МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

 Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

(повне найменування інституту/факультету)

 Кафедра промислової фармації

 (повна назва кафедри)

***РЕФЕРАТ***

до дипломної магістерської роботи (проєкту)

на тему

«Фармакогностичне вивчення Циміцифуги галузистої.
 Стандартизація та переробка сировини»

Виконав: студент(ка) групи Мгхф19

спеціальності \_\_226 «Фармація»\_\_

(шифр і назва спеціальності)

\_\_\_\_Ісаєва К.О.

(прізвище та ініціали)

Керівник \_\_\_\_\_Нікітіна О.О.\_\_\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

Рецензент

(прізвище та ініціали)

Київ – 2020

**Актуальність теми:** проведення комплексних досліджень щодо розробки та стандартизації вітчизняних рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів є актуальним та доцільним з огляду на широке розповсюдження такого роду захворювань серед населення старшого покоління в Україні та високу компламентарність рослинної сировини до лікування хвороб у такої групи населення.

Актуальними є фенологічні дослідження рослин, які допомагають встановити оптимальний період часу для заготівлі рослинної сировини з максимально високим вмістом біологічно-активних речовин.

**Мета дослідження:** оцінити перспективи вирощування та можливості використання клопогону китичного в Україні. Провести аналіз фармацевтичного ринку препаратів та біологічно активних добавок, до складу яких входить клопогон китичний(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.). Провести теоретичну розробку лікарського засобу на основі лікарської рослинної сировини клопогон китичний(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.).

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити ринок препаратів та біологічно активних добавок, до складу яких входить клопогон китичний(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.).

2. Дослідити фенологічні особливості клопогону китичного(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.).

3. Розробити цільовий профіль якості лікарського засобу (QTPP), склад ЛЗ та технологічну схему виробництва

4. Провести теоретичну розробку GMP-проекту з виробництва лікарського засобу на основі лікарської рослинної сировини клопогон китичний(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.)

**Об’єкт дослідження:** лікарська рослинна сировина клопогоу китичного(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.).

**Предмет дослідження:** Вивчення фенологічних дослідженьклопогону китичного(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.)

**Наукова новизна роботи:** вперше проведено фенологічні дослідження клопогону китичного(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.) та оцінено можливості його використання у якості лікарської рослинної сировини.

Вперше запропоновано використати сухий екстракт клопогону китичного(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.) для створення нового лікарського засобу, що є ефективним при лікуванні захворювань опорно-рухового апарату.

**Практична значущість роботи:** Отримані результати дослідження щодо можливості використання клопогону китичного(*Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.) у якості лікарської рослинної сировини є перспективними, а можливість розробки лікарського засобу є можливою та конкурентоспроможною.

**Методи дослідження:** маркетингові дослідження, аналіз наукової літератури, фенологічні дослідження.

На даний момент з розвитком сучасної медицини та фармації проблема лікування ряду хвороб опорно-рухового апарату на жаль залишається невирішеною. У звязку з цим все більшу увагу звертають на альтернативні негормональні види лікування, такі як фітотерапія. Пошук діючих речовин ведуть серед лікарської рослинної сировини, що довела свою ефективність при лікуванні інших захворювань, адже біологічно активні речовини чинять комплексну та багатосторонню дію на організм людини.

Згідно проведеного аналізу літератури *Cimicifuga racemosa (L.) Nutt*. застосовується для лікування різних недуг, включаючи діарею, ангіну, ревматизм та менопаузальні розлади. В даний час *Cimicifuga* є популярним об’єктом досліджень у світі, адже містить у своєму складі ряд активних БАР, що можуть бути використані для лікування та профілактики захворювань різної етіології.

В ході проведеного маркетингового аналізу лікарських засобів та біологічно активних добавок, що містять *Cimicifuga racemosa (L.) Nutt* було встановлено, що більшість препаратів та БАДів використовуються для нормалізації нейровегетативних розладів у період менопаузи (67,74%), проте високою є часта використання продукції, що містить дану рослинну сировину, для лікування захворювань опорно-рухового апарату (9,68%).

Слід зазначити, що більшість такого роду продукції виготовляється за кордоном та імпортується на ринок України (біологічно активні добавки - 96,77 % та лікарські засоби - 83,33 %). Серед лікарських форм засобів, що містять *Cimicifuga racemosa (L.) Nutt*, традиційно найбільшу частку займають таблетки (50,0 %), популярність яких зумовлена зокрема зручністю застосування.

В ході підготовки літературного огляду на основі різних джерел інформації були згенеровані дані щодо ботанічного опису*Cimicifuga racemosa (L.) Nutt,* місць зростання та особливостей заготівлі даної рослини, ресурсної бази, а також проведено аналіз хімічного складу екстрактів циміцифуги та фармакологічні ефекти окремих компонентів таких екстрактів. Результати досліджень вказують на те, що основні біологічно активні компоненти екстрактів циміцифуги представлені у фракції тритерпенів. Так, завдяки наявності три терпенових глікозидів обумовлена фармакологічна дія лікарських форм на основі клопогона гроновидного.

Таким чином, огляд літератури підтверджує перспективність та актуальність розробки нових лікарських засобів на основі *Cimicifuga racemosa (L.) Nutt,* що можуть бути ефективними при лікуванні захворювань опорно-рухової системи.

Важливе значення в умовах антропогенного впливу і мінливого клімату мають дослідження впливу метеорологічних факторів на рослинний покрив, серед яких ключовим є вивчення фенології рослин. Як відомо, особливістю фенологічних досліджень є необхідність їх постійності протягом багатьох років до того, як можна зробити обговорення спостережень. Період тривалістю в 5 років є мінімальним терміном у фенології, що дозволяє робити таке узагальнення.

У більшості досліджень використовується стандартна методика фенологічних спостережень [38, 39]. Початком того чи іншого феноменування, як правило, вважається вибірка з близько 10% представників виду, що ростуть в типовому для цього виду середовищі. Дослідження проводять систематично, бажано паралельно з іншими типовими зонами, на протязі всього вегетаційного періоду росту рослини. Випадки, при яких спостерігалася значна невідповідність між даними, в рамках досліджень для аналізу як правило не використовуються. Обробку матеріалів досліджень і аналіз комплексних фенологічних показників можна проводити в різних напрямках: якщо велися спостереження за декількома процесами, можна провести зіставлення між ними (терміни, компактність і т.д.). Комплексні фенологічні показники декількох ФП дозволять оцінити екологічну мінливість сезонних процесів і обчислити екофеноаномаліі.

Різні кількісні фенологічні методи досліджень мають різну ступінь точності, трудомісткості, розробленості та апробації. Вибір їх залежить від ряду умов: наявності в достатній кількості облікових одиниць, характер їх поширення і доступність для спостерігача, можливість проведення спостережень в зручні або заздалегідь визначені терміни і т.д. Результати спостережень, отримані за допомогою інтегрального описового методу, інтегрального методу індикаторів врожайності і екометричних методів відрізняються своєю яскраво вираженою географічністю, добре піддаються математичній обробці та забезпечують більш високу точність і порівнянність результатів. Це є безперечною перевагою при вивченні сезонної динаміки ландшафтів, пов'язаної з оцінкою ступеня впливу різних чинників в умовах передгір'їв та гірських районів [46].

***Фенологічні дослідження рослин на території України***

Фенологічні дослідження проводились на базі Інституту клітинної біології та генетичної інженерії, Національна Академія Наук України. Метою роботи було вивчення ефектів різних режимів дії рідкоіонізуючого та УФ випромінювання на час цвітіння рослин A. thaliana та експресію ключових генів фотоперіодичного механізму регуляції цвітіння CO, GI, FLS, FT, гену репарації RAD51, проліферації PCNA2 та детермінації флоральної меристеми AP1 та LFY.

Фенологічний аналіз проводили за класифікацією Бойєса [47].

Згідно літературних даних лабораторні досліди над *A. thaliana* допомагають розібратися в механізмах генетики, ділення клітин, роботи біологічного годинника і навіть виробництва ліків проти небезпечних хвороб. Є літературні відомості про використання A. thaliana як зовнішній засіб для лікування виразкового стоматиту [48].

Вченими з ДУ «Інститут Еволюційної Екології Нан України», Національна Академія Наук України та з Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка була проведена робота присвячена комплексному вивченню представників роду *Саnnа L.* в умовах інтродукції у Правобережне степове Придніпров'я. Дослідженню особливостей росту і розвитку рослин інтродукованих видів та сортів канни.

З використанням загальноприйнятих методик [49] та з урахуванням комплексу кількісних та якісних ознак, передбачених затвердженою Українським інститутом експертизи сортів рослин Державної служби з охорони прав на сорти рослин методикою, аналізувались наступні морфометричні показники: висота рослини, розміри листкової пластинки, довжина суцвіття, кількість квіток в суцвітті, діаметр квітки, розміри стамінодіїв, кількість пагонів, зокрема генеративних [50]. Отримані дані були оброблені методами математичної статистики [51].

**Аналіз потенціалу використання препаратів Сimicifuga racemosa (L.) Nutt. в Україні**

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я на даний час понад 10% населення земної кулі становлять жінки в клімактеричному періоді. Щороку кількість таких жінок зростає на 25 млн. і прогнозується, що до 2030 року їх чисельність становитиме понад 1 мільярд - це приблизно шоста частина населення планети [76]. Серед українських жінок, зокрема, в періоді пост менопаузи, перебуватиме близько 13,2 млн..

Симптоми клімаксу і віддалені наслідки менопаузи значно погіршують здоров'я і благополуччя жінок, знижуючи якість їх життя. В даний час найбільш ефективним методом лікування клімактеричних розладів є замісна гормональна терапія. Вона впливає на більшість пов'язаних з менопаузою патологічних процесів, швидко покращує стан, однак при виборі препарату і режиму ликування необхідно враховувати вік пацієнтки, анамнез, наявність екстрагенітальної патології, брати до уваги проведені раніше операції, показання та протипоказання до лікування, його вартість, можливість виникнення побічних ефектів та ін. Однак існує ряд відносних і абсолютних протипоказань до призначення гормональних препаратів [76]. Тому актуальним і доцільним є проведення комплексних досліджень щодо розробки та стандартизації вітчизняних рослинних засобів для лікування клімактеричних розладів.

**Мета експериментальної роботи:** окреслити перспективи вирощування і використання клопогіну китичного в Україні. Провести аналіз фармацевтичного ринку препаратів і біологічно активних добавок, до складу яких входить клопогін китичний(*Cimicifuga racemosa* *(L.) Nutt*.), та привернути увагу вітчизняних виробників до цінного джерела фітоестрогенів.

Для представників роду *Cimicifuga* найбільш сприятливими умовами для росту є помірний клімат та тіниста місцевість, що характерно для в лісостепових районів України, створюючи перспективи для вирощування *C. racemosa* та забезпечення належної ресурсної бази лікарської рослинної сировини.

Найбільш виражені лікарські властивості мають розгалужені багатоглаві кореневища клопогону. Заготівля їх починається не раніше кінця серпня.Викопане кореневище слід обтрусити від землі, ретельно вимити й подрібнити. Сушка проводиться при температурі близько 60 градусів. Зберігати коріння потрібно при низькій вологості повітря. Висушені кореневища мають неприємний запах, смак у них гіркий. Зберігати сировину можна 2 роки. Для лікарських цілей іноді використовують сік цимицифуги, вичавлений з листя і стебел, але його дія значно слабкіша.

В ДФУ 2-го видання включено статтю на сировину *Cimicifugae rhizoma* [72], препарати з якої застосовують для лікування жіночих захворювань. Дослідження 7 видів рослин роду *Actaea* дозволило до ідентифікувати понад 450 сполук. Біологічно активні сполуки кореневищ – це високоспецифічні фітоестрогени з вираженою допамінергічною, естрогеноподібною та органоселективною дією, що вибірково впливають на передню частку гіпофіза. Фітогормони, виділені з клопогону (глікозиди ізофлавоноїдів), перетворюються бактеріями в кишківнику в сполуки (ентеролактон, ентеродіол), що виявляють естрогенну активність. Саме ці сполуки, які мають слабкі естрогенні властивості, впливають на метаболізм та біологічну активність статевих гормонів та внутрішньоклітинних ферментів (ароматаз), діють на утворення естрогенів, вибірково зв'язуються з естрогеновими рецепторами, конкурентно витісняють більш активний естрадіол та надають, таким чином, додатково антипроліферативний ефект [27]. У той же час результати сучасних досліджень вказують, що значний біологічний ефект забезпечують тритерпенові глікозиди (сапоніни) типу цімігенола, шенгманола, цімірацерогеніна, ціміфугеніна і актеіна, фетідінола та ін. Дані глікозидні молекули відрізняються не тільки структурою аглікону, але й моносахаридними замісниками (ксилоза, арабиноза, глюкоза, галактоза), які можуть приєднуватися практично до кожної ОН-групі в структурі тритерпенової частини. Ці сполуки забезпечують активацію серотонінергічних і ГАМК-ергічних шляхів нейротрансмісії, протизапальні і протидіабетичні ефекти; протипухлинний і остеопротекторний ефекти у стандартизованих екстрактах *C. racemosa*. Найбільш відомі тритерпенові глікозиди актеін і 23-епі-26-деоксіактеін, які розчиняються у підлуженому середовищі pH (7,5) і активно всмоктуються у кишечнику [78]. В китайській медицині кореневище з коренями к. китичного застосовується як седативне, що нормалізує менструальний цикл.

**Отримані результати**

Був проведений огляд основних фенологічних методів дослідження лікарських рослин та проведено Аналіз потенціалу використання препаратів *Сimicifuga racemosa (L.) Nutt.*в Україні.

Проведений аналіз надає цінну інформацію, щодо додаткового використання препаратів з циміцифуги як таких, що володіють остеопротекторними, імуномодулююими, протидіабетичними  та протипухлинними властивостями. Таким чином з огляду на високу терапевтичну ефективність існує доцільність комплексних досліджень з розробки та стандартизації лікарських засобів та біологічно активних добавок вітчизняного виробництва, що містять циміцифугу (*Cimicifuga racemosa*).

На основі отриманих фармакогнозтичних даних та проведеного літературного пошуку можна стверджувати, що обрана рослинна сировина може бути використана для приготування лікарського засобу для лікування захворювань опорно-рухової системи.

**Короткий опис проведення технологічного процесу виробництва субстанції – екстракту Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L.)***

Глікозиди тритерпеноїдів, тобто сапоніни, є поверхнево-активними речовинами, утворюють стійку мильну піну та володіють гемолітичною дією. Багато тритерпенових глікозидів є активними компонентами лікарських рослин східної медицини, забезпечуючи їм протизапальний ефект, цитотоксичну дію та ін. [105]

Враховуючи вище наведені дані та особливості активних речовин,що зумовлюють терапевтиичну активність ЛРС на основі Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L.*)*,* для виробництва активного компоненту лікарського засобу, а саме екстракту Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L*.), була запропонована наступна технологічна схема виробництва субстанції – сухого екстракту Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L*.)*.*

**Вибір та обґрунтування технології**

Вибір технології здійснений виходячи з літературних даних про розробку лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини та сучасних технологій виробництва таблеток.

Критичні фактори, що впливають на вибір технології:

- незадовільні фармако-технологічні показники рослинних екстрактів (неналежна насипна густина, плинність, сипучість, здатність до пресування);

- погана розчинність діючих речовин з рослинних екстрактів і, як наслідок, необхідність збільшення швидкості розчинення для досягнення належного терапевтичного ефекту.

Пріоритетною технологією є волога грануляція. Зважаючи на дрібнодисперсеність більшості сухих рослинних екстрактів та значну долю даної речовини в лікарській формі (20 %) перевагу віддано грануляції в грануляторі вихрового шару.

Грануляція в грануляторі вихрового шару дозволяє збільшити швидкість розчинення слаборозчинних лікарських засобів, забезпечуючи гідрофільні властивості поверхні частинок грануляту.

Грануляція необхідна для поліпшення сипучості маси за рахунок значного зменшення сумарної поверхні частинок при їх склеюванні в гранули і, відповідно, зменшення тертя між частинками в процесі їх руху. Отриманий гранулят, за умови рівності розмірів одержуваних гранул, набуває достатньо стабільну насипну масу. Велику роль відіграє також міцність гранул, оскільки міцні гранули менш схильні до стирання та мають кращу сипучість.

Зважаючи на вищевикладене, при фармацевтичній розробці препарату як пріоритетна опрацьована технологія вологої грануляції в грануляторі вихрового шару.

**ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ**

Аналіз сучасної літератури демонструє, що лікарські засоби та біологічно-активні добавки, що містять у своєму складі Циміцифугу (*Cimicifuga racemosa L*.) широко використовуються для нормалізації нейровегетативних розладів у період менопаузи, а також при терапії захворювань опорно-рухової системи. Наявність три терпенових глікозидів у складі лікарської рослинної сировини Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L*.), обумовлює її фармакологічну дію.

Результати експериментальних та теоретичних досліджень показали, що в Україні наявні всі умови для вирощування та заготівлі лікарської рослинної сировини Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L*.), що створює необхідний базис для розробки нових лікарських засобів та біологічно-активних добавок на її основі, а проведені маркетингові дослідження демонструють домінування засобів закордонного виробництва, що підтверджує перспективність розробки вітчизняних лікарських засобів.

На наступному етапі роботи на основі сформованого оглядуосновних методів виділення біологічно активних сполук з ЛРС було запропоновано максимально ефективну технологію для вилучення БАР з лікарської рослинної сировини Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L*.).

В ході проведеної теоретичної розробки препарату на основі Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L*.) згідно концепції Quality by design було розроблено цільовий профіль якості передбачуваного ЛЗ, обґрунтовано вибір допоміжних речовин для створення твердої дозованої форми - таблеток, розроблено технологічну схему отримання таблеток, виконано опис технологічних процесів виробництва.

Результатом виконаної магістерської роботи є GMP-проект виробництва лікарського засобу на основі лікарської рослинної сировини Циміцифуги (*Cimicifuga racemosa L*.) у формі таблеток, розроблений згідно концепції Quality by design, щоможе бути використаний для лікуванняхворобопроно-рухового апарату та впроваджений у виробництво.