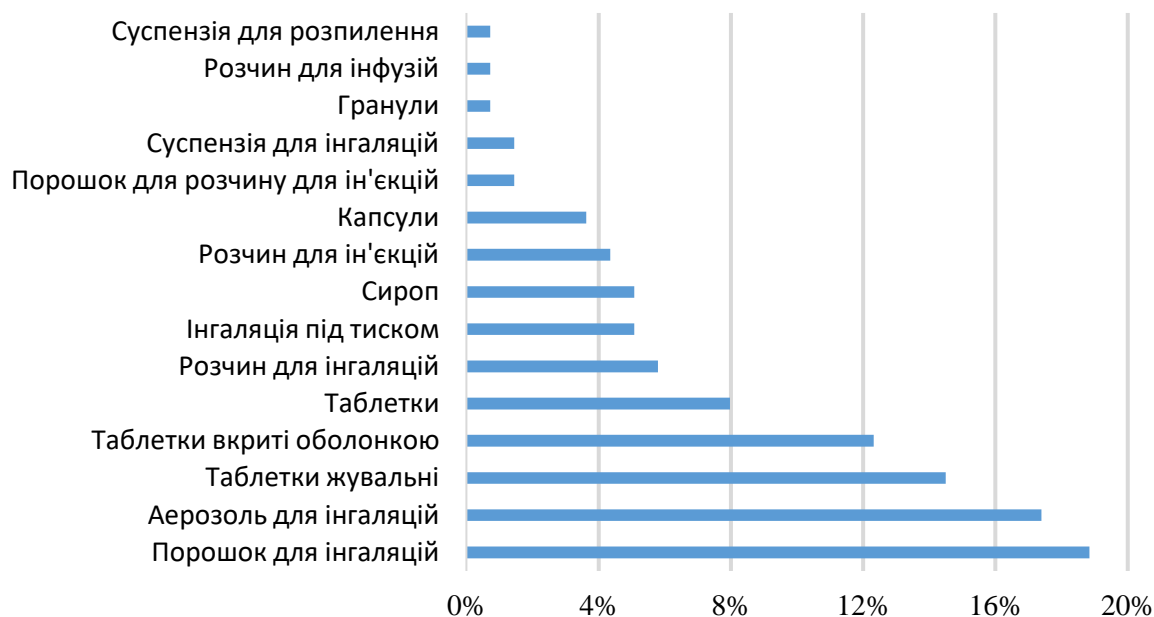


Рис. 3.6 Розподіл препаратів групи R03 за лікарською формою

Залежно від кількості компонентів у засобі, їх поділяють на однокомпонентні та багатоконпонентні. Переважаючу частку асортименту (76,1 %) досліджених препаратів складають однокомпонентні засоби (рис. 3.7). Серед них найбільше препаратів, що містять в якості діючої речовини натрію монтелукаст (33,3 %) та сальбутамолу сульфат (11,4 %). Широке використання цих речовин обумовлене їх дією, яка запобігає бронхоспазму та хронічному обструктивному захворюванні легень [204].

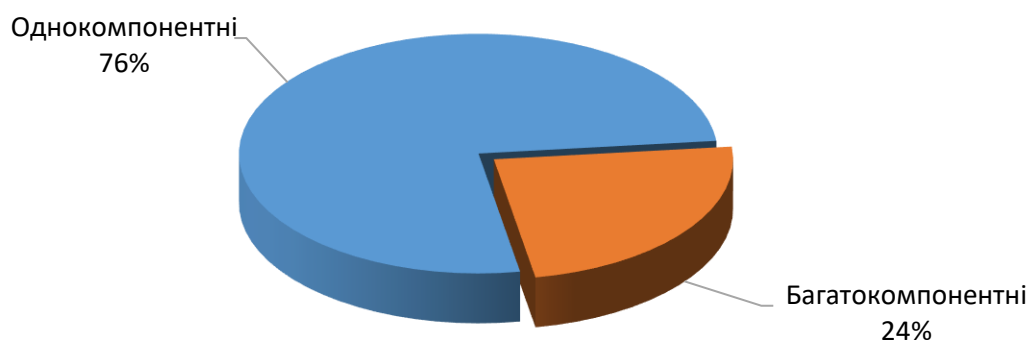


Рис. 3.7 Розподіл лікарських препаратів за кількістю компонентів [204]

Як бачимо, більшість лікарських засобів із даним кодом виробляються на фармацевтичних підприємствах України (21,01 %) (рис. 3.8). Серед препаратів закордонного виробництва представлено препарати, виготовлені в Індії (19,57 %), Німеччині, Франції та Польщі (9,42 %, 7,25 % та 6,52 % відповідно) [184, 204].

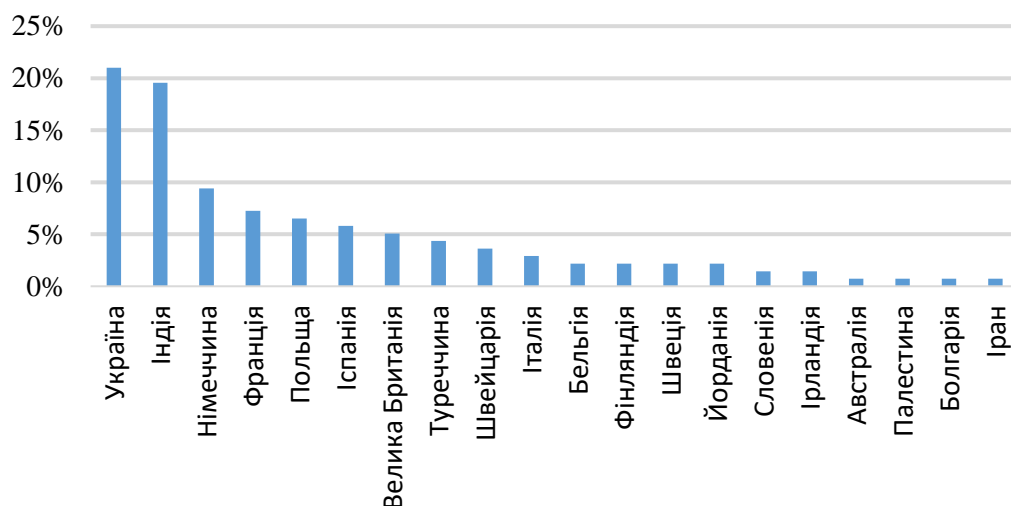


Рис. 3.8 Країни-виробники лікарських препаратів з кодом R03 [204]

Лідерами серед вітчизняних фірм-виробників (рис. 3.9) займають виробники ТОВ «Мультіспрей» і ТОВ «Юрія-Фарм», Черкаси (кожен по 14 %); тоді як на інших виробників, - ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", м. Київ, ПАТ «Фармак», м. Київ, ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", м. Харків ТОВ "Мікрофарм", м. Харків, припадає по 10 % від суми вітчизняних фірм-виробників [173, 192, 204]. Дані дослідження формують макроконтур цільового сегменту препаратів із кодом R03 на фармацевтичному ринку (рис. 3.10) [174, 204].

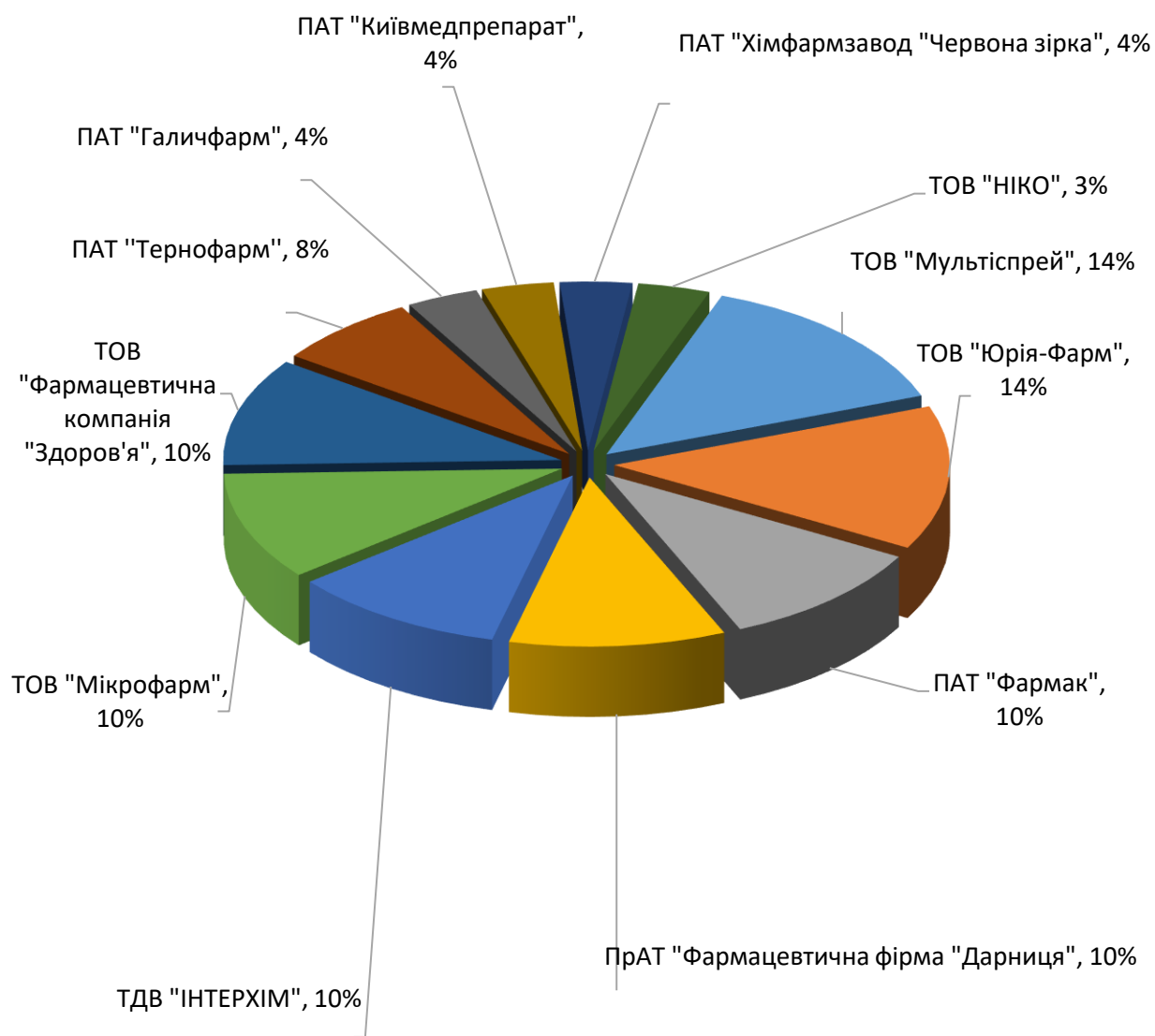


Рис. 3.9 Вітчизняні фірми-виробники препаратів з кодом R03

Проведені дослідження дали змогу сформувати макроконтур сегменту лікарських засобів із кодом R03 на вітчизняному ринку (рис. 3.10) [173, 204].

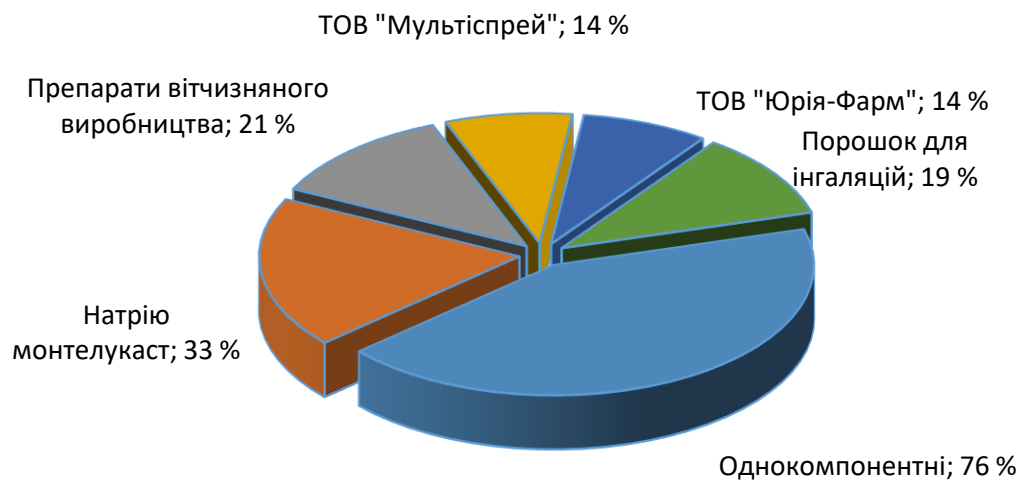
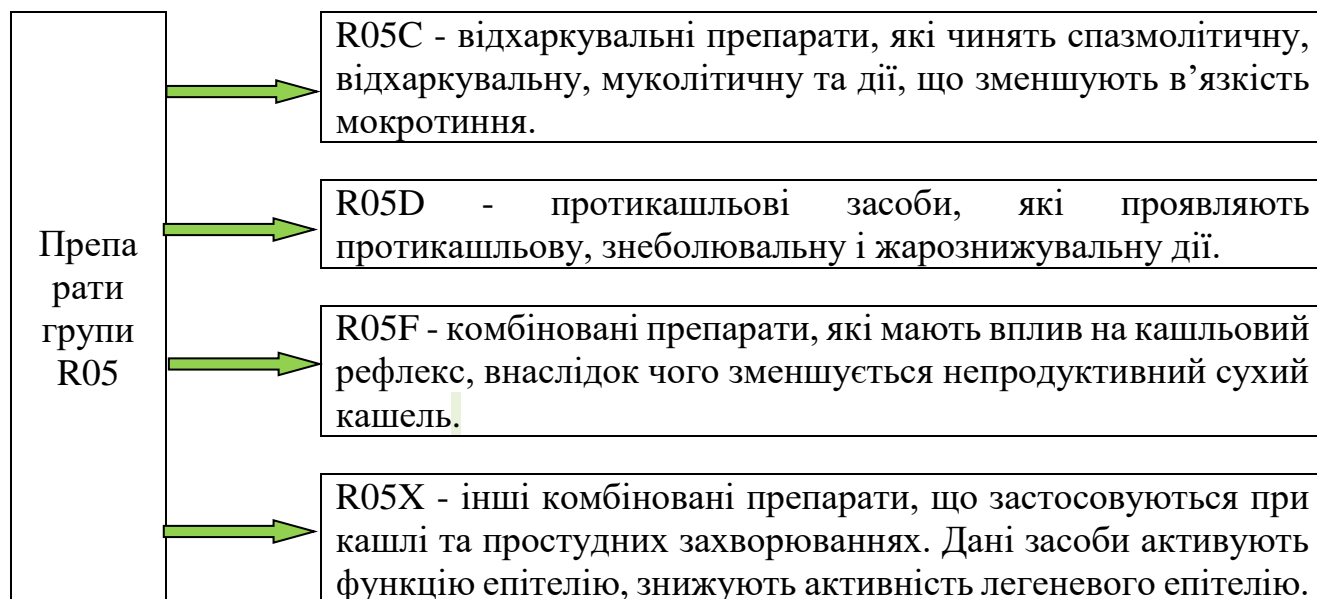


Рис. 3.10 Макроконтур фармацевтичного ринку препаратів з кодом АТХ R03

3.1.4 Відхаркувальні лікарські засоби

Кашель є реакцією організму, котра допомагає очистити дихальні шляхи від слизу та захистити легені. Для лікування кашлю доступні як безрецептурні препарати, так і препарати, що відпускаються за рецептом [192, 202, 204]. Група препаратів з кодом R05 - одна з найбільших груп препаратів, що використовуються при лікуванні кашлю. Ця група поділяється на підгрупи, які представлено у табл. 3.1:

Класифікація препаратів групи R05 [183, 202]



Препарати R05 чинять секретолітичну та секретомоторну дії у ділянці бронхіального тракту, як наслідок стимулюється активність миготливого епітелію, збільшується бронхіальна секреція, понижується в'язкість слизу [202].

Представниками на ринку є препарати у формі пероральних розчинів, сиропів та крапель: Резістол, Умкалор, Гербіон, Проспан, Гедерин, Алтейка Галичфарм, Пертусин, Тусавіт, Пектолван фіто ісландський мох, Бронхо Тайсс [173]. У формі таблеток та крапель: Ацетал, Ацестада, Ацетилцистеїн, АЦЦ Лонг.

Остання група препаратів, що використовується для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів, є група R05. Загальна кількість препаратів з цим кодом АТХ станом на грудень 2020 на фармацевтичному ринку України складала 450 [202]. На рис. 3.11 наведено результати проведеного аналізу препаратів за лікарською формою, більшість з яких представлена у вигляді сиропів (36 %), найменша частка належить мікстурам, розчинам для інгаляцій, емульсіям - близько 2-ох % [202].

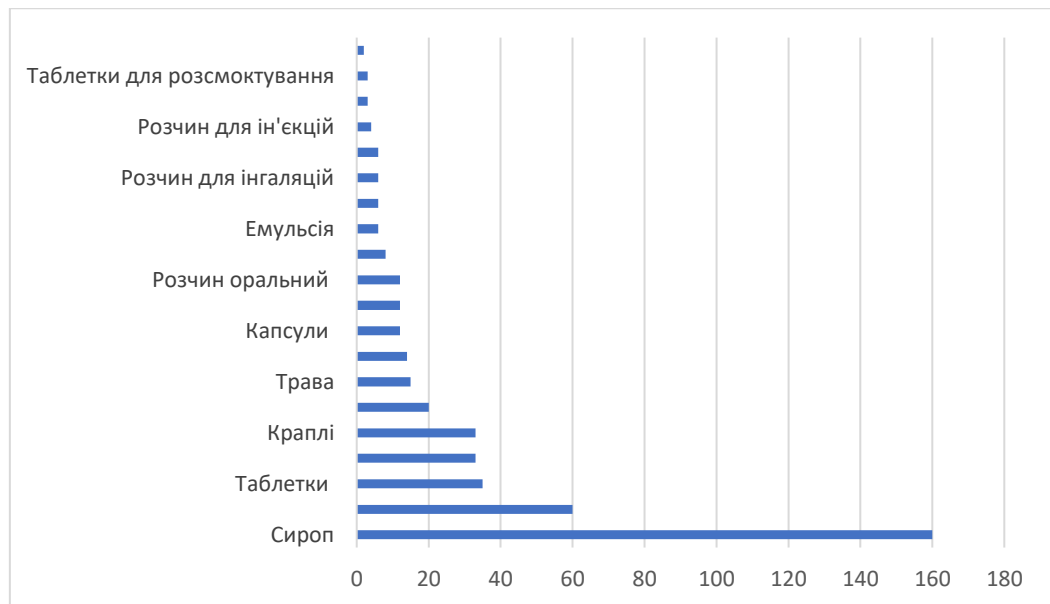


Рис. 3.11 Розподіл препаратів групи R05 за лікарською формою [202]

Більше половини препаратів даної групи складають препарати синтетичного походження (62 %), рослинним препаратам відведено 34 %, комбіновані засоби складають близько 4 %. Більшість препаратів містять в якості діючих речовин ацетилцистеїн (23,5 %) та бромгексидину гідрохлорид (14,4 %). Використання даних субстанцій зумовлене їх терапевтичною дією, яка полягає у пригніченні кашлевого рефлексу та розрідженні мокротиння [173, 202, 204]. Рослинні засоби використовуються у вигляді багатокomпонентних 64 % та однокомпонентних препаратів 36 % (рис. 3.12) [202].

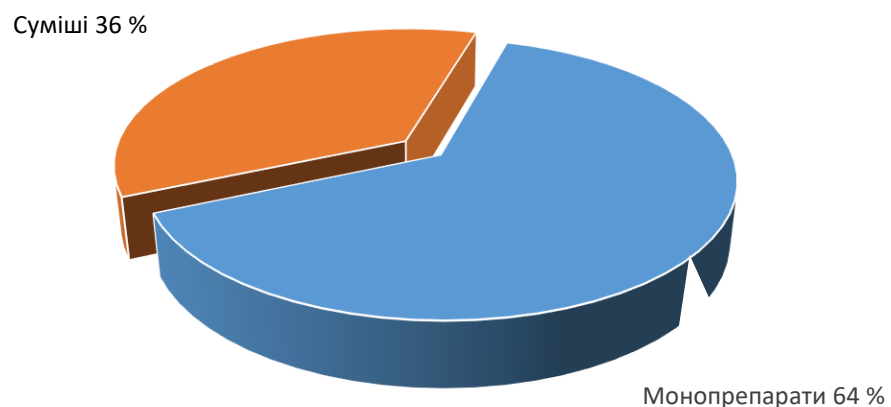


Рис. 3.12 Розподіл препаратів групи R05 на одно- та багатокomпонентні [202]

Отже, наявність на вітчизняному ринку великої кількості лікарських форм з відповідною фармакологічною дією та переважання препаратів українського виробництва доводить, що розробка нових рослинних препаратів для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів є перспективною та конкурентоздатною [176, 184, 195, 203].

3.2 Рослинні лікарські засоби, які застосовуються при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів, представлені на світовому ринку

Український ринок у своєму розвитку слідує прикладу європейських та світових лідерів. Основна причина - більш жорсткі та новітні вимоги до якості препаратів та можливість розвитку фармацевтичного бізнесу - експорту на зовнішні ринки. Саме з цією метою було проаналізовано наявність на світовому ринку препаратів рослинного походження, які застосовуються для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів. Для дослідження було важливо розуміти, яка лікарська рослинна сировина використовується для виробництва тих чи інших лікарських засобів (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Препарати рослинного походження, представлені на світовому ринку

Рослина	Препарат	Виробник	Країна
1	2	3	4
Мох ісландський	Гербіон® сироп ісландського моху, сироп по 150 мл	KRKA, d.d.	Словенія
Мох ісландський	ІСЛА-МООС, пастилки по 80 мг	Engelhard Arzneimittel GmbH & Co. KG	Німеччина
Мох ісландський	ІСЛА-МІНТ, пастилки по 100 мг	Engelhard Arzneimittel GmbH & Co. KG	Німеччина
Плющ	Актівокс 10 мг / мл, сироп	Arkopharma	Франція

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4
Жовтушник	Еуфон, сироп по 300 мл	Laboratoires Mayoly Spindler Sa	Франція
Жовтушник	Полері, сироп для дорослих	Pierre Fabre Medicament Production	Франція
Евкаліпт	Еуфоніл, сироп для дорослих по 180 мл	Pharmacie De Mailloles	Франція
Евкаліпт	Терфон, сироп	Rosa phytopharma	Франція
Плющ, чебрець, перець, гвоздика	Проспан, сироп	Pierre Fabre Medicament	Франція
Плющ, чебрець, перець, гвоздика лаванда	Гоуттес, розчин	Pierre Fabre Medicament	Франція
Евкаліпт	Вікс	Pierre Fabre Medicament	Франція
Розмарин, гвоздика, перець, лаванда, чебрець	Арамасол, розчин	Pierre Fabre Medicament	Франція
Евкаліпт, чебрець, лаванда	Балсофумін 1%, розчин для інгаляції	Pierre Fabre Medicament	Франція
Евкаліпт	Boots Children's Vapour Rub	The Boots Company Plc	Велика Британія
Евкаліпт	Boots Vapour Chest Rub	The Boots Company Plc	Велика Британія
Евкаліпт	Eucalyptus Oil BP	Thornton & Ross Ltd	Велика Британія
Евкаліпт	Menthol and Eucalyptus Inhalation BP 1980	Thornton & Ross Ltd	Велика Британія
Евкаліпт	Snufflebabe Vapour Rub	Dendron Limited	Велика Британія
М'ята перцева	Collis Browne's Mixture	Thornton & Ross Ltd	Велика Британія
М'ята перцева	Covonia Original Bronchial Balsam Syrup	Thornton & Ross Ltd	Велика Британія

Як бачимо із табл. 3.2, найбільш поширеними на світовому ринку є препарати із вмістом евкаліпту та м'яти.

Висновки до розділу 3

1. Досліджено асортимент ЛЗ вітчизняного ринку щодо наявності препаратів рослинного та синтетичного походження, які застосовуються при лікуванні захворювань ВДШ. Встановлено, що на ринку України зареєстровано 187 лікарських засобів, які застосовуються при захворюваннях порожнини носа, з них 48,31 % виготовлені на фармацевтичних підприємствах України. Досліджено, що 26 % з групи препаратів, що застосовуються при захворюваннях горла, представлені у вигляді спреїв та аерозолів.

2. Встановлено, що на ринку України зареєстровано 138 найменувань засобів для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів, 21,01 % з яких складають препарати, виготовлені в Україні. Значну увагу при аналізі фармацевтичного ринку приділено відхаркувальним засобам, 62 % номенклатури яких займають препарати синтетичного походження і лише 34 % - рослинного.

3. Проведено дослідження світового ринку щодо наявності препаратів на основі моху та евкаліпту та виявлено, що вони входять до препаратів Вікс, Балсофумін, Еуфоніл, Гербіон та ін.

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Малтиз І.С., Милянч А.О., Комар А.В., Новіков В.П. Статистичний аналіз лікарських препаратів для лікування кашлю та простудних захворювань, які представлені на ринку України. *Planta+. Досягнення та перспективи* : Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 20-21 лютого 2020 року, Київ, 2020. С. 184-188.

2. Стадницька Н.Є., Милянч А.О., Малтиз І.С., Фітьо І.В., Федоришин О.М., Комар А.В., Новіков В.П. Асортимент лікарських препаратів для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів, представлених на ринку України. *Фармацевтичний часопис*. 2020. Т. 1. № 53. С. 59-64.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНИХ СКЛАДІВ ТА ТЕХНОЛОГІЙ ЗАСОБІВ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТИВ МОХУ ІСЛАНДСЬКОГО ТА ЕВКАЛІПТУ

4.1 Розробка технології густого екстракту евкаліпту кулястого листя та готового спрею на його основі

4.1.1 Розробка технології густого екстракту евкаліпту кулястого листя

При отриманні рослинних екстрактів особливу увагу приділяють вибору екстрагента, ступеню подрібнення сировини, вибору методу екстрагування, температурі екстрагування та температурі упарювання. Як відомо, більшість технологічних показників рослинної сировини є взаємозалежними, тому правильно підібравши їх на стадії підготовки, можна забезпечити умови ефективного екстрагування.

Вибір екстрагента та методу екстрагування. Процес екстрагування є основною стадією при вилученні БАР з лікарської рослинної сировини. Тут важливим моментом є повноцінна взаємодія молекул екстрагента з клітинним вмістом рослин. По своїй суті екстрагування - це масообмінний процес, який відбувається завдяки процесу дифузії БАР із ЛРС у середовище екстрагенту. Завершується даний процес при досягненні рівноважних концентрацій [177].

Ефективність екстракції може визначатися швидкістю руху екстрагента, температурою процесу, властивостями сировини тощо. Щодо властивостей сировини, то тут критичними показниками є насипна густина, вологість, коефіцієнт набухання та ступінь подрібнення. На АТ «Галичфарм» при виробництві дослідно-промислових серій спрею «Хлорофіліпт-спрей» використовували екстракт евкаліпту кулястого листя густий, який отримували методом ремацерації з перемішуванням, тобто додаванням екстрагенту порційно при постійному перемішуванні, як методу ефективною мацерації. Про доцільність використання даного методу екстрагування для евкаліпту кулястого листя свідчать

дані, наведені на рис. 4.1. Паралельно із методом ремацерації з перемішуванням використовувався метод мацерації та ремацерації.

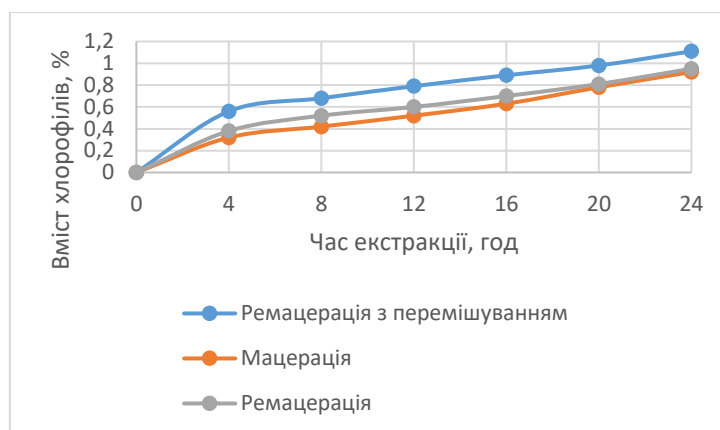


Рис. 4.1 Залежність вмісту хлорофілів у екстракті евкالیпту кулястого листа рідкому від методу екстрагування

Аналізуючи дані, наведені на рис. 4.1, можна зробити висновок про доцільність використання ремацерації з перемішуванням, адже значення вмісту хлорофілів у екстрактах евкالیпту кулястого листа було найвищим при використанні саме цього методу.

Згідно літературних даних [9, 35, 60], вилучення гідрофобних БАР із листа *Eucalyptus globulus* відбувається спиртом етиловим в концентраціях 50-96 %. В ході досліджень нами було випробувано у якості екстрагента спирт етиловий 40, 50, 60, 70, 80, 90 та 96 %. Результати залежності вмісту хлорофілів від концентрації етилового спирту у екстракті евкالیпту кулястого листа рідкому представлено на рис. 4.2.

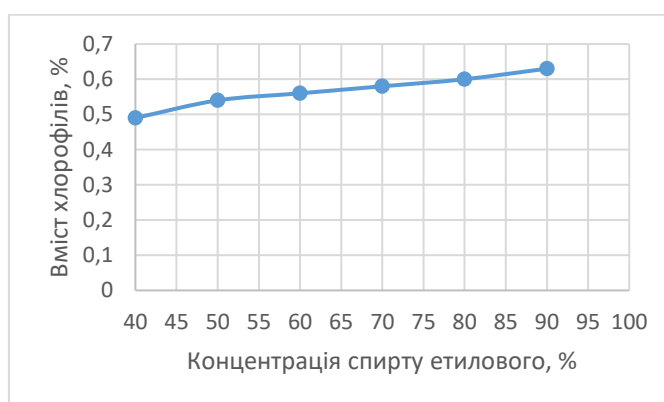


Рис. 4.2 Залежність вмісту хлорофілів у екстракті евкالیпту кулястого листа рідкому від концентрації спирту етилового

Як бачимо із рис. 4.2, при збільшенні концентрації спирту етилового, вихід хлорофілів підвищувався, при цьому спостерігалася пряма залежність.

Також досліджувався вплив концентрації спирту етилового на вихід 1,8-цинеолу в досліджуваних екстрактах, що представлено на рис. 4.3.

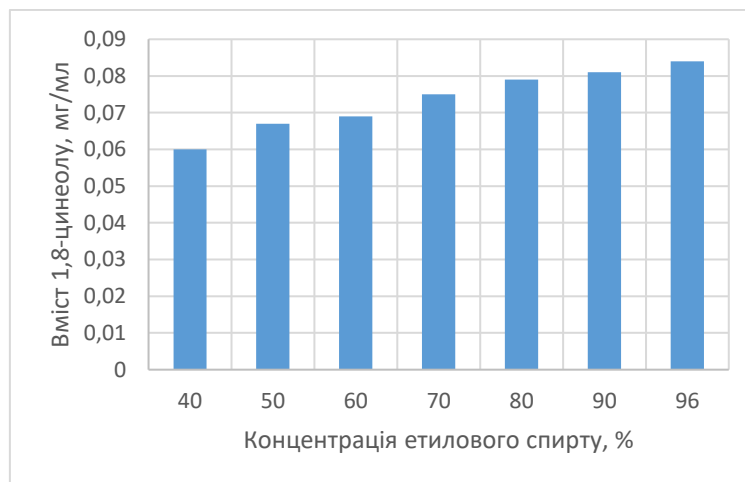


Рис. 4.3 Залежність вмісту 1,8-цинеолу у екстракті евкалипту кулястого листя від концентрації спирту етилового

Виходячи із результатів рис. 4.3, вміст 1,8-цинеолу збільшувався при підвищенні концентрації етилового спирту.

Обґрунтування ступеня подрібнення ЛРС. Одним з важливих чинників, від яких залежить ефективність процесу екстрагування, є ступінь подрібнення ЛРС. Для вибору оптимального розміру часток евкалипту кулястого листя використовувались фракції від 2 до 10 мм.

Проведено дослідження впливу ступеня подрібнення евкалипту кулястого листя на процес вилучення ефірних олій.

Сировину подрібнювали на машині для подрібнення рослинної сировини, просіювали через сита та відбирали фракції з розміром 2 мм, 4 мм та 10 мм. Результати впливу ступеня подрібнення ЛРС на вміст суми ефірних олій в екстракті приведені на рис. 4.4.

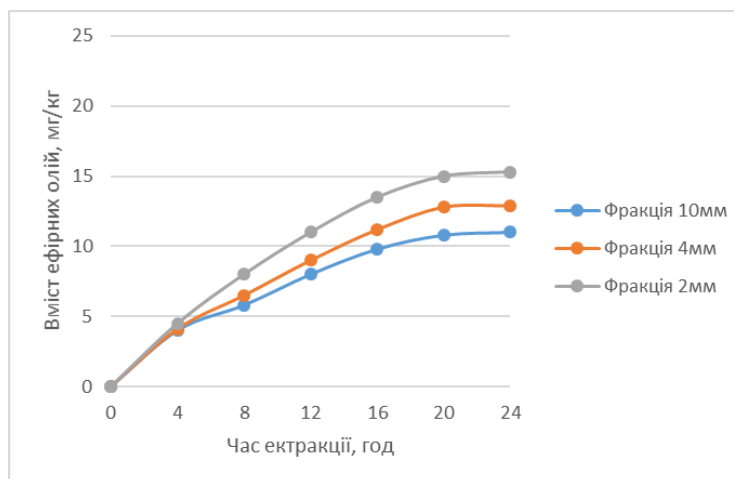


Рис. 4.4 Вплив розміру фракції ЛРС на ефективність вилучення ефірних олій

Результати, наведені на рис. 4.4, свідчать, що поступове збільшення вмісту ефірних олій в екстракті евкалипту кулястого листа спостерігається до 20-тої год, після зазначеного часу цей показник практично не змінювався. При цьому найбільший вміст ефірних олій досягався при використанні рослинної сировини, подрібненої до частинок розміром 2 та 4 мм, нижчі результати були отримані з використанням рослинної сировини, подрібненої до частинок розміром 10 мм.

Обґрунтування часу екстракції. Тривалість екстрагування є важливим чинником, що впливає на ефективність технології екстракту. Метою будь-якої фармацевтичної розробки є вибір оптимальних умов, які забезпечують максимаксимальний вихід БАР в найкоротший термін.

Одним із показників для контролю виходу екстрактивних речовин є густина розчину. Було вивчено вплив часу екстрагування на густину екстрактів, одержаних із різних фракцій ЛРС евкалипту кулястого. Відбір зразків екстракту евкалипту кулястого листа рідкого проводили через кожні 4 год (рис. 4.5, ДФУ 2.25).

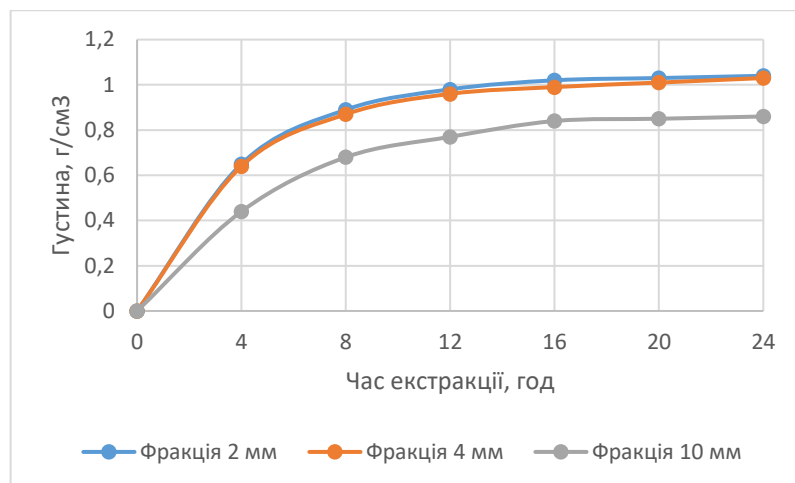


Рис. 4.5 Вплив часу екстракції та розміру фракції ЛРС (2, 4 та 10 мм) на густину екстрактів евкаліпту кулястого листа рідкого

Аналізуючи результати рис. 4.5, бачимо, що поступове збільшення густини рідких екстрактів евкаліпту кулястого листа спостерігалось до 16-20 год, після зазначеного часу показники густини не змінювались. Для подальшої розробки були обрані фракції 2 та 4 мм, адже, як бачимо, під час досліджень показник густини практично не змінювався при використанні цих двох фракцій ЛРС.

Обтунтування співвідношення ЛРС:екстрагент. Результати дослідження технологічних властивостей подрібненого листа евкаліпту з розміром часток 2-4 мм наведено в табл. 4.1.

На основі експериментально досліджених технологічних властивостей евкаліпту кулястого листа, подрібнених до розміру 2 та 4 мм, нами було визначено оптимальне співвідношення сировина:екстрагент та кількості екстрагенту, що залишається в сировині після зливання екстракту.

Розрахунок об'єму, який займає 1 кг евкаліпту кулястого листа подрібненого розраховували за формулою [173]:

$$V = M : \rho_{\text{насіпна}} \quad (4.1)$$

де M - маса завантаженої сировини, г;

$\rho_{\text{насіпна}}$ - насіпна густина після усадки, г/мл.

$$V = 1\,000 : 0,58 = 1\,724 \text{ мл (1,72 л)}.$$

Технологічні властивості подрібненого евкаліпту кулястого листа

№ п/п	Фармако-технологічний показник	Показник
1	Здрібненість ЛРС (оптимальний фракційний склад), мм	2,0-4,0
2	Вологість (втрата в масі при висушуванні), %	10,1±0,5
3	Насипна густина:	
	- до усадки, г/мл	0,49±0,06
	- після усадки, г/мл	0,58±0,05
	- здатність до усадки, %	20,0±0,05
4	Коефіцієнт набухання ЛРС в етанолі (96 %) $P (K_n)$, мл/г	5,0
5	Коефіцієнт поглинання ЛРС в етанолі (96 %) $P (K_n)$, мл/г	2,0

Розрахунок об'єму, який займає 1 кг евкаліпту кулястого листа подрібненого розраховували за формулою [173]:

Для розрахунку оптимального об'єму екстрагенту для заповнення екстрактора з забезпеченням належної висоти дзеркала використовували наступну формулу:

$$V_{\text{екстр.}} = M * K_n + V_{\text{екстр. дз}} \quad (4.2)$$

де $V_{\text{екстр.}}$ - об'єм екстрагенту необхідний для заповнення екстрактора, мл;

M - маса завантаженої сировини в екстракторі, г;

K_n - коефіцієнт набухання, мг/г

$V_{\text{екстр. дз.}}$ - об'єм екстрагенту над сировиною (дзеркало екстрагенту), мл.

Для розрахунку об'єму екстрагенту над сировиною слід врахувати, що загальноприйнятою мінімальною висотою дзеркала над шаром сировини є 5 см. За умови використання екстрактора об'ємом 2 дм³ висотою 240 мм та діаметром 90 мм, об'єм екстрагенту ($V_{\text{екстр. дз}}$) над сировиною становитиме:

$$V_{\text{екстр. дз}} = \pi d^2 / 4 * H$$

$$V_{\text{екстр.}} = M * K_n + V_{\text{екстр. дз}} \quad (4.3)$$

де $V_{\text{екстр. дз}}$ - об'єм екстрагенту необхідний для заповнення екстрактора, мл;

d - діаметр екстрактора, 150 мм;

H - мінімальна висота дзеркала над шаром сировини, 50 мм.

В нашому випадку об'єм екстрагенту над сировиною становив:

$$V_{\text{екстр. дз}} = 3,14 * 90^2/4 * 50 = 318 \text{ мл (0,32 л)}.$$

Отже, загальний об'єм екстрагенту становив:

$$V_{\text{екстр.}} = 1000 * 5,0 + 318 = 5\,318 \text{ мл (5,32 л)}.$$

Отже, за умови використання екстрактора об'ємом 2,0 дм³ висотою 240 мм та діаметром 90 мм, при завантаженні 1 кг евкаліпту кулястого листя подрібненого, загальний об'єм екстрагенту складав 5,32 л. Оптимальне співвідношення сировина: екстрагент становило 1:5.

Також було прораховано об'єм екстрагенту, що залишається в сировині після отримання готового екстракту. Це було зроблено з метою пошуку шляхів повернення екстрагенту зі шроту після отримання готового екстракту.

У зв'язку з цим було розраховано об'єм екстрагенту, що залишається в шроті після зливання екстракту:

$$V_{\text{екстр шр.}} = M * K_{\text{п.}} \quad (4.4)$$

де $V_{\text{екстр. шр.}}$ - об'єм екстрагенту в шроті, мл;

M - маса завантаженої сировини в екстракторі, г;

$K_{\text{п.}}$ - коефіцієнт поглинання сировини;

$$V_{\text{екстр шр.}} = 1000 * 2 = 2\,000 \text{ мл (2 л)}.$$

Отже, при завантаженні 1 кг подрібненого евкаліпту кулястого листя із коефіцієнтом поглинання 2, об'єм екстрагенту в шроті становитиме 2 л.

Встановлення температури упарювання. Для приготування дослідно-промислових серій спрею «Хлорофіліпт» на ПАТ «Галичфарм» використовують екстракт евкаліпту густий, який одержують шляхом упарювання вихідного рідкого екстракту. Для вивчення впливу температури упарювання на вміст суми хлорофілів та вміст 1,8-цинеолу в екстракті, нами було проведено дослідження процесу упарювання рідкого екстракту при різних значеннях температури. Результати експерименту представлені на рис. 4.6-4.7.

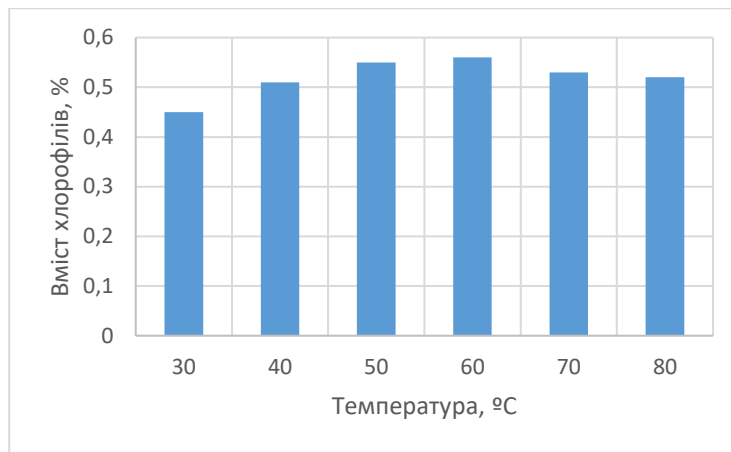


Рис. 4.6 Вплив температури упарювання на вміст суми хлорофілів в екстракті евкаліпту кулястого листя рідкому

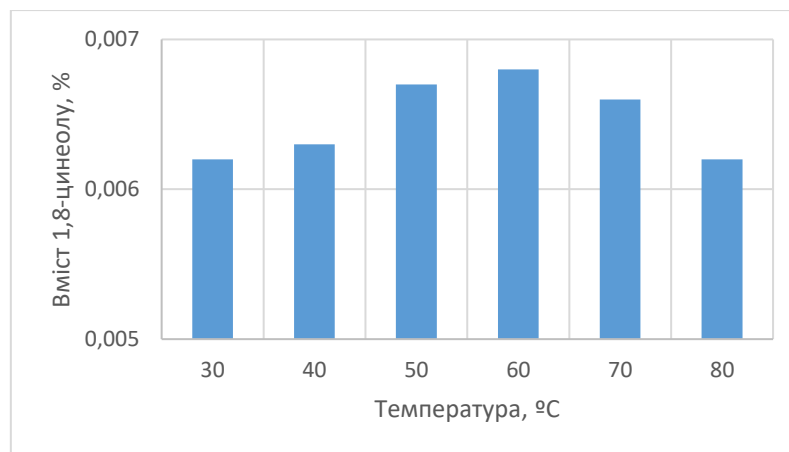


Рис. 4.7 Вплив температури упарювання на вміст 1,8-цинеолу в екстракті евкаліпту кулястого листя рідкому

Як видно з рис. 4.6 та 4.7, оптимальною температурою упарювання екстракту евкаліпту кулястого листя рідкого є температура 50-60 °C, при вищій та нижчих температурах спостерігалось зниження вмісту суми хлорофілів та 1,8-цинеолу.

Продовженням даного дослідження було визначення впливу вакууму на час екстрагування при температурі 50-60 °C. Об'єм екстракту при цьому зменшувався від 500 до 100 мл. Результати дослідження впливу температури та вакууму на час упарювання екстракту евкаліпту кулястого листя рідкого приведено у табл. 4.2.

Вплив температури та глибини вакууму на час упарювання екстракту
евкаліпту кулястого листа рідкого

Температура, °С	Вакуум, кгс/см ²	Час упарювання, хв
50	- 0,6	93
		94
		93
50	- 0,8	81
		82
		81
60	- 0,6	63
		64
		63
60	- 0,8	54
		53
		54

Одержані дані у табл. 4.2 свідчать про суттєве скорочення часу упарювання екстракту при підвищенні температури на 10 °С та зниженні тиску на 0,2 кгс/см².

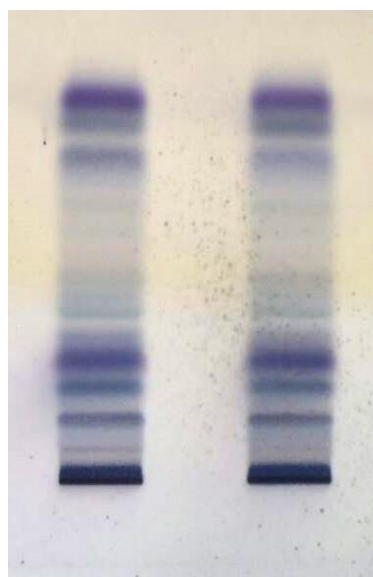
Обґрунтування вибору органічного розчинника. На етапі очистки екстракту евкаліпту кулястого від небажаних супутніх речовин завжди використовували хлороформ, при цьому цільові ліпофільні БАР ефективніше переходили в органічний шар, який залишався прозорим. Нами було замінено токсичний хлороформ (клас токсичності II) на менш токсичний етилацетат (клас токсичності III). Етилацетату надали перевагу серед інших розчинників у зв'язку з його цілком прийнятним запахом та невисокою ціною (у 1,5 разів дешевший за хлороформ), що дає змогу здешевити виробництво загалом. Результати порівняльних досліджень наведено у табл. 4.3.

Порівняння показників якості густого екстракту евкаліпту при зміні
органічного розчинника

Найменування показника	Хлороформ (с. 144016)	Етилацетат (с. 11017)
Опис	Густа маса темно-зеленого кольору зі різким специфічним запахом.	Густа маса темно-зеленого кольору зі специфічним запахом
Розчинність	Розчинний в <i>етанолі</i> (96%).	Розчинний в <i>етанолі</i> (96%).
Ідентифікація	Максимум поглинання при довжині хвилі 652 нм	Максимум поглинання при довжині хвилі 654 нм
Залишкові кількості органічних розчинників	0,006 %	0,002 %
Етанол	20,0 %	20,0%
Важкі метали	0,01 %	0,005 %
Сухий залишок	41,5 %	43,5 %

Таблиця 4.3 свідчить, що етилацетат забезпечує відповідний рівень показників якості, а по деяких показує кращі результати порівняно з хлороформом.

Також з метою підтвердження ідентичності екстрактів евкаліпту кулястого із різними органічними розчинниками, були проведені дослідження щодо вилучення терпенів із евкаліпту кулястого листя двома розчинниками - етилацетатом та хлороформом. Дослідження проведено методом ТШХ (рис. 4.8; табл. 4.4).



1 2

Рис. 4.8 Хроматограма випробовуваних розчинів при визначенні терпенів
 1 - випробований розчин екстракту евкаліпту кулястого листя, одержаний із використанням етилацетату
 2- випробований розчин екстракту евкаліпту кулястого листя, одержаний із використанням хлороформу

Таблиця 4.4

Результати порівняльного аналізу якісного складу терпенів у зразках густого екстракту евкаліпту кулястого листя, одержаних із використанням етилацетату та хлороформу методом «відбитків пальців» за допомогою ТШХ

Колір смуги	«Хлорофіліпт» у екстракт густий	
	Rf	
	Етилацетат, с. 11017	Хлороформ, с. 144016
1	2	3
Слабка фіолетова зона	0,06	0,06
Синя зона	0,13	0,13
Синя зона	0,19	0,19
Фіолетова зона	0,24	0,24
Слабка зелена зона	0,34	0,34

1	2	3
Слабка фіолетова зона	0,38	0,38
Слабка фіолетова зона	0,56	0,56
Фіолетова зона	0,65	0,65
Синя зона	0,71	0,71
Фіолетова зона	0,78	0,78

Отже, як бачимо із рис. 4.8 та табл. 4.3, оскільки спектр екстрактивних речовин, що розчинні в обох розчинниках, однаковий, можемо вважати екстракти ідентичними, а заміну хлороформу на етилацетат доцільною.

З метою підвищення антибактеріальної активності екстакту із евкаліпту кулястого листя проведено його модифікацію за допомогою солей купрум хлориду або купрум сульфату. Катіони міді беруть участь у заміні магнію в молекулах хлорофілів на купрум з утворенням мідних комплексів. На рис. 4.9 показано вплив купрум хлориду та купрум сульфату на вихід хлорофілів у екстракті.

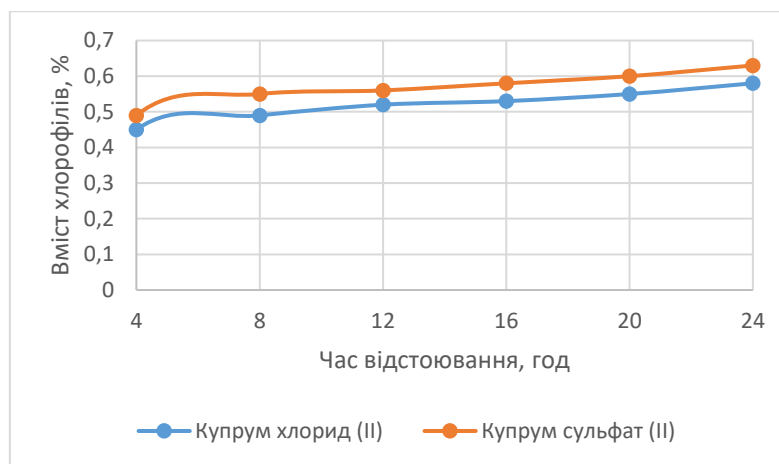


Рис. 4.9 Порівняння ефективності використання купрум сульфату та купрум хлориду

Як видно з рис. 4.9, ефективнішою виявилась сіль купрум сульфату. На наступному етапі проводили вибір концентрації цієї солі для максимального виходу хлорофілів, результати якого наведено на рис. 4.10.

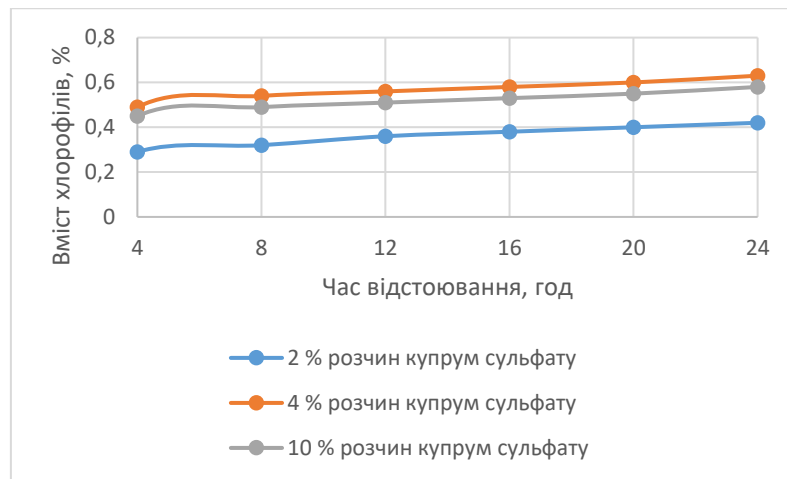


Рис. 4.10 Вплив концентрації купрум сульфату на вміст хлорофілів у екстракті евкالیпту кулястого листа

Аналізуючи результати рис. 4.10, бачимо, що найбільш ефективним виявився 4%-ий розчин купрум сульфату, адже згідно з одержаними даними, при використанні 4 %-ого розчину купрум сульфату спостерігався максимальний вміст хлорофілів у екстракті.

Важливим фактором у технології густого екстракту евкالیпту кулястого листа є підбір оптимальної кількості органічного розчинника (етилацетату) для максимального вилучення ліпофільних речовин, зокрема хлорофілів. Результати даного дослідження наведено на рис. 4.11.

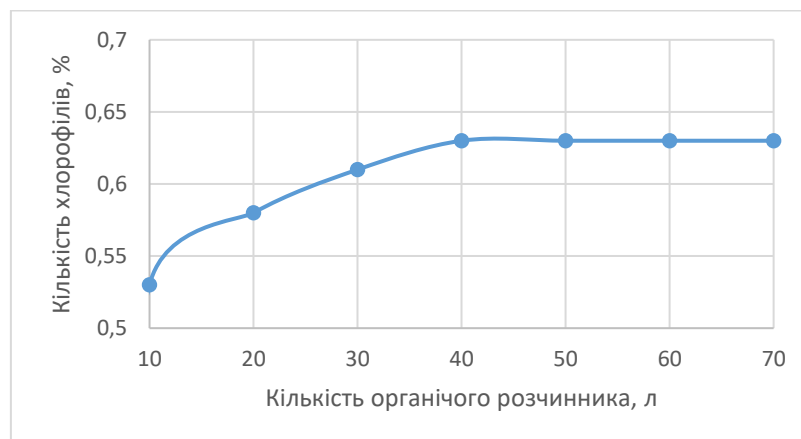


Рис. 4.11 Вплив кількості етилацетату на вміст хлорофілів у густому екстракті евкالیпту кулястого листа

Як видно з представленого рис. 4.11, при додаванні до екстракту більше 40 л етилацетату, вміст хлорофілів не змінювався. В ході експерименту до 10 кг екстракту евкаліпту кулястого листя додавали відповідну кількість етилацетату та визначали вміст хлорофілів, а також сліdkували за органолептичними характеристиками. При співвідношенні компонентів 1:4 досягнуто граничної межі, при якій вміст хлорофілів максимальний, а запах екстракту задовільний.

Вагомим фактором є вибір оптимального часу відстоювання, при якому відбувається розділення органічного та неорганічного шарів, що, в свою чергу, означатиме повне осадження хлорофілів. Чітке розділення органічного та неорганічного шарів спостерігалось протягом 23-24 год. Результати контролю органічного шару протягом 23-24 год зображено на рис. 4.12.

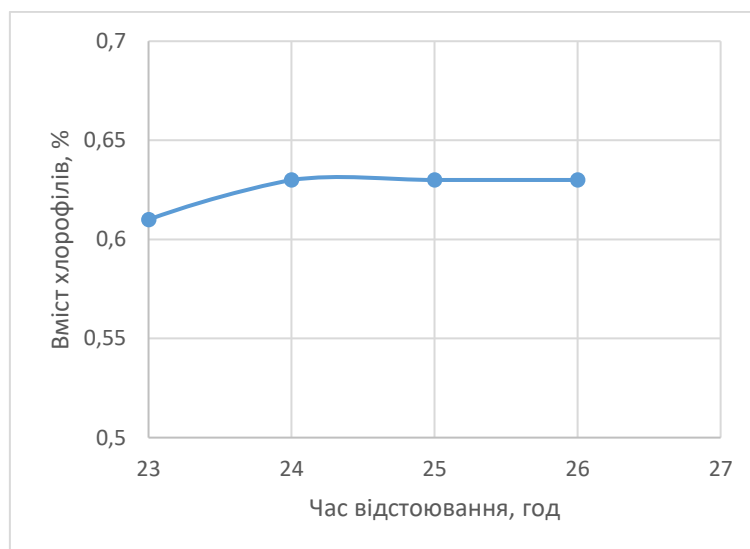


Рис. 4.12 Вибір оптимального часу відстоювання при обробці екстракту евкаліпту кулястого листя етилацетатом

Як бачимо із рис. 4.12, найоптимальнішим часом відстоювання при обробці екстракту евкаліпту кулястого листя етилацетатом було встановлено 24 год.

Після відстоювання відділений органічний шар потрібно фінально промити неорганічним розчинником. Для цього обрано найбільш дешеву воду питну, яка завжди є доступною на фармацевтичному підприємстві. Експериментально було підібрано оптимальне співвідношення кількості води питної до загального об'єму

розчину - 10:1, тобто води додають у десять разів менше від загального об'єму екстракту.

Підбір оптимальних умов для упарювання екстракту після відстоювання. Однією із фінальних стадій одержання густого екстракту евкаліпту кулястого є відгін етилацетату із упареного густого екстракту евкаліпту кулястого листа. Найдоступнішим органічним розчинником із вищою температурою кипіння є етиловий спирт ($T_{\text{кип. спирту}} 78\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{кип. етилацетату}} 77\text{ }^{\circ}\text{C}$). Динаміку процесу випаровування етилацетату із екстракту густого евкаліпту кулястого зображено на рис. 4.13.

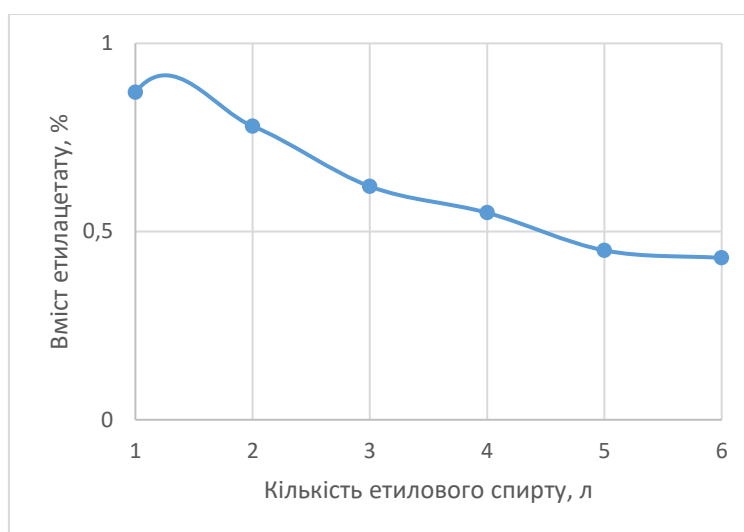


Рис. 4.13 Динаміка процесу випаровування етилацетату із густого екстракту евкаліпту кулястого листа

Згідно з специфікацією якості, вміст етилацетату у готовому екстракті має становити не більше 0,5 %. Як бачимо із рис. 4.13, вміст етилацетату задовольняв встановлені вимоги при порційному додаванні 5 л спирту етилового.

Опис технологічного процесу. Процес приготування густого екстракту евкаліпту кулястого листа *Eucalyptus globulus* методом ремацерації з перемішуванням складається з декількох етапів. Для початку подрібнену лікарську рослину сировину заливають екстрагентом - етанолом 96 % у співвідношенні 1:5, перемішують 30 хв, після чого екстрагують протягом 20 год і зливають первинний екстракт у співвідношенні 1:3. Листя повторно заливають свіжою порцією

екстрагенту, настоюють 12 год, зливають, цей процес повторюють двічі. Отримані рідкі екстракти об'єднують, фільтрують через патронний фільтр із шаром капронової тканини та віддають на упарювання. До упареного екстракту додають розчин купрум сульфату 4 % у співвідношенні густий екстракт:купрум сульфат 2:1 та етилацетат у співвідношенні 1:4. Перемішують 30 хв, залишають відстоюватись протягом 24 години. Після цього етилацетатний шар відділяють окремо, а водний та емульсійний шар піддають повторній подвійній екстракції етилацетатом [204]. Етилацетатні шари промивають водою у співвідношенні 10:1 та віддають на упарювання. Під час упарювання до екстракту порційно додають етиловий спирт у співвідношенні 2:1 з метою відгону етилацетату. Після приготування густого екстракту його віддають на контроль згідно МКЯ. Блок-схема виготовлення евкаліпту екстракту густого наведена у додатку К [194, 199].

Отриманий екстракт листя евкаліпту кулясто густий, який відповідає показникам якості, зберігається у герметичному пакуванні та використовується для виробництва спрею «Хлорофіліпт».

4.1.2 Розробка раціонального складу та технології спрею «Хлорофіліпт-спрей»

На початковому етапі розробки складу спрею приділяли особливу увагу оптимальному дозуванню комплексної витяжки із сировини евкаліпту, а також складу спрею з врахуванням його місцевої подразнювальної дії. Існує декілька варіантів перевірених на практиці ДР, і встановлено фактори ризику для кінцевого препарату при їх застосуванні.

При теоретичному виборі ДР як співрозчинники були оцінені гліцерин та пропіленгліколь. Як розчинник використовували етанол 96 % - який є лідером у якості розчинника не розчинних у воді фармацевтичних субстанцій. Твін-80 був розглянутим у якості поверхнево-активної речовини (ПАР) для отримання кращої консистенції спрею [187, 192].

У табл. 4.5 представлено допоміжні речовини, які були досліджені при обґрунтуванні складу спрею «Хлорофіліпт-спрей».

Допоміжні речовини, які вивчалися при розробці складу і технології спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Фактори	Рівні факторів
А - Розчинник	a ₁ - Етиловий спирт 96% a ₂ - Макрогол 400
В - Співрозчинник	b ₁ - Пропіленгліколь b ₂ - Гліцерин
С - Поверхнево-активна речовина	c ₁ - Твін-80 c ₂ - Без ПАР
Д - Коригент смаку	d ₁ - Сахаринат натрію d ₂ - Без коригента смаку

Поєднання різних рівнів у кожній серії підбирали за допомогою одного з планів дисперсійного аналізу, а саме чотирьохфакторного плану дисперсійного аналізу на двох рівнях з повторними дослідженнями.

Матриця планування експерименту та результати дослідження наведені у додатку Л. Для опрацювання результатів дослідження була складена програма в режимі Excel 2016, що дозволило оперативно здійснювати статистичну обробку.

Вивчення впливу якісних факторів на фармако-технологічні властивості спрею «Хлорофіліпт-спрей» на основі густого екстракту евкаліпту кулястого

За допомогою статистичної обробки визначали, які з факторів є значущими, наскільки від їх наявності залежить вивчений показник. Чотирьохфакторний експеримент дисперсійного аналізу на основі двох рівнів з повторними дослідженнями та результати дослідження спрею «Хлорофіліпт-спрей» наведені у табл. 4.6.

Таблиця 4.6

Чотирьохфакторний експеримент дисперсійного аналізу на основі двох рівнів з повторними дослідями та результати дослідження спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Номер дослідю	A	B	C	D	y_1	y_1'	y_2	y_2'	y_3	y_3'	y_4	y_4'
1	a_1	b_1	c_1	d_1	12,3	11,5	4,5	5	3,5	4	25,1	25,9
2	a_1	b_2	c_1	d_1	11,6	10,8	4,5	5	5	2	27,8	28,8
3	a_1	b_1	c_2	d_1	10,8	11,9	4,5	5	4,5	5	28,5	28,1
4	a_1	b_2	c_2	d_1	11,9	12,3	4	4,5	2,5	3	28,5	27,9
5	a_1	b_1	c_1	d_2	12,2	13,5	3,5	4	1	1,5	27,1	27,9
6	a_1	b_2	c_1	d_2	10,9	12,8	3,5	4	5	4,5	28,8	27,1
7	a_1	b_1	c_2	d_2	11,4	14,5	4	4,5	3	3,5	27,1	26,9
8	a_1	b_2	c_2	d_2	10,1	9,9	5	5	5	5	26,9	27,1
9	a_2	b_1	c_1	d_1	11,5	12,3	2	2,5	2	1,5	27,4	28,4
10	a_2	b_1	c_2	d_1	10,8	11,6	3,5	4	3	3,5	29,4	29,9
11	a_2	b_1	c_1	d_2	11,9	10,8	1,5	2	3,5	4	25,1	25,5
12	a_2	b_1	c_2	d_2	12,9	13,1	4,5	5	4,5	4	25,8	25,9
13	a_2	b_2	c_1	d_1	13,5	12,2	2,5	3	4	4,5	25,1	25,4
14	a_2	b_2	c_2	d_1	12,8	10,9	1	1,5	3,5	3	25,9	25,1
15	a_2	b_2	c_1	d_2	14,5	11,4	1,5	2	3,5	3	25,1	25,9
16	a_2	b_2	c_2	d_2	13,7	10,1	3	3,5	4	4,5	25,4	25,8

Примітки:

y_1 і y_1' - антимікробна активність першої та другої серії дослідів відповідно, мкг/мл;

y_2 і y_2' - прозорість першої та другої серії дослідів відповідно, бали;

y_3 і y_3' - смак першої та другої серії дослідів відповідно, бали;

y_4 і y_4' - однорідність маси першої та другої серії дослідів відповідно, $\pm\%$.

Вплив фактору А, а саме системи розчинників, на антимікробну активність спрею, відображено на рис. 4.14.

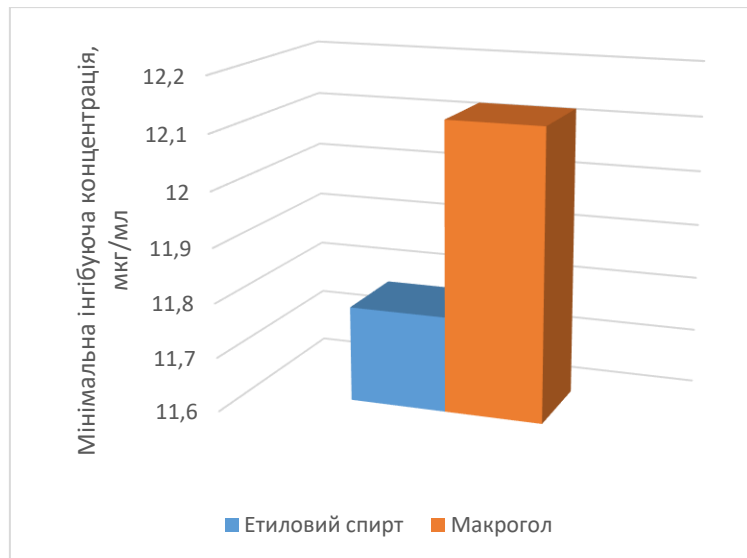


Рис. 4.14 Вплив розчинників на антимікробну активність спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Як видно із рис. 4.15, найкраще на антимікробну активність впливає етиловий спирт (середнє значення 11,78 мкг/мл), порівняно з макроголом, середнє значення якого 12,13 мкг/мл.

Подібним чином встановлювали взаємозалежності і для трьох інших факторів даного відгуку. Результати зображено на рисунках 4.15 - 4.178.

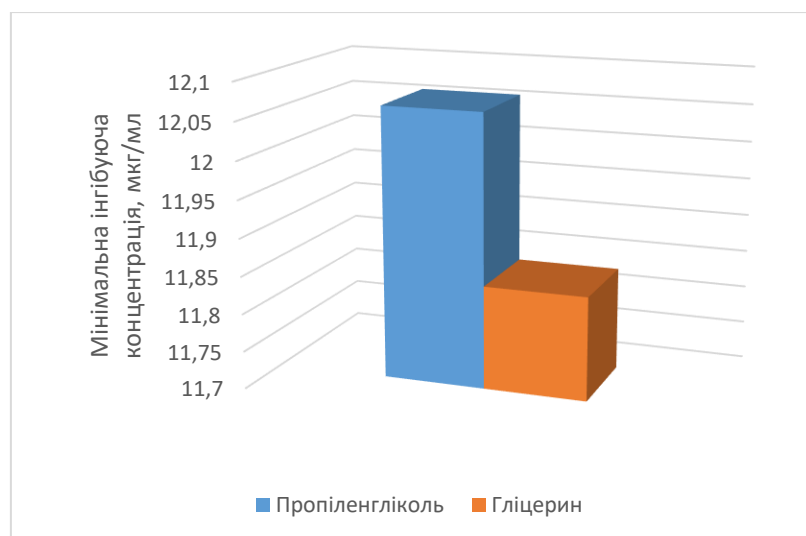


Рис. 4.15 Вплив співрозчинника на антимікробну активність спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Як бачимо із рис. 4.15, при використанні гліцерину мінімальна інгібуюча концентрація є дещо меншою.

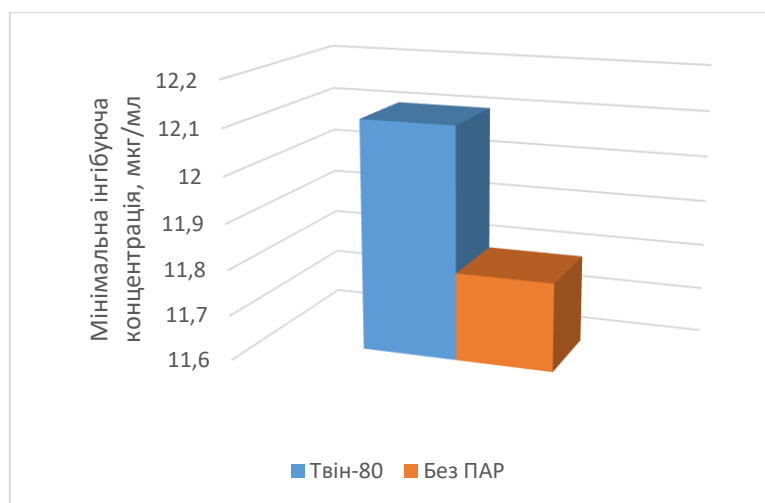


Рис. 4.16 Вплив ПАР на антимікробну активність спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Аналізуючи дані рис. 4.16, бачимо, що наявність ПАР зменшує антимікробну активність спрею «Хлорофіліпт-спрей». При додаванні у склад твіну-80 мінімальна інгібуюча концентрація зростає майже на 1 мкг/мл.

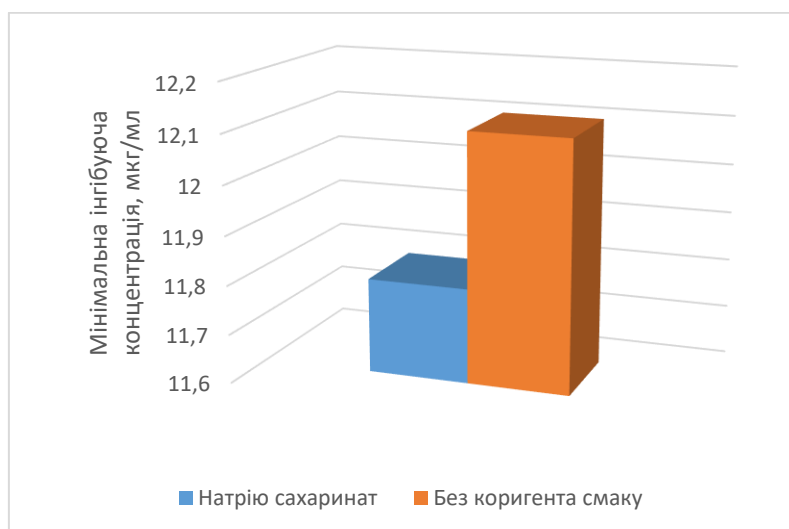


Рис. 4.17 Вплив коригента смаку на антимікробну активність спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Із рис. 4.17 можна зробити висновок, що наявність натрію сахаринату у складі покращувала антимікробну активність готового препарату.

Дослідження впливу ДР на прозорість готового препарату показали, що найкращі результати отримали при використанні спирту етилового (4,41 балів), гірші показники були при використанні макроголу 400 (2,69 балів) (рис. 4.18).

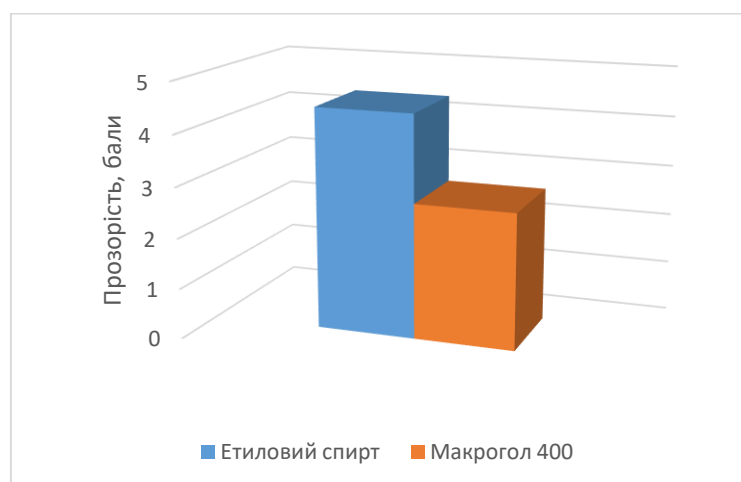


Рис. 4.18 Вплив розчинників на прозорість спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Як бачимо із рис. 4.18, спирт етиловий покращував прозорість розчину у більшій мірі, ніж макрогол.

Вплив інших ДР на прозорість спрею «Хлорофіліпт-спрей» зображено на рисунках 4.19 - 4.21.

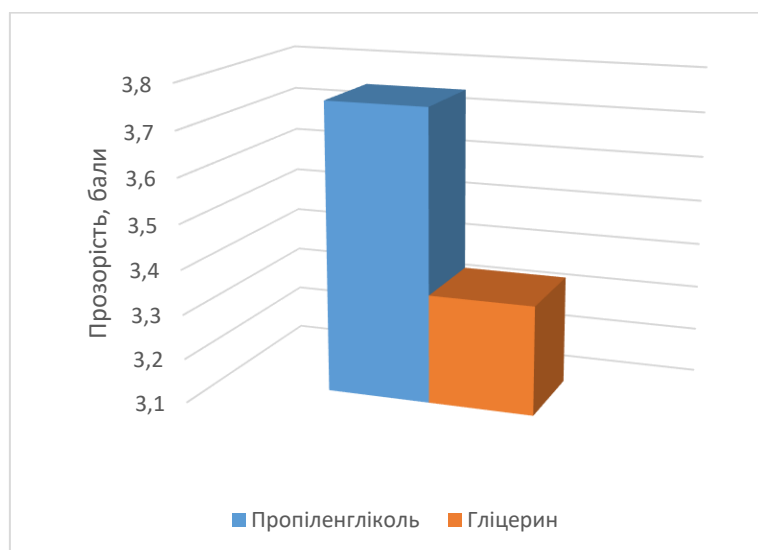


Рис. 4.19 Вплив співрозчинників на прозорість спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Аналізуючи результати, наведені на рис. 4.19, бачимо, що при використанні пропіленгліколю, «Хлорофіліпт-спрей» був більш прозорим на вигляд (середнє значення 3,7 балів), ніж при використанні гліцерину (3,3 балів).

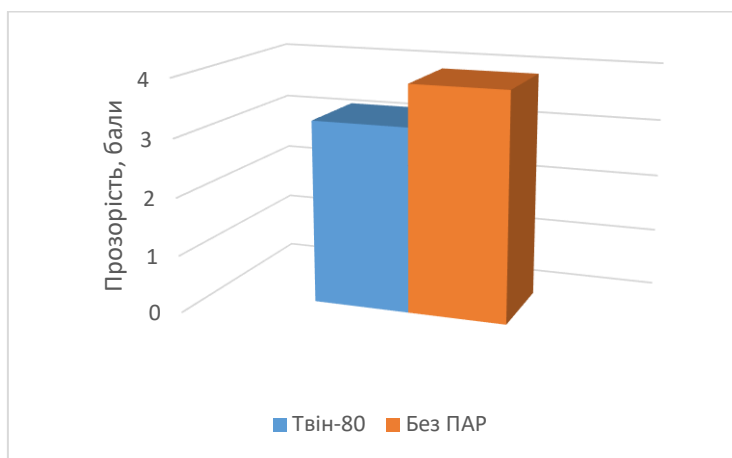


Рис. 4.20 Вплив ПАР на прозорість спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Аналізуючи дані рис. 4.20, без додавання твіну-80 прозорість розчину була більш вираженою.

На рис. 4.21 зображено залежність прозорості спрею від додавання натрію сахаринату.

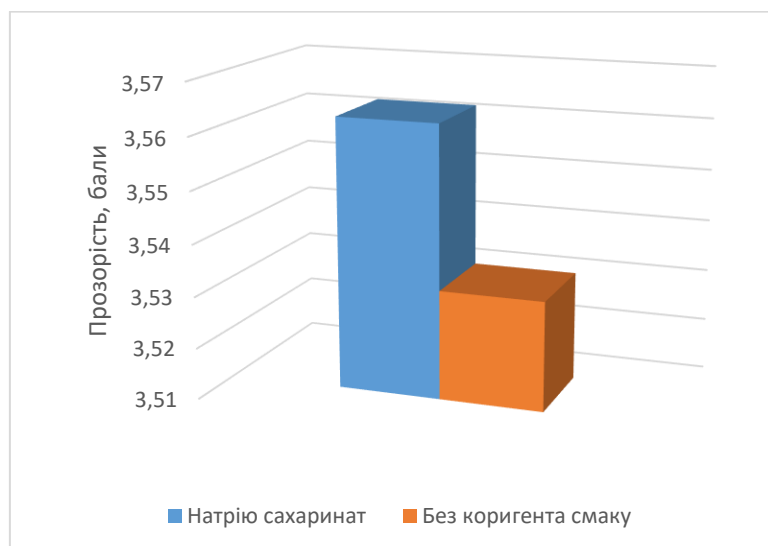


Рис. 4.21 Вплив коригента смаку на прозорість спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Як бачимо із рис. 4.21, сахаринат натрію негативно впливав на прозорість спрею.

На смакові властивості кращий вплив мав етиловий спирт (3,63 балів), в той час як середнє значення для макроголу 400 становило 3,47 балів (рис. 4.22).

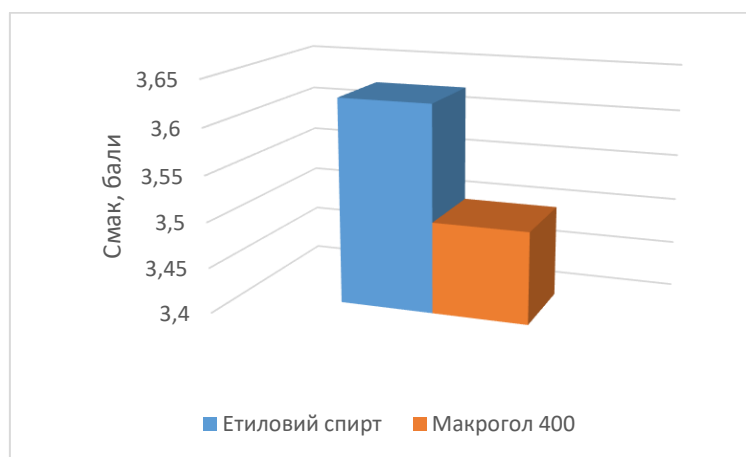


Рис. 4.22 Вплив розчинників на смакові властивості спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Аналізуючи дані рис. 4.22, бачимо, що смакові властивості розчину покращувались при наявності у складі етилового спирту (середнє значення 3,61 балів), при цьому середнє значення для макроголу становило 3,48 балів.

Введення коригента смаку, а саме натрію сахаринату, погіршувало смакові властивості препарату «Хлорофіліпт-спрей» (рис. 4.23).

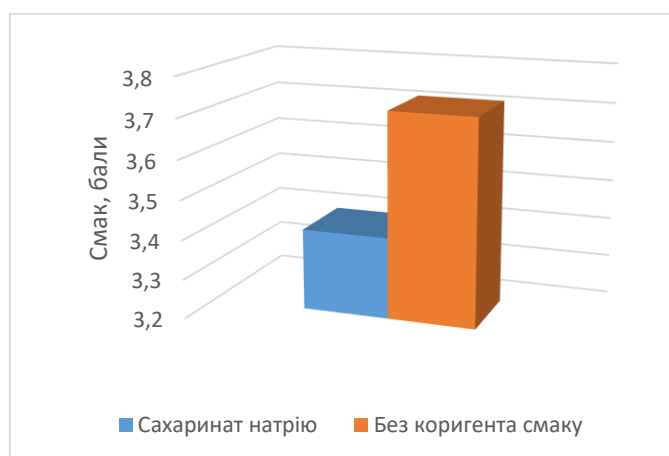


Рис. 4.23 Вплив коригента смаку на смакові властивості спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Як видно із рис. 4.23, введення коригента смаку негативно впливало на смакові властивості спрею (середнє значення 3,45 балів), в той час, як спрей без коригента смаку був більш приємний на смак (середнє значення 3,68 балів).

Введення ПАР покращувало даний показник однорідності маси спрею (середнє значення $26,68 \pm 0\%$), без коригента смаку однорідність маси показала середнє значення $20 \pm 0\%$, при використанні макроголу та гліцерину досягалось краще значення даного відгуку ($26,71 \pm 0\%$ та $27,5 \pm 0\%$ відповідно).

Обґрунтування вибору оптимального складу «Хлорофіліпт-спрей»

Оскільки введення ПАР спричинило негативний вплив на антимікробну активність спрею, а додавання до складу коригента смаку погіршувало смакові властивості спрею, на основі даних дисперсійного аналізу було вирішено розробляти лікарський засіб без даних ДР. Концентрація етилового спирту у готовому засобі не повинна перевищувати 28 мг/мл, - це доза, яка дорівнює разовій дозі введення препарату.

На завершальному етапі досліджень необхідно встановити оптимальне співвідношення між ДР. Для цього було використано метод математичного планування експерименту. Фактори та їх рівні представлені у табл. 4.7.

Таблиця 4.7

Фактори та рівні, що вивчалися при розробці раціонального складу спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Фактор	Інтервал варіювання	Рівні факторів				
		Нижня зіркова точка «-α»	Нижній рівень «-»	Основний рівень «0»	Верхній рівень «+»	Верхня зіркова точка «+α»
x ₁ - кількість розчинника на 100 мл, мл	4	9,34	11	15	19	20,65
x ₂ - кількість співрозчинника на 100 мл, г	10	70,86	75	85	95	99,14

Матрицю планування експерименту та результати досліджень спрею «Хлорофіліпт-спрей» наведено в табл. 4.8.

Таблиця 4.8

Систематичний композиційний ротатбельний план другого порядку і результати досліджень спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Номер досліджу	x ₁	x ₂	y ₁	y ₂	y ₃	y ₄
1	+	+	11,9	5	2,5	27,1
2	-	+	12,9	5	1	26,9
3	+	-	13,5	5	4	27,1
4	-	-	12,8	4,5	1,5	28,4
5	+α	0	11,5	4,5	2	28,8
6	-α	0	10,8	4	5	18,1
7	0	+α	11,9	4	4,5	27,9
8	0	-α	12,9	4	4	27,9
9	0	0	10,9	4	4	19,9
10	0	0	11,4	4	4	25,1
11	0	0	10,7	4,5	4,5	25,9
12	0	0	11,5	3,5	3,5	25,4

у₁ - антимікробна активність, мкг/мл;
у₂ - прозорість, бали;
у₃ - смак, бали;
у₄ - однорідність маси, ±%.

При вивченні 2-х факторів на 5-ти рівнях математична модель має наступний вигляд:

$$y = b_0x_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2$$

Взаємозв'язок між вивченими факторами та антимікробною активністю спрею з хлорофіліптом описується наступним рівнянням регресії:

$$y_1 = 11,16 + 0,09x_1 - 0,36x_2 - 0,43x_1x_2 + 0,25x_1^2 + 0,87x_2^2$$

Аналіз рівня регресії показав статистичну значущість фактора x₂, парної взаємодії факторів x₁x₂ та квадратичних коефіцієнтів обоїх факторів, при статистиній незначущості фактора x₁. При збільшенні кількості співрозчинника в складі спрею антимікробна активність знижується. Статистична значущість парної

взаємодії та квадратичних коефіцієнтів вказує, що в залежності від того, на яких рівнях вивчаються обидва фактори, суттєво змінюється антимікробна активність спрею (рис. 4.24).

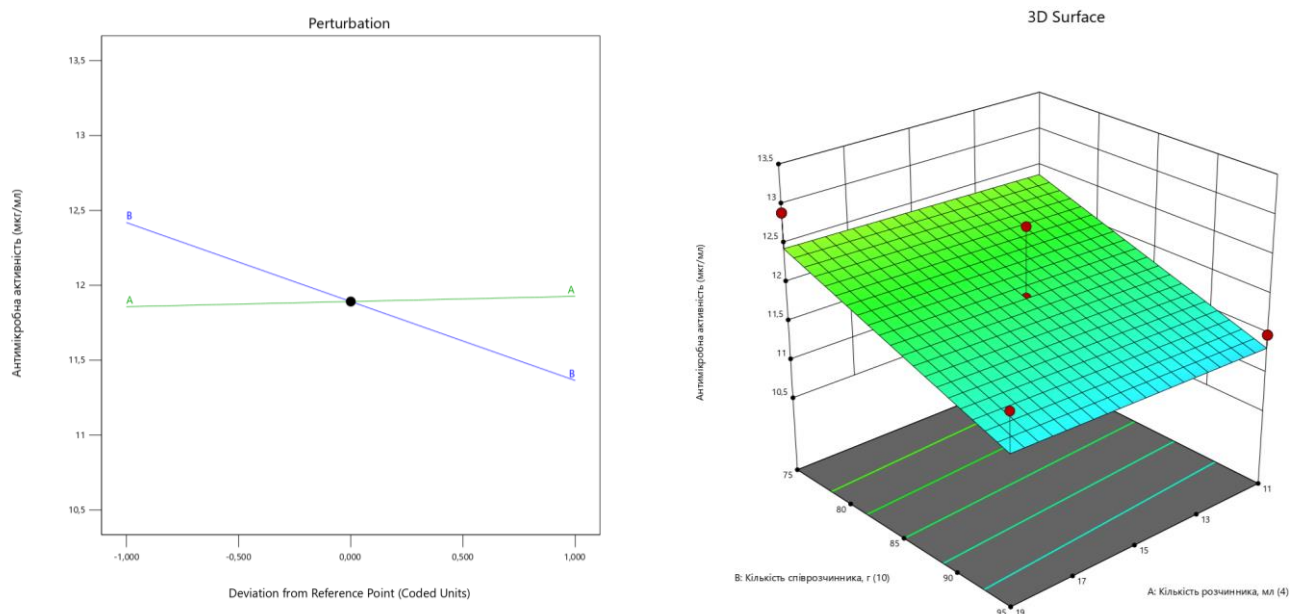


Рис. 4.24 Вплив кількості розчинника та співрозчинника на антимікробну активність спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Взаємозв'язок між вивченими факторами та прозорістю розчину спрею з хлорофіліптом описується наступним рівнянням регресії:

$$y_2 = 4,25 + 0,15x_1 + 0,06x_2 - 0,13x_1x_2 + 0,19x_1^2 + 0,06x_2^2$$

Аналіз рівняння регресії показав, що на прозорість розчину спрею впливає кількість розчинника, із збільшенням якого цей відгук покращується. Проявляється значущість парної взаємодії вивчених факторів. Кількість співрозчинника в складі спрею практично не впливає на прозорість отриманого спрею. Вплив кількості розчинника на прозорість лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей» зображено на рис. 4.25.

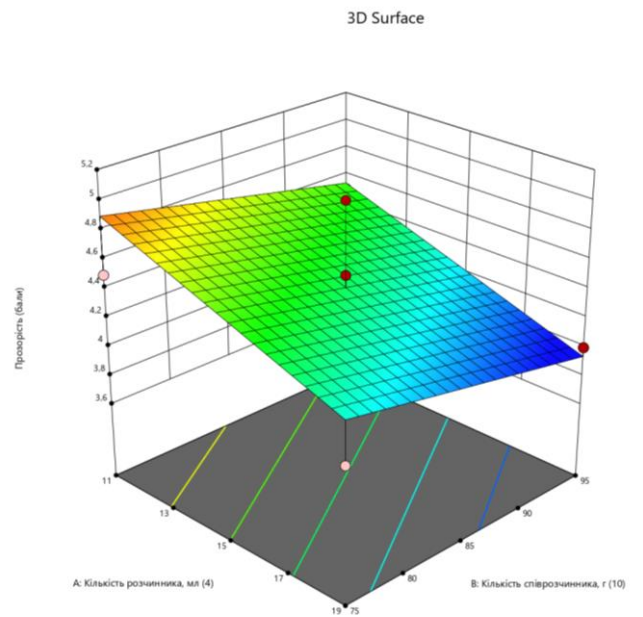
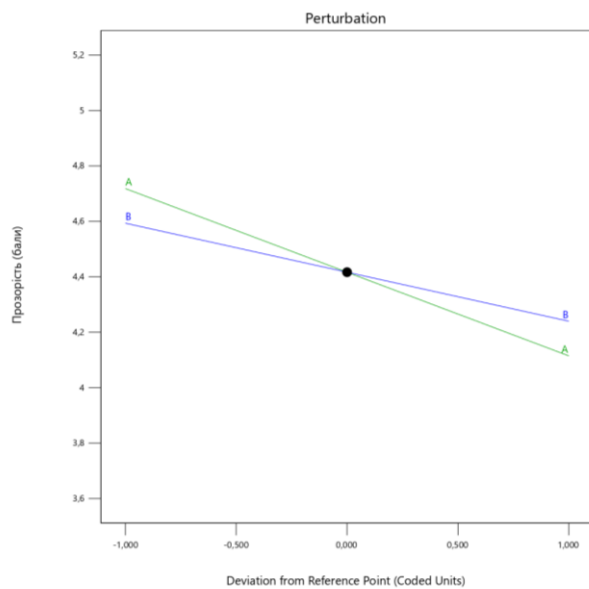


Рис. 4.25 Вплив кількості розчинника та співрозчинника на прозорість спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Взаємозв'язок між вивченими факторами та смаком розчину спрею описується наступним рівнянням регресії:

$$y_3 = 4,50 - 0,16x_1 + 0,05x_2 - 0,25x_1x_2 - 0,81x_1^2 - 0,31x_2^2$$

Аналіз рівняння регресії та первинних результатів показує, що середнє значення смаку спрею оцінено на 4,5 балів. Знижуються смакові якості спрею при виченні фактора x_1 на нижньому рівні та верхній «зірковій» точці (рис. 4.26).

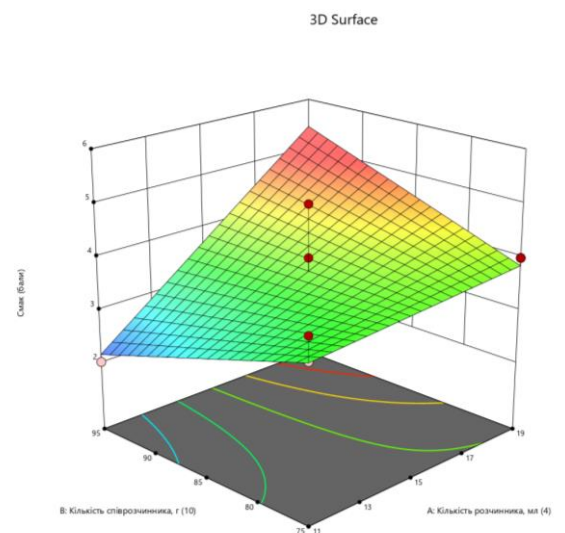
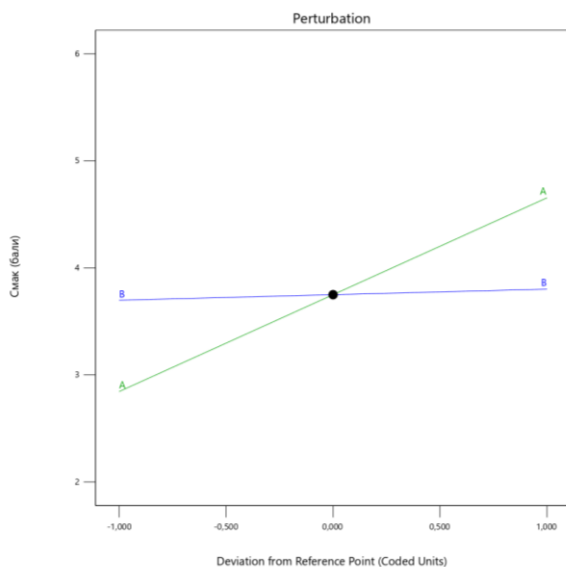


Рис. 4.26 Вплив кількості розчинника та співрозчинника на смак спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Взаємозв'язок між вивченими факторами та однорідністю маси розфасованого розчину спрею описується наступним рівнянням регресії:

$$y_4 = 20,01 - 2,53x_1 + 2,71x_2 + 0,385x_1x_2 + 1,72x_1^2 + 1,62x_2^2$$

Аналіз рівняння регресії показав, що із збільшенням кількості розчинника однорідність об'єму розчину спрею покращується (функція мінімізується), а кількості співрозчинника - погіршується (рис. 4.27).

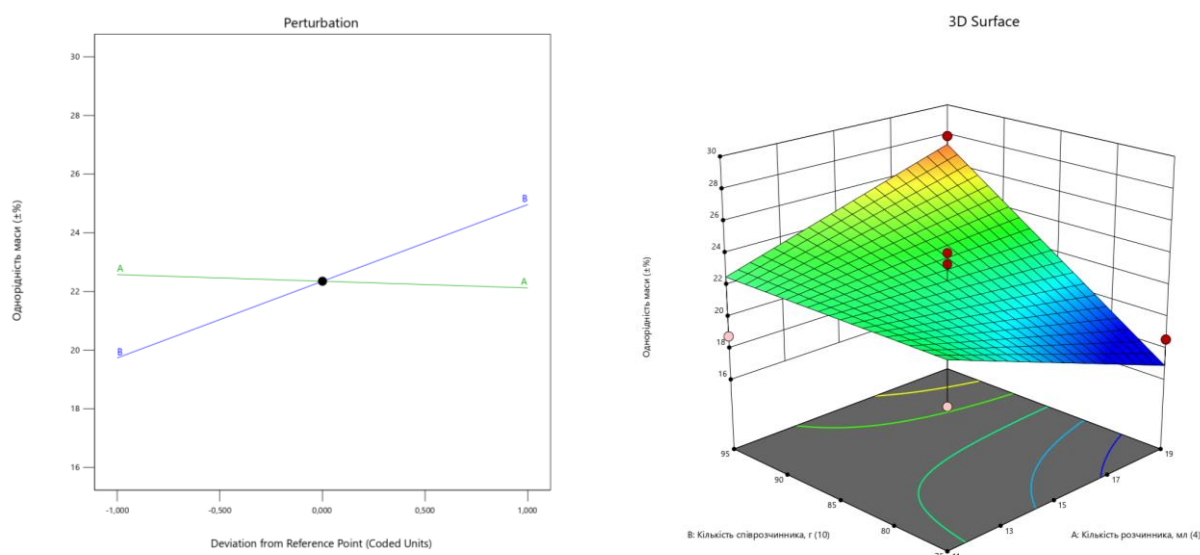


Рис. 4.27 Вплив кількості розчинника та співрозчинника на однорідність маси спрею «Хлорофіліпт-спрей»

З врахуваннях всіх вивчених показників, запропоновано оптимальний склад спрею «Хлорофіліпт-спрей» (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

Склад спрею «Хлорофіліпт-спрей» на 100 мл

Найменування компонентів	Функціональне призначення	Кількість
Екстракт евкаліпту кулястого	Активний фармацевтичний інгредієнт	200 мг
Етиловий спирт 96%	Розчинник	14,00 мл
Пропіленгліколь	Співрозчинник розчинників	86 мл

При проведенні досліджень було встановлено, що антибактеріальні властивості «Хлорофіліпт-спрей» зменшувались при додаванні у склад ПАР. Результати досліджень представлено у табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Антибактеріальна активність «Хлорофіліпт-спрей» при додаванні ПАР (згідно із планом експериментів, описаним у попередньому підрозділі)

Досліджуваний зразок	Концентрація <i>Eucalyptus globulus</i> , мкг/мл			
	50	25	12,5	6,25
«Хлорофіліпт-спрей»	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст присутній	Ріст присутній
«Хлорофіліпт-спрей» (у складі твін-80 1%)	Ріст відсутній	Ріст присутній	Ріст присутній	Ріст присутній

Крім того, при підборі ДР та розробці складу спрею важливим моментом при його застосуванні є отримання дрібнодисперсної системи при розпиленні спрею. Обрані ДР у відповідній кількості при розпиленні за допомогою спреї-насадки дозою 0,1 мл підтверджують отримання дрібнодисперсного складу. Факел розпилення представлено на рис. 4.28.

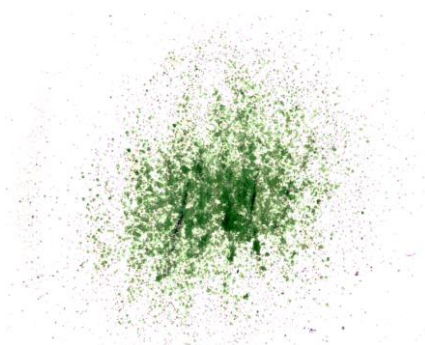


Рис. 4.28 Фотографія розпилення спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Технологія спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Сертифікований густий екстракт евкаліпту кулястого листя густий передають для приготування спреї «Хлорофіліпт-спрей». Для цього екстракт розчиняють у етиловому спирті, перемішують. Після чого до приготованого розчину додають пропіленгліколь, знову перемішують та фільтрують. Після

фільтрації віддають на фасування. Даний процес відображено у блок-схемі, поданій у додатку М).

Серія спрею «Хлорофіліпт-спрей» зберігається на складі готової продукції до одержання позитивного висновку його контролю за показниками МКЯ.

4.2 Розробка технології густого екстракту моху ісландського слані та комбінованого засобу на основі екстрактів моху та евкалипту

4.2.1 Розробка технології густого екстракту моху ісландського слані

Вибір екстрагента. В якості екстрагентів досліджували розчини спирту етилового в концентрації від 10 до 96 % (екстрагування проводили при кімнатній температурі), а також воду питну та воду очищену (екстрагування проводили в діапазоні температур: 45-65 °С). Критерієм оцінки обрали вихід суми полісахаридів, які входять до складу рослини (як БАР, які відповідають за фармакологічну дію препарату при лікуванні кашлю). Залежність ступеня вилучення полісахаридів із ЛРС від концентрації спирту етилового зображено на рис. 4.29.

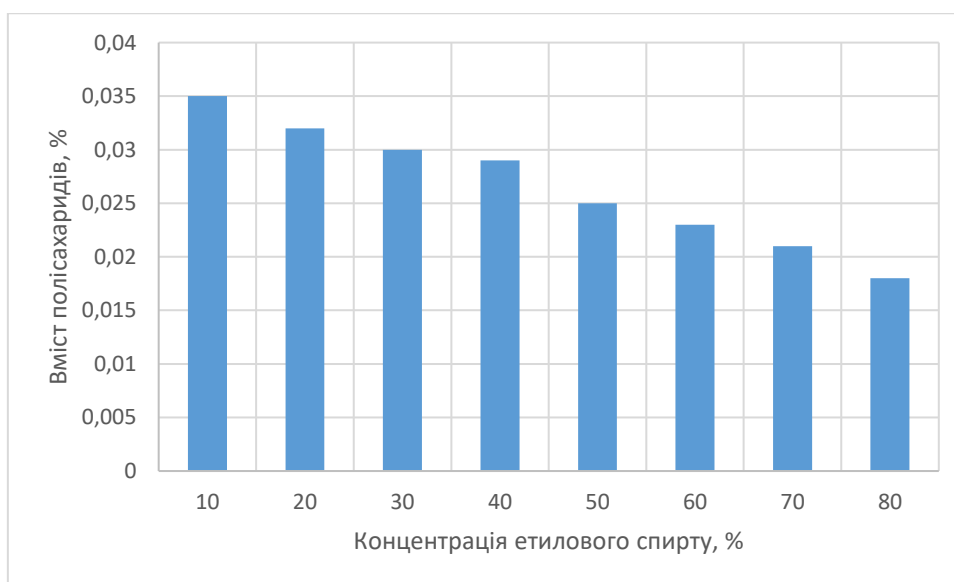


Рис. 4.29 Залежність вмісту суми полісахаридів у витяжках моху ісландського слані від концентрації спирту етилового

На основі даних рис. 4.29 встановлено, що оптимальним значенням концентрації розчину етилового спирту для екстрагування полісахаридів з моху ісландського слані є 10 % .

Як показує рис. 4.29, при зниженні концентрації водних розчинів спирту етилового суттєво покращується вилучення полісахаридів із моху ісландського слані. Максимальний вміст суми полісахаридів (0,035 %) отримали при використанні 10 %-го розчину спирту етилового.

Залежність вмісту екстрактивних речовин (сухого залишку) у витяжках від концентрації етилового спирту зображено на рис. 4.30.

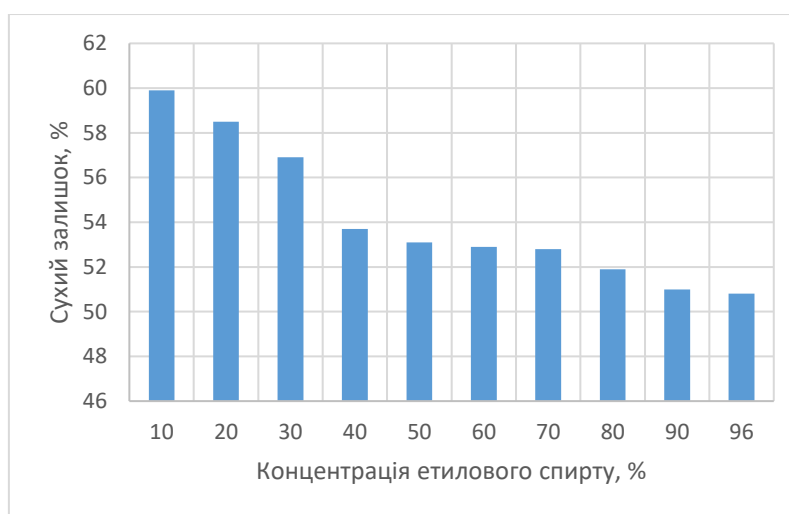


Рис. 4.30 Діаграма залежності вмісту екстрактивних речовин у витяжках моху ісландського слані від концентрації спирту етилового

Як бачимо із рис. 4.30, при зменшенні концентрації етилового спирту, сухий залишок у екстракті моху ісландського слані збільшується. Оскільки вміст полісахаридів збільшувався при зменшенні концентрації етилового спирту, доцільно було дослідити у якості екстрагентів неорганічні розчинники, такі як воду питну та воду очищену.

В загальному, значення сухого залишку та кількісного вмісту полісахаридів в спиртово-водних та водних екстрактах моху ісландського слані представлені у табл. 4.11.

Таблиця 4.11

Одержані результати визначення сухого залишку та кількісного вмісту полісахаридів в спиртово-водних та водних екстрактах моху ісландського

Екстрагент	Кількісний вміст полісахаридів, %	Сухий залишок, %
Вода питна	0,060±0,008	70,1
Вода очищена	0,053±0,006	62,2
Спирт етиловий 10 %	0,044±0,006	59,3
Спирт етиловий 20 %	0,036±0,004	59,2
Спирт етиловий 30 %	0,029±0,005	59,1
Спирт етиловий 40 %	0,019±0,004	58,9
Спирт етиловий 70 %	0,018±0,005	58,5

Аналізуючи дані, представлені у табл. 4.11, найефективнішим екстрагентом встановлено воду питну.

На рис. 4.31 зображено залежність вмісту полісахаридів у екстрактах моху ісландського слані від виду та концентрації розчинника.

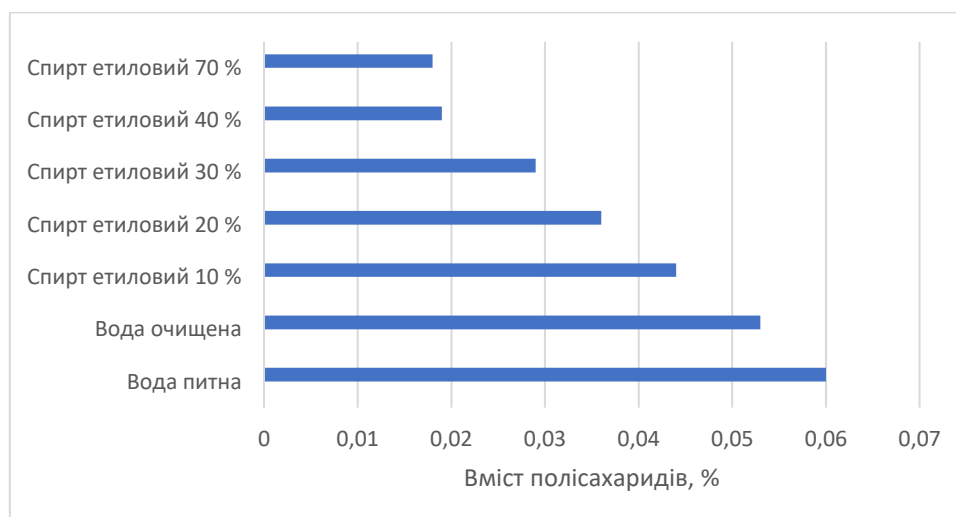


Рис. 4.31 Залежність вмісту полісахаридів у екстрактах моху ісландського слані від концентрації розчинника

Зважаючи на одержані дані (рис. 4.29-4.31) та таблицю 4.12, для екстрагування моху ісландського слані було обрано воду питну.

Вибір оптимального методу та тривалості екстрагування. В рамках експерименту досліджували три методи екстрагування, а саме мацерацію, ремацерації та ремацерацію з перемішуванням (рис. 4.32). Найефективнішим виявився метод ремацерації з перемішуванням, тобто метод із додаванням екстрагенту порційно при постійному перемішуванні. Паралельно із методом ремацерації з перемішування використовувався метод ремацерації, тобто із порційним завантаженням екстрагенту, проте без перемішування та метод мацерації, тобто простого відстоювання ЛРС з екстрагентом.

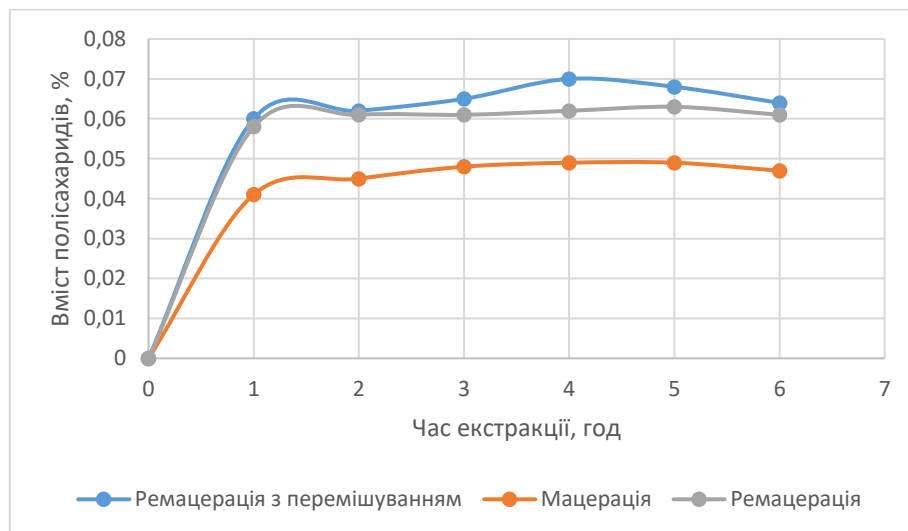


Рис. 4.32 Вибір оптимального методу та часу екстрагування БАР із моху ісландського слані

Згідно одержаних результатів рис. 4.32, можна стверджувати, що оптимальним для одержання екстракту моху ісландського є метод дробної мацерації із перемішуванням при тривалості екстрагування 4 год.

Обґрунтування ступеня подрібнення ЛРС. Одним з важливих чинників, від яких залежить ефективність процесу екстрагування, є ступінь подрібнення ЛРС. Проведено дослідження впливу ступеня подрібнення моху ісландського слані на процес вилучення полісахаридів.

Подрібнення ЛРС здійснювали машиною для подрібнення рослинної сировини, просіювали через сита з отворами розміром 0,1, 0,2, 0,4 та 0,5 мм.

Динаміку процесу вилучення полісахаридів залежно від розміру фракції ЛРС приведено на рис. 4.33.

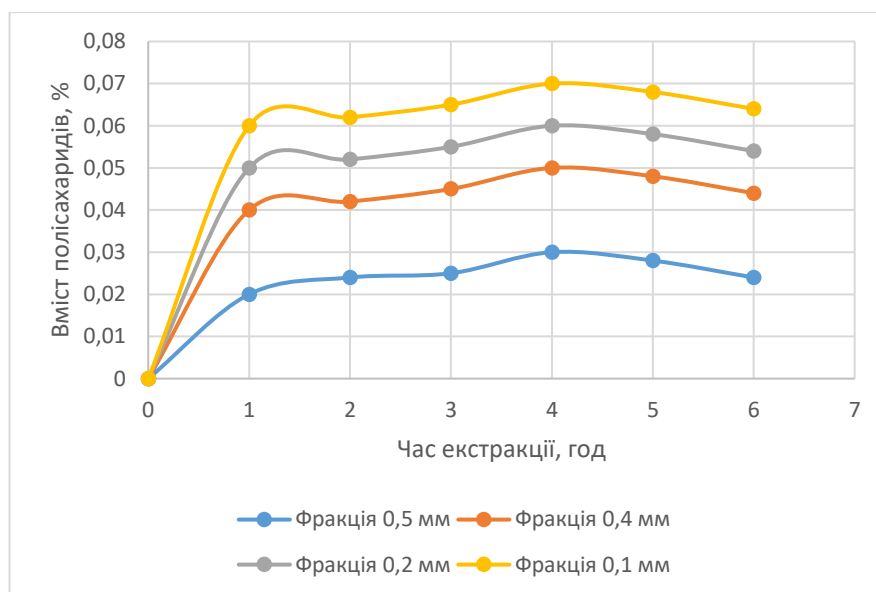


Рис. 4.33 Вплив розміру фракції ЛРС на ефективність екстракції полісахаридів у екстракті моху ісландського слані рідкому

Результати, наведені на рис. 4.33, свідчать, що поступове збільшення вмісту полісахаридів у рідкому екстракті моху ісландського слані спостерігається до 4-ої год, після зазначеного часу цей показник практично не змінювався. При цьому найбільший вміст полісахаридів досягався при використанні рослинної сировини, подрібненої до частинок розміром від 0,1 мм до 0,4 мм, нижчі результати були отримані з використанням рослинної сировини, подрібненої до частинок розміром 0,5 мм.

Визначення технологічних властивосте сировини. Результати дослідження технологічних властивостей подрібненої слані моху ісландського з розміром часток від 0,1 мм до 0,4 мм наведено в табл. 4.12.

На основі експериментально досліджених технологічних властивостей моху ісландського слані, подрібненої до розміру 0,1-0,4 мм, нами було визначено оптимальне співвідношення сировина:екстрагент та кількості екстрагенту, що залишається в сировині після зливання екстракту.

Технологічні властивості подрібненої слані моху ісландського

№ п/п	Фармако-технологічний показник	Показник
1	Здрібненість ЛРС (оптимальний фракційний склад), мм	0,1-0,4
2	Вологість (втрата в масі при висушуванні), %	9,8±0,5
3	Насипна густина ($\rho_{\text{насипна}}$):	
	- до усадки, г/мл	0,35±0,06
	- після усадки, г/мл	0,48±0,05
	- здатність до усадки, %	18,0±0,05
4	Коефіцієнт набухання ЛРС у воді питній (K_n), мл/г	20,0
5	Коефіцієнт поглинання ЛРС у воді питній (K_p), мл/г	10,0

Обґрунтування співвідношення ЛРС:екстрагент. Розрахунок об'єму, який займає 1,0 кг моху ісландського слані подрібненої розраховували за формулою, описаною у розділі 4.1.1 для екстракту евкаліпту кулястого [173]:

$$V = 1\,000 : 0,48 = 2\,083 \text{ мл (2,08 л)}.$$

Мінімальна висота дзеркала над шаром сировини - 5 см. За умови використання екстрактора об'ємом 2,0 дм³ висотою 240 мм та діаметром 90 мм, об'єм екстрагенту ($V_{\text{екстр.}}$) над сировиною становитиме :

$$V_{\text{екстр. дз}} = 3,14 * 90^2/4 * 50 = 320 \text{ мл (0,32 л)}.$$

Загальний об'єм екстрагенту становитиме:

$$V_{\text{екстр.}} = 1\,000 * 20,0 + 320 \text{ мл} = 20\,320 \text{ мл (20,32 л)}.$$

Отже, за умови використання екстрактора об'ємом 2,0 дм³ висотою 240 мм та діаметром 90 мм, при завантаженні 1,0 кг моху ісландського слані подрібненого, загальний об'єм екстрагенту складав 20,32 л. Оптимальне співвідношення сировина:екстрагент становило 1:20.

Вибір температури екстрагування. Для визначення температури, при якій досягається максимаксимальне вилучення полісахаридів, було досліджено три температурні діапазони - 45-50 °С, 50-55 °С та 60-65 °С з використанням

екстрагентів води питної та води очищеної. Результати даного експерименту наведено табл. 4.13.

Таблиця 4.13

Результати визначення сухого залишку та кількісного вмісту полісахаридів при екстракції слані моху водою питною та водою очищеною

Екстрагент	Температура, °С	Кількісний вміст полісахаридів, %	Сухий залишок, %
Вода питна	45-50	0,055±0,006	60±1,2
Вода очищена	45-50	0,041±0,005	58±0,8
Вода питна	50-55	0,058±0,008	61,5±1,3
Вода очищена	50-55	0,045±0,006	59,5±0,9
Вода питна	60-65	Утворились драглі	Утворились драглі
Вода очищена	60-65		

Таким чином, на основі отриманих результатів у табл. 4.13, для одержання екстракту моху ісландського слані було вирішено як екстрагент використовувати воду питну, а оптимальними умовами екстрагування - температурний режим 50-55 °С.

Обґрунтування часу екстракції. Тривалість екстрагування є важливим чинником, адже повне виснаження ЛРС призводить до ефективного переходу БАР із сировини у екстракт. Для вивчення впливу часу екстрагування на густину отриманого екстракту при використанні *Cetraria islandica*, було вивчено вплив різних фракцій ЛРС на густину. Відбір зразків екстракту евкаліпту кулястого листя рідкого проводився через кожну 1 год (рис. 4.34).

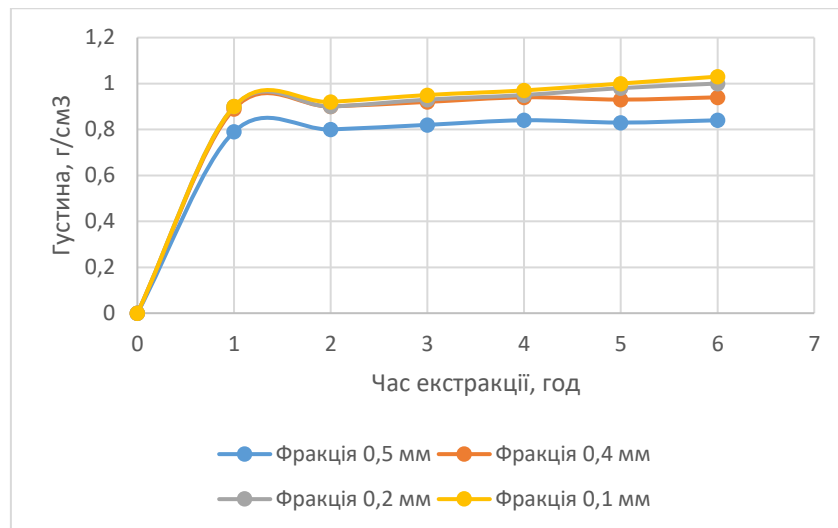


Рис. 4.34 Вплив часу екстракції та розміру фракції ЛРС (0,1, 0,2, 0,4 та 0,5 мм) на густину екстракту моху ісландського слані

Аналізуючи дані рис. 4.34, бачимо, що поступове збільшення густини рідкого екстракту листя моху ісландського спостерігалось до 4 год, після зазначеного часу показники густини не змінювались. Для подальшої розробки були обрані фракції від 0,1 до 0,4 мм, які забезпечували кращі показники.

Отже, як показали результати дослідження впливу природи екстрагенту та умов екстрагування на ступінь вилучення БАР та полісахаридів з моху ісландського слані, найвищі показники вмісту полісахаридів отримали при використанні в якості екстрагенту води питної та температури 50-55 °С при тривалості екстрагування 4 год. Тому, з метою розробки лікарського засобу, який пропонується застосовувати для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів, для кращого вилучення екстрактивних речовин та суми полісахаридів рекомендується проводити екстрагування саме при таких умовах.

Вибір температури упарювання екстракту. Наступним етапом нашого дослідження було отримання густого екстракту моху ісландського слані .

Для вивчення впливу температури упарювання на вміст суми полісахаридів у екстракті, нами було проведено дослідження процесу упарювання рідкого екстракту при різних значеннях температури. Експеримент проводили при розрідженні (-0,8) кг/см². Результати експерименту представлені на рис. 4.35.

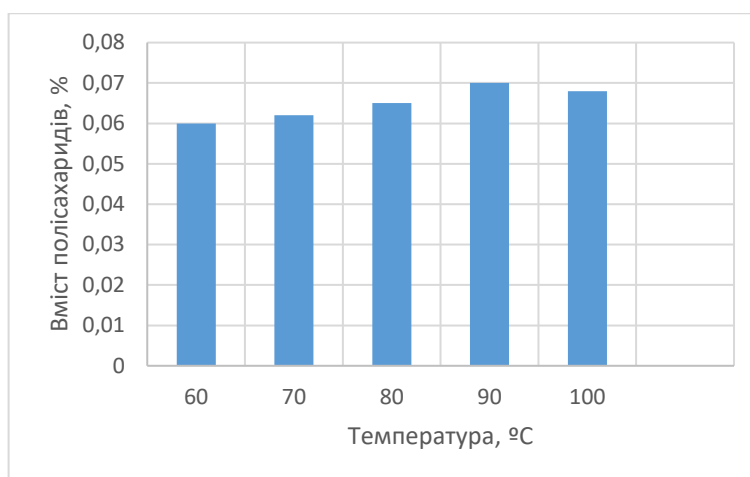


Рис. 4.35 Вплив температури упарювання на вміст полісахаридів в екстракті моху ісландського слані

Як видно з рис. 3.35, оптимальною температурою упарювання рідкого екстракту моху ісландського є температура 85-95 °C; при вищій температурі спостерігалось зниження вмісту суми полісахаридів в екстракті. Результати дослідження впливу температури та глибини вакууму на час упарювання екстракту моху ісландського слані рідкого приведено у табл. 4.14.

Таблиця 4.14

Вплив температури та глибини вакууму на час упарювання екстракту моху ісландського слані

Температура, °C	Вакуум, кгс/см ²	Час упарювання, хв
85	- 0,6	95
		93
		94
85	- 0,8	93
		92
		91
95	- 0,6	88
		87
		86
95	- 0,8	87
		86
		85

Аналіз даних табл. 4.14 свідчить, що при температурі 95 °C та розрідженні вакууму (- 0,8) кгс/см², час упарювання був мінімальним і складав 85 хв.

Опис технологічного процесу. Опис технологічного процесу наступний: слань моху подрібнену заливають водою питною у співвідношенні ЛРС: екстрагент 1:20, екстрагують при механічному перемішуванні та температурі 50-55 °С протягом чотирьох годин. Отримують екстракт, ЛРС повторно екстрагують протягом чотирьох годин. Після цього первинний та вторинний рідкі екстракти зливають, фільтрують за допомогою мішечного фільтра з отворами 10 мкм та передають на упарювання та доупарювання. Блок-схема приготування густого екстракту моху ісландського слані наведена на у додатку Н.

Отриманий екстракт моху ісландського слані густий, який відповідає МКЯ, зберігається у герметичному пакуванні та використовується для виробництва спрею «Фітолор-спрей».

4.2.2 Обґрунтування складу готового спрею «Фітолор-спрей»

Нами представлено технологію спрею «Фітолор-спрей». Діючими речовинами обрано густі екстракти моху ісландського слані та евкаліпту кулястого листя (табл. 4.15).

Таблиця 4.15

Допоміжні речовини, які вивчалися при розробці складу і технології спрею «Фітолор-спрей»

Фактори	Рівні факторів
А - Розчинник	a ₁ - Етиловий спирт a ₂ - Макрогол 400
В - Структуроутворювач, співрозчинник (модифікатор в'язкості)	b ₁ - Пропіленгліколь b ₂ - Мальтитол
С - ПАР	c ₁ - Твін-80 c ₂ - Кремофор L
Д - Мукоадгезивні речовини	d ₁ - Ксантанова камедь d ₂ - Трагакант

Поєднання різних рівнів у кожній серії «Фітолор-спрей» підбирали за допомогою одного з планів дисперсійного аналізу, а саме чотирьохфакторного плану дисперсійного аналізу на двох рівнях з повторними дослідженнями.

Вивчення впливу якісних факторів на фармако-технологічні властивості спрею «Фітолор-спрей» на основі густих екстрактів евкаліпту та моху ісландського

За допомогою статистичної обробки визначали, які з факторів є значущими, тобто наскільки від їх наявності залежить показник, що вивчається. Чотирьохфакторний експеримент дисперсійного аналізу на основі двох рівнів з повторними дослідженнями та результати дослідження препарату «Фітолор-спрей» наведені у табл. 4.16.

Таблиця 4.16

Чотирьохфакторний експеримент дисперсійного аналізу на основі двох рівнів з повторними дослідженнями та результати дослідження спрею «Фітолор-спрей»

Номер досліджу	A	B	C	D	y_1	y_1'	y_2	y_2'	y_3	y_3'	y_4	y_4'
1	a_1	b_1	c_1	d_1	1,02	1,15	2,71	2,82	4,5	5	1,04	1,15
2	a_1	b_2	c_1	d_1	1,22	1,34	2,32	2,43	4,5	5	1,05	1,16
3	a_1	b_1	c_2	d_1	1,31	1,41	1,15	1,26	4,5	5	1,08	1,19
4	a_1	b_2	c_2	d_1	0,98	1,08	1,95	2,06	4	4,5	0,97	1,08
5	a_1	b_1	c_1	d_2	1,18	1,23	2,51	2,62	3,5	4	0,98	1,09
6	a_1	b_2	c_1	d_2	1,32	1,44	1,62	1,73	3,5	4	1,08	1,19
7	a_1	b_1	c_2	d_2	1,12	1,25	2,21	2,32	4	4,5	0,98	1,09
8	a_1	b_2	c_2	d_2	0,92	1,11	2,41	2,52	4,5	5	1,15	1,26
9	a_2	b_1	c_1	d_1	0,54	1,62	1,15	1,26	2	2,5	1,19	1,3
10	a_2	b_1	c_2	d_1	0,28	1,35	1,52	1,63	3,5	4	1,19	1,3
11	a_2	b_1	c_1	d_2	0,45	1,54	1,35	1,46	1,5	2	1,18	1,29
12	a_2	b_1	c_2	d_2	0,24	1,31	2,11	2,22	4,5	5	1,02	1,13
13	a_2	b_2	c_1	d_1	0,48	1,56	1,98	2,09	2,5	3	1,11	1,22
14	a_2	b_2	c_2	d_1	0,25	1,36	1,79	1,9	1	1,5	1,08	1,19
15	a_2	b_2	c_1	d_2	0,48	1,12	2,05	2,16	1,5	2	0,98	1,09
16	a_2	b_2	c_2	d_2	0,68	1,29	1,18	1,29	3	3,5	0,99	1,1

Примітки:
 y_1 і y_1' - дозування першої і другої серії дослідів відповідно, мг/мл;
 y_2 і y_2' - кількісне визначення полісахаридів першої і другої серії дослідів відповідно, мг;
 y_3 і y_3' - смак першої і другої серії дослідів відповідно, бали;
 y_4 і y_4' - густина першої і другої серії дослідів відповідно, г/см³

Результати дисперсійного аналізу експериментальних даних наведено у додатку О.

Вплив фактору А, а саме системи розчинників, на точність дозування спрею, відображено на рис. 4.36.

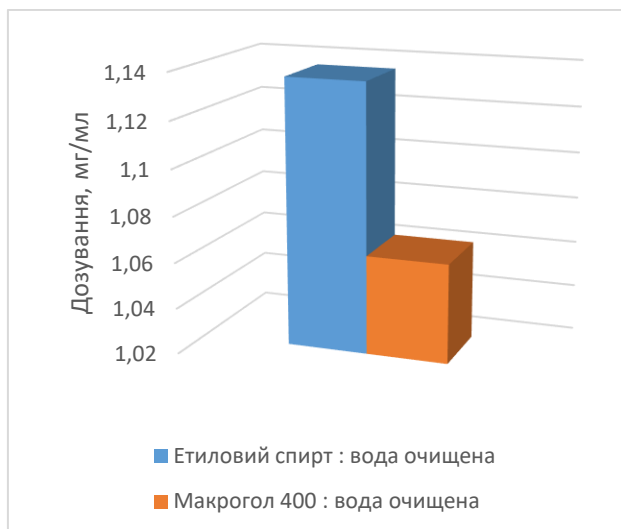


Рис. 4.36 Вплив системи розчинників на дозування спрею «Фітолор-спрей»

Як бачимо із рис. 4.36, найкраще на дозування впливає система розчинників етиловий спирт:вода очищена (середнє значення 1,13 мг/мл), порівняно з макроголом 400, середнє значення для якого 1,06 мг/мл.

Подібним чином представлено дані і для трьох інших факторів цього відгуку. Результати зображено на рисунках 4.37 - 4.39.

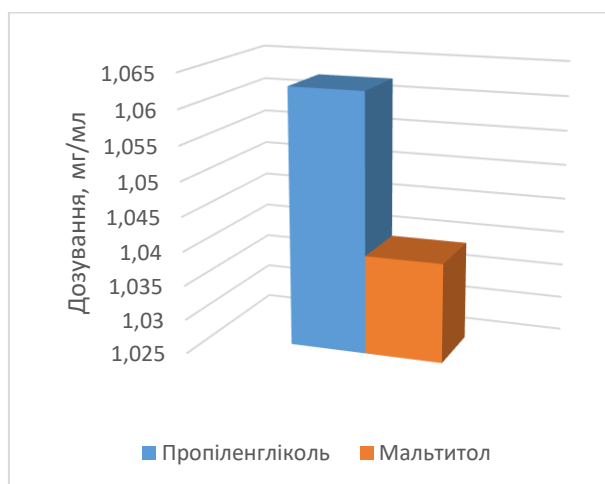


Рис. 4.37. Вплив структуроутворювачів на дозування спрею «Фітолор-спрей»

Як видно із рис. 4.37, дозування спрею було більш стабільним (середнє значення 1,04 мг/мл) при використанні мальтитолу.

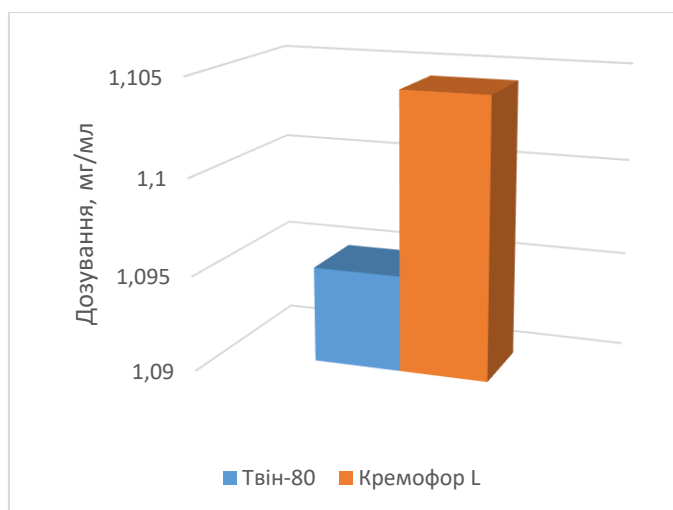


Рис. 4.38 Вплив ПАР на дозування спрею «Фітолор-спрей»

Як видно із результатів на рис. 4.38, середнє значення для кремофору L рівне 1,104 мг/мл, в той час, як для твіну-80 показник середнього значення дорівнює 1,09 мг/мл.

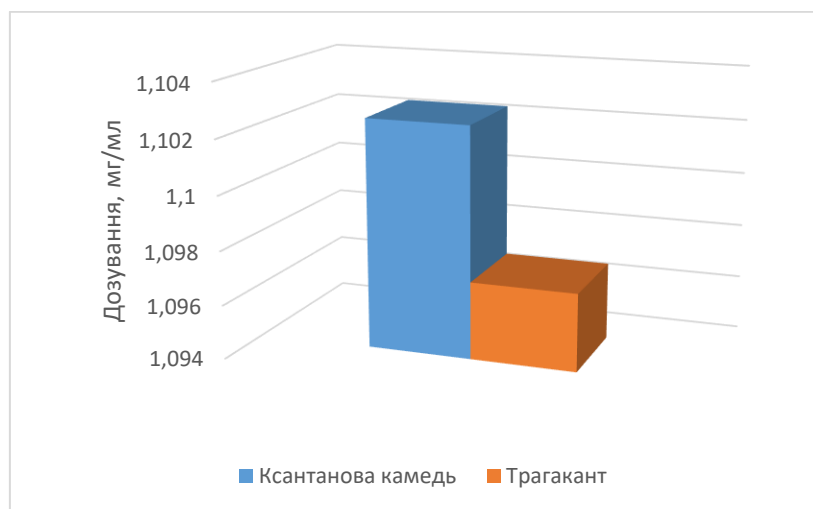


Рис. 4.39 Вплив мукоадгезивних речовин на дозування спрею «Фітолор-спрей»

Як бачимо із рис. 4.39, введення у склад препарату «Фітолор-спрей» мукоадгезивних речовин впливало на значення дозування готового спрею наступним чином: ксантанова камедь мала значення 1,102 мг/мл, трагакант - 1,096 мг/мл.

Дослідження впливу ДР на вміст полісахаридів у готовому препараті показали, що найкращі результати отримали при використанні спирту (2,17 мг), гірші показники були при використанні макроголу 400 (1,69 мг) (рис. 4.40).

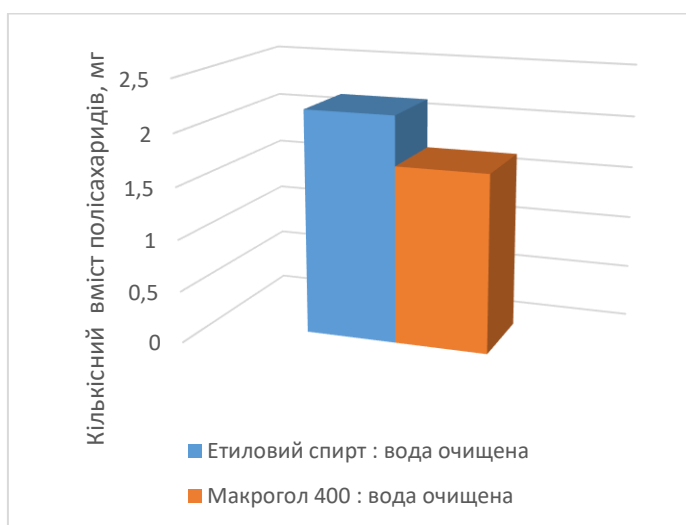


Рис. 4.40 Вплив системи розчинників на кількісний вміст полісахаридів у спреї «Фітолор-спрей»

Вплив інших факторів на вміст полісахаридів у готовому спреї зображено на рис. 4.41 - 4.43.

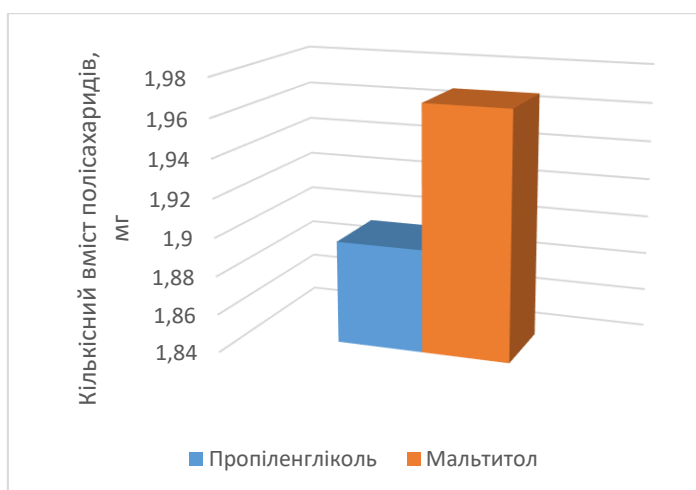


Рис. 4.41 Вплив співрозчинників на кількісний вміст полісахаридів у спреї «Фітолор-спрей»

Аналіз рис. 4.41 показав, що вищий вміст полісахаридів був у спреї із з пропіленгліколем (1,96 мг), вміст полісахаридів у спреї із мальтитолом також був

високим - 1,89 мг. Враховуючи, що мальтитол - це цукрозамінник, використання його у складі має бути обгрунтованим для препарату, який стандартизується за вмістом полісахаридів.

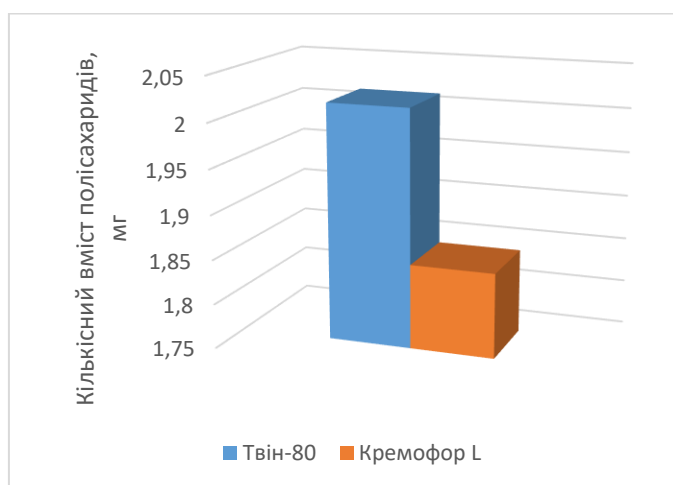


Рис. 4.42 Вплив ПАР на кількісний вміст полісахаридів у спреї «Фітолор-спрей»

Як бачимо із рис. 4.42, твін-80 кращою мірою впливав на збільшення вмісту полісахаридів у спреї «Фітолор-спрей»: середнє значення 1,9 мг, у той час, коли для кремофору середнє значення становило 1,8 мг.

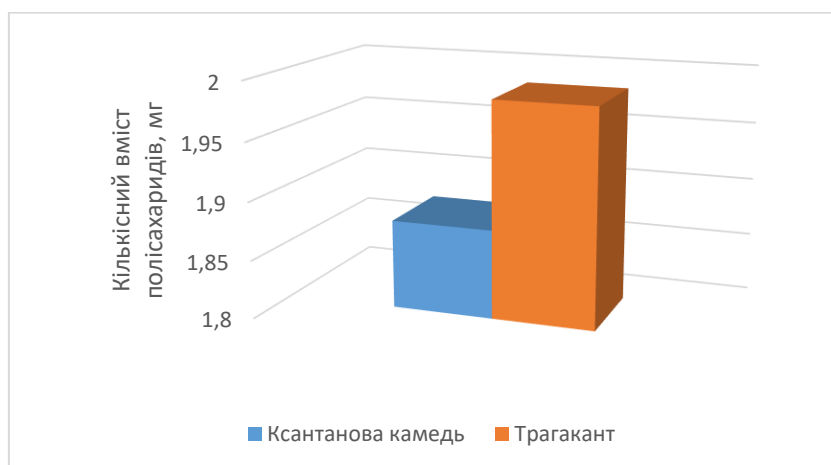


Рис. 4.43 Вплив мукоадгезивних речовин на кількісний вміст полісахаридів у спреї «Фітолор-спрей»

Аналіз рис. 4.43 показав, що вищий кількісний вміст полісахаридів знайдено у складі спрею «Фітолор-спрей» із трагакантом (1,97 мг). Трагакант на 40 %

складається із водорозчинних полісахаридів, що також було враховано при розробці спрею «Фітолор-спрей». З метою раціонального підходу щодо визначення полісахаридів до складу спрею «Фітолор-спрей» запропоновано ввести ксантанову камедь, а концентрація її не повинна перевищувати 0,05 %.

На смакові властивості краще впливала система розчинників з вмістом етилового спирту (4,38 балів), в той час середнє значення для макроголу 400 становило 2,69 балів (рис. 4.44).

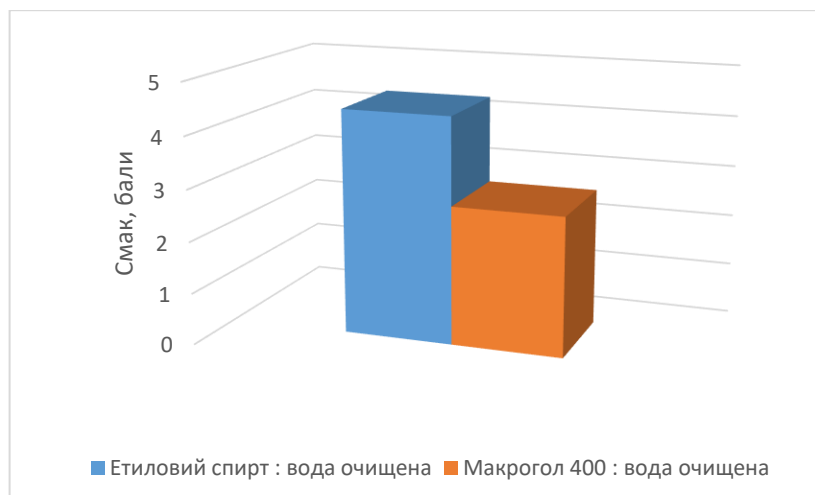


Рис. 4.44 Вплив системи розчинників на смакові властивості препарату «Фітолор-спрей»

Серед ПАР на смакові властивості краще впливав кремофор L (3,88 балів), ніж твін-80 (3,00 балів) (рис. 4.45).

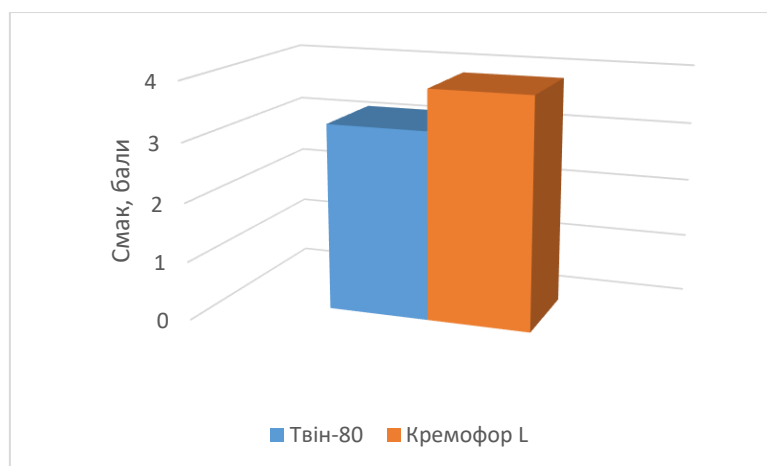


Рис. 4.45 Вплив ПАР на смакові властивості препарату «Фітолор-спрей»

Аналізуючи дані, зображені на рис. 4.44-4.45 можна зробити висновок, що смак розчину покращувався при додаванні спирту етилового та кремофору L.

Дисперсійний аналіз показав, що густина спрею також змінювалась від поєднання різних компонентів. Суттєво впливала на даний показник ксантанова камедь (1,14 г/см³), середнє значення для трагаканту було нижчим - 1,1 г/см³; твін-80, пропіленгліколь та макрогол 400 підвищували значення густини (1,13 г/см³, 1,14 г/см³ та 1,15 г/см³ відповідно).

Обґрунтування вибору раціонального складу препарату «Фітолор-спрей»

На завершальному етапі досліджень необхідно встановити оптимальне співвідношення між ДР. Фактори та їх рівні представлені у табл. 4.17.

Таблиця 4.17

Фактори та рівні, що вивчалися при розробці раціонального складу спрею «Фітолор-спрей»

Фактор	Інтервал варіювання	Рівень фактора				
		Нижня зіркова точка «-α»	Нижній рівень «-»	Основний рівень «0»	Верхній рівень «+»	Верхня зіркова точка «+α»
x ₁ - кількість системи розчинників на 100 мл, мл	4	13	17	21	25	29
x ₂ - кількість пропіленгліколю на 100 мл, г	10	50	60	70	80	90
x ₃ - кількість твіну-80 на 100 мл, г	0,12	2	2,12	2,24	2,36	2,48
x ₄ - кількість ксантанової камеді на 100 мл, г	0,1	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7

Матриця планування експерименту і результати досліджень препарату «Фітолор-спрей» наведено в табл. 4.18.

Таблиця 4.18

Систематичний композиційний ротатбельний план другого порядку і
результати досліджень спрею «Фітолор-спрей»

Номер досліджу	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄
1	+	+	+	+	1,07	1,15	3	0,88
2	-	+	+	+	1,05	1,17	3	0,97
3	+	-	+	+	1,08	2,01	4	1,16
4	-	-	+	+	1,04	1,18	3	1,18
5	+	+	-	+	1,01	1,81	3	1,09
6	-	+	-	+	1,07	1,51	4	0,89
7	+	-	-	+	1,16	2,43	3	1,15
8	-	-	-	+	1,01	0,71	3	1,03
9	+	+	+	-	1,04	1,51	3	0,84
10	-	+	+	-	1,12	1,81	4	0,94
11	+	-	+	-	1,15	2,6	3	1,05
12	-	-	+	-	1,22	0,81	3	1,07
13	+	+	-	-	1,23	1,52	3	1,12
14	-	+	-	-	1,18	2,16	4	1,14
15	+	-	-	-	1,14	2,76	3	1,15
16	-	-	-	-	1,18	1,18	4	1,17
17	+α	0	0	0	1,16	1,15	3	1,18
18	-α	0	0	0	1,01	0,95	3	1,19
19	0	+α	0	0	1,18	0,96	5	1,18
20	0	-α	0	0	1,14	1,05	5	1,21
21	0	0	+α	0	1,05	1,18	3	1,22
22	0	0	-α	0	1,15	1,81	3	1,21
23	0	0	0	+α	1,02	1,95	4	1,13
24	0	0	0	-α	1,04	2,15	5	1,03
25	0	0	0	0	1,12	2,46	5	1,09
26	0	0	0	0	1,02	2,84	5	1,12
27	0	0	0	0	1,17	2,91	4	1,22
28	0	0	0	0	1,01	2,52	5	1,02
29	0	0	0	0	1,03	2,84	4	1,10
30	0	0	0	0	1,16	2,91	4	1,20
31	0	0	0	0	1,04	2,52	5	1,09

Примітки до табл. 4.18:

y_1 - дозування, мг/мл;

y_2 - кількісне визначення полісахаридів, мг;

y_3 - смак, бали;

y_4 - густина, г/см³.

При вивченні 4-х факторів на 5-ти рівнях модель другого порядку має вигляд:

$$y = b_0x_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_4 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{14}x_1x_4 + b_{23}x_2x_3 + b_{24}x_2x_4 + b_{34}x_3x_4 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{44}x_4^2$$

$$y_1 = 1,079 + 0,13x_1 - 0,005x_2 - 0,017x_3 - 0,034x_4 - 0,009x_1x_2 - 0,012x_1x_3 + 0,018x_1x_4 - 0,0136x_2x_3 - 0,002x_2x_4 + 0,012x_3x_4 - +0,004x_1^2 + 0,023x_2^2 + 0,009x_3^2 - 0,009x_4^2$$

Аналіз рівняння регресії показав статистичну значимість фактора x_1 та парної взаємодії факторів x_1x_2 . При збільшенні кількості розчинника дозування спрею покращувалось (рис. 4.46).

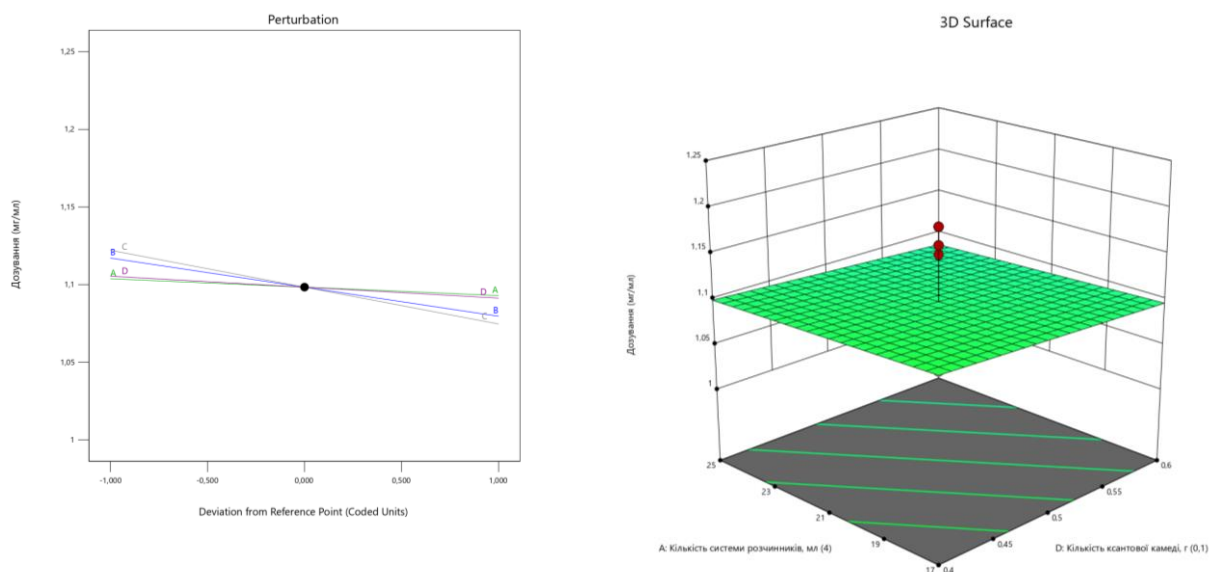


Рис. 4.46 Вплив кількості системи розчинників та ксантанової камеді на дозування спрею «Фітолор-спрей»

Взаємозв'язок між вивченими факторами та кількістю полісахаридів у розчині спрею описується наступним рівнянням регресії:

$$y_2 = 2,716 + 0,236x_1 - 0,051x_2 - 0,129x_3 - 0,116x_4 - 0,411x_1x_2 - 0,041x_1x_3 + 0,025x_1x_4 - 0,095x_2x_3 - 0,021x_2x_4 - 0,004x_3x_4 - 0,375x_1^2 - 0,386x_2^2 - 0,264x_3^2 - 0,125x_4^2$$

Аналіз рівняння регресії показав статистичну значимість фактора x_1 , та парної взаємодії факторів x_1x_4 . При збільшенні кількості розчинника кількість полісахаридів у спреї збільшувалась (рис. 4.47).

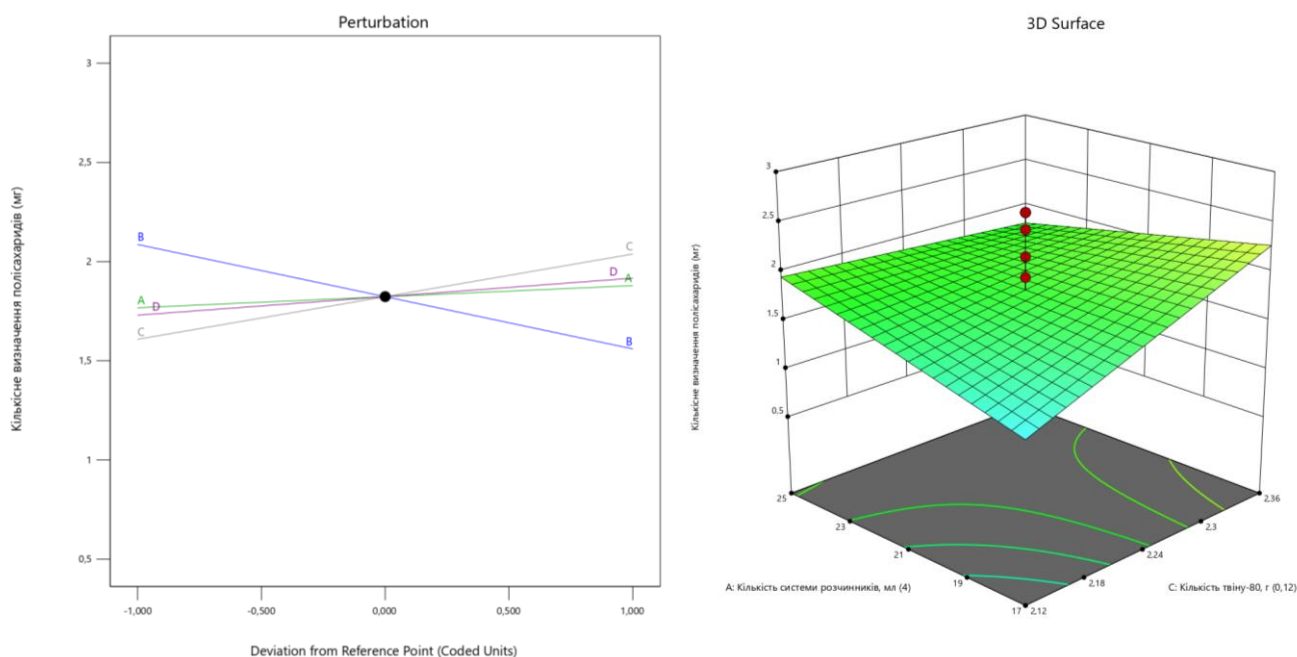


Рис. 4.47 Вплив кількості системи розчинників та твіну-80 на вміст полісахаридів спрею «Фітолор-спрей»

Взаємозв'язок між вивченими факторами та смаковими якостями розчину для приготування спрею описується наступним рівнянням регресії:

$$y_3 = 4,574 - 0,1256x_1 + 0,042x_2 - 0,129x_3 - 0,125x_4 - 0,188x_1x_2 + 0,188x_1x_3 + 0,188x_1x_4 - 0,063x_2x_3 - 0,063x_2x_4 + 0,063x_3x_4 - 0,486x_1^2 + 0,014x_2^2 - 0,486x_3^2 - 0,011x_4^2$$

Аналіз рівняння регресії показав статистичну значимість фактора x_1 , парної взаємодії факторів x_1x_3 та x_3x_4 . Смакові якості спрею знижуються при вивченні фактора x_1 (рис. 4.48).

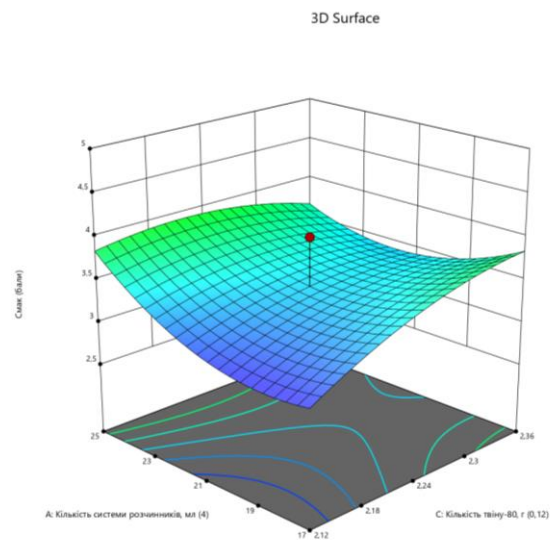
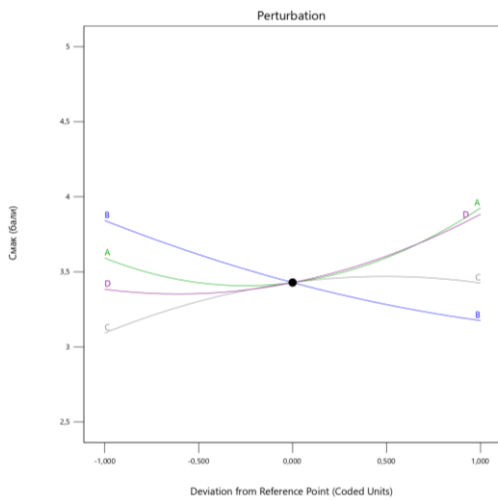


Рис. 4.48 Вплив кількості системи розчинників та твіну-80 на смакові властивості спрею «Фітолор-спрей»

Середнє значення смаку розчину спрею оцінено на 4,57 балів. Аналіз рівняння регресії показав, що зі збільшенням кількості розчинника, твіну-80 та камеді смакові якості розчину погіршуються. Найбільш суттєве значення проявляється при збільшенні кількості твіну-80 в розчині спрею. Із збільшенням кількості пропеленгліколю в складі спрею смакові якості покращуються.

$$y_4 = 1,121 + 0,0016x_1 - 0,048x_2 - 0,026x_3 + 0,003x_4 - 0,004x_1x_2 - 0,032x_1x_3 + 0,023x_1x_4 - 0,036x_2x_3 - 0,018x_2x_4 + 0,044x_3x_4 - 0,003x_1^2 - 0,001x_2^2 + 0,004x_3^2 - 0,029x_4^2$$

Аналіз рівняння регресії показав статистичну значимість фактора x_1 , x_4 парної взаємодії факторів x_1x_4 та x_3x_4 . Густина спрею знижується при вивченні фактора x_2 та x_3 .

Склад препарату «Фітолор-спрей», підібраний у ході експерименту, представлено у табл. 4.19.

Склад спрею «Фітолор-спрей» на 100 мл

Найменування компонентів	Функціональне призначення	Кількість
Екстракт моху ісландського	Активний фармацевтичний інгредієнт	6,00 г
Екстракт евкаліпту кулястого	Активний фармацевтичний інгредієнт	0,20 г
Етиловий спирт	Система розчинників	14,00 мл
Пропіленгліколь	Структуроутворювач, співрозчинник	72,00 мл
Вода очищена	Система розчинників	7,00 мл
Твін-80	ПАР, стабілізатор	0,75 г
Ксантанова камедь	Мукоадгезивна речовина	0,05 г

Обрані ДР у відповідній кількості при розпиленні за допомогою спреї-насадки дозою 1,0 мл підтверджують отримання факелу дрібнодисперсійного складу (рис. 4.49).

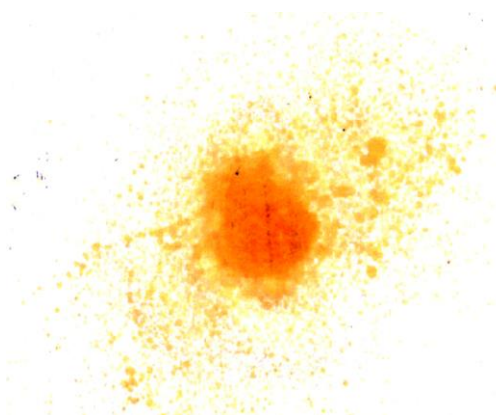


Рис. 4.49 Фотографія розпилення спрею «Фітолор-спрей»

Технологія спрею «Фітолор-спрей»

Для приготування лікарського засобу екстракт евкаліпту кулястого листя густий розчиняють у етиловому спирті 96 %, ретельно перемішують та додають твін-80. У іншому реакторі розчиняють густий екстракт моху ісландського у воді очищеній, перемішують та додають ксантанову камедь. Обидва одержані екстракти об'єднують, перемішують. Після чого додають пропіленгліколь, перемішують та

фільтрують. Готовий спрей передають на фасування. Блок-схема зображена на у додатку П.

Серія спрею «Фітолор-спрею» зберігається на складі готової продукції до одержання позитивного висновку його контролю за показниками МКЯ.

Висновки до розділу 4

1. Вивчено технологічні властивості ЛРС евкаліпту кулястого листя та моху ісландського слані, а саме: здібненість ЛРС (2-4 мм для евкаліпту кулястого листя та 0,1-0,4 мм для моху ісландського слані), вологість (10,1±0,5 % для евкаліпту кулястого листя та 9,8±0,5 % для моху ісландського слані), насипна густина (0,49±0,06 г/мл для евкаліпту кулястого листя та 0,35±0,06 г/мл для моху ісландського слані) та після усадки (0,58±0,05 г/мл для евкаліпту кулястого листя та 0,48±0,05 г/мл для моху ісландського слані), здатність до усадки (20,0±0,05 % евкаліпту кулястого листя та 18,0±0,05 % для моху ісландського слані), коефіцієнти набухання (5,0 мл/г для евкаліпту кулястого листя та 20,0 мл/г для моху ісландського слані) та коефіцієнти поглинання (2,0 мл/г для евкаліпту кулястого листя та 10,0 мл/г для моху ісландського слані).

2. Експериментально встановлено, що ремацерація з перемішуванням протягом 20 год є оптимальним методом екстрагування хлорофілів та ефірної олії, зокрема її компоненту 1,8-цинеолу, з евкаліпту кулястого листя при використанні 96 % спирту етилового як екстрагента. Оптимальний ступінь подрібнення ЛРС визначали за вмістом суми ефірних олій в одержаних екстрактах. Виявлено, що найдрібніша серед досліджуваних фракцій (2, 4, 10 мм) забезпечує найвищий вихід відповідних БАР. З врахуванням технологічних властивостей ЛРС евкаліпту кулястого встановлено оптимальне співвідношення сировина:екстрагент 1:5. Для приготування лікарського засобу «Хлорофіліпт» на ПАТ «Галичфарм» використовують густий екстракт евкаліпту прутovidного. Діюча технологія була оптимізована для виробництва густого екстракту з евкаліпту кулястого. Встановлено, що оптимальним режимом згущення рідкого екстракту з цієї

сировини є температура випаровування екстрагенту 50-60 °С та розрідження вакууму - 0,8 кгс/см². В розробленій технології запропоновано заміну розчинника для очищення органічного шару екстракту. Замість вживаного раніше хлороформу обґрунтовано використання етилацетату, як дешевшого та більш безпечного для людини та навколишнього середовища. При співвідношенні компонентів 1:4 досягнуто граничної межі, при якій вміст хлорофілів максимальний, а запах екстракту задовільний. З метою підвищення антибактеріальної активності екстракту із евкалипту кулястого листя проведено його модифікацію за допомогою солей купрум хлориду або купрум сульфату. Катіони міді беруть участь у заміні магнію в молекулах хлорофілів на купрум з утворенням більш активних мідних комплексів. Встановлено, що використання 4 % купрум сульфату забезпечувало вищий вихід модифікованих хлорофілів. Важливим фактором є вибір оптимального часу відстоювання, при якому відбувається розділення органічного та неорганічного шарів, яке настає через 23-24 год. Для промивки органічного шару підібрано оптимальне співвідношення кількості води очищеної до загального об'єму розчину - 10:1. На фінальній стадії проводять випаровування етилацетату із екстракту евкалипту кулястого листя до залишкового вмісту не більше 0,5 %.

3. Для екстракції моху ісландського *Cetraria islandica* слані використовували воду питну у співвідношенні кількості сировини до екстрагенту 1:20. Екстракцію проводили методом ремацерації з перемішуванням протягом чотирьох годин при температурі 50-55 °С та при використанні сировини, подрібненої до частинок розміром від 0,1 до 0,4 мм. Згущення рідкого екстракту проводили при діапазоні температури 85-95 °С. Встановлено, що поступове збільшення вмісту полісахаридів у екстракті моху ісландського слані спостерігається до 4-ої год, після зазначеного часу цей показник практично не змінювався. Аналогічно відбувалося зміна густини рідкого екстракту.

4. Для розробки оптимального складу та технології спреїв на основі стандартизованих густих екстрактів евкалипту кулястого листя («Хлорофіліпт-спрей») та моху ісландського слані («Фітолор-спрей») використовували методи

математичного планування експерименту. Для лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей» досліджено 4 групи допоміжних речовин (ДР), а саме: розчинники, співрозчинники, поверхнево-активні речовини (ПАР) та коригенти смаку. Як розчинники розглядали спирт етиловий 96 % та макрогол 400, співрозчинниками були запропоновані гліцерин та пропіленгліколь. Твін-80 був розглянутим у якості ПАР, а в якості коригента смаку сахаринат натрію. На основі даних чотирьохфакторного експерименту дисперсійного аналізу встановлено залежності впливу кожної з ДР на антимікробну активність, прозорість, смак та однорідність маси спрею. Найвищі показники антимікробної активності виявлено при використанні етилового спирту (середнє значення 11,78 мкг/мл), гліцерину (11,81 мкг/мл), без використання ПАР та при додаванні сахаринату натрію. Дослідження впливу ДР на прозорість спрею показали, що найкращі результати отримано при використанні етилового спирту (4,41 балів), пропіленгліколю (3,7 балів), без використання ПАР та при додаванні натрію сахаринату. На смакові властивості кращий вплив мав спирт етиловий (3,63 балів), при цьому сахаринат натрію погіршував смакові якості. Введення ПАР покращувало даний показник однорідності маси спрею (середнє значення $26,68 \pm \%$), без коригента смаку однорідність маси показала середнє значення $20 \pm \%$, при використанні макроголу та гліцерину досягалося краще значення даного відгуку ($26,71 \pm \%$ та $27,5 \pm \%$ відповідно). Встановлено оптимальний склад засобу в перерахунку на 100 мл: 0,2 г екстракту евкалипту кулястого густого, 14 мл етилового спирту 96 % та 86 мл пропіленгліколю.

5. Поєднання різних класів ДР для спрею «Фітолор-спрей» підбирали за допомогою чотирьохфакторного плану дисперсійного аналізу на двох рівнях з повторними дослідженнями. Досліджено 4 групи ДР, а саме: розчинники, співрозчинники, ПАР та мукоадгезивні речовини. Запропоновано наступні ДР: спирт етиловий 96 % та макрогол 400, пропіленгліколь та мальтитол, твін-80 та кремофор L, ксантанова камедь та трагакант. На основі даних чотирьохфакторного експерименту дисперсійного аналізу встановлено залежності впливу кожної з ДР

на дозування, кількісний вміст полісахаридів, смак та густину спрею. Найкраще на дозування впливає система розчинників спирт етиловий:вода очищена (середнє значення 1,13 мг/мл), мальтитол (1,04 мг/мл), кремофор L (1,104 мг/мл), ксантанова камедь (1,102 мг/мл). Найвищий вміст полісахаридів у готовому спреї одержано при використанні спирту (2,17 мг), пропіленгліколю (1,96 мг), твіну-80 (1,9 мг), трагаканту (1,97 мг). Кращі смакові властивості було одержано при використанні системи розчинників спирт етиловий:вода очищена (4,38 балів), кремофору L (3,88 балів), ксантанова камедь (3,56 балів). Дисперсійний аналіз показав, що густина спрею також змінювалась від поєднання різних компонентів. Суттєво впливала на даний показник ксантанова камедь (1,14 г/см³), середнє значення для трагаканту було нижчим - 1,1 г/см³; твін-80, пропіленгліколь та макрогол 400 підвищували значення густини (1,13 г/см³, 1,14 г/см³ та 1,15 г/см³ відповідно). В результаті досліджень встановлено оптимальний склад спрею «Фітолор-спрей» в перерахунку на 100 мл: 0,2 г екстракту евкаліпту кулястого густого, 6 г моху ісландського екстракту густого, 14 мл етилового спирту 96 %, 72 мл пропіленгліколю, 7 мл води очищеної, 0,75 г твіну-80 та 0,05 г ксантанової камеді.

6. Розроблено технологічні схеми виробництва готових препаратів. Схема виробництва лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей» складається із таких стадій: розчинення, перемішування, фільтрація та фасування. Схема виробництва лікарського засобу «Фітолор-спрей» містить такі технологічні етапи: розчинення, перемішування, фільтрація, змішування та фасування.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Особливості вибору емульгаторів при створенні нових лікарських засобів. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : збірник наукових праць, м. Харків, 13 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 96-98.

2. Stadnytska N.E., Diakon I.V., Hubytska I.I., Mylyanych A.O., Novikov V.P. Development of the spray composition based on extract of *Eucalyptus globulus*». *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2019. № 3. Р. 76-82.
3. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Милянйч А.О., Новіков В.П. Розробка методологічних підходів до технологічних процесів виробництва екстракту евкалипта. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : збірник наукових праць, м. Харків, 1 березня 2019 р. Харків, 2019. С. 75-79.
4. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Підбір екстрагенту для екстракції *Cetraria islandica*. *Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії* : науково-практична конференція з міжнародною участю, м. Харків, 2020 р. Харків, 2020. С. 47.
5. Стадницька Н.Є., Фітьо І.В. Оптимізація отримання густого екстракту хлорофіліпту. *Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів* : конференція, м. Львів, 24-25 квітня 2020 р. Львів, 2020. С. 114-116.

РОЗДІЛ 5

ЯКІСНЕ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ОСНОВНИХ ГРУП БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СИРОВИНИ, ЕКСТРАКТІВ ТА ГОТОВИХ ЗАСОБІВ. ВСТАНОВЛЕННЯ СПЕЦИФІКАЦІЙ ЯКОСТІ ДЛЯ СИРОВИНИ, ЕКСТРАКТІВ ТА ГОТОВИХ ЗАСОБІВ. ВИБІР РАЦІОНАЛЬНОГО ПАКУВАННЯ ТА ВИВЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ГОТОВИХ ЗАСОБІВ

5.1 Дослідження та стандартизація евкаліпту кулястого листа

При розробці нових лікарських засобів на основі рослинних екстрактів важливим є теоретичний етап розробки. Саме на цьому етапі проводиться пошук специфічних БАР для подальшої стандартизації сировини, екстрактів та готових лікарських засобів. Актуальним є питання стандартизації лікарських засобів рослинного походження, які складаються з кількох екстрактів. Нашим завданням було визначити специфічні речовини для *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*, які обрано з метою розробки комплексного рослинного засобу для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів. Першою рослиною є *Eucalyptus globulus*. Як йшлося раніше у розділі 2, евкаліпту кулястого листа стандартизують за вмістом ефірної олії та за наявністю хлорофілів.

Для визначення наявності вказаних речовин використовували тонкошарову та газову хроматографію. Кількісні значення вказаних БАР визначали спектрофотометричним методом згідно відповідних методик Державної фармакопеї України (ДФУ).

Ідентифікація ефірних олій. Ідентифікацію ефірних олій проводили методом тонкошарової хроматографії, описаному у розділі 2 (ДФУ 2.0, 2.2.27). Проводили паралельне дослідження листа та рідкого екстракту. Одержану хроматограму представлено на рис. 5.1.

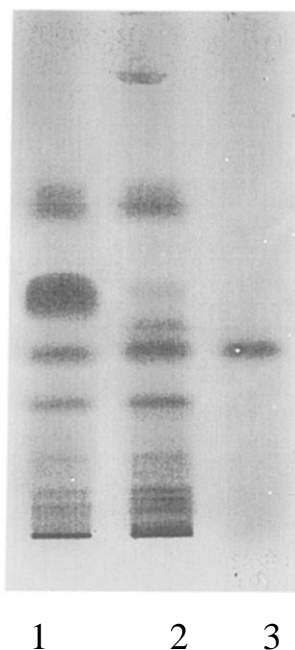


Рис. 5.1 Хроматограма евкаліпту кулястого листя

- 1 - випробуваний розчин з евкаліпту кулястого листя
 2 - випробуваний розчин евкаліпту кулястого листя екстракту рідкого
 3 - розчин порівняння 1,8-цинеолу [50]

Ідентифікація хлорофілів. Результати виявлення хлорофілів у листі евкаліпту кулястого виявляли проекстрагувавши лікарську рослинну сировину етиловим спиртом 96 %, контроль проводили у «нульовій точці», через 7 та 14 днів (ДФУ 2.0, 2.2.25). Результати представлені у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Результати спектрофотометричного аналізу рідкого екстракту
 листя евкаліпту кулястого с.31019

Точка контролю	Довжина хвилі, при якій спостерігається максимум поглинання, нм	Оптична густина у максимуму поглинання
0 днів	651	0,543
14 днів	651	0,504

Дослідження хроматографічного профілю. Хроматографічний профіль евкаліпту кулястого листа проводили методом газової хроматографії (ДФУ 2.0, 2.2.27), результати дослідження представлено на рис. 5.2.

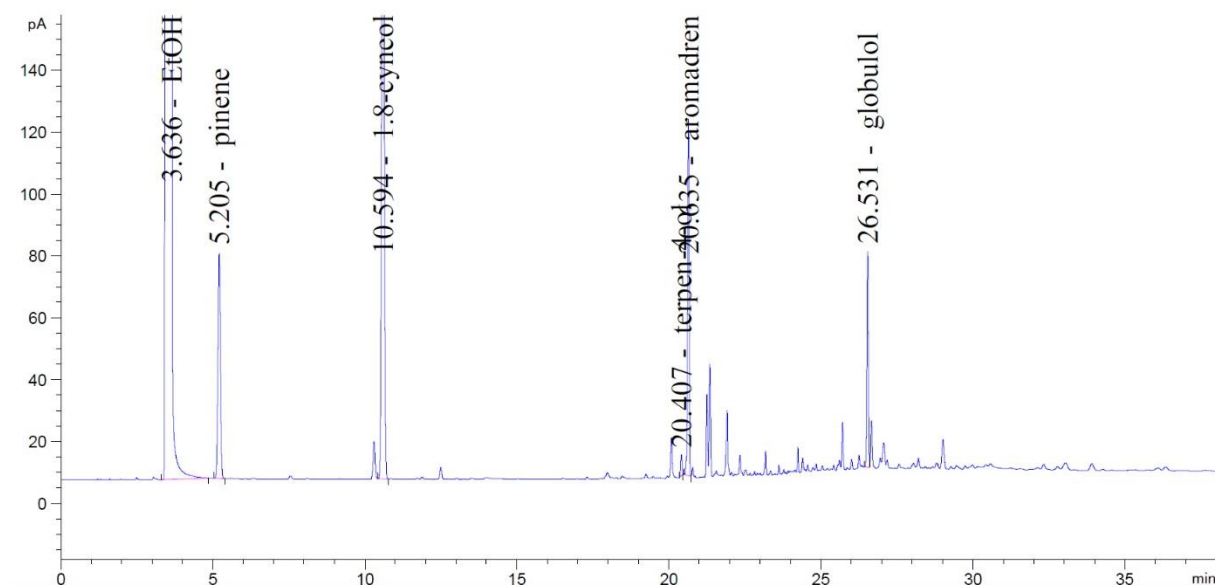


Рис. 5.2 Хроматографічний профіль евкаліпту кулястого листа, с. 150587 [50]

Кожну із досліджуваних серій піддали аналізу та визначенню хроматографічного профілю (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Результати аналізу евкаліпту кулястого листа методом ГХ

Серія ЛРС	Площа піку пінену, пА·с	Площа піку 1,8-цинеолу, пА·с	Площа піку терпену, пА·с	Площа піку аромадрену, пА·с	Площу піку глобулолу, пА·с
с.051120	406	1601	21	384	237
с.061120	405	1603	22	384	235
с.071120	406	1601	21	387	238
с.081120	404	1602	22	388	233
с.091120	406	1602	21	391	232

Кількісне визначення ефірних олій та хлорофілів у листі евкаліпту кулястого. Кількісні параметри вмісту ефірних олій (ДФУ 2.0, 2.8.11 та 2.8.12) та хлорофілів

(ДФУ 2.0, 2.2.25) у листі евкаліпту кулястого визначали згідно методик, описаних у розділі 2 дисертації. Результати зображено у табл. 5.3.

Таблиця 5.3

Результати визначення кількісного вмісту БАР у досліджуваних зразках
Eucalyptus globulus

Серія ЛРС	Дослідження кількісного вмісту БАР	Результати дослідження
с. 051120	Ефірні олії	15,22 мл/кг
	Хлорофіли	0,71 %
с. 061120	Ефірні олії	15,12 мл/кг
	Хлорофіли	0,69 %
с. 071120	Ефірні олії	15,11 мл/кг
	Хлорофіли	0,69 %
с. 081120	Ефірні олії	15,00 мл/кг
	Хлорофіли	0,7 %
с. 091120	Ефірні олії	15,00 мл/кг
	Хлорофіли	0,7 %

Специфікація якості. У результаті проведених досліджень розроблено специфікацію на ЛРС евкаліпту кулястого листа, яка включає морфологічний опис сировини, її мікроскопічні особливості, фіто-хімічні характеристики, наявність сторонніх домішок (додаток Р).

5.2 Дослідження та стандартизація густого екстракту евкаліпту кулястого листа

Згідно методик, описаних у розділі 2, проводили визначення сухого залишку, залишкових кількостей органічних розчинників, ідентифікацію хлорофілів та антибактеріальну активність густого екстракту евкаліпту кулястого листа.

Визначення сухого залишку. Встановлено, що сухий залишок екстрактивних речовин у екстракті евкаліпту кулястого листа густому становив 65 %. Дослідження проводили згідно методики, описаної у розділі 2 (ДФУ 2.0, 2.8.17).

Дослідження залишкових кількостей етилацетату. Вміст етилацетату у екстракті евкаліпту кулястого листа густому має становити не більше 0,06 %. Одержаний екстракт показав результат залишкового етилацетату 0,05 % (ДФУ 2.0, 2.2.28), що відповідає встановленим вимогам.

Ідентифікація хлорофілів. Ідентифікацію хлорофілів у екстракті евкаліпту кулястого листа густому проводили за методикою, описаною у розділі 2 (ДФУ 2.0, 2.2.25). Результати представлено на рис. 5.3 та табл. 5.4.

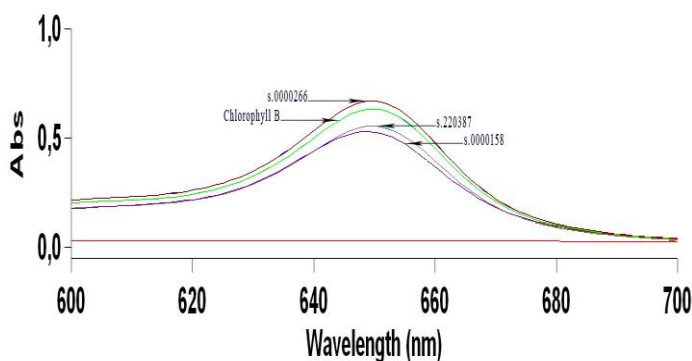


Рис. 5.3 Спектр виявлення хлорофілів у екстракті евкаліпту кулястого листа густого [50]

Таблиця 5.4

Результати спектрофотометричного аналізу екстракту евкаліпту кулястого листа густого

Серія екстракту	Довжина хвилі, при якій спостерігається максимум	Оптична густина у максимуму поглинання
с.000266	649	0,548
с.000158	650	0,515
с. 220387	649	0,518

Також визначення вмісту хлорофілів здійснювали для рідких екстрактів евкаліпту, приготованих із різною концентрацією спирту. Для розрахунку концентрації хлорофілів у витяжці визначали її оптичну густину за довжини хвилі, що відповідає максимумам спектра поглинання досліджуваних пігментів в даному розчиннику. Для хлорофілу а в 96 % етанолі максимум поглинання - $\lambda=665$ нм, для хлорофілу b - $\lambda=649$ нм. Дані щодо загального вмісту хлорофілів у екстракті *Eucalyptus globulus* представлені у табл. 5.5.

Таблиця 5.5

Конц. розчинника	$C_{\text{хл.а}}$, мг/л	$C_{\text{хл.б}}$, мг/л	$C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}}$, мг/л
96%	0,024	0,056	0,081
70%	0,018	0,050	0,068
40%	0,011	0,026	0,037

Спектрофотометричним методом було встановлено вміст хлорофілу а, хлорофілу b в досліджуваних екстрактах *Eucalyptus globulus* із концентрацією спирту 40, 70 та 96 %. З табл. 5.8 видно, що найбільша концентрація пігментів спостерігається у екстракті евкаліпту з концентрацією спирту етилового 70 %. Крім того, у всіх трьох випадках спостерігали більшу концентрацію хлорофілу b, яка перевищувала концентрацію хлорофілу а в середньому у 2,33 рази.

Визначення ефірної олії та дослідження хроматографічного профілю. Крім ідентифікації хлорофілів, було проведено виявлення ефірних олій у екстракті за методикою, описаною у розділі 2 (ДФУ 2.0, 2.2.27; ДФУ, 2.2.28). Хроматографічний профіль дослідження густого екстракту евкаліпту кулястого листя представлено на рис. 5.4-5.7.

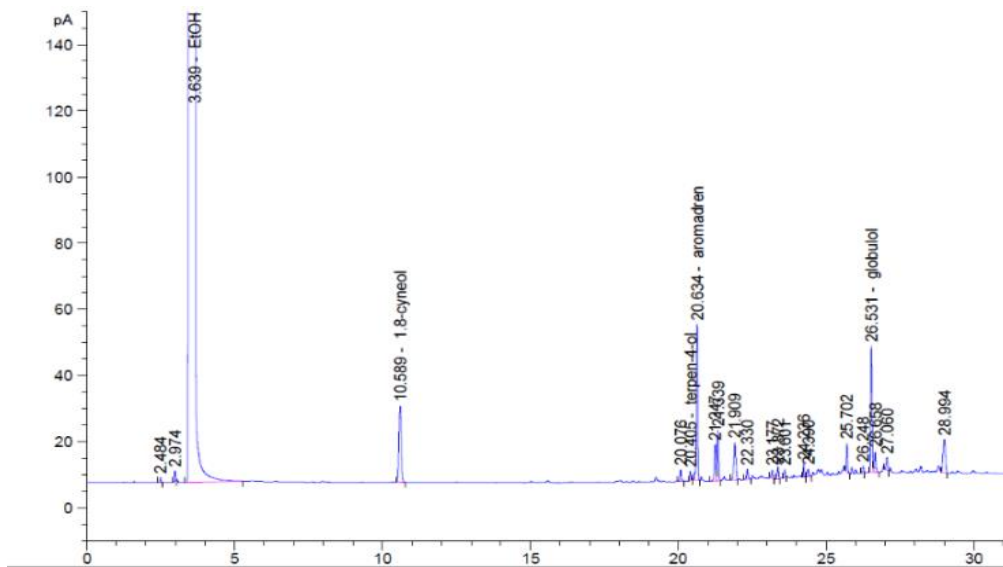


Рис. 5.4 Хроматографічний профіль густого екстракту евкаліпту кулястого листа, с. 000266

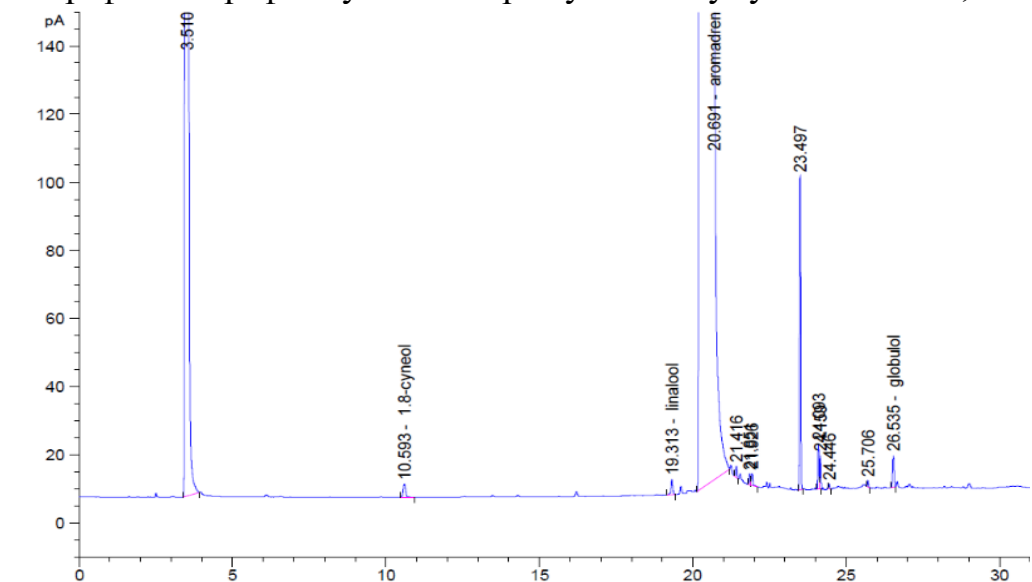


Рис. 5.5 Хроматографічний профіль густого екстракту евкаліпту кулястого листа, с. 000158

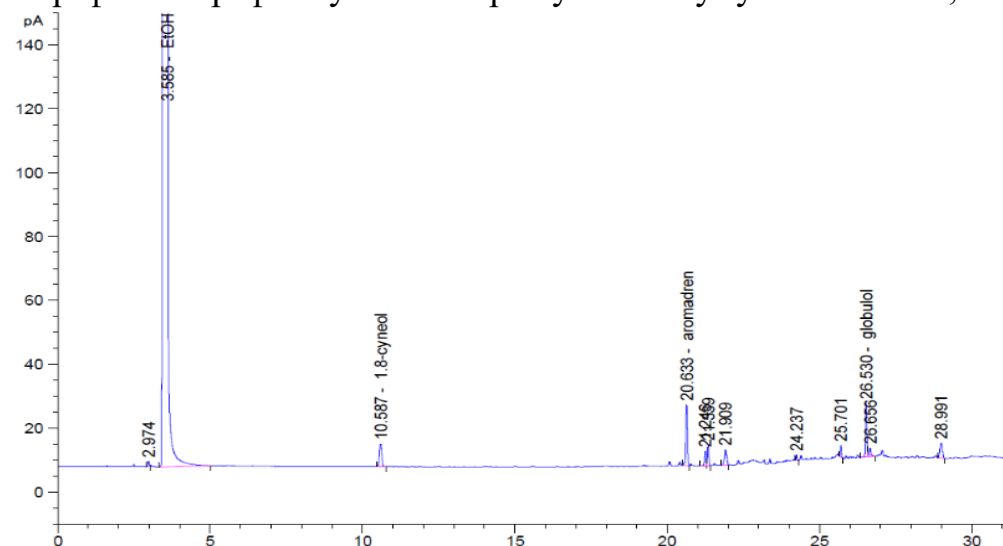


Рис. 5.6 Хроматографічний профіль густого екстракту евкаліпту кулястого листа, с. 220387

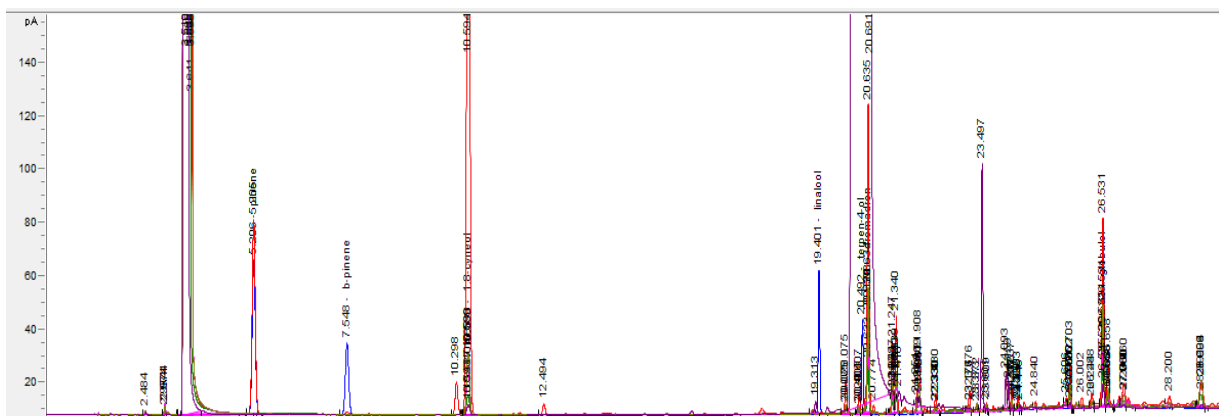


Рис. 5.7 Хроматографічний профіль листя евкаліпту та густого екстракту евкаліпту кулястого листя

Таблиця 5.6

Результати аналізу густого екстракту евкаліпту кулястого листя методом ГХ

Серія ЛРС	Площа пінену, пА·с	Площа 1,8-цинеолу, пА·с	Площа аромадрену, пА·с	Площу глобулолу, пА·с
с.000266	405	1605	387	231
с.000158	406	1606	388	232
с.220387	405	1608	385	237

Визначення кількісного вмісту хлорофілів. Дослідження кількісного вмісту хлорофілів у естракті евкаліпту кулястого листя густому проведено за методикою, описаною у розділі 2 дисертації (ДФУ 2.0, 2.2.25) [178]. Результати представлено у табл. 5.7.

Таблиця 5.7

Одержані результати щодо кількісного вмісту хлорофілів у естракті евкаліпту кулястого листя густому

Серія	Кількісний вміст хлорофілів, %
с. 000266	0,82
с. 000158	0,86
с. 220387	0,83

Дослідження антибактеріальної активності густого екстракту евкаліпту кулястого листя. Антибактеріальну активність густого екстракту евкаліпту кулястого листя вивчали на тест-культурах бактерій *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum* та грибів *Candida tenuis*, *Aspergillus niger* методом дифузії речовин в агар (із застосуванням методу лунок) на твердому поживному середовищі (м'ясо-пептонний агар МПА - для бактерій, сусло-агар (СА) - для грибів). Мікробне навантаження становило 10^9 КУО в 1 мл. Тривалість інкубації бактерій 24 год при температурі 35 °С, грибів - 48-72 год при 28-30 °С. Ступінь активності досліджуваних сполук оцінювали за величиною діаметрів зон пригнічення росту тест-культур бактерій, вважаючи, що при діаметрі 11-15 мм мікроорганізм малочутливий до екстракту, при 16-25 мм - чутливий та при >25 мм - високочутливий. Повторюваність кожного досліду трикратна. Мінімальну інгібуючу (МІК), бактерицидну (МБК) і фунгіцидну (МФК) концентрацію визначали методом серійних розведень речовини в рідкому поживному середовищі (м'ясо-пептонний бульон для бактерій та неохмелене пивне сусло 6-8 °Б для грибів) в межах 0,9-500 мкг/мл із застосуванням попередньо приготованого робочого розчину сполуки в етанолі в концентрації 10000 мкг/мл. У поживне середовище інокулювали посівний матеріал бактерій і грибів (мікробне навантаження 10^6 КУО на 1 мл). Засіяні пробірки витримували в термостаті за відповідної температури (37 °С для бактерій; 30 °С для грибів) протягом 24-72 год.

Результати оцінювали за наявністю чи відсутністю росту мікроорганізмів, здійснюючи візуальний контроль в проходячому світлі, порівнюючи ступінь мікробної мутності поживного середовища з «негативним контролем»).

Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) або мінімальної фунгіцидної концентрації (МФК) з пробірок, в яких розчини середовища виявилися візуально прозорими відбирали по 0,02 мл середовища і наносили на стерильні МПА (для бактерій) або СА (для грибів) у стерильних чашках Петрі, які інкубували в термостаті. Оцінку результатів здійснювали для тест-бактерій через 24 год, для тест-грибів через 48-72 год.

За відсутністю росту колоній мікроорганізмів на інкубованих чашках Петрі визначали МБК чи МФК досліджуваної речовини. Повторюваність досліду трикратна. Результати представлено у табл. 5.8-5.10.

Таблиця 5.8

Встановлення показників МІК і МБК сполук методом серійних розведень для густого екстракту евкаліпту кулястого листа

Назва	Мікроорганізм	Розведення речовини, мкг/мл								
		500	400	300	200	100	50	25	12,5	6,25
Евкаліпту екстракт густий, с. 000266	<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	±	±
	<i>M.luteum</i>	-	-	-	-	-	-	-	±	±
	<i>C.tenuis</i>	-	-	-	-	-	-	±	±	±
	<i>A.niger</i>	±	±	±	±	±	±	±	±	±

Позначення: «-» - МБК, «±» - МІК, «+» - спостерігався ріст мікроорганізмів

Таблиця 5.9

Показники МІК і МБК методом серійних розведень для густого екстракту евкаліпту кулястого листа

Код сполуки	Культури бактерій					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Mycobacterium luteum</i>	
	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл
Евкаліпту екстракт густий, с.000266	12,5	25	12,5	25	< 6,25	< 6,25

Показники МІК і МФК методом серійних розведень для густого екстракту
евкаліпту кулястого листя

Код сполуки	Культури грибів			
	<i>Candida tenuis</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
Евкаліпту екстракт густий, с.000266	0,9	6,25	0,9	*

Позначення: «*» - в досліджуваних концентраціях показники бактери- або фунгіцидного ефекту не встановлено

Визначення антиоксидантної активності. Антиоксидантну активність густого екстракту евкаліпту кулястого листя було визначено за допомогою методів DPPH, ABTS та FRAP.

Методом DPPH до 0,2 мл досліджуваного розчину додавали 1,8 мл розчину 2,2-дифенілпікрилгідразилу в етанолі з концентрацією 4,0 мг/100 мл. Після перемішування пробу витримували протягом 30 хвилин в темному місці. Для контролю змішували 0,2 мл етилового спирту та 1,8 мл робочого розчину DPPH в етанолі. Вимірювали оптичну густина на спектрофотометрі при довжині хвилі 517 нм. Дослідження показали, що антиоксиданти, які знаходяться в екстрактах володіють радикал поглинаючою та окисно-відновлюючою активностями. Для визначення значення IC_{50} , тобто концентрації досліджуваного зразка, при якій відбувається інгібування 50 % вільного радикалу, готували серію розбавлень екстракту.

Далі проводили дослідження методом FRAP. Для цього в пробірках змішували 1500 мкл розчину FRAP, 150 мкл води та 50 мкл досліджуваного екстракту. Після перемішування зразки витримували протягом 4 хвилин. Для контролю змішували 50 мкл 70 % етилового спирту та 1650 мкл розчину FRAP. Вимірювали коефіцієнт абсорбції на спектрофотометрі при довжині хвилі 593 нм. Дослід проводили в трьох повторах. Антиоксидантну активність визначали за

калібрувальною кривою за стандартною кривою заліту (II) сульфату, яка мала вигляд: $y = 0,5789x + 0,3296$, $R^2 = 0,9881$.

Останнім етапом даних досліджень було встановлення антиоксидантної активності методом ABTS. Для цього розчин ABTS розбавляли водою очищеною для досягнення поглинання $0,700 \pm 0,020$ при 734 нм. Аскорбінова кислота та тролокс використовувались як стандарти. Кількісні результати вмісту антиоксидантів для екстракту були виражені як міліграми, еквівалентні аскорбіновій кислоті або тролоксу. Результати проведених досліджень щодо антиоксидантної активності густого екстракту евкаліпту кулястого листя представлено у табл. 5.11 та на рис. 5.8.

Таблиця 5.11

Антиоксидантна активність густого екстракту евкаліпту кулястого листя густого, визначена методом DPPH та ABTS та FRAP

Концентрація екстракту, мг/мл	DPPH		ABTS		FRAP	
	A*	АОА, %	A	АОА, %	A	АОА, ммоль Fe ²⁺ /мл
2,02	0,23	82,8	0,01	98,5	0,24	0,12
1,7	0,27	78,5	0,01	99,5	0,44	0,38
1,38	0,29	73,5	0,01	98,7	0,64	0,65
1,07	0,39	66,7	0,02	96,4	0,83	0,87
0,75	0,511	52,0	0,11	84,3	0,99	1,09
0,43	0,65	35,2	0,32	57,0	1,12	1,27
0,11	0,87	15,8	0,56	24,6	1,21	1,51

*значення оптичної густини густого екстракту евкаліпту кулястого листя

Після проведених розрахунків, визначали IC₅₀, - концентрацію досліджуваного зразка, при якій відбувається інгібування 50 % вільного радикалу (рис. 5.8).

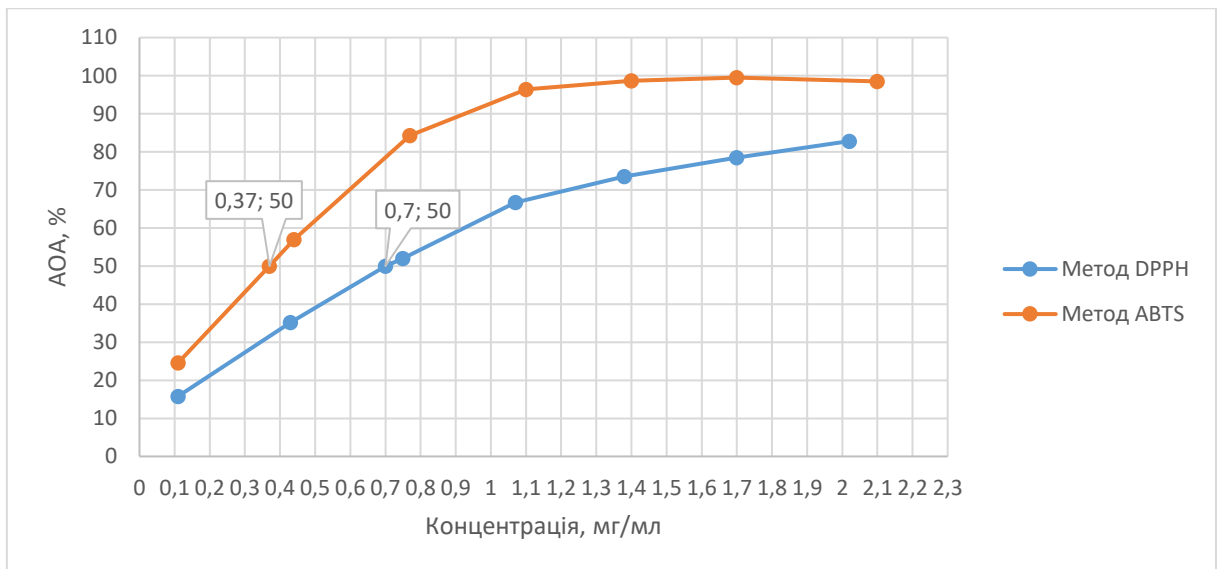


Рис. 5.8 Антиоксидантна активність густого екстракту евкаліпту кулястого листя, визначена методом DPPH та ABTS

Як бачимо із рис. 5.9, IC_{50} , визначене методом ABTS, дорівнює 0,37 мг/мл, а для методу DPPH - 0,7 мг/мл.

Встановлення специфікації якості. Приготований екстракт евкаліпту кулястого листя густий за технологією, описаною у розділі 4 дисертації, має відповідати встановленій специфікації якості. Пропонована специфікація якості густого екстракту евкаліпту кулястого листя наведена у додатку Р, МКЯ представлено у додатку Ц.

5.3 Фізико-хімічні дослідження спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Розроблений спрей «Хлорофіліпт-спрей» було досліджено за такими показниками як значення мікробіологічної чистоти, антиоксидантної та антибактеріальної активностей.

Дослідження мікробіологічної чистоти. Для визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів поміщали у стерильний мірний посуд 10 мл досліджуваного розчину, додавали 10 мл стерильного полісорбату-80, ретельно перемішували до однорідного розподілу. Доводили об'єм до 100 мл буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном рН 7,0, що містить 30 г/л полісорбату-80,

3 г/л лецитину, 1 г/л гістидину гідрохлориду (розведення 1:10). Ретельно перемішували до однорідного розподілу (зразок 1). 20 мл зразка 1 поміщали у стерильний мірний посуд, доводили об'єм до 100 мл буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном рН 7,0, що містить 30 г/л полісорбату-80, 3 г/л лецитину, 1 г/л гістидину гідрохлориду (розведення 1:50), ретельно перемішували до однорідного розподілу (зразок 2). 10 мл зразка 1 поміщали у стерильний мірний посуд, доводили об'єм до 100 мл буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном рН 7,0, що містить 30 г/л полісорбату-80, 3г/л лецитину, 1 г/л гістидину гідрохлориду (розведення 1:100), ретельно перемішати до однорідного розподілу (зразок 3).

Для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) по 1 мл зразка 3 фільтрувати через мембранний фільтр 0,45 мкм Millipore NAWP04700 та промивали п'ятьма порціями по 100 мл 0,9 % розчину натрію хлориду. Фільтр переносили на поверхню живильного середовища СКА, інкубують 5 діб.

Для визначення загального числа дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) по 1 мл зразка 2 фільтрувати через мембранний фільтр 0,45 мкм Millipore NAWP04700, промитий п'ятьма порціями по 100 мл 0,9 % розчину натрію хлориду. Фільтр переносили на поверхню живильного середовища СДА, інкубували протягом семи діб за температури 20-25 °С.

Підрахунок числа КУО у 1 г здійснити за формулою:

$$\sum_k \cdot x/n * V \quad (5.1)$$

де: \sum_k - кількість колоній на чашках;

n - кількість чашок, яка використовується при контролі;

V - об'єм профільтрованого зразка;

x - показник розведення (для ТАМС - 100 та ТУМС - 50).

Випробування на наявність *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* проводили, поміщаючи 10 мл лікарського засобу у стерильний мірний посуд, доводили об'єм до 100 мл стерильним фосфатним буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном рН 7.0 та ретельно перемішували до отримання однорідної суспензії (зразок 3). Після чого 10 мл зразка 3 вносили у 100 мл соєво-казеїнового

бульйону. Посіви інкубували за температури 36 ± 1 °С від 18 год до 48 год. Після завершення періоду інкубації проводили пересівання на чашки з твердим поживними середовищами Цетримідним агаром та манітно-сольовим агаром. Посіви інкубували за температури 36 ± 1 °С від 24 до 72 год. За наявності росту ідентифікацію проводили згідно методики ДФУ, 5.1.4. Негативний контроль проводили з використанням розчинника замість досліджуваного зразка. Контроль робочого середовища здійснювали за допомогою відбитків пальців на чашках з СКА, що містить 5 г/л полісорбату-80 і 0,7 г/л лецитину. Проводили контроль повітря робочої зони седиментаційним методом шляхом відкриття чашок Петрі з середовищами СКА, СДА протягом усього посіву. Чашки Петрі поміщали у інкубатор за температури 31 ± 1 °С. Результати мікробіологічної чистоти «Хлорофіліпт-спрей» представлено у табл. 5.12.

Таблиця 5.12

Дослідження мікробіологічної чистоти
спрей «Хлорофіліпт-спрей»

Назва, серія, дата напрацювання	Точка контролю	Результати МБЧ	<i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>
«Хлорофіліпт- спрей» с. 270726 дата напрацювання 04.01.20	0	ТАМС 100 / ТУМС <1	Відсутні в 1 мл
	3 міс.	ТАМС 100 / ТУМС <1	Відсутні в 1 мл
	6 міс.	ТАМС 100 / ТУМС <1	Відсутні в 1 мл
	9 міс.	ТАМС 100 / ТУМС <1	Відсутні в 1 мл
	12 міс.	ТАМС 100 / ТУМС <1	Відсутні в 1 мл
	18 міс.	ТАМС 100 / ТУМС <1	Відсутні в 1 мл
	24 міс.	ТАМС 100 / ТУМС <1	Відсутні в 1 мл

Дослідження антибактеріальної та антиоксидантної активності спрею «Хлорофіліпт-спрей». Результати досліджень антибактеріальної активності, виконані згідно методики, поданої у розділі 5.2, представлені у табл. 5.13-5.15.

Таблиця 5.13

Встановлення показників мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) і мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) методом серійних розведень

Код	Мікроорганізм	Розведення речовини, мкг/мл							
		400	300	200	100	50	25	12,5	6,25
«Хлорофіліпт-спрей», с.150220	<i>E.coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	±	+
	<i>M.luteum</i>	-	-	-	-	-	-	±	+
	<i>C.tenuis</i>	-	-	-	-	-	-	±	+
	<i>A.niger</i>	±	±	±	±	±	±	±	±

Позначення: «-» - МБК, «±» - МІК, «+» - спостерігався ріст мікроорганізмів

Таблиця 5.14

Показники МІК і МБК методом серійних розведень

Досліджуваний зразок	Культури бактерій					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Mycobacterium luteum</i>	
	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл
«Хлорофіліпт-спрей», с.150220	+	+	12,5	50	0,26	0,51

Таблиця 5.15

Показники МІК і МФК методом серійних розведень

Досліджуваний зразок	Культури грибів			
	<i>Candida tenuis</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
«Хлорофіліпт-спрей», с.150220	0,26	0,51	0,51	*

Позначення: «*» - в досліджуваних концентраціях показники бактерицидного або фунгіцидного ефекту не встановлено

Результати проведених досліджень щодо антиоксидантної активності спрею «Хлорофіліпт» представлено у табл. 5.16 та на рис. 5.9. Дослідження проводили за методикою, описаною у підрозділі 5.2.

Таблиця 5.16

Визначення антиоксидантної активності спрею «Хлорофіліпт-спрей»,
методами DPPH, ABTS та FRAP

Концентрація спрею «Хлорофіліпт»	DPPH		ABTS		FRAP	
	A*	АОА, %	A	АОА, %	A	АОА, ммоль Fe ²⁺ /мл
2,47	0,09	87,5	0,02	96,6	0,26	0,14
2,08	0,08	89	0,02	96,9	0,45	0,39
1,69	0,09	87,9	0,02	97,6	0,66	0,67
1,3	0,13	82,7	0,01	98,5	0,84	0,89
0,91	0,21	72,7	0,01	93,2	0,99	1,11
0,52	0,40	47,9	0,02	73,4	1,13	1,28
0,13	0,65	14,8	0,19	48,5	1,24	1,52

*значення оптичної густини «Хлорофіліпт-спрей»

Після проведених розрахунків, визначали значення IC₅₀ для методів DPPH та ABTS (рис. 5.9).

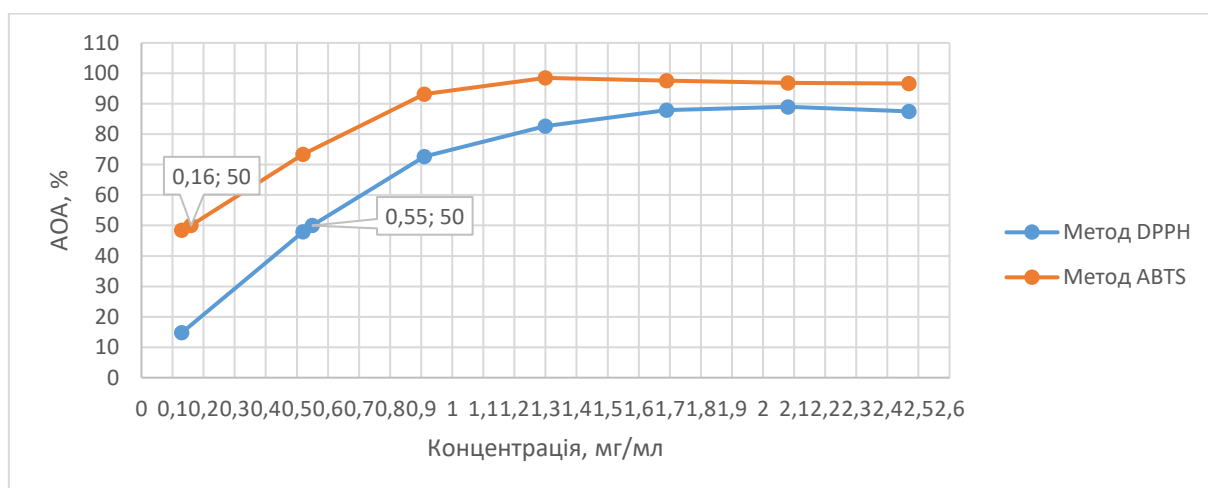


Рис. 5.9 Антиоксидантна активність препарату «Хлорофіліпт-спрей», визначена методом DPPH та ABTS

Як бачимо із рис. 5.9, IC_{50} для спрею «Хлорофіліпт-спрей», визначене методом АВТS, дорівнює 0,55 мг/мл, а для для метолу DPPH - 0,16 мг/мл.

Визначення кількісного вмісту хлорофілів у спрею «Хлорофіліпт-спрей». Визначення кількісного вмісту хлорофілів у препараті «Хлорофіліпт-спрей» здійснювали спектрофотометричним методом (ДФУ 2.0, 2.2.25). Середній вміст у п'ятьох серіях становив від 0,0010 до 0,0012 %.

Ідентифікація хлорофілів. Ідентифікацію хлорофілів у препараті «Хлорофіліпт-спрей» проводили за методикою, описаною для ідентифікації хлорофілів у листі та екстракті евкаліпту у розділі 2 дисертації (ДФУ 2.0, 2.2.25) (рис. 5.10).

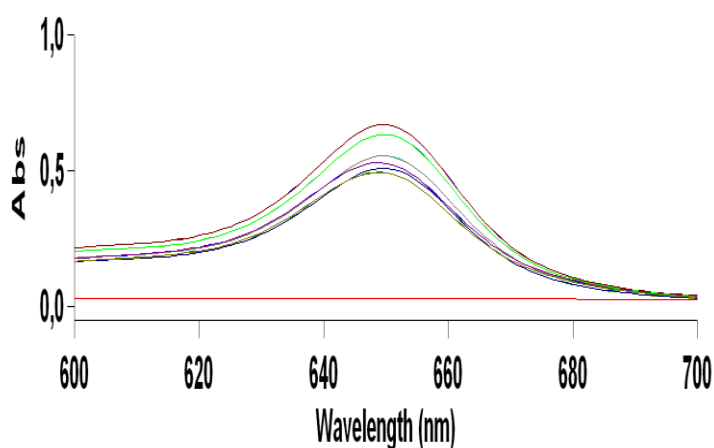


Рис. 5.10 Спектр виявлення хлорофілів у готовій формі «Хлорофіліпт-спрей»

Крім ідентифікації хлорофілів, було проведено виявлення ефірних олій за методикою, описаною у розділі 2 дисертації (ДФУ, 2.2.28). Хроматографічний профіль дослідження представлено на рис. 5.11.

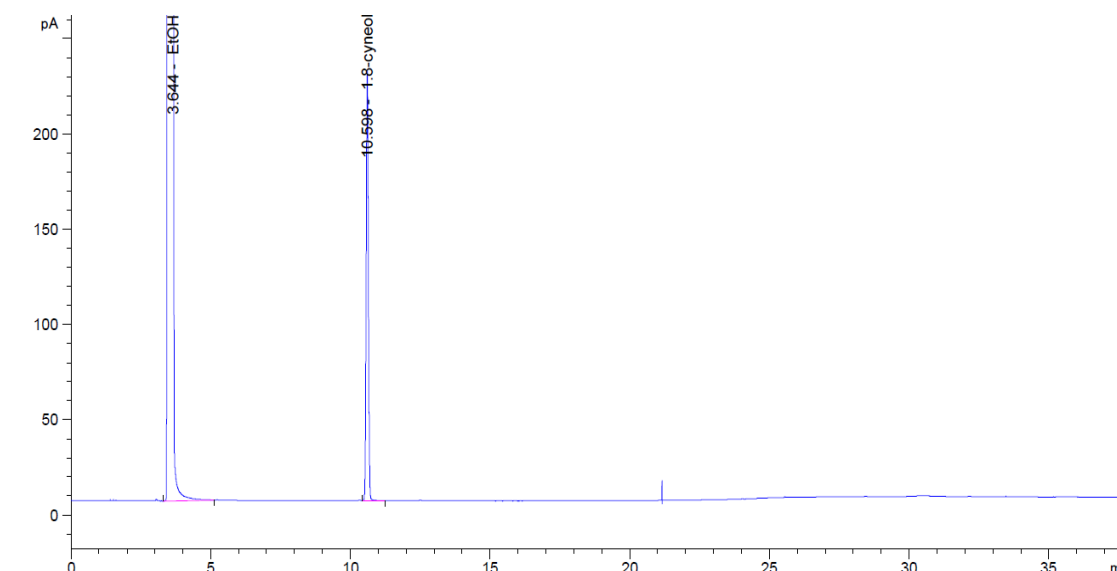


Рис. 5.11 Хроматографічний профіль спрею «Хлорофіліпт-спрей», с.10113

Встановлення специфікації якості для спрею «Хлорофіліпт-спрей». Специфікація засобу включає контроль таких хіміко-фізичних показників як опис, об'єм вмісту упаковки, відносна густина, однорідність маси та інші (додаток Т). МКЯ представлено у додатку Ч.

5.3.1 Вибір оптимальної упаковки для спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Основними завданнями вибору упаковки лікарської форми спреї - є забезпечення якості препарату протягом усього терміну придатності та забезпечення точності дози. Для лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей» було запропоновано скляний флакон та дозуючий пристрій, який забезпечуватиме дозу препарату у відповідності до МКЯ.

5.3.2 Дослідження стабільності спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Встановлено, що «Хлорофіліпт-спрей», закладений на стабільність при температурі 25 ± 2 °C, витримує усі показники якості на всіх контрольних етапах експерименту. Запропоновано зберігання препарату «Хлорофіліпт-спрей» при температурі не вищій 25 °C протягом 2-х років. Результати вивчення стабільності наведено у табл. 5.17.

Звіт по дослідженню стабільності спрею «Хлорофіліпт-спрей» в процесі зберігання при довгострокових дослідженнях

Номер серії	Дата аналізу	Опис	Ідентифікація		Густина	Об'єм вмісту упаковки	Однорідність маси	Мікробіологічна чистота	Антибактеріальна активність	Кількісне визначення Хлорофілі	Термін придатності
			1,8-цинеол	Хлорофілі							
Проект МКЯ		Опалесцентна рідина від світло зеленого до зеленого кольору зі специфічним запахом. Можливе помутніння або випадіння осаду в процесі зберігання	На хроматограмі випробовуваного розчину повинен бути присутнім пік, який співпадає за часом утримування з піком 1,8-цинеолу на хроматограмі розчину порівняння	Спектр поглинання випробовуваного розчину отриманого в пункті «Кількісне визначення» в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (649±3) нм	0,99 г/см ³ - 1,02 см ³	Не менше 25 мл	Засіб повинен витримувати випробування, якщо індивідуальна маса дози тільки для 2 контейнерів відхиляється від середнього значення більше ніж на ±25%, але не більше ніж на ±35%	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10 ⁴ КУО/г; Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ГУМС): 10 ² КУО/г; Відсутність <i>Salmonella</i> в 10 мл; Відсутність <i>Escherichia coli</i> в 1 мл; Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 мл	Субстанція повинна пригнічувати ріст тест-культури <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P в концентрації не більше ніж 12,5 мкг в 1 мл середовища	Вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл в - не менше 0,5 % в перерахунку на суху речовину	2 роки
40519	23.01.19	Відповідає	Відповідає	Відповідає	1,01	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	0,0013	0 міс
	23.04.19	Відповідає	н/п	н/п	1,00	н/п	н/п	Відповідає	н/п	0,00125	3 міс
	24.07.19	Відповідає	н/п	н/п	1,00	н/п	н/п	н/п	Відповідає	0,00124	6 міс
	24.10.19	Відповідає	Відповідає	Відповідає	1,01	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	0,00124	9 міс
	21.01.20	Відповідає	Відповідає	Відповідає	1,00	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	0,00125	12 міс
	23.07.20	Відповідає	Відповідає	Відповідає	1,00	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	0,00126	18 міс
	20.01.21	Відповідає	Відповідає	Відповідає	1,02	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	0,00124	24 міс
	24.04.21	Відповідає	Відповідає	Відповідає	1,01	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	0,00124	27 міс

5.4 Дослідження та стандартизація моху ісландського слані

Слань моху ісландського багата на полісахариди, які, як правило, кількісно визначають гравіметричним та спектрофотометричним методами. Ідентифікацію полісахаридів у мосі ісландському здійснювали методом ТШХ [179, 199, 198, 50].

Ідентифікація полісахаридів. Визначення присутності глюкози у випробовуваних зразках із вмістом моху ісландського проводили методом тонкошарової хроматографії, описаним у розділі 2 дисертації. Використовували пластинку ТШХ (ДФУ 2.0, 2.2.7) із шаром силікагелю. Переглядали пластинку в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм (рис. 5.12).

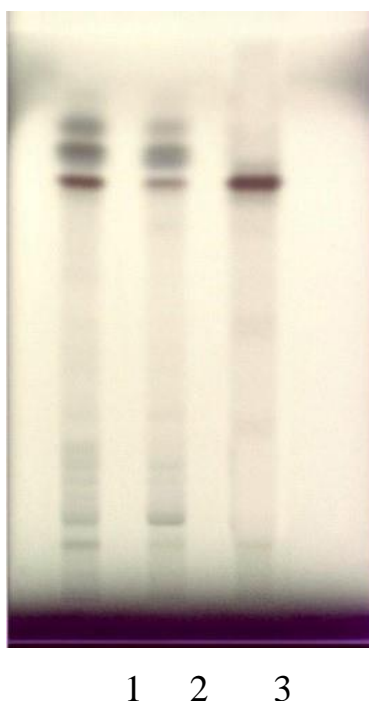


Рис. 5.12 Хроматограма виявлення полісахаридів у моху ісландського слані

- 1 - випробуваний розчин слані моху ісландського
- 2 - випробуваний розчин екстракту моху ісландського
- 3 - розчин порівняння глюкози [50]

В досліджуваних зразках спостерігаються плями з R_f , ідентичним R_f глюкози.

Ідентифікація фумарової кислоти. Застосування моху ісландського *Cetraria islandica* має місце при лікуванні кашлю, проявляючи відхаркувальні властивості.

Обволікаюча та відхаркувальна дії проявляються завдяки наявності у лікарській рослинній сировині полісахаридів. Проте, вивчаючи хімічний склад моху ісландського *Cetraria islandica*, встановлено, що сировина містить також фумарову кислоту, яка належить до гідроксикоричних кислот. Проте вміст цієї сполуки залежить від континенту та місця походження *Cetraria islandica* [12]. Ми вирішили дослідити наявність фумарової кислоти у цетрарії, заготівлю якої проводили у румунських Карпатах, місті М'єркуря-Чек. Зразок хроматограми, отриманої при ТШХ-дослідженні (ДФУ 2.0, 2.2.29) зразку представлений на рис. 5.13. У метанольних витягах зразків сировини, зібраної у румунських Карпатах, в обраних системах розчинників була ідентифікована фумарова кислота (слідові кількості).

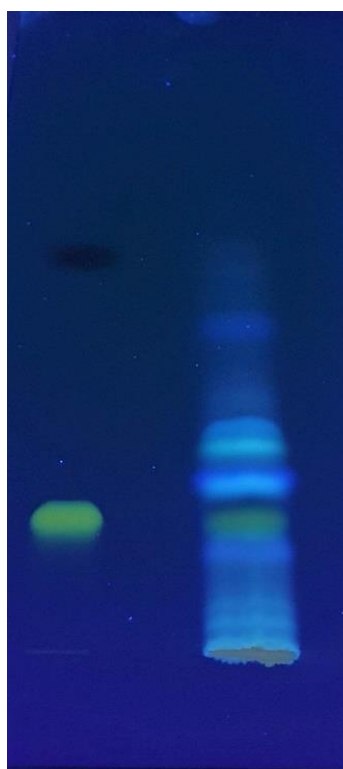


Рис. 5.13 Фотографія ТШХ-хроматограми, отримана в умовах ідентифікації фенольних сполук ЛРС

Рухома фаза: мурашина кислота-вода-етилацетат (6:9:90).

- 1- розчини стандартного зразку фумарової кислоти
- 2- випробовуваний розчини подрібненої моху ісландського слані

Також досліджено хроматографічний профіль моху ісландського слані (рис. 5.14).

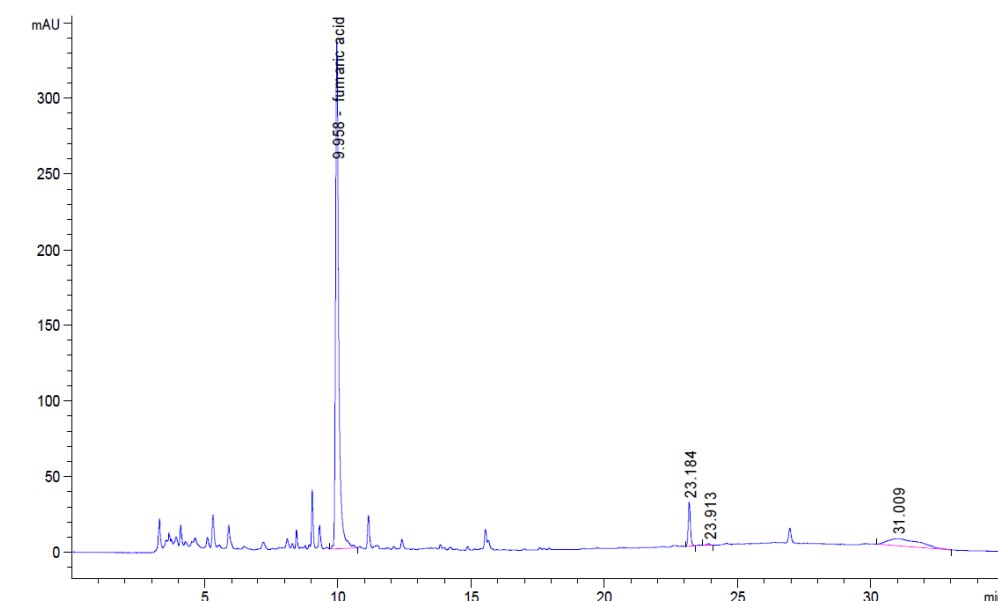


Рис. 5.14 Хроматографічний профіль слані моху ісландського, одержаний методом ВЕРХ

Визначення кількісного вмісту полісахаридів. Випробування кількісного вмісту полісахаридів у моху ісландського слані проводили гравіметричним методом (ДФУ 2.0, 2.9.12, гравіметрія). Методику подано у розділі 2 дисертації [198]. Вміст полісахаридів становив 1,08 % у перерахуванні на суху речовину.

Встановлення специфікації якості. Специфікація якості слань моху ісландського містить наступні показники: ідентифікація, втрата в масі при висушуванні, залишкові кількості пестицидів, кількісне визначення, МБЧ та ін. Специфікація додана у додатку Ф.

5.5 Дослідження густого екстракту моху ісландського слані

У моху ісландського слані визначали полісахариди, фумарову кислоту та поліфеноли.

Ідентифікація полісахаридів. Для ідентифікації полісахаридів до 1,0 г сировини додавали 10 мл води Р, кип'ятили протягом 2-3 хв. Сірувато-коричневий розчин при охолодженні перетворювалися на гель, який набував синього забарвлення при додаванні йоду розчину Р.

Ідентифікація фумарової кислоти. В ексттракті моху ісландського визначали наявність фумарової кмслоти методом згідно ДФУ 2.0, 2.2.29 (рис. 5.15).

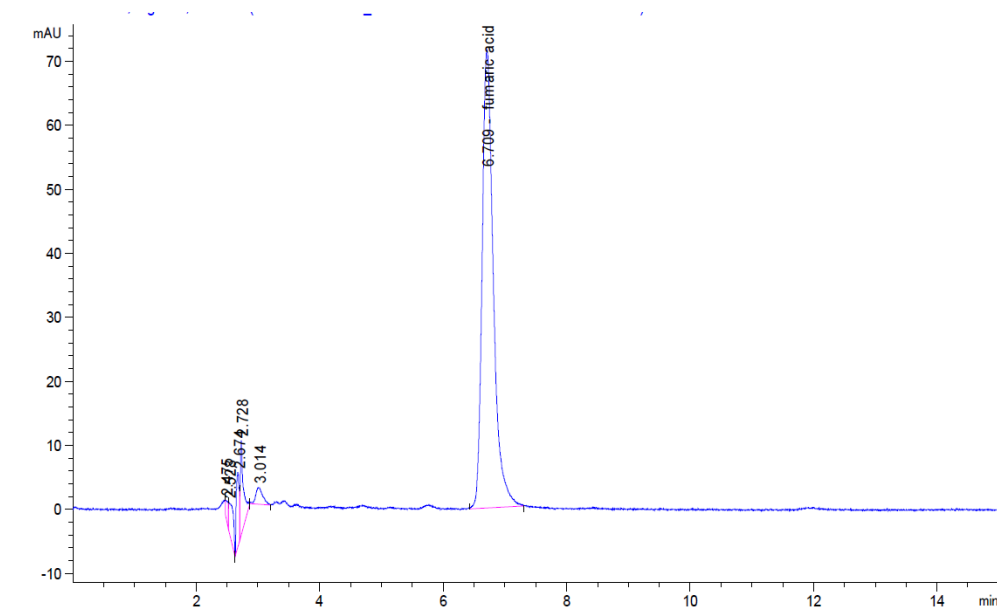


Рис. 5.15 Хроматографічний профіль густого екстракту моху ісландського слані методом ВЕРХ

Кількісне визначення полісахаридів. Досліджували три серії густого екстракту моху ісландського слані (с.150920, 151020,151120), вміст полісахаридів у перарахунку на суху речовину становив від 6 до 8 % (ДФУ 2.0, 2.9.12, гравіметрія).

Кількісне визначення поліфенолів. Дані щодо кількісного вмісту поліфенолів у екстракті моху ісландського слані густому досліджено у трьох серіях (с.0026970, 0026971, 0026972). Дані представлені у табл. 5.18 згідно методики (ДФУ 2.0, 2.2.25).

Одержані результати щодо кількісного вмісту поліфенолів
у екстракті моху ісландського

Серія	Кількісний вміст, %
с.0026970	1,01
с.0026971	1,04
с.0026972	1,01

Дослідження антиоксидантної активності екстракту моху ісландського слані. Антиоксидантну активність трьох екстрактів із слані моху було визначено за допомогою методу DPPH за методикою, описаною у розділі 5.2. [194]. Досліджувались рідкі спиртові екстракти із різною концентрацією етилового спирту. Результати представлено у табл. 5.19.

Таблиця 5.19

Визначення радикал поглинаючої активності екстракту моху ісландського
слані методом DPPH

Об'єкт	Екстрактивні речовини, мг/мл	Полі феноли, мг/мл	Флаво ноїди, мг/мл	РПА, %	IC ₅₀	АРА
Екстракт 96 %	3,8	0,137	0,005	25	-	-
Екстракт 70 %	8,3	0,586	0,012	86	2,40	0,417
Екстракт 40 %	5,4	0,328	0,006	69	2,45	0,408

«-» - результат відсутній оскільки при максимальній концентрації речовин досягається інгібування 25 %

Після вимірювання радикал поглинаючої активності рідких екстрактів моху ісландського розведених до концентрації 1 мг/мл, варто відзначити, що вміст поліфенольних сполук в перерахунку на галову кислоту найвищим був для зразка 70 % і становив 0,586 мг/мл, а вміст флавоноїдів в перерахунку на стандартний розчин-порівняння - кверцетин - 0,012 мг/мл, - також для 70 %-вої витяжки. Так, методом DPPH відсоток радикал поглинаючої активності для 70-ти відсоткового екстракту становив - 86 %, а антирадикальна активність 0,417, що свідчить про достатньо високий показник антиоксидантної активності екстракту моху ісландського саме при такій коцентрації етилового спирту [144, 191].

Встановлення специфікації якості густого екстракту моху ісландського слані . Специфікація якості густого екстракту моху ісландського слані містить наступні показники: опис, ідентифікація, сухий залишок, МБЧ та кількісне визначення. Специфікацію подано у додатку Ф, МКЯ представлено у додатку Ш.

5.6 Фізико-хімічні дослідження спрею «Фітолор-спрей»

На основі екстрактів евкалипту кулястого та моху ісландського було розроблено «Фітолор-спрей», який було досліджено за такими показниками як значення антиоксидантної та антибактеріальної активностей.

Дослідження антибактеріальної активності. Велику увагу приділено дослідженню антибактеріальної активності спрею «Фітолор-спрей». Антибактеріальну активність визначали мікробіологічним методом з використанням 2-х кратних серійних розведень у соєво-казеїновому бульйоні з тест-мікроорганізмом *Staphylococcus aureus* (25000 мікробних клітин в 1 мл). Для випробування брали 3 ряди пробірок по 4 в кожному. Облік результатів випробування проводили після інкубації при температурі $32,5 \pm 2,5$ °C протягом 48 год. Антибактеріальну активність досліджуваного зразка оцінювали візуально (прозорі розчини - чисті, мутні розчини - присутній ріст). Результати представлено у табл. 5.20.

Антибактеріальна активність спрею «Фітолор-спрей»

Досліджуваний зразок	Концентрація, мкг/мл				
	100	50	25	12,5	6,25
«Фітолор-спрей», с.200520	-	-	+	+	+
«Фітолор-спрей», с.200620	-	-	+	+	+

Позначення: «+» спостерігався ріст мікроорганізмів, «-» - ріст відсутній

Як бачимо із табл. 5.24, при комбінації екстрактів евкаліпту та моху ісландського проявляється антибактеріальний ефект. Це дає змогу зробити висновки про сумісність та комплексну дію цих двох екстрактів при створенні препарату для лікування захворювань дихальних шляхів [143].

Дослідження кількісного вмісту полісахаридів. Визначення полісахаридів у препараті «Фітолор-спрей» проводили гравіметрично, вміст полісахаридів становив більше 2 мг/мл (0,2 %) (ДФУ 2.0, 2.9.12, гравіметрія).

Встановлення специфікації для спрею «Фітолор-спрей». У додатках Х-Щ подано специфікацію та МКЯ на спрей, де наведено встановлені попередні вимоги щодо якості готового спрею, розробленого на основі густих екстрактів моху та евкаліпту кулястого.

5.6.1 Вибір оптимальної упаковки для спрею «Фітолор-спрей»

Для спрею «Фітолор-спрей» було запропоновано скляний флакон та дозуючий пристрій, який забезпечуватиме дозу препарату у відповідності до МКЯ.

5.6.2 Дослідження стабільності спрею «Фітолор-спрей»

Встановлено, що «Фітолор-спрей», закладений на стабільність при температурі 25 ± 2 °С, витримує усі показники якості на всіх контрольних етапах експерименту. Запропоновано зберігання препарату «Фітолор-спрей» при температурі не вищій 25 °С протягом 2-х років. Результати вивчення стабільності наведено у табл. 5.21.

Звіт по дослідженню стабільності спрею «Фітолор-спрей» в процесі зберігання при довгострокових дослідженнях

Номер серії	Дата аналізу	Опис	Ідентифікація	Об'єм вмісту упаковки	Мікробіологічна чистота	Вміст етилового спирту	Антибактеріальна активність	Кількісне визначення	Термін придатності
Проект МКЯ		Рідина темно-коричневого кольору. Не допускається утворення осаду	Спектр поглинання одержаного розчину в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум за довжини хвилі (652±2) нм	Не менше 25 мл	Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів не більше 10 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно) в 1 мл лікарського засобу. Відсутність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 мл лікарського засобу. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 мл лікарського засобу. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 мл лікарського засобу	Не більше 14 %	Лікарський засіб має пригнічувати ріст тест-культури <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P в концентрації не більше 12,5 мкг в 1 мл середовища	Вміст полісахаридів має становити не менше не менше 2 мг/мл	2 роки
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
20119	23.02.2019	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	13,8	Відповідає	2,4	0 міс
	23.05.2019	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	13,7	Відповідає	2,4	3 міс
	24.08.2019	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	13,7	Відповідає	2,3	6 міс
	24.11.2019	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	13,4	Відповідає	2,3	9 міс
	21.02.2020	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	13,3	Відповідає	2,3	12 міс
	23.08.2020	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	13,3	Відповідає	2,2	18 міс
	20.02.2021	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	13,0	Відповідає	2,2

Висновки до роділу 5

1. Запропоновано речовини для сертифікації моху ісландського *Cetraria islandica* слані та евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* листа. Для дослідження евкаліпту обрано хлорофіли та 1,8-цинеол, а для сировини моху ісландського - полісахариди. Досліджено якісний та кількісний вміст цих речовин у досліджуваних об'єктах. Зокрема хлорофіли А та В мали червону флуоресценцію. В екстракті *Eucalyptus globulus* та комплексному екстракті виявлено характерну пляму 1,8-цинеолу, а в екстракті моху ісландського - пляму глюкози.

2. Кількісною характеристикою для моху ісландського слані та його екстракту обрано вміст полісахаридів, який відповідно становив 1,08 % та 6-8 % у перерахунку на суху речовину. Для евкаліпту кулястого листа стандартизацію проведено по кількості ефірної олії (15,22 мл/кг) та хлорофілів (0,71 %). Екстракт евкаліпту кулястого стандартизували за вмістом хлорофілів, який становив 0,8 %.

3. На підставі сучасних фармакопейних вимог і отриманих фармако-технологічних та фізико-хімічних характеристик, розроблено та обґрунтовано специфікацію на спрей «Хлорофіліпт-спрей», до якої входять такі показники якості: опис, ідентифікація, густина від 0,99 г/см³ до 1,02 г/см³, обсяг вмісту упаковки не менше 25 мл, однорідність маси в межах від $\pm 25-35$ %, мікробіологічна чистота (МБЧ) загальна кількість аеробних мікроорганізмів 10⁴ КУО в 1 мл і загальна кількість дріжджових і плісневих грибів 10² КУО в 1 мл, антибактеріальна активність стосовно тест культури *Staphylococcus aureus*, кількісне визначення спирту етилового в межах від 12,9 % до 15,9 % та хлорофілів не менше 9*10⁻⁴ %. Проведено дослідження антибактеріальної активності лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей», який виявляв антимікробну активність стосовно *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteum*, *Candida tenuis* та *Aspergillus niger*. Стосовно *Staphylococcus aureus* встановлено мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК) 25 мкг/мл і мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) 12,5 мкг/мл). Вивчено антиоксидатну активність спрею і встановлено, що ІС₅₀ для «Хлорофіліпт-спрей», визначене методом АВТS, дорівнює 0,55 мг/мл, а для для методу DPPH - 0,16 мг/мл.

4. Для спрею «Фітолор-спрей» встановлено наступні показники якості: опис, ідентифікація та кількісне визначення полісахаридів, МБЧ 10^4 КУО в 1 мл і загальна кількість дріжджових і плісневих грибів 10^2 КУО в 1 мл, антибактеріальна активність стосовно тест культури *Staphylococcus aureus*. Методом DPPH встановлено значення радикал поглинаючої активності (86 %) та антирадикальної активності 0,417 %.

5. Здійснено вибір оптимального виду упаковки для готових спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей», а саме обрано пластиковий флакон та механічний розпилювач.

6. Дослідження готових препаратів показали, що протягом встановленого терміну зберігання спреїв, всі результати випробувань знаходяться в допустимих межах, які закладені в специфікації на готовий спрей. На основі результатів дослідження стабільності запропоновано: умови зберігання засобу - при температурі не вище 25 °С; термін придатності - 2 роки.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Fito I., Stadnytska N. Standardization of *Eucalyptus globulus* leaves and *Cetraria islandica* slan. *Journal Eureka: Health sciences*. 2001. № 2. С. 59-63.

2. Фітьо І.В., Киричук А.О., Стадницька Н.Є. Стандартизація *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VIII науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р., Тернопіль, 2020. С. 52-53.

3. Фітьо І.В. Стадницька Н.Є. Новіков В.П. Вибір маркерів при дослідження вмісту біологічно активних речовин у комплексному рослинному лікарському засобі на основі *Cetraria islandica* та *Eucalyptus globulus*. *Organization of scientific research in modern conditions* : матеріали конференції, м. Сієтл, 14-15 травня 2020 р. Сієтл, 2020. С. 177-179.

4. Stadnytska N., Fito I., Novikov V., Jasicka-Misiak I., Wiczorek P. Effect of extraction solvent on total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity of *Cetraria islandica*. *Journal of PharmTech Research*. 2020. № 3. P. 198-205.

5. Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Новіков В.П. Залежність антиоксидантної активності екстрактів моху ісландського від вмісту етилового спирту в екстрагенті. *Хімія природних сполук* : матеріали V Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 141-142.

РОЗДІЛ 6

ФАРМАКОЛОГІЧНІ ТА ТОКСИКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАСОБІВ «ХЛОРОФІЛІПТ-СПРЕЙ» ТА «ФІТОЛОП-СПРЕЙ»

6.1 Випробування цитотоксичності спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолоп-спрей»

Метою даного дослідження було перевірити здатність препаратів «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолоп-спрей» викликати біологічні реакції клітин сполучної тканини ссавців *in vitro* за відповідних біологічних умов.

Згідно із проведеними дослідженнями, міграція фібробластичних елементів при внесенні випробуваного матеріалу у середовище культивування починалося на 3 добу спостережень. Дослідження проводили на контрольній та дослідній групі тварин. Для дослідної групи тварин на третю добу культивування тканин у флакони Карреля з середовищем 199 вносили терапевтичні дози розчину випробуваного матеріалу. Тварин виводили з експерименту ефірним наркозом. В стерильних умовах із задньої половини спини виділяли фрагменти підшкірної клітковини, шматочки переносили у фізіологічний розчин з додаванням пеніциліну. Після експлантації зразків клітковини на третю добу робили заміну рідкої фази та вносили терапевтичну дозу розчинів випробних матеріалів. Співвідношення інгредієнтів в живильному середовищі складало: середовище 199 - 51 %, екстракт курячих ембріонів - 10 %, плазма крові півня - 20 %, сироватка великої рогатої худоби 20 %. Тверду фазу формували з 4 крапель плазми, з крапель ембріонального екстракту, рідку фазу формували з 12 крапель середовища 199 і 8 крапель сироватки великої рогатої худоби. Культуру інкубували за температури 37 °С, рідку фазу змінювали кожні три доби. Після експлантації зразків клітковини на третю добу культивування в дослідних пробах проводили заміну рідкої фази та вносили терапевтичну дозу розчинів випробних матеріалів. На 3, 7 і 10 добу проводили спостереження за ростом компактної, сіткоподібної зони і зони фібробластичних елементів (табл. 6.1 та 6.2).

Таблиця 6.1

Результати контролю цитотоксичності спрею
«Хлорофіліпт-спрей», с. 241119

НД на продукцію		Результати			Відмітка про відповід ність
№ п/п	Найменування показників	1	2	3	
1.	Визначення токсичної дії матеріалу на культурі тканин (визначення зон росту, компактної сіткоподібної зон, зони одиничних мігруючих клітин)	+++ не токсично	+++ не токсично	+++ не токсично	Відповідає

Таблиця 6.2

Результати контролю цитотоксичності
спрею «Фітолор-спрей», 281119

1.	Визначення токсичної дії матеріалу на культурі тканин (визначення зон росту, компактної сіткоподібної зон, зони одиничних мігруючих клітин)	+++ не токсично	+++ не токсично	+++ не токсично	Відповідає
----	---	-----------------------	-----------------------	-----------------------	------------

Як бачимо із табл. 6.1 та 6.2, «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» не були токсичними для живих організмів. Адже згідно з проведеними дослідженнями, мікрація фібробластичних елементів при внесенні випробного матеріалу у середовище культивування починалася на третю добу спостережень. Первинна зона формувалася за рахунок одиничних клітин і тяжів. На 7 добу після експлантації відбувалося формування трьох зон росту: компактної, сіткоподібної та зони одиничних мігруючих клітин. Компактна зона була представлена клітинами веретеноподібної та полігональної форми, які щільно прилягали одні до одних. За компактною зоною формувалися пучки і тяжі, що розташовувалися сіткоподібно. Слід зазначити, що ці зони практично не відрізнялися від контролю. На 10 добу культивування відбувалося збільшення зон росту, спостерігалися ознаки дегенерації клітинних елементів у компактній зоні росту. На 14 добу клітинна популяція вступала у фазу вираженої дегенерації з властивими їй змінами, як в контролбних флаконах, що було характерно для даного терміну цієї культури.

6.2 Дослідження подразнюючої дії спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей»

Випробування проводились на кролях породи *Oryctolagus cuniculus*, вагою від 3 до 3,2 кг. За день до проведення випробування обстригали шерсть тваринам на спині та наносили випробуванні розчини у кількості 0,5 см³. Місце з нанесеним розчином накривали серветкою та негерметичною пов'язкою на 4 год. По закінченню часу контакту знімали пов'язку та помічали місце нанесення.

За умови гострого експерименту через 1, 24, 48 та 72 год описували зовнішній вигляд кожного з місць накладання після зняття пов'язок. Для розрахунку використовували результати спостережень через 24, 48 та 72 год. Результат визначали в балах для кожної тварини, після чого виводили середнє для групи. Загальна оцінка результатів випробувань засобів «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» представлена у табл. 6.3-6.4.

Таблиця 6.3

Результати випробувань подразнюючої дії
спрею «Хлорофіліпт-спрей»

Випробуваний матеріал	Індекс первинного подразнення, балів	Вимоги НД, допустимі норми, балів	Відмітка про відповідність
«Хлорофіліпт-спрей», с. 241119	0	0-0,4	відповідає
«Хлорофіліпт-спрей», с. 251119	0	0-0,4	відповідає
«Хлорофіліпт-спрей», с. 261119	0	0-0,4	відповідає
«Хлорофіліпт-спрей», с. 271119	0	0-0,4	відповідає

Таблиця 6.4

Результати випробувань подразнюючої дії
спрею «Фітолор-спрей»

Випробний матеріал	Індекс первинного подразнення, балів	Вимоги НД, допустимі норми, балів	Відмітка про відповідність
«Фітолор-спрей», с. 281119	0	0-0,4	відповідає
«Фітолор-спрей», с. 291119	0	0-0,4	відповідає
«Фітолор-спрей», с. 301119	0	0-0,4	відповідає
«Фітолор-спрей», с. 311119	0	0-0,4	відповідає

Аналізуючи результати табл. 6.3-6.4, бачимо, що серії «Фітолор-спрей» та «Хлорофіліпт-спрей» не чинили подразнюючу дію на шкіру піддослідних тварин. Класифікували реакцію тварин на предмет еритеми і набряку відповідно до системи класифікації:

- еритема відсутня - набряк відсутній;
- слабо виражена еритема - набряк ледь помітний;
- чітко виражена еритема - чітко виражений набряк (краї зони добре визначені завдяки підвищенню над нормальними тканинами);
- помірна еритема - помірний набряк (підвищення приблизно на 1 мм);
- виражена еритема (темно червона) - виражений набряк (підвищення більше ніж на 1 мм, розповсюдження за межі місця експозиції).

Згідно проведених результатів досліджень взірці спреїв «Фітолор-спрей» та «Хлорофіліпт-спрей» не викликали набряку, тобто еритема була відсутньою.

6.3 Дослідження гострої системної токсичності спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей»

Випробування даних засобів проводились на щурах породи *Wistar rat* вагою від 197 до 230 г. Тварин розміщували індивідуально в металевих клітках з зазначеним номером та статтю тварини, реєстраційного номеру випробного матеріалу, дати випробування. Тварин утримували за кімнатної температури. Для випробування використовувалися здорові, молоді статевозрілі тварини. Тварин зважували безпосередньо перед дозуванням та щоденно протягом трьох днів після дозування натще вранці. Випробуваний матеріал вводили за допомогою одноразових стерильних шприців відповідного розміру щурам внутрішньочеревинно одноразово з розрахунку 20 мл/кг маси тіла тварини. Контрольним тваринам вводили 10 % натрію хлориду. Після завершення експерименту тварини підлягали евтаназії та проводилося патологоанатомічне дослідження змін форми, розмірів, кольору органів. Зміна маси не повинна перевищувати відхилення 10 %. Загальна оцінка результатів випробувань представлена у табл. 6.5 та рис.6.1-6.2.

Результати випробувань гострої токсичності спреїв «Хлорофіліпт-спрей»
та «Фітолор-спрей»

Найменування	Маса тварини перед дозуванням, г	Маса тварини через 24 год після дозування, г	Коефіцієнт зміни маси тіла після 24 год після дозування	Маса тварини через 72 год після дозування, г	Коефіцієнт зміни маси тіла після 72 год після дозування, г
Контроль	197,3	213,1	8,0	215,5	9,2
	202,5	215,1	6,2	220,0	8,6
	215,5	220,5	2,1	230,3	6,7
	214,6	220,8	2,9	228,1	6,2
	208,2	215,6	2,9	226,9	8,9
Спрей «Хлорофіліпт», с. 241119	214,5	220,1	2,6	228,7	6,6
	212,3	215,8	1,6	223,5	5,3
	215,8	218,7	1,3	226,6	4,9
	220,9	224,2	1,5	229,7	3,4
	215,4	220,1	2,2	228,3	6,0
«Фітолор-спрей», с. 281119	214,5	220,1	2,6	228,7	6,6
	212,3	215,8	1,6	223,5	5,3
	215,8	218,7	1,3	228,6	4,9
	220,9	224,2	1,5	229,7	3,4
	215,4	220,1	2,2	228,3	6,0

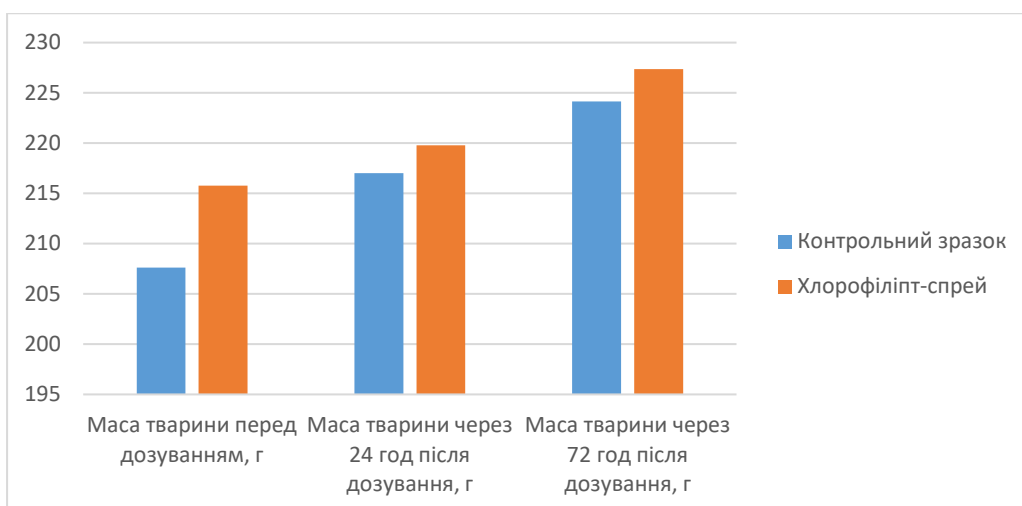


Рис. 6.1 Результати випробувань гострої токсичності спрею «Хлорофіліпт-спрей»

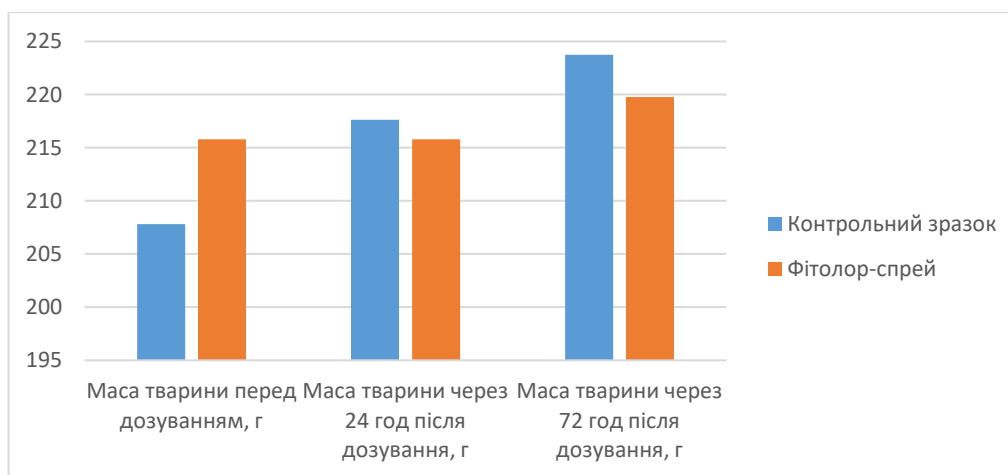


Рис. 6.2 Результати випробувань гострої токсичності спрею «Фітолор-спрей»

Як бачимо із табл. 6.5 та рис. 6.1-6.2, серії спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» не проявляли гострої токсичності.

Проведено візуальні спостереження загального стану тварин (поведінка, рухливість, апетит, стан шкіри та шерстяного покриву, слизових оболонок очей) відразу після введення витяжки а також протягом перших трьох днів після дозування. Загальний стан тварин був задовільним та не відрізнявся від контролю. Зміна маси тіла тварини не перевищувала 10 %.

За результатами паталогоанатомічного дослідження, що проводилися в кінці експерименту після евтаназії, було встановлено, що внутрішньочеревинне введення випробуваних спреїв не викликало макроскопічно видимих змін форми, розмірів, кольору, об'єму та інших показників структури внутрішніх органів. Місце введення розчинів, стан підшкірної клітковини, очеревини та м'язів черевної стінки були без змін та не відрізнялися від контролю.

Висновки до розділу 6

1. Проведено доклінічні дослідження розроблених засобів. Вивчено цитотоксичність на клітинах сполучної тканини ссавців *in vitro* та подразнюючу дію на кролях. «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» виявилися безпечними для живих організмів, побічних реакцій на третю добу не проявлялось.

2. При дослідженні цитотоксичності не спостерігалось змін у структурі культур тканин (визначення зон росту, компактної сіткоподібної зони, зони одиничних мігруючих тканин).

3. Проводили вивчення гострої системної токсичності спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» на піддослідних щурах. У результаті досліджень протягом 72 год не було виявлено коефіцієнту зміни маси тварин.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше теоретично та експериментально обґрунтовано склади, розроблено технології та досліджено препарати «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» на основі густих екстрактів евкаліпту кулястого та моху ісландського для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів.

1. Узагальнено дані щодо питання лікування захворювань верхніх дихальних шляхів, а також щодо сучасної класифікації та стану лікування даних хвороб. Встановлено, що для їх лікування використовуються препарати чотирьох груп згідно АТХ класифікації. Проаналізовано та систематизовано дані літературних джерел щодо об'єктів дослідження: евкаліпту кулястого листя та моху ісландського слані, а саме наведено ботанічні характеристики, хімічний склад, застосування даної сировини. Опрацьовані літературні джерела свідчать про доцільність використання ЛРС досліджуваних рослин для розробки нових лікарських засобів.

2. Досліджено асортимент ЛЗ вітчизняного ринку щодо наявності препаратів, що застосовуються для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів, а також з вмістом моху ісландського та евкаліпту кулястого з урахуванням складу, діючих речовин, форм випуску, виробників. Встановлено, що на ринку України зареєстровано 187 лікарських засобів, які застосовуються при захворюваннях порожнини носа, з них 48,31 % виготовлені на фармацевтичних підприємствах України. Досліджено, що 26 % з групи препаратів, що застосовуються при захворюваннях горла, представлені у вигляді спреїв та аерозолів. Встановлено, що зареєстровано 138 найменувань засобів для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів, 21,01 % з яких складають препарати, виготовлені в Україні. Досліджено, що 62 % серед відхаркувальних ЛЗ займають препарати синтетичного походження і лише 34 % - рослинного.

3. Вивчено фармако-технологічні властивості ЛРС евкаліпту кулястого листя та моху ісландського слані, а саме: здібненість ЛРС, вологість, насипна

густина до та після усадки, здатність до усадки, коефіцієнти набухання та поглинання.

4. Обґрунтовано метод та оптимальні умови екстрагування хлорофілів та ефірної олії з ЛРС евкаліпту кулястого: екстрагент - 96 % спирт етиловий, співвідношення сировина:екстрагент 1:5, метод екстракції - ремацерація з перемішуванням протягом 20 год, розмір фракцій ЛРС - 2 мм), згущення рідкого екстракту при температурі 50-60 °С та розрідженні вакууму - 0,8 кгс/см², очищення органічного шару за допомогою етилацетату, модифікація хлорофілів 4 %-вим купрум сульфатом для підвищення антибактеріальної активності екстракту, промивка органічного шару водою очищеною у співвідношенні 10:1, випаровування етилацетату із екстракту евкаліпту кулястого листа до залишкового вмісту не більше 0,5 %. Для екстракції моху ісландського *Cetraria islandica* слані використовували воду питну у співвідношенні кількості сировини до екстрагента 1:20. Екстракцію проводили методом ремацерації з перемішуванням протягом чотирьох годин при температурі 50-55 °С та при використанні сировини, подрібненої до частинок розміром від 0,1 до 0,4 мм. Згущення рідкого екстракту проводили при діапазоні температури 85-95 °С. Встановлено, що поступове збільшення вмісту полісахаридів у екстракті моху ісландського слані спостерігається до 4-ої ї год.

5. За допомогою методів математичного планування, а саме чотирьохфакторного експерименту на осові двох рівнів з повторами, та статистичної обробки результатів дослідження вивчено 4 групи ДР (розчинники, співрозчинники, ПАР та коригенти смаку) та їх вплив на фармако-технологічні властивості спрею «Хлорофіліпт-спрей» (антимікробна активність, прозорість, смак та однорідність маси). За результатами досліджень здійснено вибір кращих ДР: спирт етиловий 96 %, пропіленгліколь. На підставі статистичної обробки встановлено склад спрею в перерахунку на 100 мл: 0,2 г екстракту евкаліпту кулястого густого, 14 мл етилового спирту 96 % та 86 мл пропіленгліколю. Поєднання різних класів ДР для спрею «Фітолор-спрей» підбирали за допомогою чотирьохфакторного плану дисперсійного аналізу на двох рівнях з повторними

дослідами. Досліджено 4 групи ДР, а саме: розчинники, співрозчинники, ПАР та мукоадгезивні речовини. Згідно результатів досліджень обрано кращі ДР: спирт етиловий 96 %, пропіленгліколь, твін-80 та ксантанова камедь. На основі даних чотирьохфакторного експерименту дисперсійного аналізу встановлено залежності впливу кожної з ДР на дозування, кількісний вміст полісахаридів, смак та густину спрею. В результаті досліджень встановлено оптимальний склад спрею «Фітолор-спрей» в перерахунку на 100 мл: 0,2 г екстракту евкаліпту кулястого густого, 6 г моху ісландського екстракту густого, 14 мл етилового спирту 96 %, 72 мл пропіленгліколю, 7 мл води очищеної, 0,75 г твіну-80 та 0,05 г ксантанової камеді.

6. Запропоновано методики ідентифікації та кількісного визначення БАР у сировині, екстрактах та готових формах на основі моху ісландського *Cetraria islandica* слані та евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* листя. Для *Eucalyptus globulus* ідентифікаційним критерієм якості для сировини та готової форми обрано присутність на хроматограмах зони 1,8-цинеолу та спектр поглинання хлорофілів, для екстракту – спектр поглинання хлорофілів. Кількісним критерієм якості для сировини обрано суму хлорофілів (не менше 0,1 %) та вміст ефірної олії (не менше 15 мл/кг), екстракту та готової форми – кількість суми хлорофілів (не менше 0,5 та $9 \cdot 10^{-4}$ % відповідно). Для *Cetraria islandica* речовинами для сертифікації обрано глюкозу та фумарову кислоту. Кількісною характеристикою для моху ісландського було обрано вміст полісахаридів, який становив для слані 1,08 %, густого екстракту 6-8 % та готової форми 0,2 %.

7. На підставі сучасних фармакопейних вимог і отриманих фармако-технологічних та фізико-хімічних характеристик, розроблено та обґрунтовано специфікацію на спрей «Хлорофіліпт-спрей», до якої входять такі показники якості: опис, ідентифікація, густина, обсяг вмісту упаковки, однорідність маси, МБЧ, антибактеріальна активність, кількісне визначення спирту етилового та хлорофілів. Проведено дослідження антибактеріальної активності лікарського засобу «Хлорофіліпт-спрей», який виявляв антимікробну активність стосовно *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteum*, *Candida tenuis* та

Aspergillus niger. Вивчено антиоксидатну активність спрею і встановлено, що ефективна концентрація IC_{50} для готової форми «Хлорофіліпт-спрей», визначена методом ABTS, дорівнює 0,55 мг/мл, а методом DPPH - 0,16 мг/мл. Для спрею «Фітолор-спрей» встановлено наступні показники якості: опис, ідентифікація та кількісне визначення полісахаридів, МБЧ, антибактеріальна активність стосовно тест культури *Staphylococcus aureus*.

8. Здійснено вибір оптимального виду упаковки для готових спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей», а саме обрано пластиковий флакон та механічний розпилювач. На основі результатів дослідження стабільності запропоновано умови зберігання препарату - при температурі не вище 25 °С; термін придатності - 2 роки.

9. Проведено доклінічні дослідження розроблених засобів. Вивчено цитотоксичність на клітинах сполучної тканини ссавців *in vitro* та подразнюючу дію на кролях. «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» виявилися безпечними для живих організмів, побічних реакцій на третю добу не проявлялось. При дослідженні цитотоксичності не спостерігалось змін у структурі культур тканин (визначення зон росту, компактної сіткоподібної зони, зони одиничних мігруючих тканин). Також проводили вивчення гострої системної токсичності спреїв «Хлорофіліпт-спрей» та «Фітолор-спрей» на піддослідних щурах. У результаті досліджень протягом 72 годин не було виявлено коефіцієнту зміни маси тварин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abd El-Mageed A.A., Osman A.K., Tawfik A.Q., Mohammed H.A. Chemical composition of the essential oils of four *Eucalyptus* species (Myrtaceae) from Egypt. *Research Journal of Phytochemistry*. 2011. № 5. P. 115-122.
2. Abdo B.M. Physico-chemical profile and antioxidant activities of *Eucalyptus globulus* Labill and *Eucalyptus citriodora* essential oils in Ethiopia. *Medicinal and Aromatic Plants*. 2019. V. 8. № 2. P. 1-4.
3. Abirami S., Nishanthini K., Poonkothai M. Antimicrobial activity and phytochemical screening of the leaf extracts of *Eucalyptus globulus*. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2017. V. 9. № 5. P. 85-89.
4. Adenubi O.T., Abolaji A.O., Salihu T., Akande F.A., Lawal H. Chemical composition and acaricidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil against the vector of tropical bovine piroplasmiasis, *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Hassan Experimental and Applied Acarology*. 2021. V. 83. P. 301-312.
5. Airaksinen M.M., Peura P., Antere S. Toxicity of Iceland Lichen and Reindeer Lichen. *Archives of Toxicology*. 1986. № 9. P. 406-409.
6. Ajobli M., Eddouks M. *Eucalyptus globulus* possesses antihypertensive activity in L-NAME-induced hypertensive rats and relaxes isolated rat thoracic aorta through nitric oxide pathway. *Natural product research*. 2019. P. 1-4.
7. Ali K., Bilal A., Ansari S.M., Saquib Q., Al-Khedhairi A.A., Dwivedi S. et. al. Comparative in situ ROS mediated killing of bacteria with bulk analogue, *Eucalyptus* leaf extract (ELE)-capped and bare surface copper oxide nanoparticles. *Materials Science & Engineering C*. 2019. V. 100. P. 747-758.
8. Amakura Y., Sumiko Y.U., Hatano T., Yoshida T., Tonogai Y. Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive. *Food Chemistry*. 2002. V. 77. № 1. P. 47-56.
9. Amakura Y., Yoshimura M., Sugimoto N., Yamazaki T., Yoshida T. Marker Constituents of the Natural Antioxidant *Eucalyptus* Leaf Extract for the Evaluation

- of Food Additives. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2009. V. 73. № 5. P. 1060-1065.
10. Andaloro C., Santagati M., Stefani S., Mantia I. Bacteriotherapy with *Streptococcus salivarius* 24SMB and *Streptococcus oralis* 89a oral spray for children with recurrent streptococcal pharyngotonsillitis: a randomized placebo-controlled clinical study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2019. P. 1-9.
 11. Ao-xin L., Xin-cun H., Jia-jia Z., Yun W. Chemical composition analysis of Eucalyptus essential oil and allelopathic effects of α -terpineol. *Yingyong Shengtai Xuebao*. 2020. V. 31. № 7. P. 59-65.
 12. Assessment report on *Cetraria islandica* (L.) Acharius s.l., thallus: EMA/HMPC/36866/2014. London, 2014. P. 1-34.
 13. Atmani-Merabet G., Fellah S., Belkhiri A. Comparative study of two Eucalyptus species from Algeria: chemical composition, toxicity and acaricidal effect on *Varroa destructor*. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2020. V. 33. № 3. P. 144-148.
 14. Bag valve for aerosol cans has flexible bag which is rolled around valve but elongates as it is filled, flaps at base being folded inwards and bag being held in rolled position by label with rupturable perforated lines: pat. FR2895735 A1. France. № B65 D 83/44 (2006.01); appl. 30.12.2005; publ. 06.07.2007. 28 p.
 15. Barry K.M., Davies N.W., Mohammed C.L. Identification of Hydrolysable Tannins in the Reaction Zone of Eucalyptus nitens Wood by High Performance Liquid Chromatography - Electrospray Ionisation Mass Spectrometry. *Phytochemical analysis*. 2001. № 12. P. 120-127.
 16. Bey-Ould Si Said Z., Slimani S., Remini H., Idir-Himed H., Mazauric J.P., Madani K. et. al. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Eucalyptus globulus*: A comparative study between fruits and leaves extracts. *SDRP Journal of Chemical Engineering & Bioanalytical Chemistry*. 2016. V.1. №1. P. 1-10.
 17. Bhattacharyya S., Deep P.R., Singh S., Nayak B. Lichen Secondary Metabolites and Its Biological Activity. *American Journal of PharmTech Research*. 2016. V. 6. № 6. P. 28-43.

18. Bokaeian M., Nakhaee A., Moodi B., Ali Khazaei H. Eucalyptus globulus (eucalyptus) treatment of *Candida albicans* in normal and diabetic rats. *Iran Biomed Journal*. 2010. V. 14. № 3. P. 121-126.
19. Borisova K.L., Pelageev D.N., Kochergina T.Yu., Pokhilo N.D., Pushilin M.A., Denisenko V.A. et. al. Concerning the Structure of Islandoquinone Isolated from the Lichen *Cetraria islandica*. *Natural Product Communications*. 2014. V. 9. № 6. P. 837-840.
20. Boukhatem M.N., Amine F.M., Kameli A., Saidi F., Walid K., Mohamed S.B. Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*. 2014. V. 36. P. 303-315.
21. Boukhatem M.N., Boumaiza A., Nada A., Rajabi M., Mousa S.A. Eucalyptus globulus Essential Oil as a Natural Food Preservative: Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Properties In Vitro and in a Real Food Matrix (Orangina Fruit Juice). *Applied Sciences*. 2020. № 10. P. 1-17.
22. Boulekbache-Makhlouf L., Meudec E., Mazauric J.P., Madania K., Cheynierb V. Qualitative and Semi-quantitative Analysis of Phenolics in Eucalyptus globulus Leaves by High-performance Liquid Chromatography Coupled with Diode Array Detection and Electrospray Ionisation Mass Spectrometry. *Phytochemical analysis*. 2012. V. 24. № 2. P. 162-170.
23. Braga N.S.M., Silva M.C., Cunha A.L., Sant'Ana A.E.G., Pires L.L.S., Santos A.F. Chemical characterization and biological potential of the essential oil of *Eucalyptus globulus* Labill. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2018. № 6. P. 979-988.
24. Brezani V., Lelakova V., Hassan S.T.S., Berchova-Bimova K., Novy P., Kloucek P. et. al. Anti-infectivity against herpes simplex virus and selected microbes and anti-inflammatory activities of compounds isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. *Viruses*. 2018. V. 10. № 7. P. 1-18.
25. Candan M., Yilmaz M., Tay T., Erdem M., Türk A.O. Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Parmelia sulcata* and its salazinic acid constituent. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2015. V. 62. № 7-8. P. 619-621.

26. Celeiro M., Lamas J.P., Arcas R., Lores M. Antioxidants Profiling of By-Products from Eucalyptus Greenboards Manufacture. *Antioxidants*. 2019. № 8. P. 1-16.
27. Cerasoli S., Caldeira M.C., Pereira, J.S., Caudullo G., Rigo D. *Eucalyptus globulus* and other eucalypts in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*. 2016. P. 90-91.
28. Chowdhury D.P., Solhaug K.A., Gauslaa Y. Ultraviolet radiation reduces lichen growth rates. *Symbiosis*. 2017. V. 73. P. 27-34.
29. Çobanoğlu G., Sesal C., Gökme B., Çakar S. Evaluation of the Antimicrobial properties of some lichens. *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*. 2010. V. 1. № 2. P. 153-158.
30. Colak S., Geyikoglu F., Bakır T. O., Turkez H., Aslan A. Evaluating the toxic and beneficial effects of lichen extracts in normal and diabetic rats. *Toxicology and Industrial Health*. 2015. P. 1-10.
31. Çolak S., Geyikoglu F., Türkez H., Bakır T.Ö., Aslan A. The ameliorative effect of *Cetraria islandica* against diabetes-induced genetic and oxidative damage in human blood. *Pharmaceutical Biology*. 2013. V. 51. № 12. P. 1531-1537.
32. Cuong T.V., Thoa N.T. Bioactive Compounds from Lichens as Promising Biomaterial for the Treatment of Influenza Virus: A Review. *Journal of Scientific Research & Reports*. 2018. V. 18. № 4. P. 1-15.
33. Daroui-Mokaddem H., Kabouche A., Bouacha M., Soumati B., El-Azzouny A. et al. GC/MS analysis and antimicrobial activity of the essential oil of fresh leaves of *Eucalyptus globulus*, and leaves and stems of *Smyrniolum olusatrum* from Constantine (Algeria). *Nat Prod Commun*. 2010. № 5. P. 1669-1672.
34. De Jesus E.E., Hur J.S., Notarte K.I.R., Santiago K.A.A., Cruz T.E.E. Antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities of the corticolous lichens *Canoparmelia aptata*, *Pannaria* sp., and *Parmotrema gardneri* collected from Mt. Banahaw, Quezon, Philippines. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*. 2016. V. 6. № 3. P. 173-183.
35. Dezsı S., Bădărău A.S., Bischin C., Vodnar D.C., Silaghi-Dumitrescu R., Gheldiu A.M. et.al. Antimicrobial and antioxidant activities and phenolic profile of

- Eucalyptus globulus Labill. and Corymbia ficifolia (F. Muell.) KD Hill & LAS Johnson leaves. *Molecules*. 2015. № 20. P. 4720-4734.
36. Dhanush H.C., Malashetti S., Chandrashekharayya S.H., Khavasi P. Comparative study of fluticasone propionate combined with azelastine versus fluticasone propionate alone as nasal spray in allergic rhinitis. *International Journal of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery Malashetti S et. al.* 2021. V. 7. № 3. P. 487-492.
 37. Diakon I., Stadnytska N., Novikov V. Alternative methods for replacing propellants in the medical form spray. *Chemical technology and engineering : 2-nd International scientific conference, Lviv, 24-28.06.2019.* Lviv, 2019. P. 392-393.
 38. Döll-Boscardin P.M., Sartoratto A., Lameiro de Noronha Sales Maia B.H., Padilha de Paula J., Nakashima T., Farago P.V. et.al. In vitro cytotoxic potential of essential oils of *Eucalyptus benthamii* and its related terpenes on tumor cell lines. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012. V. 2012. P. 2-8.
 39. Dolovich M.A., MacIntyre N.R. Consensus statement: aerosols and delivery devices. *Respiratory Care*. 2000. V. 45. № 6. P. 1-22.
 40. Edwards D.A., Li W. Aerosol particle transport and deaggregation phenomena in the mouth and throat. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997. V. 26. № 1. P. 41-49.
 41. El Omari K., Hamze M., Alwan S., Osman M., Jama C., Chihib N.E. In-vitro evaluation of the antibacterial activity of the essential oils of *Micromeria barbata*, *Eucalyptus globulus* and *Juniperus excelsa* against strains of *Mycobacterium tuberculosis* (including MDR), *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium gordonae*. *Journal of infection and public health*. 2019. V. 12. № 5. P. 615-618.
 42. Elaïss A., Rouis Z., Salem N.A.B., Mabrouk S., Salem Y., Salah K.B.H. et. al. Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012. V. 12. № 81. P. 2-15.
 43. Elaïssi A., Moumni S., Roeleveld K., Khoujac M.L. Chemical Characterization of Five Tunisian *Eucalyptus* Essential Oils Species. *Chemistry and Biodiversity*. 2020. № 17. P. 1-11.

44. El-Rokiek K.G., Dawood M.G., Sadak M.S., El-Sayed El-Awadi M. The effect of the natural extracts of garlic or Eucalyptus on the growth, yield and some chemical constituents in quinoa plants. *Bulletin of the National Research Centre*. 2019. V. 43. P. 1-7.
45. Emmerson K.M., Galbally I.E., Guenther A.B., Paton-Walsh C., Guerette E.A., Cope M.E. et. al. Current estimates of biogenic emissions from eucalypts uncertain for southeast Australia. *Atmos. Chem. Phys.* 2016. № 16. P. 6997-7011.
46. EudraLex. - The Rules Governing Medicinal Products in the European. - Volume 4. EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal for Human and Veterinary Use http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index_en.htm.
47. European Pharmacopoeia. 7 th. ed. Strasbourg: Council of Europe. 2019. 740 p.
48. Fentahun M., Ayele Y.B., Amsalu N., Alemayehu A., Amsalu G. Antibacterial evaluation and phytochemical analysis of selected medicinal plants against some pathogenic enteric bacteria in Gozamin District, Ethiopia. *Journal of Pharmacovigilance*. 2017. V. 5. № 5. P.1-6.
49. Fern'andez-Moriano C., Divakar P.K., Crespo A., G'omez-Serranillo M.P. In vitro neuroprotective potential of lichen metabolite fumarprotocetraric acid via intracellular redox modulatio. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2016. P. 1-44.
50. Fito I., Stadnytska N. Standardization of *Eucalyptus globulus* leaves and *Cetraria islandica* slan. *Journal Eureka: Health sciences*. 2021. № 2. P. 56-63.
51. Freysdottir J., Omarsdottir S., Ingólfssdóttir K., Víkingsson A., Ólafsdóttir E.S. In vitro and in vivo immunomodulating effects of traditionally prepared extract and purified compounds from *Cetraria islandica*. *International Immunopharmacology*. 2008. V. 8. P. 423-430.
52. G'omez-Serranillos M.P., Fern'andez-Moriano C., Gonz'alez-Burgos E., Divakarb P.K., Crespo A. Parmeliaceae family: phytochemistry, pharmacological potential and phylogenetic features. *RSC Advances*. 2014. V. 4. P. 59017-59047.
53. Ghaffar A., Yameen M., Kiran S., Kamal S., Jalal F., Munir B. et. al. Chemical composition and in-vitro evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities

- of essential oils extracted from seven *Eucalyptus* species. *Molecules*. 2015. № 20. P. 20487-20498.
54. Ghareeb M.A., Habib M.R., Mossalem H.S., Abdel-Aziz M.S. Phytochemical analysis of *Eucalyptus camaldulensis* leaves extracts and testing its antimicrobial and schistosomicidal activities. *Bulletin of the National Research Centre*. 2018. V. 42. № 16. P. 1-9.
 55. Ghareeb M.A., Sobeh M., El-Maadawy W.H., Mohammed H.Sh., Khalil H., Botros S. et.al. Chemical profiling of polyphenolics in *Eucalyptus globulus* and evaluation of its hepato-renal protective potential against cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Antioxidants*. 2019. № 8. P. 1-19.
 56. Ghoshal G., Singh D. Synthesis and characterization of starch nanocellulosic films incorporated with *Eucalyptus globulus* leaf extract. *International Journal of Food Microbiology*. 2020. V. 332. P. 1-13.
 57. Giordani P., Minganti V., Brignole D., Malaspina P., Cornara L., Drava G. Is there a risk of trace element contamination in herbal preparations? A test study on the lichen *Cetraria islandica*. *Chemosphere*. 2017. V. 181. P. 778-785.
 58. Godoi S.N., Quatrin P.M., Sagrillo M.R., Nascimento K., Wagner R., Klein B. et. al. Evaluation of stability and in vitro security of nanoemulsions containing *Eucalyptus globulus* oil. *BioMed Research International*. 2017. P. 1-12.
 59. Göger G., Karaca N., Altınbaşak B.B., Demirci B., Demirci F. In vitro antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory evaluation of *Eucalyptus globulus* essential oil. *Natural volatiles and essential oils*. 2020. V. 7. № 3. P. 1-11.
 60. Gonzalez-Burgos E., Liaudanskas M., Viskelis J., Zvikas V., Janulis V., Gomez-Serranillos M.P. Antioxidant activity, neuroprotective properties and bioactive constituents analysis of varying polarity extracts from *Eucalyptus globulus* leaves *Journal of Food and Drug Analysis*. 2018. V. 26. № 4. P. 1293-1302.
 61. Grujicic D., Stosic I., Kosanic M., Stanojkovic T., Rankovic B., Milosevic-Djordjevic O. Evaluation of in vitro antioxidant, antimicrobial, genotoxic and anticancer activities of lichen *Cetraria islandica*. *Cytotechnology*. 2014. V. 66. P. 803-813.

62. Guideline on the Pharmaceutical Quality of Inhalation and Nasal Products: EMEA/CHMP/QWP/49313/2005. London, 2005. 27 p.
63. Gülçin I., Oktay M., Küfrevioğlu Ö.I., Aslan A. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002. V. 79. № 3. P. 325-329.
64. Gullón B., Muñiz-Mouro A., Lú-Chau T.A., Moreira M.T., Lema J.M., Eibes G. Green approaches for the extraction of antioxidants from eucalyptus leaves. *Industrial Crops & Products*. 2019. V. 138. P. 1-8.
65. Güven C., Taşkın E., Yumrutaş Ö., Şener L.T., Özay Y., Dal F. et. al. The Anticancer Activity of *Cetraria islandica* (L.) Ach in Breast Cancer Cells Through Crosstalk of Ampk- α 1 and Erk1/2 Signalling. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. 2018. V. 6. № 6. P. 783-791.
66. Hadjer T., Houria M., Assia A., Rachida M. Essential oil of Algerian *Eucalyptus citriodora*: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Nature and Technology*. 2017. P. 19-27.
67. Hagiwara K., Wright P.R., Tabandera N.K., Kelman D., Backofen R., Ómarsdóttir S. et. al. Comparative analysis of the antioxidant properties of Icelandic and Hawaiian lichens. *Environmental Microbiology*. 2016. V. 18. № 8. P. 2289-2771.
68. Hang J., An M., Wu H., Liu D.L., Stanton R. Chemical composition of essential oils of four Eucalyptus species and their phytotoxicity on silverleaf nightshade (*Solanum elaeagnifolium* Cav.) in Australia. *Plant Growth Regulation*. 2012. V. 68. P. 231-237.
69. Harkat-Madouri L., Asma B., Madani K., Said Z.B-O.S., Rigou P., Grenier D. et. al. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Industrial Crops and Products*. 2015. V. 78. P. 148-153.
70. Ho C.L., Li L.H., Weng Y.C., Hua K.F., Ju. T.C. *Eucalyptus* essential oils inhibit the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages through reducing MAPK and NF- κ B pathways. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2020. № 20. P. 1-11.

71. Hosny K.M., Sindi A.M., Bakhaider R.B., Zaki R.M., Abualsunun W.A., Alkhalidi H.M. et. al. Formulation and Optimization of Neomycin Sulfate-Thioctic Acid Loaded in a Eucalyptus Oil Self-Nanoemulsion to Enhance the Beneficial Activity of the Substances and Limit the Side Effects Associated with the Treatment of Hepatic Coma. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020. P. 1-22.
72. Huneck S. New Results on the Chemistry of Lichen Substances. Saalkreis: Langenbogen, 2000. 256 p.
73. Huneck S., Yoshimura I. Identification of Lichen Substances. *Springer*. 1996. P. 11-123.
74. Ingolfssdottir K. Bioactive compounds from Iceland moss. *Bioactive Carbohydrate Polymers*. 2000. P. 25-36.
75. Iwu M.M. Handbook of African Medicinal Plants. London: CRC Press, 2014. 365 p.
76. Jerbi A., Derbali A., Elfeki A., Kammoun M. Essential Oil Composition and Biological Activities of Eucalyptus globulus Leaves Extracts from Tunisia. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*. 2017. V. 20. № 2. P. 438-448.
77. Jiang X., Ward T.L., Cheng Y.S., Liuc J., Brinker C.J. Aerosol fabrication of hollow mesoporous silica nanoparticles and encapsulation of L-methionine as a candidate drug cargon. *Chem. Commun.* 2010. V. 46. P. 3019-3021.
78. Jiang X., Ward T.L., Swol F., Brinker C.J. Numerical Simulation of Ethanol-Water-NaCl Droplet Evaporation. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2010. V. 49. № 12. P. 5631-5643.
79. Joshi A., Sharma A., Bachheti R.K., Pandey D.P.A Comparative study of the chemical composition of the essential oil from *Eucalyptus globulus* growing in Dehradun (India) and around the world. *Oriental Journal of Chemistry*. 2016. V. 32. № 1. P. 331-340.
80. Karagöz A., Dogruöz N., Zeybek Z., Aslan A. Antibacterial activity of some lichen extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2009. V. 3. № 12. P. 1034-1039.
81. Karthikai Devi G., Anantharaman P., Kathiresan K., Balasubramanian T. Antimicrobial activities of the lichen *Roccella belangeriana* (Awasthi) from mangroves of Gulf of Mannar. *NISCAIR-CSIR*. 2011. V. 40. № 3. P. 449-453.

82. Kato E., Kawakami K., Kawabata J. Macrocyclic C isolated from *Eucalyptus globulus* inhibits dipeptidyl peptidase 4 in an aggregated form. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2018. V. 33. №1. P. 106-109.
83. Kaur G., Uddin I.M., Aulakh J.S. An approach on phytochemistry and pharmacological studies of *Eucalyptus globulus* plant parts. *Research Journal of Material Sciences*. 2017. V. 5. № 4. P. 1-9.
84. Kaur S., Gupta Dr. S., Gautam P.B. Phytochemical analysis of *Eucalyptus* leaves extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2019. V.8. № 1. P. 2442-2446.
85. Kononenko G.P., Burkin A. A. Distribution of Mycotoxins and Usnic Acid in the Thalli of Epigeous Lichens. *Biology Bulletin*. 2015. V. 42. № 3. P. 213-219.
86. Kumar S.K.S., Prakash C., Ramesh P., Sukumar N., Balaji J., Palaniswamy N.K. Study of Wound Dressing Material Coated with Natural Extracts of *Calotropis Gigantea*, *Eucalyptus Globulus* and Buds of *Syzygium Aromaticum* Solution Enhanced with rhEGF (REGEN-D™ 60). *Journal of Natural Fibers*. 2020. P. 1-14.
87. Laoong-u-thai Y., Mongkholrattanasit R. The Evaluation of *Eucalyptus* Leaf Extract for Dyeing and Its Antibacterial Properties on Silk and Wool Fabrics. *KMITL science and technology journal*. 2013. V. 13. № 2. P. 76-81.
88. Li A., Wu H., Feng Y., Deng S., Hou A., Che F. et. al. A strategy of rapidly screening out herbicidal chemicals from *Eucalyptus* essential oils. *Pest Management Science*. 2020. № 76. P. 917-927.
89. Li X., Xue M., Raabe O.G., Aaron H.L., Eisen E.A., Evans J.E. et.al. Aerosol droplet delivery of mesoporous silica nanoparticles: A strategy for respiratory-based therapeutics. *Nanomedicine*. 2015. V. 11. № 6. P. 1177-1385.
90. Longest W. P., Holbrook L.T. In silico models of aerosol delivery to the respiratory tract - Development and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012. V. 64. № 4. P. 296-311.
91. Lou C.W., Hsieh M.C., Lu C.T., Lai M.F., Lee M.C., Shiu B.C. et. al. Evaluation of Repellent Effectiveness of Polyvinyl Alcohol/*Eucalyptus globulus* Nanofibrous Membranes against *Forcipomyia taiwana*. *Polymers (Basel)*. 2020. V. 12. № 4. P. 1-12.

92. Mahmoudzadeh-Sagheb H., Heidari Z., Bokaeian M., Moudi B. Antidiabetic effects of *Eucalyptus globulus* on pancreatic islets: A stereological study. *Folia Morphologica*. 2010. V. 69. № 2. P. 112-118.
93. McDermott K., Oakley J.G. Droplet Size and Distribution of Nebulized 3% Sodium Chloride, Albuterol, and Epoprostenol by Phase Doppler Particle Analyzer. *Current Therapeutic Research*. 2021. V. 94. P. 1-6.
94. Mekonnen A., Yitayew B., Tesema A., Taddese S. *In vitro* antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International Journal of Microbiology*. 2016. V. 2016. P. 1-9.
95. Merabet-Atmani G., Belkhiri A., Dems M.A., Lalaouna A., Khalifaoui Z., Mosbah B. Chemical composition, toxicity, and acaricidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil from Algeria. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2018. V. 31. № 2. P. 89-93.
96. Merghni A., Noumi E., Hadded O., Dridi N., Panwar H., Ceylan O. et. al. Assessment of the antibiofilm and antiquorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* essential oil and its main component 1,8-cineole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Microbial Pathogenesis*. 2018. V. 118. P. 74-80.
97. Method for preparing a hair and scalp condition-enhancing composition with increased efficacy of blending aroma oil: pat. CN10307954 0A. China. № CN2011800332266A. appl. 29.06.2011; publ. 01.05.2013. 28 p.
98. Mishra G.K., Nayaka S., Upreti D.K., Kondratyuk S.Y. Species and Chemical Diversity in Lichen Family Teloschistaceae, and their Bioprospecting Potential: A Review in Indian Context. *Cryptogam Biodiversity and Assessment*. 2018. V. 3. № 2. P. 2456-0251.
99. Mitrović T., Stamenković S., Cvetković V., Tošić S., Stanković M., Radojević I. et. al. Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Five Lichen Species. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011. № 12. P. 5428-5448.
100. Mota V.S., Turrini R.N.T., Poveda V.B. Antimicrobial activity of *Eucalyptus Globulus* oil, xylitol and papain: a pilot study. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*. 2015. V. 49. № 2. P. 215-219.

101. Nagpal N., Shah G., Arora M.N., Shri R., Arya Y. Phytochemical and pharmacological aspects of *Eucalyptus* genus. *International journal of pharmaceutical sciences and research*. 2010. V. 1. № 12. P. 28-36.
102. Nigussie G., Werede Y. Chemical Profile and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Eucalyptus globulus* Leaves from Haramaya Campus and Entoto Park, Ethiopia. *To Chemistry Journal*. 2020. V. 6. P. 187-198.
103. Nile S.H, Keum Y.S. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and antitumor activities of *Eucalyptus globulus* Labill. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2018. V. 56. P. 734-742.
104. Noakes T. Medical aerosol propellants. *Journal of Fluorine Chemistry*. 2002. V. 118. № 1. P. 35-45.
105. Nollet L.M.L., Rathore H.S. Green pesticides handbook essential oils for pest control. London: CRC Press, 2017. P. 44-58.
106. Nowak N., Kakade P.P., Annapragada A.V. Computational Fluid Dynamics Simulation of Airflow and Aerosol Deposition in Human Lungs. *Annals of Biomedical Engineering*. 2003.V. 31. P. 374-390.
107. Nwabor O.F., Singh S., Marlina D., Voravuthikunchai S.P. Chemical characterization, release, and bioactivity of *Eucalyptus camaldulensis* polyphenols from freeze-dried sodium alginate and sodium carboxymethyl cellulose matrix. *Food Quality and Safety*. 2020. № 4. P. 203-212.
108. Nybakken L., Solhaug K.A., Bilger W., Gauslaa Y. The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats. *Oecologia*. 2004. V. 140. P. 211-216.
109. Olayinka A.J., Olawumi O.O., Olalekan A.M., Abimbola A.S., Idiat I.D., Theophilus O.A. Chemical composition, antioxidant, and cytotoxic effects of *Eucalyptus globulus* grown in north-central Nigeria. *Journal of natural product and plant resources*. 2012. V. 2. № 1. P. 1-8.
110. Onuṭ-Brännström I., Benjamin M., Scofield D.G., Heiðmarsson S., Andersson M.G.I., Lindström E.S. et. al. Sharing of photobionts in sympatric populations of

- Thamnolia and Cetraria lichens: evidence from high-throughput sequencing. *Scientific reports*. 2018. V. 8. P. 1-14.
111. Padhi S., Masi M., Panda S.K., Luyten W., Cimmino A., Tayung K. Antimicrobial secondary metabolites of an endolichenic *Aspergillus niger* isolated from lichen thallus of *Parmotrema ravum*. *Natural Product Research*. 2019. P. 1-9.
112. Pan M., Lei Q., Zang N., Zhang N., Zhang H. Strategy Based on GC-MS/MS, UPLC-MS/MS and Virtual Molecular Docking for Analysis and Prediction of Bioactive Compounds in *Eucalyptus Globulus* Leaves. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. V. 20. P. 1-16.
113. Pan M., Lei Q., Zhang H. Prediction and confirmation of active ingredients in *Eucalyptus globulus* Labill leaves. *Industrial Crops & Products*. 2020. V. 154. P. 1-6.
114. Parizadeh H., Garampalli R.H. Physiological and chemical analysis for identification of some lichen extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2017. V. 6. № 5. P. 2611-2621.
115. Pathak V., Kumar S.A. Comparative Study of Phytoconstituents, Antioxidant activity and Hptlc finger printing of methanolic extracts of *E. Globules* and *E. Hybrid*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2015. № 4. P. 136-139.
116. Patriche S., Ghinea I.O., Adam G., Gurau G., Furdui B., Dnica R.M. Characterization of Bioactive Compounds from Romanian *Cetraria islandica* (L) Ach. *Revista de chimie (Bucharest)*. 2019. V. 70. № 6. P. 2186-2192.
117. Pengelly A. *Eucalyptus* - herbal medicine and essential oil. 2018. *Aromatherapy Today*. 2018. V. 71. P. 8-11.
118. Pharmaceutical Composition Comprising *Cetraria Islandica* Ach., Sodium Hyaluronate And A Saline Solution For Treating Ailments Of The Respiratory System: pat. EP. 3257516A1. Italy. № 17176138.0; appl. 15.05.2016; publ. 14.06.2017, IT UA20164387. 2 c.
119. Pharmaceutical composition comprising *Cetraria islandica* ach., sodium hyaluronate and a saline solution for treating ailments of the respiratory system: pat. EP3257516 A1. European Patent Organization. № 17176138.0; appl. 14.06.2017; publ. 20.12.2017. 13 p.

120. Pharmaceutical inhalation aerosol technology / Ed. Anthony J. Hickey, Sandro R. da Rocha. 3rd ed. CRC Press, 2019. 730 p.
121. Podterob A.P. Chemical composition of lichens and their medical applications. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2008. V. 42. № 10. P. 582-588.
122. Puig C.G., Reigosa M.J., Valentao P., Andrade P.B., Pedrol N. Unravelling the bioherbicide potential of *Eucalyptus globulus* Labill: Biochemistry and effects of its aqueous extract. *PLOS One*. 2018. V. 13. № 2. P. 1-16.
123. Qiao-Mei L., Yong W., Jin-Hai Y., Yun-Lai L., Xue W., Xiao-Ru H. et. al. Tyrosinase inhibitors from the leaves of *Eucalyptus globulus*. *Fitoterapia*. 2019. V. 139. P. 1-17.
124. Ramya K., Thirunalasundari T. Lichens: A myriad hue of Bioresources with medicinal properties. *International Journal of Life Sciences*. 2017. V. 5 № 3. P. 387-393.
125. Rassabina A. E., Gurjanov O. P., Beckett R. P., Minibayeva F. V. Melanins from the Lichens *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea*: Structural Features and Physicochemical Properties. *Biochemistry*. 2020. V. 85. № 5. P. 623-628.
126. Remington. Essentials of Pharmaceutics / Ed. by Linda A. Felton. London: Pharm. Press, 2013. 772 p.
127. Reutimann P., Scheidegger C. Importance of lichen secondary products in food choice of two oribatid mites (Acari) in an alpine meadow ecosystem. 1985. *Journal of Chemical Ecology*. 1985. V. 13. № 2. P. 363-369.
128. Rodrigues L., Giglioti R., Gomes A.C.P., Katiki L. M., Otsuk I.P., Matos R.S. et.al. In Vitro Effect of Volatile Substances from *Eucalyptus* Oils on *Rhipicephalus microplus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2020. V. 30. P. 737-742.
129. Rogliani P., Calzetta L., Coppola A., Cavalli F., Ora J., Puxeddu E. et al. Optimizing drug delivery in COPD: the role of inhaler devices. *Respiratory Medicine*. 2017. V. 124. P. 6-14.
130. Safeguarding the Ozone Layer and the Global Climate System. Issues related to Hydrofluorocarbons and Perfluorocarbons - WMO: UNEP, 2005. 478 p.
131. Salehi B., Sharifi-Rad J., Quispe C., Llaique H., Villalobos M., Smeriglio A. et. al. Insights into *Eucalyptus* genus chemical constituents, biological activities and

- health-promoting effects. *Trends in Food Science & Technology*. 2019. V. 91. P. 609-624.
132. Sebei K., Sakouhi F., Herchi W., Khouja M.L., Boukhchina S. Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. *Biological Research*. 2015. V. 48. № 1. P. 1-5.
133. Selvakumar P., Edhayanaveena B., Prakash S.D. Studies on the antidandruff activity of the essential oil of *coleus amboinicus* and *Eucalyptus Globulus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012. V. 2. № 2. P. 715-719.
134. Shao J., Yin Z., Wang Y., Yang Y., Tang Q., Zhang M. et. al. Effects of different doses of eucalyptus oil from *Eucalyptus globulus labill* on respiratory tract immunity and immune function in healthy rats. *Frontiers in Pharmacology*. 2020. V. 11. P. 1-8.
135. Shekunov B.Y., Chattopadhyay P., Tong H.H.Y., Chow A.H.L. Particle Size Analysis in Pharmaceutics: Principles, Methods and Applications. *Pharmaceutical Research*. 2007. V. 24. № 2. P. 203-227.
136. Shibata S. Especial compounds of lichens. The Metabolism of Secondary Plant Products. 1958. P. 560-623.
137. Shiferaw Y., Kassahun A., Tedla A., Feleke G., Abebe A.A. Investigation of Essential Oil Composition Variation with Age of *Eucalyptus Globulus* Growing in Ethiopia. *Natural Products Chemistry and Research*. 2019. V. 7. № 2. P. 1-5.
138. Singab A.N., Ayoub N., Al-Sayed E., Martiskainen O., Sinkkonen J., Pihlaja K. Phenolic Constituents of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, with Potential Antioxidant and Cytotoxic Activities. *Records of Natural Products*. 2011. V. 5. № 4. P. 271-280.
139. Soonwera M., Sittichok S. Adulticidal activities of *Cymbopogon citratus* (Stapf.) and *Eucalyptus globulus* (Labill.) essential oils and of their synergistic combinations against *Aedes aegypti* (L.), *Aedes albopictus* (Skuse), and *Musca domestica* (L.). *Environmental Science and Pollution Research*. 2020. P. 1-14.

140. Srivastava P., Logesh A.R., Upreti D.K., Dhole T.N., Srivastava A. *In-vitro* evaluation of some Indian lichens against human pathogenic bacteria. *Mycosphere*. 2013. V. 4. № 4. P. 734-743.
141. Srivastava P., Upreti D.K., Dhole T.N., Srivastava A.K., Nayak M.T. Antimicrobial Property of Extracts of Indian Lichen against Human Pathogenic Bacteria. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. 2013. V. 2013. P. 1-6.
142. Stadnytska N.E., Diakon I.V., Hubytska I.I., Mylyanych A.O., Novikov V.P. Development of the spray composition based on extract of eucalyptus globulus». Chemistry, technology of substances and their application. Lviv, 2019. № 3. P. 76-82.
143. Stadnytska N., Diakon I., Novikov V. New Methods of Fighting with Staphylococcus Aureus by Eucalyptus Viminalis and Cetraria Islandica. *From Molecular Modeling to Nano- and Biotechnology: 4-th PolishTaiwanese Conference*, Opole, 2018. Opole. P. 59.
144. Stadnytska N., Fito I., Novikov V., Jasicka-Misiak I., Wieczorek P. Effect of extraction solvent on total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity of Cetraria islandica. *Journal of PharmTech Research*. 2020. № 3. P. 198-205.
145. Stepanenko L.S., Skirina I.F., Dmitrenok P.S., Khotimchenko S.V. Characteristics of the far-eastern lichen. *Chemistry of Natural Compounds*. V. 32. № 1. 1996. P. 66-70.
146. Surayot U., Yelithaob K., Tabarsa M., Lee D.-H., Palanisamy S., Prabh N.M. et. al. Structural characterization of a polysaccharide from Certaria islandica and assessment of immunostimulatory activity. *Process Biochemistry*. 2019. V. 83. P. 214-221.
147. Tardugno R., Pellati F., Iseppi R., Bondi M., Bruzzesi G., Benvenuti S. Natural Product Research. 2018. V. 32. № 5. P. 544-551.
148. Tas I., Yildirim A.B., Ozyigitoglu G.C., Yavuz M.Z., Turker A.U. Determination of biological activities (antibacterial, antioxidant and antiproliferative) and metabolite analysis of some lichen species from Turkey. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2017. V. 4. № 04. P. 13-20.
149. Thorsteinsdottir U.A., Thorsteinsdottir M., Lambert I.H. Protolichesterinic Acid, Isolated from the Lichen Cetraria islandica, Reduces LRRC8A Expression and

- Volume-Sensitive Release of Organic Osmolytes in Human Lung Epithelial Cancer Cells. *Phytotherapy research*. 2016. V. 30. P. 97-104.
150. Tolpysheva T.Yu. Mycotoxins and Usnic Acid and Their Distribution in Lichens Belonging to the Genera Cetraria, Flavocetraria, and Cladonia. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 2014. V. 69. № 3. P. 125-129.
151. Tran T.H., Ngo T.C.Q., Dao T.P., Nguyen P.T.N., Pham T.N., Nguyen T.D. et. al. Optimization of Microwave-assisted extraction and compositional determination of essential oil from leaves of *Eucalyptus globulus*. *Conf. Series: Materials Science and Engineering*. 2020. P. 1-9.
152. Türk A.Ö., Yılmaz M., Kıvanc M., Türk H. The Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Cetraria aculeata* and Its Protolichesterinic Acid Constituent. *Zeitschrift fur Naturforschung C*. 2003. P. 850-854.
153. Turkez H., Aydin E., Aslan A. *Xanthoria elegans* (Link) (lichen) extract counteracts DNA damage and oxidative stress of mitomycin C in human lymphocytes. *Cytotechnology*. 2012. № 64. P. 679-686.
154. Tyagi A.K., Bukvicki D., Gottardi D., Tabanelli G., Montanari C., Malik A. et. al. Eucalyptus Essential Oil as a Natural Food Preservative: In Vivo and In Vitro Antiyeast Potential. *BioMed Research International*. 2014. V. 2014. P. 1-9.
155. Vázquez G., Fontenla E., Santos J., Freire M.S., González-Álvarez J., Antorrena G. Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial Crops and Products*. 2008. V. 28. № 3. P. 279-285.
156. Vecchio M.G., Loganes C., Minto. C. Beneficial and healthy properties of Eucalyptus plants: a great potential use. *The Open Agriculture Journal*. 2016. V. 10. № 1. P. 52-57.
157. Vivekanandhan P., Usha-Raja-Nanthini A., Valli G., Subramanian S. M. Comparative efficacy of *Eucalyptus globulus* (Labill) hydrodistilled essential oil and temephos as mosquito larvicide. *Natural Product Research*. 2020. V. 34. № 18. P. 2626-2629.

158. Vladimirova I.N., Georgiyants V.A. Extracted compounds from *Cetraria Islandica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2013. V. 49. № 2. P. 347-348.
159. Wang L., Sun J., Li W., Lv Y., Shi W., Wang G. et. al. Protective effect of eucalyptus oil on pulmonary destruction and inflammation in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2017. V. 11. № 6. P. 129-136.
160. WHO monographs on selected medicinal plants. 2004. V. 4. P. 140-147.
161. Wilson N.M., Marks G.B., Eckhardt A., Clarke A., Young F., Garden F.L. et. al. The effect of respiratory activity, ventilatory therapy and facemasks on total aerosol emissions. MedRxiv. *The Preprint Server for Health Sciences*. 2021. P. 1-17.
162. Xing Y., Wang Z., Zhang C., He W., Luo J. Balance Between Soil Remediation and Economic Benefits of *Eucalyptus globulus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2019. P. 1-5.
163. Xu M., Heidmarsson S., Olafsdottir E.S., Buonfiglio R., Kogej T., Omarsdottir S. Secondary metabolites from cetrarioid lichens: chemotaxonomy, biological activities and pharmaceutical potential. *Phytomedicine*. 2016. P. 1-61.
164. Xu M., Heidmarsson S., Thorsteinsdottir M., Kreuzer M., Hawkins J., Omarsdottir S. et. al. Authentication of Iceland Moss (*Cetraria islandica*) by UPLC-QToF-MS chemical profiling and DNA barcoding. *Food Chemistry*. 2018. V. 245. P. 989-996.
165. Yadav M., Jindal D.K., Parle M., Kumar A., Dhingra S. Targeting oxidative stress, acetylcholinesterase, proinflammatory cytokine, dopamine and GABA by eucalyptus oil (*Eucalyptus globulus*) to alleviate ketamine-induced psychosis in rats. *Inflammopharmacology*. 2018. P. 1-11.
166. Yasmin S., Nawaz M., Anjum A.A., Ashraf K., Basra M.A.R., Mehmood A. Phytochemical Analysis and In Vitro Activity of Essential Oils of Selected Plants against *Salmonella enteritidis* and *Salmonella gallinarum* of Poultry Origin. *Pakistan Veterinary Journal*. 2020. V. 40. № 2. P. 139-144.
167. Yavuz M. Lichens Mentioned by Pedanios Dioscorides. *Ethno Med*. 2012. V. 6. № 2. P. 103-109.

168. Yuvneet R., Navneet K., Deepa A., Rajandeep K., Hatish P. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of methanolic extract of *Eucalyptus globulus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 2017. V. 3. № 2. P. 77-82.
169. Zacharskia D.M., Escha S., Königb S., Mormannc M., Brandta S., Ulrich-Merzenich G. β -1,3/1,4-Glucan Lichenan from *Cetraria islandica* (L.) ACH. induces cellular differentiation of human keratinocytes. *Fitoterapia*. 2018. P. 226-236.
170. Zagoskina N.V., Nikolaeva T.N., Lapshina P.V., Zavarzinb A.A., Zavarzina A.G. Water-Soluble Phenolic Compounds in Lichens. *Microbiology*. 2013. V. 82. № 4. P. 445-452.
171. Белей С.Я. Розробка складу, технологій та дослідження таблеток на основі екстрактів мальви лісової і подорожника ланцетолисного: дис. канд. фарм. наук: 15.00.03. Львів, 2019. 242 с.
172. Гродзинський А.М. Лікарські рослини: енциклопедичний довідник / за ред. А.М. Гродзинського. Київ, 1992. С. 148-149.
173. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. 2-е вид. Харків, 2014. Т.3. 732 с.
174. Державний реєстр лікарських засобів України / МОЗ України. Київ, 2020. URL: <http://www.drlz.com.ua> (дата вернення 01.12.2020).
175. Дроздова А.О., Соловійов О.С. Маркетингові дослідження фармацевтичного ринку України на наявність аерозолів. *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 1. С. 19-25.
176. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Губицька І.І., Лило В.В., Петрикевич В.Р. Використання моху Ісландського при лікуванні інфекційних захворювань дихальних шляхів та перспективи створення нових препаратів на його основі. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. Львів, 2017. № 868. С. 234-241.
177. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Милянч А.О., Новіков В.П. Розробка методологічних підходів до технологічних процесів виробництва екстракту евкالیпта. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних,*

- гомеопатичних і косметичних лікарських засобів: збірник наукових праць, м. Харків, 2019 р. Харків, 2019. С. 75-79.*
178. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Вміст пігментів в рідких спиртових екстрактах *eucalyptus globulus*. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України: матеріали конференції, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р. Харків, 2019. С. 248-250.
179. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Оптимізація технології виробництва таблеток Мукалтину. Вплив вибору сировини на вихід полісахаридів. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига» 2016, с. 107-108.*
180. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Особливості вибору емульгаторів при створенні нових лікарських засобів. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології: збірник наукових праць, м. Харків, 2017 р. Харків: НФаУ, 2017. С. 96-98.*
181. Кошовий О.М. Сучасні підходи до створення лікарських засобів на основі рослин родів Евкалипт та Шавлія: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. фарм. наук: спец. 15.00.02 "Фармацевтична хімія". Харків, 2013. - 39 с.
182. Лікарські засоби. Пластикові матеріали для первинної упаковки лікарських засобів: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.16:2014 / О. Нагорна, О. Баула, І. Кудрявцева, Л. Дорошук. Вид. офіц. Київ: МОЗ України, 2016. 18 с.
183. Міжнародна класифікація хвороб. URL: <http://surgery.org.ua/Documents/Details/aa535505-419d-4d67-a9e7-5c6d4b8f1ced?title=MizhnarodniiKodifikatorKhvorobMkKh10> (дата звернення 23.02.2020).
184. Новіков В.П., Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Губицька І.І., Місик Я.Т., Драпак І.В. *Nurpericum perforatum* l. в сучасних фармацевтичних препаратах ринку України. *Фітотерапія. Часопис*. Тернопіль, 2018. № 2. С. 43-45.

185. Новіков В.П., Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Губицька І.І., Місик Я.Т., Болібрух Л.Д. Spring precious presentation - source of phenol compounds with antioxidant activity. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. Львів, 2019. № 1 (1). С. 94-98.
186. Павлова Л.В., Платонов И.А., Новикова Е.А., Никитченко Н.В. Хромато-масс-спектрометрический анализ эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis labill*) с использованием различных способов пробоподготовки. *Аналитика и контроль*. 2013. Т. 17. № 3. Р. 304-313.
187. Печінка А.М., Дземан М.І. Гострі респіраторні захворювання: питання клінічної діагностики та лікування (лекція). *Український медичний часопис*. 2010. Т. 79. № 5. URL: <https://www.umj.com.ua/article/writer/pechinka-a-m> (дата звернення 10.10.2020).
188. Про затвердження класифікатора лікарських форм: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 06.06.2002 р. № 235. С. 2.
189. Противовирусное средство на основе сухого экстракта лишайника *Cetraria Islandica*: пат. RU2580305С1. Росія. № 2015106731/15, заяв. 26.02.2015; опубл. 10.04.2016, Бюл. № 8. 16 с.
190. Саутін С.Н., Пунін А.Е. Світ комп'ютерів та хімічна технологія. - Л.: Хімія, 1991, 142 с.
191. Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Новіков В.П. Залежність антиоксидантної активності екстрактів моху ісландського від вмісту етилового спирту в екстрагенті. *Хімія природних сполук* : Всеукраїнська науково-практична конференція, Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 141-142.
192. Стадницька Н.Є., Миляннич А.О., Малтиз І. С., Фітьо І.В., Федоришин О. М., Комар А. В., Новіков В. П. Асортимент лікарських препаратів для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів, представлених на ринку України. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 1(53). С. 59-64.
193. Стадницька Н.Є., Фітьо І.В. Оптимізація отримання густого екстракту хлорофіліпту. *Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів* : конференція, м. Львів, 24-25 квітня 2020 р. Львів, 2020. С.114-116.

194. Стадницька Н.Є., Дякон І.В., Місик Я.Т., Губицька І.І., Новіков В.П. Дослідження настоянки первоцвіту весняного на вміст фенольних сполук. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доповідей Всеукр. Наук.-практ. Конф. З міжнар. Учасцю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О.М. Гайдукевича: Харків, 2018, Харків : НФаУ, 2018, С. 295-256.
195. Стадницька Н.Є., Новіков В.П., Дякон І.В., Петрикевич В.Р. Лікарська рослинна сировина, що використовується при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів». *Science and life: proceedings of articles the international scientific conference, Karlovy Vary, 22 December 17*. P.240-243.
196. Уніфікований клінічний протокол первинної медичної допомоги дорослим та дітям гострі респіраторні інфекції : Наказ Міністерства охорони здоров'я України 16 липня 2014 р. № 499 (у редакції наказу Міністерства охорони здоров'я України від 11.02.16 № 85). Київ, 2016. 20 с.
197. Фещенко Ю.І., Яшина Л.О., Дзюблик О.Я. Хронічне обструктивне захворювання легень: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, терапія. *Український пульмонологічний журнал*. 2013. № 3. С. 7-12.
198. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Вибір маркерів при дослідженні вмісту біологічно активних речовин у комплексному рослинному лікарському засобі на основі *Cetraria islandica* та *Eucalyptus globulus*. *Organization of scientific research in modern conditions* : матеріали конференції, м. Сієтл, 14-15 травня 2020 р. Сієтл, 2020. С. 177-179.
199. Фітьо І.В., Киричук А.О., Стадницька Н.Є. Стандартизація *Eucalyptus globulus* та *Cetraria islandica*. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VIII науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р., Тернопіль. С. 52-53.
200. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є. Допоміжна терапія при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів. *PLANTA+*. *Наука, практика та освіта: матеріали*

- міжнародної науково-практичної конференції, м. Київ, 19 лютого 2021 р., Київ.
201. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є. Дослідження водної фракції при виготовленні екстракту із *eucalyptus globulus*. *Wissenschaftliche Ergebnisse und Errungenschaften* : міжнародна конференція, м. Мюнхен, 25 грудня 2020 р. Мюнхен, 2020. С. 77-78.
202. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є. Концепція створення аерозольних лікарських форм для лікування захворювань дихальних шляхів : колективна монографія з медичних наук. Люблін : Medical University of Lublin, 2020. С. 636-655.
203. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Курка М.С., Новіков В.П. Аналіз препаратів на основі листя евкаліпту. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали конференції, м. Харків, 11 березня 2020 р. Харків, 2020. С. 183-184.
204. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Малтиз І.С., Милянч А.О., Комар А.В., Новіков В.П. Статистичний аналіз лікарських препаратів для лікування кашлю та простудних захворювань, які представлені на ринку України. *Planta +. досягнення та перспективи* : Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 20-21 лютого 2020 року, Київ, 2020. С. 184-188.
205. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Підбір екстрагенту для екстракції *setraria islandica*. *Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії* : науково-практична конференція з міжнародною участю, м. Харків, 2020 р. Харків, 2020. С. 47.
206. Черятова Ю.С. Анатомио-диагностические признаки лекарственного растительного сырья *Eucalyptus Globulus Labill.* *Эпоха науки.* 2019. № 20. С. 614-620.

ДОДАТКИ



АКТ АПРОБАЦІЇ
проекту методів контролю якості на
екстракт листя евкаліпту кулястого густий

Комісія у складі: керівника дослідного центру ПАТ «Галичфарм» Л.В. Процик; доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької; аспіранта тієї ж кафедри Фітьо І.В., провела апробацію проекту методів контролю якості на екстракт листя евкаліпту кулястого густий в аналітичній лабораторії дослідного центру ПАТ «Галичфарм».

Проект методів контролю якості на екстракт листя евкаліпту кулястого густий, який одержаний у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» Фітьо І.В. під керівництвом доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької.

Висновок комісії: методики контролю, закладені у проекті МКЯ на екстракт листя евкаліпту кулястого густий, відтворюються в умовах аналітичної лабораторії ПАТ «Галичфарм».

Керівник ДЦ ПАТ «Галичфарм»

Л.В. Процик

Доцент кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доцент

Н.Є. Стадницька

Аспірант кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»

І.В. Фітьо



АКТ АПРОБАЦІЇ
проекту методів контролю якості на
екстракт слані моху ісландського густий

Комісія у складі: керівника дослідного центру ПАТ «Галичфарм» Л.В. Процик; доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької; аспіранта тієї ж кафедри Фітьо І.В., провела апробацію проекту методів контролю якості на екстракт слані моху ісландського густий в аналітичній лабораторії дослідного центру ПАТ «Галичфарм».

Проект методів контролю якості на екстракт слані моху ісландського густий, який одержаний у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» Фітьо І.В. під керівництвом доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької.

Висновок комісії: методики контролю, закладені у проекті МКЯ на екстракт слані моху ісландського густий відтворюються в умовах аналітичної лабораторії ПАТ «Галичфарм».

Керівник ДЦ ПАТ «Галичфарм»

Handwritten signature in blue ink, corresponding to the name L.V. Procyk.

Л.В. Процик

Доцент кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доцент

Handwritten signature in blue ink, corresponding to the name N.E. Stadnytska.

Н.Є. Стадницька

Аспірант кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»

Handwritten signature in blue ink, corresponding to the name I.V. Fityo.

І.В. Фітьо



АКТ АПРОБАЦІЇ
проекту методів контролю якості на
Хлорофіліпт-спрей, спрей оромукозний

Комісія у складі: керівника дослідного центру ПАТ «Галичфарм» Л.В. Процик; доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької; аспіранта тієї ж кафедри Фітьо І.В., провела апробацію проекту методів контролю якості на Хлорофіліпт-спрей, спрей оромукозний в аналітичній лабораторії дослідного центру ПАТ «Галичфарм».

Проект методів контролю якості на Хлорофіліпт-спрей, спрей оромукозний, який одержаний у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» Фітьо І.В. під керівництвом доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької.

Висновок комісії: методики контролю, закладені у проекті МКЯ на Хлорофіліпт-спрей, спрей оромукозний, відтворюються в умовах аналітичної лабораторії ПАТ «Галичфарм».

Керівник ДЦ ПАТ «Галичфарм»

Л.В. Процик

Доцент кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доцент

Н.Є. Стадницька

Аспірант кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»

І.В. Фітьо



АКТ АПРОБАЦІЇ
проекту методів контролю якості на
Фітолор-спрей, спрей оромукосний

Комісія у складі: керівника дослідного центру ПАТ «Галичфарм» Л.В. Процик; доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької; аспіранта тієї ж кафедри Фітьо І.В., провела апробацію проекту методів контролю якості на Фітолор-спрей, спрей оромукосний в аналітичній лабораторії дослідного центру ПАТ «Галичфарм».

Проект методів контролю якості на Фітолор-спрей, спрей оромукосний, який одержаний у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» Фітьо І.В. під керівництвом доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької.

Висновок комісії: методики контролю, закладені у проекті МКЯ на Фітолор-спрей, спрей оромукосний, відтворюються в умовах аналітичної лабораторії ПАТ «Галичфарм».

Керівник ДЦ ПАТ «Галичфарм»

Л.В. Процик

Доцент кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доцент

Н.Є. Стадницька

Аспірант кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»

І.В. Фітьо



АКТ АПРОБАЦІЇ
проекту методів контролю якості на
екстракт листя евкаліпту кулястого густий

Комісія у складі: керівника дослідного центру ПАТ «Галичфарм» Л.В. Процик; доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької; аспіранта тієї ж кафедри Фітьо І.В., провела апробацію проекту технологічного регламенту на виробництво екстракту листя евкаліпту кулястого густого в умовах виробництва ПАТ «Галичфарм».

Проект технологічного регламенту на виробництво екстракту листя евкаліпту кулястого густого, який одержаний у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» Фітьо І.В. під керівництвом доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької.

Висновок комісії: технологічний процес та контроль критичних стадій, які закладені у проекті технологічного регламенту на виробництво екстракту листя евкаліпту кулястого густого, відтворюються в умовах виробництва ПАТ «Галичфарм».

Керівник ДЦ ПАТ «Галичфарм»

Л.В. Процик

Доцент кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доцент

Н.Є. Стадницька

Аспірант кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»

І.В. Фітьо



АКТ АПРОБАЦІЇ
проекту методів контролю якості на
екстракт слані моху ісландського густий

Комісія у складі: керівника дослідного центру ПАТ «Галичфарм» Л.В. Процик; доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.С. Стадницької; аспіранта тієї ж кафедри Фітьо І.В., провела апробацію проекту технологічного регламенту на виробництво екстракту слані моху ісландського густого в умовах виробництва ПАТ «Галичфарм».

Проект технологічного регламенту на виробництво екстракту слані моху ісландського густого, який одержаний у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» Фітьо І.В. під керівництвом доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.С. Стадницької.

Висновок комісії: технологічний процес та контроль критичних стадій, які закладені у проєкті технологічного регламенту на виробництво екстракту слані моху ісландського густого відтворюються в виробництва ПАТ «Галичфарм».

Керівник ДЦ ПАТ «Галичфарм»

Л.В. Процик

Доцент кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доцент

Н.С. Стадницька

Аспірант кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»

І.В. Фітьо



АКТ АПРОБАЦІЇ
проекту методів контролю якості на
Хлорофіліпт-спрей, спрей оромукозний

Комісія у складі: керівника дослідного центру ПАТ «Галичфарм» Л.В. Процик; доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької; аспіранта тієї ж кафедри Фітьо І.В., провела апробацію проекту технологічного регламенту на виробництво препарату Хлорофіліпт-спрей, спрей оромукозний в умовах виробництва ПАТ «Галичфарм».

Проект технологічного регламенту на виробництво препарату Хлорофіліпт-спрей, спрей оромукозний, який одержаний у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» Фітьо І.В. під керівництвом доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької.

Висновок комісії технологічний процес та контроль критичних стадій, які закладені у проекті технологічного регламенту на виробництво препарату Хлорофіліпт-спрей, спрей оромукозний, відтворюються в умовах виробництва ПАТ «Галичфарм».

Керівник ДЦ ПАТ «Галичфарм»

Л.В. Процик

Доцент кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доцент

Н.Є. Стадницька

Аспірант кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»

І.В. Фітьо



ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор виконавчий
ПАТ «Галичфарм»
О.В. Блонський
2021 р.

АКТ АПРОБАЦІЇ
проекту методів контролю якості на
Фітолор-спрей, спрей оромукозний

Комісія у складі: керівника дослідного центру ПАТ «Галичфарм» Л.В. Процик; доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької; аспіранта тієї ж кафедри Фітьо І.В., провела апробацію проекту технологічного регламенту на виробництво препарату Фітолор-спрей, спрей оромукозний в аналітичній лабораторії дослідного центру ПАТ «Галичфарм».

Проект технологічного регламенту на виробництво препарату Фітолор-спрей, спрей оромукозний, який одержаний у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» Фітьо І.В. під керівництвом доц. кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доц. Н.Є. Стадницької.

Висновок комісії: технологічний процес та контроль критичних стадій, які закладені у проекті технологічного регламенту на препарат Фітолор-спрей, спрей оромукозний, відтворюються в умовах аналітичної лабораторії ПАТ «Галичфарм».

Керівник ДЦ ПАТ «Галичфарм»

Л.В. Процик

Доцент кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», к.х.н., доцент

Н.Є. Стадницька

Аспірант кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»

І.В. Фітьо

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Львівського національного університету
«Львівська політехніка»



Давидчак О.Р.
2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Створення препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густих екстрактів листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* та слани моху ісландського *Cetraria islandica* «Фітолор-спрей».

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»
к.х.н, доц. Стадницька Н.Є., аспірант Фітьо І.В.

3. Джерела інформації:

1. Stadnytska N., Diakon I., Novikov V. New Methods of Fighting with *Staphylococcus Aureus* BY *Eucalyptus Viminalis* and *Cetraria Islandica*. From *Molecular Modeling to Nano- and Biotechnology*: 4-th PolishTaiwanese Conference, Opole, 2018. Opole. P. 59.
2. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Особливості вибору емульгаторів при створенні нових лікарських засобів. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць, м. Харків, 13 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 96-98.
3. Фітьо І.В., Стадницька Н.Є. Концепція створення аерозольних лікарських форм для лікування захворювань дихальних шляхів. *Conceptual options for the development of medical science and education* : collective monograph / Medical University of Lublin. Riga: Baltija Publishing, 2020. P. 636–655.
4. Фітьо І.В. Стадницька Н.Є. Новіков В.П. Вибір маркерів при дослідження вмісту біологічно активних речовин у комплексному рослинному лікарському засобі на основі *Cetraria islandica* та *Eucalyptus globulus*. *Organization of scientific research in modern conditions* : матеріали конференції, м. Сієтл, 14-15 травня 2020 р. Сієтл, 2020. С. 177-179.

4. **Впроваджено:** у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

5. **Термін впровадження 01.10.2020 р.**

6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень з розробки препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густого екстракту листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* та слани моху ісландського *Cetraria islandica* «Фітолор-спрей», які наведені у вищевказаних джерелах, впровадженні у навчальний процес при вивченні дисципліни «Технологія препаратів з природної сировини та фітотерапія» спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація».

7. **Зауваження, пропозиції – немає.**

В.о. завідувача кафедри технології біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології, д. х.н., професор

 В.І. Лубенець



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Розробка специфікацій якості для сировини листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* та слані моху ісландського *Cetraria islandica*.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»
к.х.н, доц. Стадницька Н.С., аспірант Фітьо І.В.

3. Джерела інформації:

1. Stadnytska N., Fito I., Novikov V., Jasicka-Misiak I., Wiczorek P. Effect of extraction solvent on total phenolic content, total flavonoid content and antioxidant activity of *Cetraria islandica*. *Journal of PharmTech Research*. 2020. № 3. P. 198-205.

2. Stadnytska N., Diakon I., Novikov V. New Methods of Fighting with *Staphylococcus Aureus* BY *Eucalyptus Viminalis* and *Cetraria Islandica*. *From Molecular Modeling to Nano- and Biotechnology*: 4-th PolishTaiwanese Conference, Opole, 2018. Opole. P. 59.

3. Дякон І.В., Стадницька Н.С., Новіков В.П. Вміст пігментів в рідких спиртових екстрактах *Eucalyptus globulus*. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України: матеріали конференції, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р. Харків, 2019. С. 248-250.

4. Стадницька Н. С., Дякон І. В., Новіков В. П. Залежність антиоксидантної активності екстрактів моху ісландського від вмісту етанолу в екстрагенті. *Хімія природних сполук*: Всеукраїнська науково-практична конференція, Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 141-142.

5. Фітьо І.В., Стадницька Н.С. Дослідження водної фракції при виготовленні екстракту із *Eucalyptus globulus*. *Wissenschaftliche Ergebnisse und Errungenschaften* : міжнародна конференція, м. Мюнхен, 25 грудня 2020 р. Мюнхен, 2020. С. 77-78.

4. **Впроваджено:** у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».


5. **Термін впровадження з 01.10.2020 р.**

6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень з специфікацій якості для сировини листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* та слані моху ісландського *Cetraria islandica*, які наведені у вищевказаних джерелах, впровадженні у навчальний процес при вивченні дисципліни «Методи фармакогностичного аналізу та контролю якості лікарської рослинної сировини» спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація».

7. **Зауваження, пропозиції** – немає.

В.о. завідувача кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, д.х.н., професор

 В.І. Лубенець



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

наказом науково-педагогічної роботи
 спеціального університету
 фармацевтична політехніка»

Давидчак О.Р.

21/ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження:

Розробка препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густого екстракту листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* «Хлорофіліпт-спрей».

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12

Кафедра технології біологічно активних сполук, фармацевції та біотехнології

Національний університет «Львівська політехніка»

к.х.н, доц. Стадницька Н.Є., аспірант Фітьо І.В.

3. Джерела інформації:

1. Diakon I., Stadnytska N, Novikov V. Alternative methods for replacing propellants in the medical form spray. *Chemical technology and engineering* : 2-nd International scientific conference, м. Львів, 24-28 червня 2019 р. Львів, 2019. С. 392-393.

2. Stadnytska N. E., Diakon I.V., Hubytska I. I., Mylyanych A. O., Novikov V. P. Development of the spray composition based on extract of *Eucalyptus globulus*. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2019. № 3. Р. 76-82.

3. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Особливості вибору емульгаторів при створенні нових лікарських засобів. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць, м. Харків, 13 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 96-98.

4. Стадницька Н.Є., Новіков В.П., Дякон І.В., Петрикевич В.Р. Лікарська рослинна сировина, що використовується при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів. *Science and life: proceedings of articles the international scientific conference, Karlovy Vary*, 22 грудня 2017. Karlovy Vary, 2017. Р. 240-243.

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармацевції та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

5. Термін впровадження з 01.10.2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень з розробки препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густого екстракту листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* «Хлорофіліпт-спрей», які наведені у вищевказаних джерелах, впровадженні у навчальний процес при вивченні дисципліни «Технологія препаратів з природної сировини та фітотерапія» спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

В.о. завідувача кафедри технології біологічно активних сполук, фармацевції та біотехнології, д. х.н., професор

 В.І. Лубенець



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження:

Розробка препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густого екстракту листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* «Хлорофіліпт-спрей».

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних сполук, фармацевції та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»
к.х.н, доц. Стадницька Н.Є., аспірант Фітьо І.В.

3. Джерела інформації:

1. Diakon I., Stadnytska N., Novikov V. Alternative methods for replacing propellants in the medical form spray. *Chemical technology and engineering: 2-nd International scientific conference*, м. Львів, 24-28 червня 2019 р. Львів, 2019. С. 392-393.

2. Stadnytska N.E., Diakon I.V., Hubytska I.I., Mylyanych A.O., Novikov V.P. Development of the spray composition based on extract of *Eucalyptus globulus*. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2019. № 3. Р. 76–82.

3. Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Особливості вибору емульгаторів при створенні нових лікарських засобів. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології: збірник наукових праць*, м. Харків, 13 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 96-98.

4. Стадницька Н.Є., Новіков В.П., Дякон І.В., Петрикевич В.Р. Лікарська рослинна сировина, що використовується при лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів». *Science and life: proceedings of articles the international scientific conference*, Karlovy Vary, 22 грудня 2017. Karlovy Vary, 2017. Р. 240-243.

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

5. Термін впровадження: з вересня 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень з розробки препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густого екстракту листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* «Хлорофіліпт-спрей», які наведені у вищевказаних джерелах, впровадженні у навчальний процес при вивченні дисципліни «Технологія лікарських засобів».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри технології ліків і біофармації
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького, д. фарм.н., доцент

С.Б. Білоус

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького,
чл. Кор. НАМН України
проф. Гзгоцький М.Р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Розробка препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густих екстрактів листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* та слани моху ісландського «Фітолор-спрей».

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»
к.х.н, доц. Стадницька Н.С., аспірант Фітьо І.В.

3. Джерела інформації:

1. Stadnytska N., Diakon I., Novikov V. New Methods of Fighting with Staphylococcus Aureus BY *Eucalyptus Viminalis* and *Cetraria Islandica*. From Molecular Modeling to Nano- and Biotechnology: 4-th PolishTaiwanese Conference, Opole, 2018. Opole. P. 59.

2. Дякон І.В., Стадницька Н.С., Новіков В.П. Особливості вибору емульгаторів при створенні нових лікарських засобів. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць, м. Харків, 13 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 96-98.

3. Фітьо І.В., Стадницька Н.С. Концепція створення аерозольних лікарських форм для лікування захворювань дихальних шляхів. *Conceptual options for the development of medical science and education*: collective monograph / Medical University of Lublin. Riga: Baltija Publishing, 2020. P. 636-655. (Особистий внесок – написання розділу монографії).

4. Фітьо І.В., Стадницька Н.С., Новіков В.П. Вибір маркерів при дослідження вмісту біологічно активних речовин у комплексному рослинному лікарському засобі на основі *Cetraria islandica* та *Eucalyptus globulus*. *Organization of scientific research in modern conditions*: матеріали конференції, м. Сієгл, 14-15 травня 2020 р. Сієгл, 2020. С. 177-179.

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

5. Термін впровадження з вересня 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

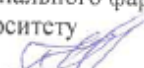

Результати досліджень з розробки препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густих екстрактів листя евкаліпту кулястого *Eucalyptus globulus* та слани моху ісландського «Фітолор-спрей», які наведені у вищевказаних джерелах, впровадженні у навчальний процес при вивченні дисципліни «Технологія лікарських засобів».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри технології ліків і біофармації
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького, д. фарм.н., доцент

С.Б. Білоус

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
 Національного фармацевтичного
 університету
 проф.  Н.П. Дзюбовко
 «01»  2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** розробка препарату для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів на основі густих екстрактів евкаліпту кулястого листя *Eucalyptus globulus* та моху ісландського слані «Фітолор-спрей».
2. **Заклад, де проведена розробка, ПП авторів:** Національний університет «Львівська політехніка», кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології (м. Львів, вул. С. Бандери, 12), к.х.н, доц. Стадницька Н.Є., аспірант Фітьо І.В.
3. **Джерела інформації:**

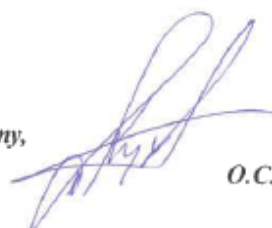
Stadnytska N., Diakon I., Novikov V. New Methods of Fighting with Staphylococcus Aureus BY *Eucalyptus Viminalis* and *Cetraria Islandica*. From Molecular Modeling to Nano- and Biotechnology: 4-th PolishTaiwanese Conference, Opole, 2018. Opole. P. 59.

Дякон І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Особливості вибору емульгаторів при створенні нових лікарських засобів. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць, м. Харків, 13 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 96-98.

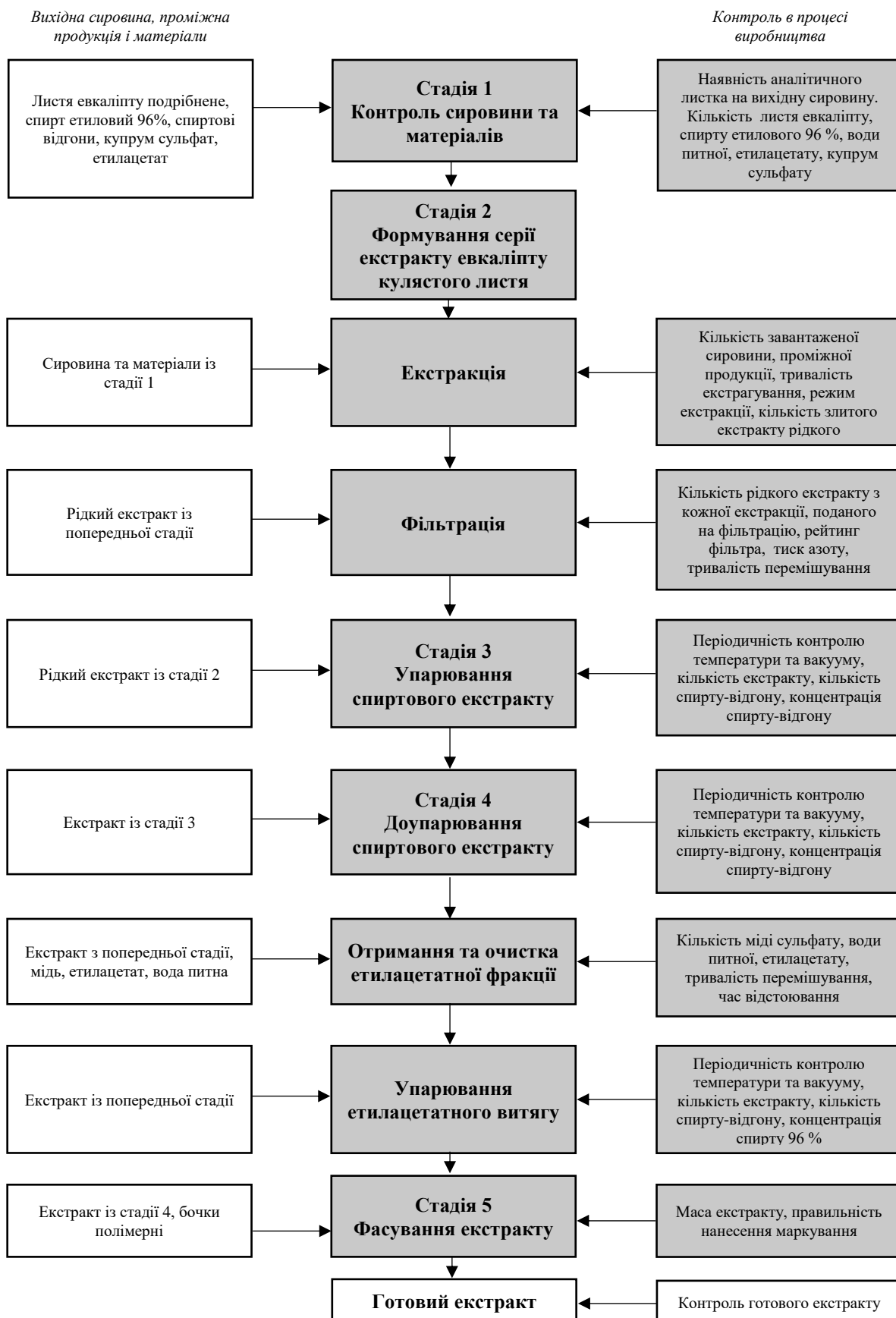
Фітьо І.В., Стадницька Н.Є., Новіков В.П. Вибір маркерів при дослідження вмісту біологічно активних речовин у комплексному рослинному лікарському засобі на основі *Cetraria islandica* та *Eucalyptus globulus*. *Organization of scientific research in modern conditions* : матеріали конференції, м. Сіетл, 14-15 травня 2020 р. Сіетл, 2020. С. 177-179.

Фітьо І.В., Стадницька Н.Є. Концепція створення аерозольних лікарських форм для лікування захворювань дихальних шляхів. *Conceptual options for the development of medical science and education* : collective monograph / Medical University of Lublin. Riga: Baltija Publishing, 2020. P. 636-655.
4. **Базова установа, де проводять впровадження:** кафедра технологій фармацевтичних препаратів Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у курсі лекцій та практичних занять з теми «Густі екстракти».
6. **Ефективність впровадження:** викладається додаткова інформація, що сприяє кращому засвоєнню матеріалу.
7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри технологій фармацевтичних
 препаратів, Національного фармацевтичного університету,
 д. фарм.н., професор



О.С. Кухтенко



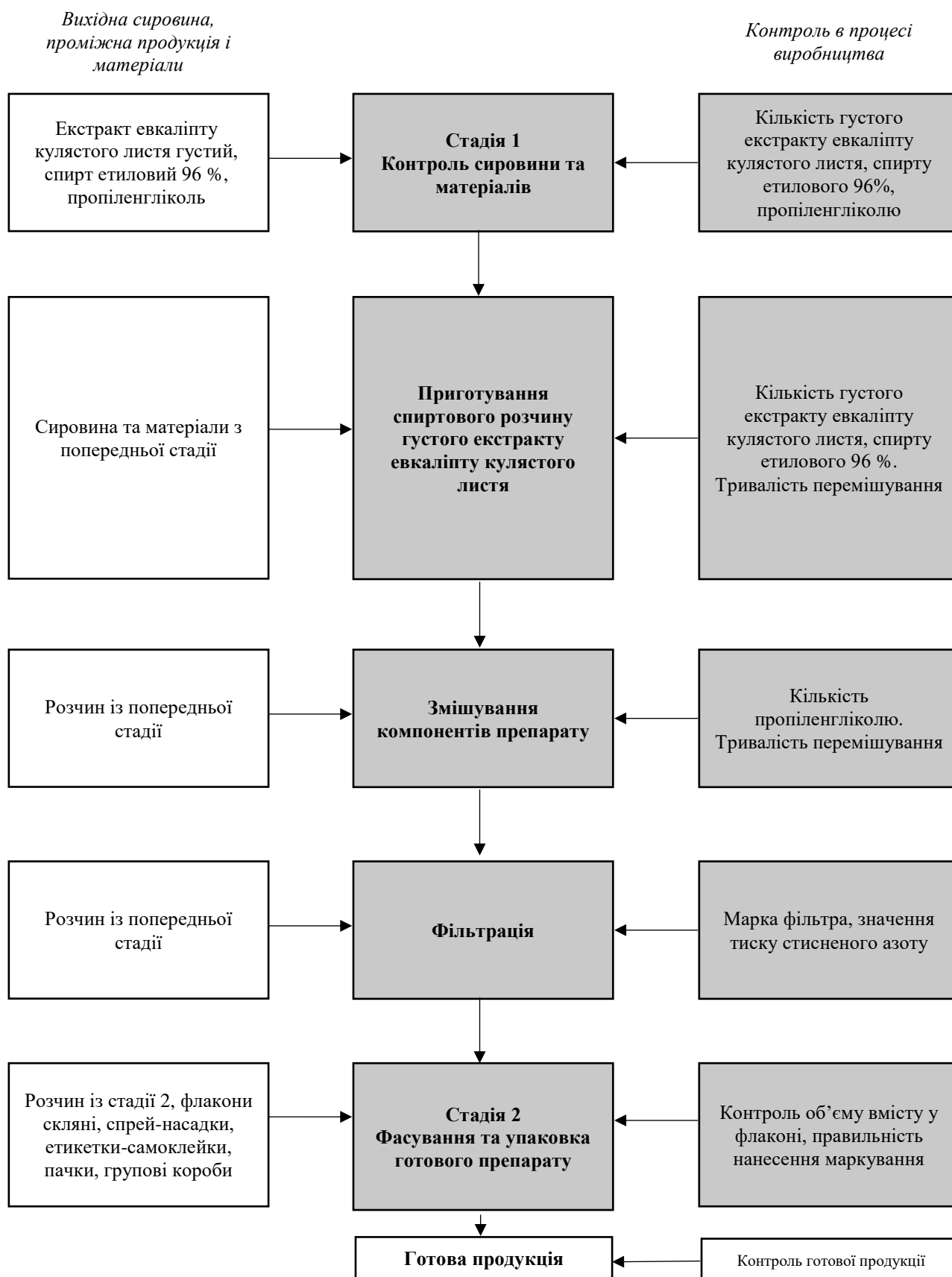
Блок- схема процесу отримання густого екстракту евкаліпту кулястого листа

Дисперсійний аналіз експериментальних даних при вивченні впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники препарату «Хлорофіліпт-спрей»

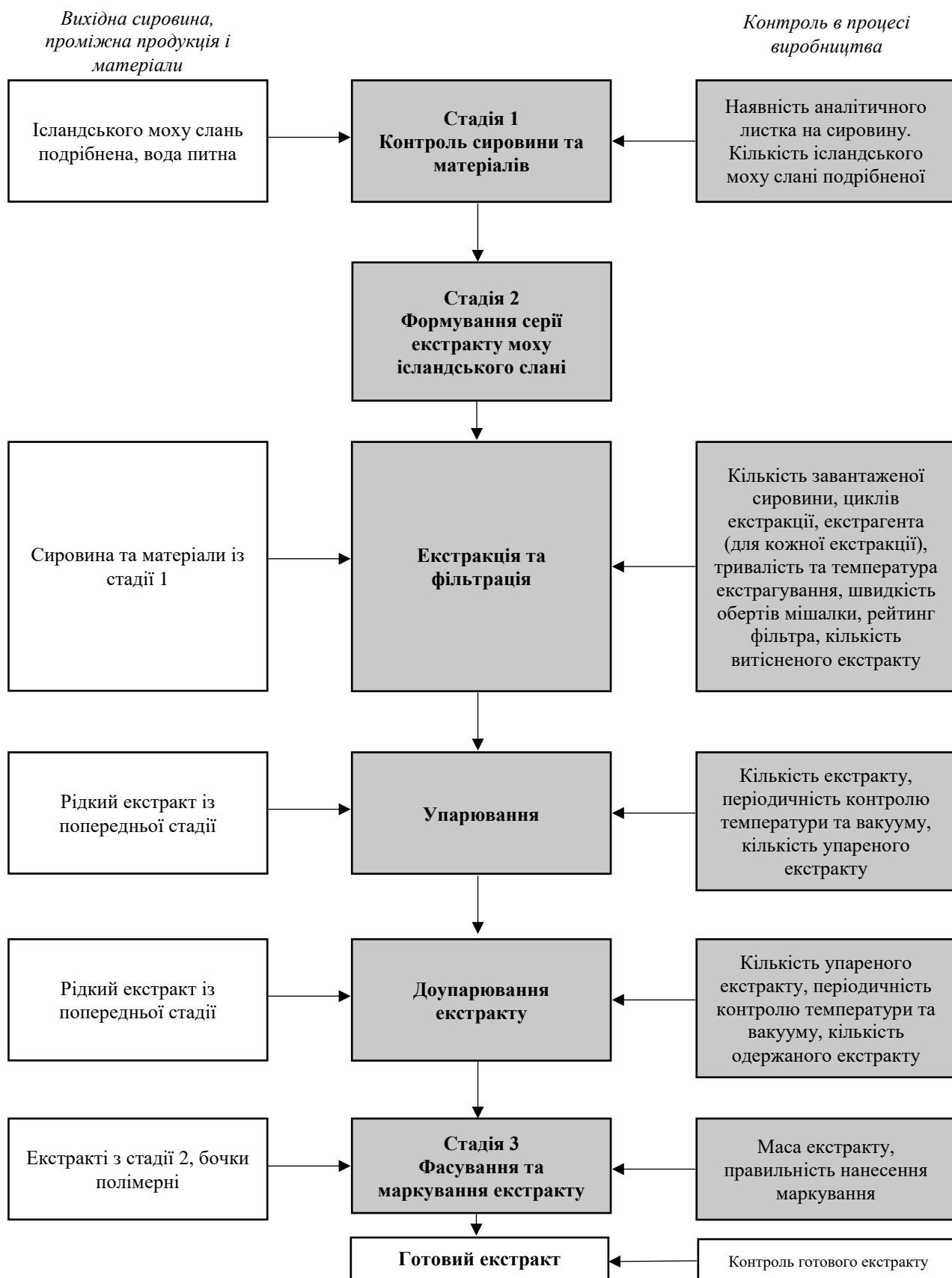
Джерело дисперсії	Число ступенів свободи	Суми квадратів	Середні квадрати	$F_{\text{експ}}$	$F_{0,05}$	Гіпотеза H_0
1	2	3	4	5	6	7
y_1 - антимікробна активність, мкг/мл						
Фактор А	1	3,92	3,92	15,4482	5,12	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	1,62	1,62	6,38423	5,12	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	3,125	3,125	12,3152	5,12	$\gamma_k = 0$
Фактор D	1	3,125	3,125	12,3152	5,12	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаєм.)	1	277,854	276,8547			
Похибка всередині клітинки	8	2,03	0,25375			
Загальна сума	15	313,644				
y_2 - прозорість, бали						
Фактор А	1	94,53125	94,53125	251,334827	5,12	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	5,28125	5,28125	14,041515	5,12	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	16,53125	16,53125	43,952437	5,12	$\gamma_k = 0$
Фактор D	1	4,56258	4,56258	12,130753	5,12	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаєм.)	1	13,285	12,2858			
Похибка всередині клітинки	8	3,00893	0,376116797			
Загальна сума	15	132,6697				
y_3 - смак, бали						
Фактор А	1	3,236	3,236	6,71717	5,12	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	12,5	12,5	25,94706	5,12	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	10,125	10,125	21,01712	5,12	$\gamma_k = 0$
Фактор D	1	3,125	3,125	6,4867669	5,12	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаєм.)	1	92,125	91,125			
Похибка всередині клітинки	8	3,854	0,48175			

Продовження додатку Л

1	2	3	4	5	6	7
Загальна сума	15	156,5				
у ₄ - однорідність маси, ± %						
Фактор А	1	367,205	367,205	292,8110	5,12	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	60,5	60,5	48,242988	5,12	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	18,25	18,25	14,552636	5,12	$\gamma_k = 0$
Фактор D	1	9,68	9,68	7,718878	5,12	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаєм.)	1	490,4973	489,4973529			
Похибка всередині клітинки	8	10,032546	1,25406825			
Загальна сума	15	1566,46				



Блок-схема виготовлення «Хлорофіліпт-спрей»



Блок-схема процесу отримання густого екстракту моху ісландського слані

Дисперсійний аналіз експериментальних даних при вивченні впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники препарату «Фітолор-спрей»

Джерело дисперсії	Число ступенів свободи	Суми квадратів	Середні квадрати	$F_{\text{експ}}$	$F_{0,05}$	Гіпотеза H_0
1	2	3	4	5	6	7
y_1 - дозування, мг/мл						
Фактор А	1	0,1711125	0,171112	1368,9	5,12	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	0,0171125	0,017112	136,9	5,12	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	0,0028125	0,002812	22,5	5,12	$\gamma_k = 0$
Фактор D	1	0,0010125	0,001012	8,1	5,12	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаєм.)	1	2,31015	1,31015			
Похибка всередині клітинки	8	0,001	0,000125			
Загальна сума	15	2,64625				
y_2 - вміст полісахаридів, мг						
Фактор А	1	7,03125	7,03125	238,8737	5,12	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	0,17405	0,17405	5,913028	5,12	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	0,93845	0,93845	31,88211	5,12	$\gamma_k = 0$
Фактор D	1	0,37845	0,37845	12,85714	5,12	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаєм.)	1	4,29365588	3,293655			
Похибка всередині клітинки	8	0,23548	0,029435			
Загальна сума	15	14,7281058				
y_3 - смак, бали						
Фактор А	1	91,125	91,125	145,8	5,12	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	6,125	6,125	9,8	5,12	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	15,125	15,125	24,2	5,12	$\gamma_k = 0$
Фактор D	1	5,256	5,256	8,4096	5,12	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаєм.)	1	30,655470	29,65547			
Похибка всередині клітинки	8	5	0,625			

Продовження додатку О

1	2	3	4	5	6	7
Загальна сума	15	163,03047				
u_4 - густина, г/см ³						
Фактор А	1	1,08405	1,08405	7,017356	5,12	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	1,03125	1,03125	6,675567	5,12	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	1,01125	1,01125	6,546101	5,12	$\gamma_k = 0$
Фактор D	1	1,06125	1,06125	6,869765	5,12	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаєм.)	1	1,229373	0,229373			
Похибка всередині клітинки	8	1,23585	0,154481			
Загальна сума	15	2,653023				

Специфікація якості на евкаліпту кулястого листя

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю
1	2	3
Опис	<p>Пластинка листків від світло-зеленого до сірувато-зеленого кольору, іноді з фіолетовим відтінком і слабим слизуватим нальотом, гола, з численними цяточками (вмістищами ефірної олії, що просвічується у прохідному світлі), з цільним, рівним або хвилястим краєм.</p> <p>Лиски старих пагонів черешкові, 4-27 см завдовжки, 0,5-5 см завширшки, із щільною пластинкою від вузько-ланцетної до серповидної зігнутої форми, із гостреною верхівкою. Листки молодих пагонів сидячі або з короткими черешками, 3,5-11 см завдовжки, 0,7-4 см завширшки, із пластикою видовжено-яйцеподібної форми, із загостреною кінцівкою та округлою основою; трапляються листки із пластинкою, що має форму від видовжено-яйцеподібної до ланцетної. Сировина має ароматний запах цинеолу, який підсилюється при її розтиранні. Сировина має пряно-гіркий смак.</p>	Візуально
Мікроскопія	<p>Сировину подрібнюють на порошок. Порошок світло-зеленого або сірувато-зеленого кольору. Розглядають під мікроскопом, використовуючи <i>хлоралгідрату розчин Р</i>. У порошку виявляються такі діагностичні структури фрагменти епідерми пластинки листка (вигляд зверху) із багатокутних клітин зі світлосіrimи горбочками у центрі та численими продиховими апаратами аномоцитного типу, фрагменти пластинки листка (у поперечному зрізі) із більш-менш рівнобічними клітинами епідерми, зовні оболонки яких дуже потовщені</p>	ДФУ, 2.8.23

1	2	3
Мікроскопія	та вкриті товстим шаром кутикули, фрагменти ізобілатерального мезофілу із 2-3 рідше 4 шарами палісадної хлоренхіми та губчастою хлоренхіми, клітини якої орієнтовані так само як і клітини палісадної та містять друзи кальцію оксалату; фрагменти середньої жилки, провідні тканини якої оточені обкладкою із клітин призматичними кристалами кальцію оксалату; фрагменти мезофілу із ефіроолійними вмістищами, переважно розірваними.	ДФУ, 2.8.23
Ідентифікація	На хроматограмі розчину порівняння у середній частині має виявлятися зона, відповідна цинеолу. На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися основна зона на рівні зони 1,8-цинеолу на хроматограмі розчину порівняння, відповідна їй за забарвленням. Також має виявлятися інтенсивна фіолетова зона (вуглеводні) близько фронту розчинника. Можуть виявлятися також інші, менш інтенсивні зони.	ДФУ, 2.2.27
Сторонні домішки	Не більше 3 % почорнілих і побурілих листків, не більше 2 % гілочок, пуп'янків, плодів; не більше 1% сторонніх часток, в тому числі не більше 0,5% домішок мінерального походження.	ДФУ, 2.8.2
Загальна зола	Не більше 5,0 %.	ДФУ, 2.4.16
Речовини, що екстрагуються етанолом	Не менше 0,25 %.	Ваговий метод
Пестициди	Має відповідати вимогам щодо вмісту залишкових кількостей пестицидів.	ДФУ, 2.8.13
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): Максимально допустиме число: 10^7 КУО в 1 г. Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС):	ДФУ, 2.6.12, 2.6.13 і 5.1.8.

Продовження додатку Р

1	2	3
Мікробіологіч на чистота	Максимально допустиме число: 10^5 КУО в 1 г. <i>Escherichia coli</i> не більше 10^3 КУО в 1 г. Відсутність <i>Salmonella</i> в 25 г.	ДФУ, 2.6.12, 2.6.13 і 5.1.8.
Кількісний вміст	Не менше 15 мл/кг ефірної олії, у перерахунку на суху речовину.	ДФУ, 2.8.12
	Не менше 0,1 % вмісту хлорофілів у перерахунку на хлорофіл В.	ДФУ, 2.2.25

Специфікація якості на екстракт евкаліпту кулястого листя густий

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Густа маса темно-зеленого кольору зі специфічним запахом.	Візуально
Розчинність	Розчинний у <i>етанолі (96 %) Р</i> , <i>хлороформі Р</i> , практично нерозчинний у <i>воді Р</i> .	ДФУ, 1.4
Ідентифікація	<i>Хлорофіли</i> . Спектр поглинання отриманого розчину в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (649 ± 3) нм.	ДФУ, 2.2.25
Залишкові кількості органічних розчинників	Етилацетат - не більше 0,006 %	ДФУ, 2.2.28
Етанол	Не більше 30,0 %.	ДФУ, 2.2.28
Важкі метали	Не більше 0,01 % .	ДФУ, 2.4.8
Сухий залишок	Не менше 40,0 %.	ДФУ, 2.8.16
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не більше 10^3 КУО в 1 г. Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) не більше 10^2 КУО в 1 г.	ДФУ 2.6.12, 5.1.4
Антибактеріальна активність	Субстанція має пригнічувати ріст тест-культури <i>Staphylococcus aureus ATCC 6538-Р</i> в концентрації не більшій, ніж 12,5 мкг в 1 мл середовища.	За п. 9
Кількісне визначення	Вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл в - не менше 0,5 % в перерахунку на суху речовину.	ДФУ, 2.2.25

Формування специфікації якості для «Хлорофіліпт-спрей»

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю
1	2	3
Опис	Опалесцентна рідина від світло зеленого до зеленого кольору зі специфічним запахом. Можливе помутніння або випадання осаду в процесі зберігання.	Візуально
Ідентифікація	А. 1,8-цинеол: На хроматограмі випробуваного розчину повинен бути присутнім пік, час утримання якого має збігатися з часом утримання піку 1,8-цинеолу на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ, 2.2.28
	В. Хлорофіли. Спектр поглинання випробуваного розчину отриманого в пункті «Кількісне визначення. Хлорофіли» в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (649 ± 3) нм. С. Етанол. На хроматограмі випробуваного розчину отриманого в пункті «Кількісне визначення. Етанол» повинен бути присутнім пік, час утримання якого має збігатися з часом утримання піку етилового спирту на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ, 2.2.28
Густина	Від 0,99 г/см ³ до 1,02 см ³ .	ДФУ, 2.2.5
Обсяг вмісту упаковки	Не менше 25 мл.	Візуально
Однорідність маси	Лікарський засіб має витримувати випробування, якщо індивідуальна маса дози тільки для двох контейнерів відхиляється від середнього значення більше ніж на ± 25%, але не більше ніж на ± 35%.	ДФУ монографія «Оромукозні лікарські засоби»
Мікробіологічна чистота	Загальна кількість аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10 ⁴ КУО в 1 мл. Загальна кількість дріжджових і плісневих грибів (ТУМС): 10 ² КУО в 1 мл. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 мл. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 мл.	ДФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4

Продовження додатку Т

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю
1	2	3
Антибактеріальна активність	Лікарський засіб має пригнічувати ріст тест культури <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-Р в концентрації не більше 12,5 мкг в 1 мл середовища.	ДФУ монографія «Ормукозні лікарські засоби»
Кількісне визначення	Етанол від 12,9 % до 15,9 %.	ДФУ, 2.2.28
	Хлорофіли не менше 0,0009 %.	ДФУ, 2.2.25

Специфікація якості слань моху ісландського

Назва показника	Допустимі межі	Методи контролю
1	2	3
Визначення	Різані висушені слані <i>Cetraria islandica</i> (L.).	Візуально
Ідентифікація	В. Порошок сірувато-коричневого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи хлоральгідрату розчин Р. У порошку виявляються такі діагностичні структури: численні фрагменти псевдопаренхіми із вузькопорожнинних, товстостінних гіф із крайового шару та широкопорожнинних гіф із сусіднього шару, що складається із вільно переплетених гіф, серед яких у середній зоні розташовані зеленуваті або коричнуваті клітини водоростей близько 15 мкм у діаметрі; зрідка фрагменти краю слані зі спермогоніями, 160 мкм завширшки та 400 мкм завдовжки.	ДФУ/Ph.Eur., 2.8.23, мікроскопія
	С. Сірувато-коричневий розчин при охолодженні перетворюється на гель, який набуває синього забарвлення при додаванні йоду розчину Р.	Візуально
	Д. На хроматограмі випробовуваного розчину має бути присутній пік, який співпадає за часом утримування з піком розчину глюкози на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ/Ph.Eur., 2.2.29
	Е. На хроматограмі випробовуваного розчину має бути присутній пік, який співпадає за часом утримування з піком фумарової кислоти на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ/Ph.Eur., 2.2.29
Сторонні домішки	Не більше 5 %.	ДФУ/Ph.Eur., 2.8.2
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 12,0 %.	ДФУ/Ph.Eur., 2.2.32

1	2	3
Загальна зола	Не більше 3,0 %.	ДФУ/Ph.Eur., 2.4.16
Показник набухання	Не менше 4,5.	ДФУ/Ph.Eur., 2.8.4
Афлотоксини	Афлотоксин В ₁ < 2,0 ppb. Афлотоксини В ₁ , В ₂ , G ₁ , G ₂ < 4,0 ppb.	ДФУ/Ph.Eur., 2.8.18
Залишкові кількості пестицидів	Згідно з ДФУ, 2.8.13 (Табл. 2.8.13.-1).	Згідно з затвердженою методикою
Радіоактивне забруднення	Cs ¹³⁷ - не більше 500 Бк/кг; Sr ⁹⁰ - не більше 200 Бк/кг.	Згідно з затвердженою методикою
Важкі метали	Кадмій - не більше 1,0 ppm. Свинець - не більше 10,0 ppm. Ртуть - не більше 01 ppm.	ДФУ/Ph.Eur., 2.4.27
Мікробіологіч на чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10 ⁷ КУО в 1 г. Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС): 10 ⁵ КУО в 1 г. Не більше 10 ³ КУО в 1 г Escherichia coli. Відсутність Salmonella в 25 г.	ДФУ/Ph.Eur., 2.6.12, 2.6.31, 5.1.8
Кількісне визначення	Полісахариди: не менше 0,105 % (у перерахунку на глюкозу і суху речовину).	ДФУ, 2.2.25
Розмір частинок	Частинки розміром менше 0,1 мм - не більше 7 %; частинок розміром (0,1-0,4) мм - не менше 70 %; частинок розміром більше 0,4 мм - не більше 20 %.	Ситовий аналіз

Специфікація якості густого екстракту моху ісландського слані

Назва показника	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	Густа маса коричневого кольору зі специфічним запахом.	Органолептично
Ідентифікація	Фумарова кислота. На хроматограмі випробовуваного розчину має бути присутній пік, який співпадає за часом утримування з піком фумарової кислоти на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ, 2.2.29
	Полісахариди. Осад від сірого до коричневого кольору.	Візуально
Сухий залишок	Не менше 25.0 %.	ДФУ, 2.8.16
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10^4 КУО в 1 г; Максимально допустиме число: 50 000 КУО в 1 г. Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТҮМС): 10^2 КУО в 1 г. Максимально допустиме число: 500 КУО в 1 г. Толерантних до жовчі грамнегативних бактерій: не більше 10^2 КУО в 1 г.	ДФУ, 2.6.12, 2.6.31, 5.1.8
Кількісне визначення	Поліфеноли. Вміст поліфенолів має бути не менше 0,5 %, у перерахунку на пірогалол та суху речовину.	ДФУ, 2.2.25
	Полісахариди. Вміст полісахаридів має бути не менше 5 % у перерахунку на суху речовину.	ДФУ, 2.2.29

Специфікація якості спрею «Фітолор-спрей»

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Опалесцентна рідина від світло-зеленого до зеленого кольору зі специфічним запахом. Можливе помутніння або випадання осаду в процесі зберігання.	За п. 1, візуально
Ідентифікація	<i>Ісландського моху екстракт</i> На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися 5 характерних зон.	За п. 2.1, ДФУ, 2.2.27
	<i>Екстракт евкаліпту кулястого</i> На хроматограмі випробовуваного розчину мають виявлятися дві зони зеленого кольору.	За п. 2.2, ДФУ, 2.2.27
pH	Від 5,0 до 6,5.	За п. 3, ДФУ, 2.2.3
Об'єм вмісту упаковки	Не менше 25 мл.	За п. 4
Однорідність маси	Лікарський засіб витримує випробування, якщо індивідуальна маса дози лише для двох контейнерів відхиляється від середнього значення більш як на $\pm 25\%$, але не більш як на $\pm 35\%$.	За п. 5, ДФУ монографія «Ормукозні лікарські засоби»
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) 10^2 КУО в 1 мл. Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) 10^1 КУО в 1 мл. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 мл. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 мл.	За п. 6, ДФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4
Кількісне визначення	Вміст полісахаридів має становити не менше 2 мг/мл (0,2 %).	Гравіметрія
Антибактеріальна активність	Лікарський засіб має пригнічувати ріст тест культури <i>Staphylococcus aureus</i> в концентрації не більше 50 мкг/мл в порівняння з контролем.	ДФУ монографія «Ормукозні лікарські засоби»

Заявник, країна: АТ «Галичфарм», Україна

Виробник, країна: JSC Halychpharm
АТ «Галичфарм», Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

CHLOROPHYLLIPT SOFT EXTRACT
ХЛОРОФІЛІПТУ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ,
екстракт густий (субстанція) у бочках полімерних
для виробництва нестерильних лікарських форм

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

на

ХЛОРОФИЛЛИПТУ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

екстракт густий (субстанція) в бочках полімерних
для виробництва нестерильних лікарських форм

Хімічна назва: н/п

Структурна формула: н/п

Молекулярна формула: н/п

Молекулярна маса/відносна молекулярна маса: н/п

Склад:

Густий екстракт з Евкалипта листя (*Eucalyptus globulus* L.)
(7-14:1) (екстрагент – етанол 96 % (об/об)).

СПЕЦИФІКАЦІЯ
на ХЛОРОФІЛІШТУ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

Назва показника	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	Густа маса темно-зеленого кольору зі специфічним запахом.	За п.1, <i>органолетично</i>
Розчинність	Розчинний в <i>етанолі (96 %) Р, етилацетаті Р</i> , практично не розчинний у воді Р.	За п.2, ДФУ, 1.4
Ідентифікація	<i>А. 1,8-цинеол.</i> На хроматограмі випробовуваного розчину повинен бути присутнім пік, який співпадає за часом утримування з піком 1,8-цинеолу на хроматограмі розчину порівняння. <i>В. Хлорофіли.</i> Спектр поглинання в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (649±3) нм.	За п.3, ДФУ, 2.2.28 ДФУ, 2.2.25
Етанол	Не більше 30,0 % (м/м).	За п.4, ДФУ, 2.2.28
Залишкові кількості органічних розчинників	Етилацетат – не більше 0,5 %.	За п.5, ДФУ, 2.2.28
Важкі метали*	Кадмій – не більше 1.0 ppm. Свинець – не більше 5.0 ppm. Ртуть – не більше 0.1 ppm.	ДФУ, 2.4.27
Сухий залишок	Не менше 60,0 %.	За п.6, ДФУ, 2.8.16
Мікробіологічна чистота	Критерії прийнятності: Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10 ³ КУО/г. Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС): 10 ² КУО/г.	За п.7, ДФУ, 2.6.12, 5.1.4
Антибактеріальна активність	Субстанція повинна пригнічувати ріст тест-культури <i>Staphylococcus aureus ATCC 6538-Р</i> в концентрації не більше ніж 12,5 мкг в 1 мл середовища.	За п.8
Кількісне визначення	Вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл В - не менше 0,5 % в перерахунку на суху речовину.	За п.9, ДФУ, 2.2.25

* - Показник контролюється контрактною організацією.

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Опис.

Густа маса темно-зеленого кольору зі специфічним запахом.

Визначення проводять органолептично.

2. Розчинність (ДФУ, 1.4). Розчинний в етанолі (96 %) *P*, етилацетаті *P*, практично не розчинний у воді *P*.

3. Ідентифікація.А. *1,8-цинеол.*

Визначення проводять методом газової хроматографії (ДФУ, 2.2.28).

Випробовуваний розчин. 0,5 г екстракту розчиняють в 25 мл етанолу (96 %) *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50,0 мл.

Розчин порівняння. 5 мг *1,8-цинеолу P* розчиняють в 10 мл етанолу (96 %) *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл.

Контрольний розчин. Етанол (96 %) *P*.

Хроматографування проводять на газовому хроматографі за таких умов:

Колонка: розміром 30 м × 0,53 мм, заповнена сорбентом *макрогол 20000 P* з товщиною шару 1 мкм, (HP-INNOWax, каталожний номер HP 19095N-123) або аналогічна, для якої виконується придатність хроматографічної системи.

Газ-носії: гелій для хроматографії *P*;

Лінійна швидкість газу-носія: 30 см/с;

Поділ потоку: 1:1;

Об'єм інжекції: 1 мкл.

Температура:

	Швидкість підняття температури, t°C/хв	Час (хв)	Температура (°C)
Колонка	-	0 – 5	60
	5	5 – 15	60→110
	-	15-16	110
	15	16-22	110→200
	-	22-35	200
Блок вводу проб	-	-	220

Детектор	-	-	220
----------	---	---	-----

Детектор: полуменево-іонізаційний.

Хроматографують контрольний розчин, розчин порівняння та випробовуваний розчин, отримуючи по 2 хроматограми з кожного.

Придатність хроматографічної системи, розрахована для розчину порівняння:

- *ефективність хроматографічної колонки (N)*, розрахована для піка 1,8-цинеолу, повинна бути не менше 10000 теоретичних тарілок.

На хроматограмі випробовуваного розчину повинен бути присутнім пік, який співпадає за часом утримування з піком 1,8-цинеолу на хроматограмі розчину порівняння.

Піки на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння, які відповідають пікам на хроматограмах контрольного розчину, не враховують.

В. Хлорофіли (ДФУ, 2.2.25). Спектр поглинання випробовуваного розчину, отриманого в пункті «Кількісне визначення», в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (649±3) нм.

4. Етанол (ДФУ, 2.2.28). Визначення проводять методом парофазної газової хроматографії.

Розчин внутрішнього стандарту (1): 3,0 мл бутанолу Р розчиняють в диметилсульфоксиді Р, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл і перемішують.

Розчин внутрішнього стандарту (2): 0,4 мл пропанолу Р розчиняють в диметилсульфоксиді Р, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50 мл і перемішують.

Вихідний розчин (1): 5,0 мл диметилсульфоксиду Р поміщають в мірну колбу об'ємом 20,0 мл, додають 0,60 г СЗ етанолу або РСЗ, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують.

Вихідний розчин (2): 5,0 мл диметилсульфоксиду Р поміщають у мірну колбу об'ємом 100,0 мл, додають 0,05 г етилацетату Р, доводять об'єм

розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують.

Випробовуваний розчин. 0,5 г субстанції поміщають у мірну колбу об'ємом 20,0 мл, додають 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту (1), 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту (2) і 5,0 мл диметилсульфоксиду Р, перемішують до повного розчинення, доводять об'єм розчину диметилсульфоксидом Р до мітки і перемішують.

По 5,0 мл отриманого розчину поміщають у 3 флакони об'ємом 20 мл.

Розчин порівняння. 5,0 мл диметилсульфоксиду Р поміщають у мірну колбу об'ємом 20,0 мл, додають 5,0 мл вихідного розчину (1) і 5,0 мл вихідного розчину (2), 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту (1) і 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту (2). Доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують.

По 5,0 мл отриманого розчину поміщають у 3 флакона об'ємом 20 мл.

Контрольний розчин. По 5,0 мл диметилсульфоксиду Р поміщають у 2 флакона об'ємом 20 мл.

Флакони закривають щільними резиновими мембранними корками, які вкриті політетрафторетиленом, і обтискують алюмінієвими ковпачками.

Використовують статичну парофазну систему з такими параметрами:

Назва операційних параметрів	Значення операційних параметрів
Рівноважна температура (°C)	100
Час досягнення рівноваги (хв)	30
Температура лінії подачі газової проби (°C)	110
Газ-носії	Гелій для хроматографії Р
Час перебування під тиском (с)	30
Об'єм проби, що вводиться (мл)	1

Хроматографування проводять на газовому хроматографі з полуменевіо-іонізаційним детектором за таких умов:

- колонка кварцова капілярна розміром 30 м × 0,32 мм, вкрита шаром макрогелу 20000 Р товщиною 0,50 мкм, або аналогічна, якщо для неї виконуються умови тесту «Придатність хроматографічної системи»;
- газ-носії: гелій для хроматографії Р;

- поділ потоку: 1:20;
- лінійна швидкість газу-носія: 30 см/с.

Температура:

	Час (хв)	Температура (°C)	Швидкість підвищення температури (°C/хв)
Колонка	0-2	50	-
	2-12	50→100	5
	12-13	100	-
	13-17	100→200	25
	17-22	200	-
Блок вводу проб	-	150	-
Детектор	-	250	-

Порядок виходу піків на хроматограмі розчину порівняння: етилацетат, етанол, пропанол, бутанол, диметилсульфоксид.

Використовуючи часи утримання, визначені з хроматограми розчину порівняння, визначають положення компонентів розчину порівняння на хроматограмах випробовуваного розчину.

Придатність хроматографічної системи: для трьох повторних введень рівноважної газової фази над розчином порівняння:

- число теоретичних тарілок, розраховане за піком бутанолу, має бути не менше 10000;
- відносне стандартне відхилення, розраховане за відношенням площ піків етанолу до площ піків бутанолу, повинно бути не більше 3 %.

Вміст етанолу в субстанції ($X_{етанол}$), у відсотках (м/м), розраховують за формулою:

$$X_{етанол} = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot 5 \cdot 20 \cdot 100 \cdot P}{B_0 \cdot m \cdot 20 \cdot 20 \cdot 100} = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot P}{B_0 \cdot m \cdot 4}$$

де:

B_1 – середнє значення відношень площ піків етанолу до площ піків бутанолу, розраховане за хроматограмами випробовуваного розчину;

B_0 – середнє значення відношень площ піків етанолу до площ піків бутанолу, розраховане за хроматограмами розчину порівняння;

m_0 – маса наважки етанолу P , взята для приготування розчину

порівняння, у грамах;

m – маса наважки субстанції, у грамах;

P – вміст діючої речовини, вказаний у сертифікаті *СЗ етанолу*, у відсотках.

5. Залишкові кількості органічних розчинників (ДФУ, 2.2.28).

Умови проведення тесту описані у випробуванні «Етанол».

Для оцінки результатів використовують хроматограми, отримані у розділі «Етанол».

Придатність хроматографічної системи: для трьох повторних введень рівноважної газової фази над розчином порівняння:

- число теоретичних тарілок, розраховане для піка пропанолу, має бути не менше 10000;
- відносне стандартне відхилення, розраховане за відношенням площ піків етилацетату до площ піків пропанолу, становить не більше 5 %.

Вміст етилацетату (X) у субстанції, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X_{\text{етилацетат}} = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot 5 \cdot 20 \cdot 100 \cdot P}{B_0 \cdot m \cdot 100 \cdot 20 \cdot 100} = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot P}{B_0 \cdot m \cdot 20}$$

де: B_1 – середнє значення співвідношень площ піків етилацетату до площ піків пропанолу, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

B_0 – середнє значення співвідношень площ піків етилацетату до площ піків пропанолу, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки *етилацетату* P , взята для приготування розчину порівняння, у грамах;

m – маса наважки субстанції, у грамах.

6. Сухий залишок (ДФУ, 2.8.16).

7. Мікробіологічна чистота (ДФУ, 2.6.12 і 5.1.4).

8. Антибактеріальна активність. Антибактеріальну активність визначають мікробіологічним методом з використанням 2-кратних серійних

розведень в соєво-казеїновому бульйоні з тест-штамом *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р.

Основний розчин. 0,100 г субстанції, у перерахунку на суху речовину, розчиняють в етанолі (96 %) Р, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл і перемішують. 2,5 мл отриманого розчину доводять водою Р до об'єму 25 мл (концентрація 100 мкг/мл).

Приготування робочої суспензії клітин тест-мікроорганізму. Тест-культуру *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р вирощують в соєво-казеїновому бульйоні при температурі $(33\pm 1)^\circ\text{C}$ впродовж 18-24 год. У пробірку вносять 2 мл вирощеної добової тест-культури і додають 2 мл стерильного розчину 9 г/л натрію хлориду Р. Після цього проводять 4 послідовні 10-кратні розведення і вносять 5 мл суспензії з 5-го розведення в пробірку, яка містить 5 мл розчину 9 г/л натрію хлориду Р (робоча суспензія тест-культури з концентрацією 25000 мікробних клітин в 1 мл).

Для випробування беруть 3 ряди пробірок, по 4 в кожному, які містять по 2 мл соєво-казеїнового бульйону. У перші пробірки кожного ряду вносять по 2 мл основного розчину і роблять послідовні 2-х кратні розведення випробовуваної субстанції до концентрації 6,25 мкг/мл. Зі всіх пробірок останнього ряду вилучають по 2 мл суміші субстанції з середовищем. У всі пробірки вносять по 0,2 мл робочої суспензії тест-культури.

Контроль росту тест-мікроорганізму і контроль стерильності середовища – обов'язковий.

Облік результатів досліджень проводять після інкубації при температурі $(33\pm 1)^\circ\text{C}$ впродовж 48 год.

Антибактеріальну активність субстанції оцінюють візуально, порівнюючи прозорість середовища кожної пробірки у порівнянні з двома контрольними за найменшою концентрацією, яка дала затримку росту тест-культур *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р.

Субстанція повинна пригнічувати ріст тест-культури *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р у концентрації не більше, ніж 12,5 мкг в 1 мл середовища.

9. Кількісне визначення (ДФУ, 2.2.25).

Випробовуваний розчин. 0,1 г субстанції поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, розчиняють у 15 мл *етанолу (96%) Р*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки та перемішують.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину на спектрофотометрі в максимумі поглинання при довжині хвилі (649±3) нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості розчину порівняння *етанол (96 %) Р*.

Вміст суми хлорофілів (*X*), у перерахунку на хлорофіл В, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A \times 50 \times 1 \times 100 \times 100}{m \times 380 \times 100 \times W} = \frac{A \times 50 \times 100}{m \times 380 \times W}$$

де:

A - оптична густина випробовуваного розчину;

380 – питомий показник поглинання хлорофілу В, при довжині хвилі 649 нм;

m – маса наважки субстанції, у грамах;

W - сухий залишок, %.

УПАКОВКА

У полімерних бочках. На бочку наклеюють етикетку.

МАРКУВАННЯ

На етикетці вказують: назву субстанції, масу нетто, масу брутто, номер серії, дату виробництва, термін придатності, умови зберігання.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

В оригінальній упаковці, у захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

1 рік.

Копія вірна

Директор виконавчий
АТ «Галичфарм»



Блонський О.В.

Заявник, країна: ПАТ «Галичфарм», Україна

Виробник, країна: JSC Halychpharm
ПАТ «Галичфарм», Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

CHLOROPHYLLIPT OROMUCOSAL SPRAYS
ХЛОРОФЛІПТ СПРЕЙ ОРОМУКОЗНИЙ,
по 25 мл в флаконі, по 1 флаконі в пачці

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
ХЛОРОФІЛІПТ СПРЕЙ ОРОМУКОЗНИЙ,
по 25 мл у флаконі, по 1 флаконі в пачці**

Хімічна назва: н / п

Структурна формула: н / п

Молекулярна формула: н / п

Молекулярна маса / відносна молекулярна маса : н / п

Склад на 1 мл:

Діюча речовина:

Густий екстракт евкаліпту кулястого листя (*Eucalyptus
Globulus L.*) DER (7-14:1)
(АТ «Галичфарм», Україна)

2 мг

Допоміжні речовини:

Пропіленгліколь;

Етанол (96 %).

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
ХЛОРОФІЛПТ СПРЕЙ ОРОМУКОЗНИЙ,
по 25 мл у флаконі, по 1 флаконі в пачці**

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	Опалесцентна рідина від світло зеленого до зеленого кольору зі специфічним запахом. Можливе помутніння або випадання осаду в процесі зберігання.	Візуально
Ідентифікація	А. 1,8-цинеол: На хроматограмі випробуваного розчину повинен бути присутнім пік, час утримання якого має збігатися з часом утримання піку 1,8-цинеолу на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ, 2.2.28
	В. Хлорофіли. Спектр поглинання випробуваного розчину отриманого в пункті «Кількісне визначення. Хлорофіли» в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (649 ± 3) нм. С. Етанол. На хроматограмі випробуваного розчину отриманого в пункті «Кількісне визначення. Етанол» повинен бути присутнім пік, час утримання якого має збігатися з часом утримання піку етилового спирту на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ, 2.2.28
Густина	Від 0,99 г/см ³ до 1,02 см ³ .	ДФУ, 2.2.5
Обсяг вмісту упаковки	Не менше 25 мл.	Візуально
Однорідність маси	Лікарський засіб має витримувати випробування, якщо індивідуальна маса дози тільки для двох контейнерів відхиляється від середнього значення більше ніж на ± 25%, але не більше ніж на ± 35%.	ДФУ монографія «Оромукозні лікарські засоби»
Мікробіологічна чистота	Загальна кількість аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10 ⁴ КУО в 1 мл. Загальна кількість дріжджових і плісневих грибів (ТУМС): 10 ² КУО в 1 мл. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 мл. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 мл.	ДФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю
Антибактеріальна активність	Лікарський засіб має пригнічувати ріст тест культури <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-Р в концентрації не більше 12,5 мкг в 1 мл середовища.	ДФУ монографія «Ормукозні лікарські засоби»
Кількісне визначення	Етанол від 12,9 % до 15,9 %.	ДФУ, 2.2.28
	Хлорофіли не менше 0,0009 %.	ДФУ, 2.2.25

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. **Опис.** Опалесцентна рідина від світло-зеленого до зеленого кольору зі специфічним запахом. Можливе помутніння або випадання осаду в процесі зберігання.

2. Ідентифікація.

А. 1,8-цинеол: Визначення проводять методом газової хроматографії (ДФУ, 2.2.28).

Випробуваний розчин. ГЛЗ

Розчин порівняння. 5 мг г 1,8-цинеолу Р розчиняють в 10 мл етанолу (96%) Р і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 100,0 мл.

Контрольний розчин. Етанол (96%) Р.

Хроматографування проводять на газовому хроматографі, при таких умовах:

Колонка: розміром 30 м × 0,53 мм, заповнена сорбентом макрогол 20000 Р з товщиною шару 1 мкм, (HP-INNOWax, номер за каталогом HP 19095N-123) або аналогічна, для якої виконується придатність хроматографічної системи.

Газ-носії: гелій для хроматографії Р;

лінійно швидкість газу-носія: 30 см / сек ;

Розподіл потоку: 1: 1;

Щільність: 5 с;

Обсяг інжекції: 1 мкл. Температура:

	Швидкість підняття температури, t°C/хв	Час (хв)	Температура (°С)
Колонка	-	0 – 5	60
	5	5 – 15	60→110
	-	15-16	110
	15	16-22	110→200
	-	22-35	200
Блок вводу проб	-	-	220
Детектор	-	-	220

Детектор: полум'яно-іонізаційним.

Хроматографують контрольний розчин, розчин порівняння і випробуваного розчину, отримуючи по 2 хроматограму з кожного.

Придатність хроматографічної системи, розрахована для розчину порівняння:

- ефективність хроматографічної колонки (N), розрахована для піку 1,8-цинеолу повинна бути не менше 10000 теоретичних тарілок.

на хроматограмі випробуваного розчину повинен бути присутнім пік, який збігається по годині утримання з піком 1,8-цинеолу на хроматограмі розчину порівняння .

Піки на хроматограмах випробуваного розчину і розчину порівняння, які відповідають піків на хроматограмах контрольного розчину, не враховуються.

В. Хлорофіли. Спектр поглинання випробуваного розчину отриманого в пункті «Кількісне визначення. Хлорофіли »в області від 600 нм до 700 нм повинен мати максимум поглинання при довжині хвилі (649 ± 3) нм.

С. Етанол. На хроматограмі випробуваного розчину отриманого в пункті «Кількісне определение.Етанол» повинен бути присутнім пік, час утримання якого має збігатися з часом утримання піку етанолу на хроматограмі розчину порівняння.

3. Відносна густина. Від 0,99 г / см³ до 1,02 г / см³

4. Обсяг зміст упаковки. Не менш 25 мл. Визначення проводять на 10 контейнерах. Утримання одного контейнера переносять в мірний циліндр місткістю 25 мл, визначають обсяг.

5. Однорідної маси. Випускають дозу і відкидає. Не менш ніж через 5 з знову збовтують контейнер протягом 5 с, випускають дозу і відкидають. Повторюють зазначену операцію ще 3 рази.Після цього контейнер зважують, випускають дозу і знову зважують. Розраховують масу індивідуальної дози як різницю двох мас. Повторюють цю операцію ще для 9 контейнерів.

6. Мікробіологічна чистота (ДФУ, 2.6.12, 2.6.13 і 5.1.4.).

7. Антибактеріальна активність.

Лікарський засіб має пригнічувати ріст тест культури *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-R в концентрації не більше 12,5 мкг в 1 мл середовища

8. Кількісне визначення.

8.1 Етанол. (ДФУ, 2.2.28).

Визначення проводять методом газової хроматографії з Парофазная приставкою.

Розчин внутрішнього стандарту: 3,0 мл пропанола Р розчиняють в диметилсульфоксиде Р, доводять об'єм розчину тим же розчинником до 50 мл і перемішують. Вихідний розчин: 5 мл диметилсульфоксиду р поміщають у мірну колбу об'ємом 20,0 мл, додають 0,60 г СО етанолу або РСО, доводять об'єм розчину тим же розчинником до мітки і перемішують.

Розчин порівняння: 5 мл диметилсульфоксиду Р поміщають в мірну колбу об'ємом 20,0 мл, додають 2,0 мл вихідного розчину і 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту. Доводять об'єм розчину тим же розчинником до мітки і перемішують.

За 5,0 мл отриманого розчину поміщають в 3 флакона об'ємом 20 мл. Флакони герметизують.

Випробуваний розчин. 0,40 г ЛЗ поміщають в мірну колбу об'ємом 20,0 мл, додають 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту і 5,0 мл диметилсульфоксиду Р, доводять об'єм розчину диметилсульфоксидом Р до мітки і перемішують.

За 5,0 мл отриманого розчину поміщають в 3 флакона об'ємом 20 мл. Флакони герметизують.

Контрольний розчин. За 5 мл диметилсульфоксиду Р поміщають в 2 флакона об'ємом 20 мл.

Флакони закривають щільними гумовими мембранними пробками, які покриті політетрафторетиленом, і затискають алюмінієвими ковпачками.

Використовують статичну парофазну систему з такими параметрами:

Назва параметру	Значення
Рівномірна температура (°C)	100
Час досягання рівномірності (хв)	30
Температура лінії подачі проби (°C)	110
Газ-носії	<i>Гелій для хроматографування P</i>
Час перебування под давлением (с)	30
Об'єм проби (мл)	1

Хроматографування проводять на газовому хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором за таких умов:

- колонка кварцова капілярна розміром 30 м × 0,32 мм, покрита шаром макрогола 20000 P товщиною 0,50 мкм, або аналогічна, якщо для неї виконуються умови тесту «Придатність хроматографічної системи»;

- газ-носії: гелій для хроматографії P;

- розподіл потоку: 1: 20;

- лінійна швидкість газу-носія: 30 см /с.

Температура:

	Час, хв	Температура (°C)	Швидкість підняття температури (°C/хв)
Колонка	0-2	50	-
	2-12	50→100	5
	12-13	100	-
	13-17	100→200	25
	17-22	200	-
Блок вводу проб		150	
Детектор		250	

Порядок виходу піків на хроматограмі розчину порівняння: етанол, пропанол, ДМСО.

Придатність хроматографічної системи: для трьох повторних введень рівноважної газової фази над розчином порівняння:

- число теоретичних тарілок, розраховане по піку етанолу и пропанолу, становить не менше 10000;

- відносне стандартне відхилення, розраховане по відношенню площ піків етанолу до площ піків пропанолу, має бути не більше 5.0%.

Вміст етанолу в субстанції (X), у відсотках (м/м), розраховують за формулою:

$$X = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot 20 \cdot 2 \cdot 100 \cdot P}{B_0 \cdot m \cdot 20 \cdot 20 \cdot 100} = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot \rho}{B_0 \cdot m \cdot 10 \cdot \rho_0}$$

де:

B_1 - відношення площ піків етанолу до площ піків пропанола, розраховане по хроматограму випробуваного розчину;

B_0 - середнє значення відносин площ піків етанолу до площ піків пропанола, розраховане по хроматограму розчину порівняння;

m_0 - маса навішення СО етанолу, в грамах;

m - маса наважки ЛЗ, в грамах;

P - вміст діючої речовини, вказане в сертифікаті СЗ етанолу, у відсотках;

ρ - густина випробуваного розчину, г/см³;

ρ_0 - густина СЗ етанолу, г/см³

8.2 Хлорофіли

Випробуваний розчин. 15,0 г лікарського засобу поміщають в мірну колбу місткістю 20,0 мл, доводять об'єм розчину етанолом (96%) Р, тим же розчинником до мітки і перемішують отриманим розчином фільтрують крізь фільтр «біла стрічка».

Вимірюють оптичну щільність випробуваного розчину на спектрофотометрі в максимумі поглинання при довжині хвилі (649 ± 3) нм, в кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння *етанол (96%) Р*.

Зміст суму хлорофілом (X) в перерахунку на хлорофілл в, в процентах вічисляють за формулою:

$$X = \frac{A \times 20 \times 1 \times 100}{m \times 380 \times 100} = \frac{A \times 20}{m \times 380}$$

де

A- оптична густина випробуваного розчину;

380 - питомий показник поглинання хлорофілу В, при довжині хвилі 649 нм;

m - маса наважки лікарського засобу, в грамах

УПАКОВКА

За 25 мл у флаконі, закритий спреї-насадками.

На флакони наклеюють етикетку. Кожній флакон разом з інструкцією вкладаються в пачку.

МАРКИРОВКА

Відповідно до затвердженого тексту маркування.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

В оригінальній упаковці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Копія вірна

Директор виконавчий
ПАТ «Галичфарм»



Блонський О.В.

Заявник, країна: АТ «Галичфарм», Україна

Виробник, країна: JSC Halychpharm
АТ «Галичфарм», Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

ICELAND MOSS SOFT EXTRACT
ІСЛАНДСЬКОГО МОХУ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ,
екстракт густий (субстанція) у бочках полімерних
для фармацевтичного застосування

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

на

**ІСЛАНДСЬКОГО МОХУ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ,
екстракт густий (субстанція) у бочках полімерних
для фармацевтичного застосування**

Хімічна назва: н/п

Структурна формула: н/п

Молекулярна формула: н/п

Молекулярна маса/відносна молекулярна маса: н/п

Склад:

Густий екстракт з Ісландського моху, DER (3-7:1) (екстрагент – вода питна), одержаний зі сланей Ісландського моху - *Cetraria islandica* (L.) Acharius s.l.; вміст поліфенолів в екстракті - не менше 0,50 %, у перерахунку на пірогалол та суху речовину.

СПЕЦИФІКАЦІЯ
на ІСЛАНДСЬКОГО МОХУ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

Назва показника	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	Густа маса коричневого кольору зі специфічним запахом.	За п.1, <i>органолептично</i>
Ідентифікація	На хроматограмі випробовуваного розчину має бути присутній пік, який співпадає за часом утримування з піком фумарової кислоти на хроматограмі розчину порівняння.	За п.2, ДФУ, 2.2.27
Важкі метали*	Кадмій – не більше 1.0 ppm. Свинець – не більше 10.0 ppm. Ртуть – не більше 0.1 ppm.	ДФУ, 2.4.27
Сухий залишок	Не менше 25.0 %.	За п.3, ДФУ, 2.8.16
Мікробіологічна чистота	Критерії прийнятності: Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10^4 КУО/г; Максимально допустиме число: 50 000 КУО/г. Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС): 10^2 КУО/г; Максимально допустиме число: 500 КУО/г. Толерантних до жовчі грамнегативних бактерій: не більше 10^2 КУО/г. Відсутність <i>Escherichia coli</i> в 1 г. Відсутність <i>Salmonella</i> в 25 г.	За п.4, ДФУ, 2.6.12, 2.6.31, 5.1.8 <i>Категорія В</i>
Кількісне визначення	Вміст поліфенолів має бути не менше 0,50 %, у перерахунку на пірогалол та суху речовину.	За п.5, ДФУ, 2.2.25

* - Показник контролюється контрактною організацією.

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Опис.

Визначення проводять органолептично.

2. Ідентифікація (ДФУ, 2.2.29).

Випробовуваний розчин. 0,15 г Ісландського моху екстракту густого переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 20 мл *води Р*, витримують впродовж 10 хв на ультразвуковій бані при температурі 50 °С. Розчин охолоджують до кімнатної температури, доводять тим самим розчинником до мітки і перемішують. Отриманий розчин фільтрують через фільтр 0,45 мкм.

Розчин порівняння. 10,0 мг *фумарової кислоти Р* переносять у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 20 мл *води Р*, витримують впродовж 10 хв на ультразвуковій бані при температурі 50 °С. Розчин охолоджують до кімнатної температури, доводять тим самим розчинником до мітки і перемішують. 2,0 мл отриманого розчину переносять у колбу місткістю 20 мл і доводять об'єм до мітки рухомою фазою, перемішують. Фільтрують через фільтр 0,45 мкм.

Умови хроматографування:

Колонка:

- *розмір:* 250 мм × 4,6 мм;

- *нерухома фаза:* *силікагель для хроматографії октадецилсілільний Р* з розміром частинок 5 мкм (XTerra® RP C 18 5 μm або аналогічна колонка, для якої виконуються вимоги випробування «*Придатність хроматографічної системи*»);

- *температура:* 25 °С;

- *рухома фаза:* 10 мл 0,5 *М* розчину сірчаної кислоти переносять в колбу місткістю 1 л, доводять водою високоочищеною *Р* до мітки і перемішують, фільтрують крізь фільтр 0,45 мкм;

- *швидкість рухомої фази:* 1,0 мл/хв;

- *детектування:* спектрофотометрично за довжини хвилі 210 нм;

- об'єм інжекції: 20 мкл;

Час хроматографування: 15 хв.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння:

- число теоретичних тарілок: не менше 2000.

3. Сухий залишок (ДФУ, 2.8.16).

4. Мікробіологічна чистота (ДФУ, 2.6.12, 2.6.31 і 5.1.8. Категорія В).

5. Кількісне визначення (ДФУ, 2.2.25).

Вихідний розчин. 0,6 г Ісландського моху екстракту густого поміщають у колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл води Р і розчиняють. Витримують на ультразвуковій бані впродовж 10 хв і доводять водою Р до мітки, перемішують.

50 мл отриманого розчину центрифугують 10 хв зі швидкістю 7000 об/хв.

Випробовуваний розчин. Суміш 2,0 мл вихідного розчину (надосадової рідини), 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл води Р доводять розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл.

Розчин порівняння. Безпосередньо перед випробуванням 50,0 мг пірогалолу Р розчиняють у воді Р і доводять об'єм тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять водою Р до об'єму 100,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл води Р, доводять розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл.

Компенсаційний розчин. Вода Р.

Оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 760 нм відносно компенсаційного розчину.

Вміст поліфенолів (X), у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 5 \cdot 100 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot W} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 5 \cdot P}{A_0 \cdot m_1 \cdot W}$$

m_0 – маса наважки пірогалолу, у грамах;

m_1 – маса наважки субстанції, у грамах

A_1 – оптична густина випробуваного розчину

A_0 – оптична густина розчину порівняння

P – вміст пірогалолу, вказаний у сертифікаті, у відсотках

W – сухий залишок, у відсотках.

УПАКОВКА

У полімерних бочках. На бочку наклеюють етикетку.

МАРКУВАННЯ

На етикетці вказують: назву субстанції, масу нетто, масу брутто, номер серії, дату виробництва, термін придатності, умови зберігання.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

В оригінальній упаковці, у захищеному від світла місці, при температурі (5 ± 3) °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

6 міс.

Копія вірна

Директор виконавчий
АТ «Галичфарм»



Блонський О.В.

Заявник, країна: ПАТ «Галичфарм», Україна

Виробник, країна: ПАТ «Галичфарм», Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

FITOLOR

ФІТОЛОР, спрей оромукозний по 25 мл у флаконі

ПАТ «Галичфарм»

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
на ФІТОЛОР, спрей оромукозний по 25 мл у флаконі****Склад на 1 мл.*****Діючі речовини.***

Хлорофіліпту екстракт густий (1:15,3) - 2 мг
(ПАТ «Галичфарм», Україна)

Ісландського моху екстракт рідкий (1:10) - 60 мг
(ПАТ «Галичфарм», Україна)

Допоміжні речовини:

Етанол 96 %

Пропіленгліколь

Твін-80

Ксантанова камедь

Вода очищена

СПЕЦИФІКАЦІЯ

на ФІТОЛОР, спрей оромукозний по 25 мл у флакони

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Опис*	Опалесцентна рідина від світло-зеленого до зеленого кольору зі специфічним запахом. Можливо помутніння або випадання осаду в процесі зберігання.	За п. 1, візуально
Ідентифікація*	Ісландського моху екстракт На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися 5 характерних зон.	За п. 2.1, ДФУ, 2.2.27
	Екстракт хлорофіліпту На хроматограмі випробовуваного розчину мають виявлятися дві зони зеленого кольору.	За п. 2.2, ДФУ, 2.2.27
	Етанол і Гліцерин. На хроматограмі випробовуваного розчину, отриманої при кількісному визначенні етанолу, мають бути присутніми піки, час утримування яких співпадає з часами утримування піків етанолу і гліцерину на хроматограмі розчину порівняння.	За п. 2.3, ДФУ, 2.2.28
рН*	Від 5,0 до 6,5.	За п. 3, ДФУ, 2.2.3
Об'єм вмісту упаковки	Не менше 25 мл	За п. 4
Однорідність маси	Лікарський засіб витримує випробування, якщо індивідуальна маса дози лише для двох контейнерів відхиляється від середнього значення більш як на $\pm 25\%$, але не більш як на $\pm 35\%$.	За п. 5, ДФУ монографія «Оромукозні лікарські засоби»
Мікробіологічна чистота	Критерії прийнятності: загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10^2 КУО в 1 мл. Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС): 10^1 КУО в 1 мл. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 мл. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 мл.	За п. 6, ДФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4
Кількісне визначення*	Етанол Вміст етанолу має становити $\pm 15\%$ від номінального значення.	За п. 7.1, ДФУ, 2.2.28
	Екстракт хлорофіліпту густий. $\pm 10\%$ від номінального значення.	За п. 7.2, ДФУ, 2.2.25
	Ісландського моху екстракт. $\pm 10\%$ від номінального значення.	За п. 7.3, Гравіметричний метод
Антибактеріальна	Лікарський засіб має пригнічувати ріст тест культури <i>Staphylococcus aureus</i> в	За п. 8

активність*	концентрації не більше 50 мкг/мл в порівнянні з контролем.	
--------------------	--	--

* - в процесі фармрозробки можливі зміни даних показників.

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Опис. Опалесцентна рідина від світло-зеленого до зеленого кольору зі специфічним запахом. Можливо помутніння або випадання осаду в процесі зберігання.

2. Ідентифікація.

2.1. Ісландського моху екстракт

Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (ДФУ, 2.2.27).

Випробовуваний розчин. 50 мл лікарського засобу упарюють насухо під зниженим тиском при температурі не вище 60 С. Залишок розчиняють в 1 мл ацетону Р, при необхідності фільтрують через фільтр із діаметром пор не більше 0,45 мкм.

Розчин порівняння. 5 мг анетолу Р, 5 мг кофейної кислоти Р розчиняють у 2 мл ацетону Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р ((5-40) мкм) (або ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р (2-10) мкм).

Рухома фаза: ацетон Р - метанол Р – мурашинна кислота безводна Р - толуол Р (5:5:10:80).

Об'єм проб: 30 мкл (або 6 мкл) випробовуваного розчину і 10 мкл (або 2 мкл) розчину порівняння, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см (або 6 см) від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обприскують розчином анісового альдегіду Р, нагрівають при температурі 100-105 °С протягом 5-10 хв і переглядають при денному світлі.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші слабкі зони.

Верхня частина пластинки	
Анетол: синя або синьо-фіолетова зона	Сірувато-синя зона 2 слабкі сірувато-блакитні зони Слабка сірувато-коричнева або сіра зона
Кофейна кислота: сірувато-синя зона	Сірувато-фіолетова зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

2.2 Екстракт хлорофілітну.

Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (ДФУ, 2.2.27).

Випробовуваний розчин. 10 мл лікарського засобу поміщають у ділільну лійку місткістю 50 мл, додають 1 мл 1 М розчину хлористоводневої кислоти Р, 25 мл хлороформу Р і струшують протягом 10 хв. Після розділення шарів, хлороформний шар упарюють на киплячій водяній бані досуха. Залишок розчиняють в 5 мл 96 % спирту Р (при потребі фільтрують через фільтр із діаметром пор не більше 0,45 мкм).

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю GF₂₅₄ Р

Рухома фаза: бензол Р - хлороформ Р (1:10).

Об'єм проб: 15 мкл випробовуваного розчину

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

Висушування: на повітрі протягом 25 хв.

Виявлення: переглядають при денному світлі.

Результати. На хроматограмі випробовуваного розчину мають виявлятися дві зони зеленого кольору

2.3. Етанол і Гліцерин. На хроматограмі випробовуваного розчину, отриманої при кількісному визначенні етанолу, мають бути присутніми піки, час утримування яких співпадає з часами утримування піків етанолу і гліцерину на хроматограмі розчину порівняння.

3. рН. Визначення проводять згідно з ДФУ, 2.2.3, *потенціометрично*.

4. Об'єм вмісту упаковки. Не менше 25 мл. Визначення проводять на 10 контейнерах. Вміст одного контейнера як можна повніше переносять в мірний циліндр місткістю 50 мл, визначають об'єм.

5. Однорідність маси. Випускають дозу і відкидають. Не менше як через 5 с знову збовтують контейнер протягом 5 с, випускають дозу і відкидають. Повторюють зазначену операцію ще три рази. Після цього контейнер зважують, випускають дозу і знову зважують контейнер. Розраховують масу індивідуальної дози як різницю двох мас. Повторюють цю операцію ще для дев'яти контейнерів.

Лікарський засіб витримує випробування, якщо індивідуальна маса дози лише для двох контейнерів відхиляється від середнього значення більш як на $\pm 25\%$, але не більш як на $\pm 35\%$.

6. Мікробіологічна чистота. Визначення проводять згідно з ДФУ 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4.

Критерії прийнятності:

Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10^2 КУО в 1 мл.

Загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС): 10^1 КУО в 1 мл.

Відсутність *Staphylococcus aureus* в 1 мл.

Відсутність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 мл.

7. Кількісне визначення.

7.1. Етанол. Випробування проводять методом газової хроматографії (ДФУ, 2.2.28).

Для проведення випробування готують наступні розчини:

Розчин внутрішнього стандарту. 2 мл пропанолу *P* доводять водою *P* до 25 мл.

Випробуваний розчин. 0,400 г лікарського засобу розчиняють в 20 мл води *P*, додають 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту і доводять водою *P* до 50,0 мл.

Розчин порівняння. 0,19 г гліцерину *P* та 96 % спирту *P* розчиняють в 20 мл води *P*, додають 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту і доводять водою *P* до 50,0 мл.

Хроматографування проводять на газовому хроматографі з полуменево-іонізаційним детектором за таких умов:

колонка:

— *матеріал:* кварц;

— *розмір:* 30 м × 0,53 мм;

— *нерухома фаза:* поліетиленгліколь (товщина шару 1 мкм).

Газ-носії: гелій для хроматографії *P*.

Швидкість газу-носія: 10,0 мл/хв.

Ділення потоку: 20:1.

Температура:

	Час (хв)	Температура (°C)	Швидкість підвищення температури (°C/хв)
Колонка	0 → 2	70	-
	2 → 17	70 → 220	10
	17 → 20	220	-
Блок вводу проб		250	
Детектор		250	

Об'єм інжекції: 1 мкл.

Перевірка придатності хроматографічної системи: розчин порівняння

- Коефіцієнт розділення: не менше 2,0 для піків етанолу і пропанолу;

- Число теоретичних тарілок, розраховане по піку етанолу, має бути не менше 7000;

- RSD, розраховане по відношенню площ піків етанолу до площ піків внутрішнього стандарту, має бути не більше 5 %.

Вміст етанолу (X_1), у відсотках (м/м), у лікарському засобі розраховують за формулою:

$$X_1 = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot P}{B_0 \cdot m_1 \cdot 50 \cdot 0,85} = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot P}{B_0 \cdot m_1 \cdot 0,85}$$

де:

- B_1 - середнє значення відношення площ піків етанолу до площ піків пропанолу, розраховане із хроматограм випробовуваного розчину;
- B_0 - середнє значення відношення площ піків етанолу до площ піків пропанолу розраховане із хроматограм розчину порівняння;
- m_0 - маса наважки *етанолу*, в грамах;
- m_1 - маса наважки лікарського засобу, в грамах;
- P - вміст етанолу, приведений у сертифікаті або *етанолу*, у %;
- $0,85$ - коефіцієнт перерахунку на гліцерин (85 %).

7.2 Екстракти хлорофілітну густий.

Хлорофіли

Випробування проводять методом спектрофотометрії, згідно з ДФУ, 2.2.25.

Випробовуваний розчин. 2,0 мл лікарського засобу поміщають в конічну колбу, місткістю 25 мл, додають 3,0 мл 96 % спирту Р, 0,1 мл сірчаної кислоти Р (забарвлення розчину змінюється на жовте), додають 0,1 г CuSO_4 , перемішують, кип'ятять на водяній бані протягом 2 хв (забарвлення розчину змінюється на зелене), охолоджують, фільтрують через фільтр «біла стрічка» в мірку колбу місткістю 25 мл, колбу і фільтр ополіскують 96 % спиртом Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25,0 мл.

Вихідний розчин. 0,0010 г хлорофілу а (чи б) розчиняють в 96 % спирту Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50,0 мл.

Розчин порівняння. 5,0 мл вихідного розчину поміщають в конічну колбу, місткістю 25 мл, додають 0,1 мл сірчаної кислоти Р (забарвлення розчину змінюється на жовте), додають 0,1 г CuSO_4 , перемішують, кип'ятять на водяній бані протягом 2 хв (забарвлення розчину змінюється на зелене), охолоджують, фільтрують через фільтр «біла стрічка» в мірку колбу місткістю 25 мл, колбу і

фільтр ополіскують 96 % спиртом *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25,0 мл.

Компенсаційний розчин. 5,0 мл 96 % спирту *P* поміщають в конічну колбу, місткістю 25 мл, додають 0,1 мл сірчаної кислоти *P*, додають 0,1 г CuSO_4 , перемішують, кип'ятять на водяній бані протягом 2 хв, охолоджують, фільтрують через фільтр «біла стрічка» в мірку колбу місткістю 25 мл, колбу і фільтр ополіскують 96 % спиртом *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25,0 мл.

Оптичну густина (ДФУ, 2.2.25) випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють за довжини хвилі 650 ± 3 нм відносно компенсаційного розчину.

Вміст суми хлорофілів (X_2), у перерахуванні на мідний хлорофіл *a*, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X_2 = \frac{A \cdot m_0 \cdot 5}{A_0}$$

де:

A - оптична густина випробовуваного розчину,

A - оптична густина розчину порівняння,

*m*₀ - маса наважки хлорофілу *a*, у грамах.

Або

1,8-цинеол.

Випробування проводять методом газової хроматографії, згідно з ДФУ, 2.2.28.

Розчин внутрішнього стандарту. 0,2 мл циклогексанолу *P* доводять етанолом *P* до об'єму 50 мл.

Зберігати в добре закупореній тарі, у прохолодному, захищеному від світла місці. Термін придатності розчину 14 діб.

Випробовуваний розчин. 10 г лікарського засобу розчиняють в 96 % спирту *P*, додають 2 мл розчину внутрішнього стандарту і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25,0 мл.

Розчин порівняння. 0,0100 г 1,8-цинеолу розчиняють в 96 % спирту Р, додають 2 мл розчину внутрішнього стандарту і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25,0 мл.

Хроматографування проводять на газовому хроматографі з полуменево-іонізаційним детектором при наступних умовах:

Колонка:

- матеріал: кварц;
- розмір: 30 м×0,53 мм;
- нерухома фаза: поліетиленгліколь (товщина шару 1 мкм), або аналогічна колонка, якщо для неї виконуються вимоги тесту «Придатність хроматографічної системи»;

Газ-носії: гелій для хроматографії Р;

Лінійна швидкість газу-носія: 1,5 мл/хв;

Поділ потоку: 1:2;

Об'єм інжекції: 1 мкл;

Температура:

	Час (хв)	Температура (°С)	Швидкість підвищення температури (°С/хв)
Колонка	0 - 5	60	-
	5 - 15	60 - 110	5
	15 - 16	110	-
	16 - 22	110 - 200	15
	22 - 35	200	-
Блок вводу проб	220		
Детектор	220		

Порядок виходу піків: етанол, 1,8-цинеол, циклогексанол.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння.

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком циклогексанолу (внутрішній стандарт) має бути не менше 3000 теоретичних тарілок;

- коефіцієнт розділення піків, розрахований для піку 1,8-цинеолу та циклогексанолу має бути не менше 2,0;

- відносне стандартне відхилення відношень площ піків 1,8-цинеолу до циклогексанолу має бути не більше 2,5 %.

Вміст 1,8-цинеолу (X_3) в лікарському засобі, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X_3 = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot P \cdot 100}{B_0 \cdot m_1 \cdot 25 \cdot 100} = \frac{B_1 \cdot m_0 \cdot P}{B_0 \cdot m_1}, \text{ де}$$

B_1 - середнє значення відношення площ піків 1,8-цинеолу до площ піків циклогексанолу (внутрішній стандарт), обчислене з хроматограм випробуваного розчину;

B_0 - середнє значення відношення площ піків 1,8-цинеолу до площ піків циклогексанолу (внутрішній стандарт), обчислене з хроматограм розчину порівняння;

m_0 - маса наважки 1,8-цинеолу, взята для приготування розчину порівняння, у грамах;

m_1 - маса наважки лікарського засобу, у грамах;

P - вміст 1,8-цинеолу вказаний у сертифікаті, у відсотках.

7.3 Ісландського моху екстракт.

50 мл лікарського засобу розчиняють у 25 мл води P , перемішують, додають 150 мл 96 % спирту P , перемішують і підігрівають на водяній бані до 30 °С протягом 5 хв. Через 1 год вміст обережно, не збовтуючи осад, фільтрують через висушений до постійної маси при температурі (100 ± 5) °С скляний фільтр ПОР 16 з діаметром 40 мм під вакуумом при залишковому тиску 13-14 кПа. Осад кількісно переносять на фільтр, промивають його послідовно 25 мл суміші: 96 % спирт P – вода P (3:1) і 20 мл 96 % спирту P . Фільтр з осадом висушують на повітрі протягом 1 год, а потім при температурі (100 ± 5) °С до постійної маси.

Вміст полісахаридів (X_4) в 1 мл лікарського засобу, в грамах, обчислюють за формулою:

$$X_4 = \frac{m_1 - m}{V},$$

де:

m - маса фільтру, у грамах;

m_1 - маса фільтру з осадом, у грамах;

V - об'єм лікарського засобу, взятий для аналізу, в мілілітрах.

8. Антибактеріальна активність. Лікарський засіб має пригнічувати ріст тест культури *Staphylococcus aureus* в концентрації не більше 50 мкг/мл в порівнянні з контролем.

УПАКОВКА

По 25 мл у флаконі із темного скла, закритому кришкою з контролем першого розкриття. На флакони наклеюють етикетку. Кожний флакон разом з інструкцією для медичного застосування і спрей-насадкою вкладають у пачку.

МАРКУВАННЯ

Згідно з затвердженим текстом маркування.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в оригінальній упаковці, при температурі не вище 25 С.
Захищати від впливу прямих сонячних променів.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Копія вірна

Директор виконавчий
АТ «Галичфарм»



Блонський О.В.