

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Крюкової Анни Ігорівни

**на тему «Розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів»,**  
представлену до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті для захисту на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів

Дисертаційна робота Крюкової Анни Ігорівни присвячена розробці та стандартизації комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів. На жаль, в Україні практично припинилося створення нових лікарських засобів. Це пов'язано, передусім, з величезним обсягом необхідних наукових досліджень, які зараз практично неможливо виконати.

Згідно з проектом Державної цільової програми «Розвиток імпортозамінних виробництв в Україні та заміщення імпортованих лікарських засобів вітчизняними, у тому числі біотехнологічними препаратами та вакцинами» на 2011-2021 роки, одним із першочергових завдань фармацевтичної галузі є розробка і впровадження у виробництво нових вітчизняних препаратів, що дозволить підвищити ефективність терапії хвороб і стане наступним кроком на шляху до вирішення проблеми імпортозаміщення. Тому, розробка нових лікарських препаратів та їх лікарських форм є дуже актуальною проблемою, як з наукової, так і з практичної точки зору.

На сьогодні ревматичні захворювання є однією з найбільш поширених груп патологій людини, які займають четверте місце після захворювань серцево-судинної системи, органів травлення і респіраторних захворювань.

Для лікування даних захворювань використовують знеболювальні та протизапальні лікарські засоби. Чисельні дослідження доводять, що рослинні

засоби представляють гідну альтернативу синтетичним препаратам. Основними перевагами яких є малотоксичність, м'якість дії, що дає можливість застосування тривалий час без істотних побічних ефектів, добре поєднання з лікарськими речовинами, посилюючи їх терапевтичний ефект.

Тому розробка та стандартизація нових вітчизняних комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів є актуальним і своєчасним.

Основною метою дисертаційної роботи була розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів, фітохімічне вивчення і стандартизації вихідної лікарської рослинної сировини, напівпродуктів та дослідження їх протизапальних і анальгетичних властивостей.

Для досягнення поставленої мети дисертантом були вирішені такі завдання:

- проаналізувано сучасний стан та поширеність ревматичних захворювань, напрямки їх фармакотерапії та фітотерапії;
- проведено аналітичний огляд сучасних лікарських засобів та добавок дієтичних рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату;
- обґрунтовано вибір об'єктів дослідження в залежності від стратегії лікування ревматичних захворювань та розроблено алгоритм вибору лікарських рослин;
- проведені дослідження з апробації методик контролю якості софори японської бутонів, софори японської квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності до вимог монографій ДФУ та ЄФ;
- розроблені методики ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних сполук сировини софори японської плоди та квасолі звичайної стулки плодів, визначені їх валідаційні параметри, розроблені проекти національних монографій ДФУ «Софори плоди<sup>N</sup>», «Квасолі звичайної стулки плодів<sup>N</sup>»;
- визначено вміст діючих біологічно активних речовин у софори бутонах, софори квітках, софори плодах, гарпагофітуму лежачого коренях та квасолі звичайної

плодах, що мають безпосереднє значення при ревматичних захворюваннях суглобів;

- проведені дослідження з визначення оптимальних умов одержання гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого, визначити параметри стандартизації, дослідити анальгетичні та протизапальні властивості;
- розроблено склад, технологію одержання, визначити параметри стандартизації та розробити методики контролю якості добавки дієтичної «Остеоверт» та збору «Ревмаверт», досліджені анальгетичні та протизапальні властивості.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України та є фрагментом комплексної теми «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946) та «Управління якістю у сфері розробки, виробництва та обігу лікарських засобів» (№ державної реєстрації 0114U000950).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Дисертантом вперше у гарпагофітуму лежачому коренях визначений вміст 12 макро- та мікроелементів; вміст 16 амінокислот, який після повного гідролізу зростає в 6,5 рази, що свідчило, що амінокислоти знаходяться у сировині переважно у зв'язаному стані; 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів. Крюковою А.І. вперше проведено дослідження з обґрунтування вибору оптимального екстрагенту та способу отримання гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого, для якого визначені параметри стандартизації та фармако-технологічні показники у відповідності до вимог ДФУ. Для одержаного гарпагофітуму коренів екстракту сухого вивчені анальгетична та протизапальна дії на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів.

Дисертантом вперше розроблено добавку дієтичну комбінованого складу «Остеоверт», що містить гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий,

глюкозаміну сульфат і хондроїтину сульфат, визначені її параметри стандартизації та розроблені методики контролю якості.

Вперше розроблено склад нового рослинного збору «Ревмаверт», що містить гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*), софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*), квасолі звичайної стулки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), споришу звичайного трава (*Polygoni avicularis herba*) (50:20:20:10), для якого вивчені анальгетична та протизапальна дії на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів. Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 129448 «Рослинний збір з анальгетичною та протизапальною активністю». Визначені параметри стандартизації та показники якості розробленого збору у відповідності до вимог ДФУ.

**Практичне значення отриманих результатів.** Розроблені дисертантом методики увійшли та впроваджені до затверджених методів контролю якості лікарських засобів. Розроблено проекти національних монографій ДФУ «Софори плоди<sup>N</sup>» (Акт впровадження від 06.12.18 № 11/1370-5) і «Квасолі звичайної стулки плодів<sup>N</sup>» (Акт впровадження від 22.05.18 № 11/629-5). За результатами отриманих дисертантом експериментальних даних оформлено інформаційний лист про нововведення у системі охорони здоров'я № 22-2018 «Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії».

Результати досліджень з розробки параметрів стандартизації квасолі звичайної стулок плодів, софори японської плодів, гарпагофітуму лежачого коренів були використані при розробці ТУ У 15.8-31062507-022:2009 «Сировина рослинна, натуральна для виробництва добавок дієтичних» (Акт впровадження від 24.10.17).

Розроблено зміну № 1 до ТУ У 10.8-31062507-059:2016 від 07.04.2017 р. «Добавки дієтичні на основі олій рослинних та жирів тваринних». Розроблена в результаті досліджень добавка дієтична «Остеоверт» впроваджена у промислове виробництво

в умовах ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС» на замовлення ТОВ «Фармацевтична фірма «Вертекс» (м. Харків) (Акт впровадження від 24.10.17).

Розроблено МКЯ для вхідного контролю лікарської рослинної сировини квасолі звичайної стулок плодів в умовах ТОВ ДКП «Фармацевтична фабрика» (Акт впровадження від 24.09.18).

Результати наукових досліджень впроваджено у науково-практичну діяльність кафедр деяких вищих.

**Особистий внесок здобувача.** Усі експериментальні дослідження, наведені у дисертаційній роботі, виконані дисертантом особисто: аналіз наукових даних літератури щодо сучасного стану та поширеності ревматичних захворювань в Україні та світі, розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів; фітохімічне дослідження та стандартизація вихідної лікарської рослинної сировини та напівпродуктів; узагальнення та інтерпретація отриманих результатів.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

**Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на чисельних науково-практичних конференціях.

Дисертаційна робота викладена на 262 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 13 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 72 таблицями, 73 рисунками. Список використаних джерел містить 254 найменування, з них 149 кирилицею та 105 латиницею.

### **Основний зміст роботи.**

У вступі Крюковою А.І. викладено актуальність теми, мету та основні завдання досліджень, наукову новизну і практичне значення отриманих результатів.

**Розділ 1. "Сучасний стан та поширеність ревматичних захворювань суглобів в Україні та світі. Фармакотерапія ревматичних захворювань. застосування фітотерапевтичних засобів для профілактики та лікування ревматичних захворювань суглобів (Огляд літератури)".** В цьому розділі дисертантом наведено аналіз літературних даних щодо поширеності ревматичних захворювань у різних областях України, проаналізовано причини та основні фактори, що сприяють їх виникненню, напрямки діагностики та сучасної фармакотерапії; представлено напрямки та можливості застосування фітотерапевтичних засобів при ревматичних захворюваннях. З огляду літератури обґрунтовано актуальність і доцільність комплексних досліджень щодо розробки та стандартизації комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів.

**У розділі 2. "Обґрунтування вибору об'єктів дослідження. Методи дослідження".** Дисертантом досліджено номенклатуру рослинних лікарських засобів та дієтичних добавок, зареєстрованих в Україні, що застосовуються при ревматичних захворюваннях суглобів, їх компонентний склад, фармакотерапевтичні групи, лікарські форми, виробники тощо. Розроблено алгоритм вибору лікарських рослин для лікування ревматичних захворювань та наведені об'єкти та методи дослідження.

**Розділ 3. "Фітохімічне вивчення та стандартизація лікарської рослинної сировини – софори японської бутони, квітки та плоди, гарпагофітуму лежачого корені, квасолі звичайної стулки плодів".** У третьому розділі дисертантом проведені дослідження сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності з вимогами монографій ЄФ. В ході роботи визначено якість досліджуваної сировини, результати досліджень були прийняті до уваги при розробці монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки», ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені», які представлені без введення додаткових національних частин. Дисертантом розроблено проект національної монографії ДФУ «Софори плоди<sup>N</sup>».

Крюковою А.І. розроблені методики ідентифікації та кількісного визначення БАР квасолі звичайної стулок плодів доступними методами ТШХ та спектрофотометрії. За результатами проведеної роботи розроблено проект національної монографії ДФУ «Квасолі звичайної стулки плодів<sup>N</sup>». Методом атомно-емісійної спектрографії був визначений вміст 12 макро- та мікроелементів у софорі бутонах, софорі квітках, софори плодах, гарпагофітуму лежачого коренів та квасолі звичайної плодів. Сучасними методами визначено вміст у гарпагофітуму лежачому коренях визначений вміст амінокислот.

**У розділі 4. "Розробка та стандартизація добавки дієтичної «Остеоверт»".** У даному розділі дисертантом наведено дані з обґрунтування вибору оптимального екстрагенту та способу одержання гарпагофітуму коренів екстракту сухого та визначено кількісний вміст основної БАР – гарпагозиду методом ВЕРХ. Крюкової А.І. одержано гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий та визначені параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ. Для отриманого сухого екстракту визначені фармако-технологічні показники.

Для гарпагофітуму коренів екстракту сухого встановлені анальгетична та протизапальна дії на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів.

Обґрунтовано склад та розроблено промислову технологію одержання м'яких капсул «Остеоверт» до складу якого входить гарпагофітуму коренів екстракту сухий, для яких визначені показники якості у відповідності до вимог ДФУ.

**Розділ 5. "Розробка та стандартизація рослинного збору «Ревмаверт»".** Дисертантом розроблено склад та технологічну схему виробництва рослинного збору «Ревмаверт»: гарпагофітуму лежачого корені (*Harpagophyti radix*), софори японської бутони (*Sophorae japonicae flos immaturus*), квасолі звичайної стулки плодів (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), споришу звичайного трава (*Polygoni avicularis herba*) при наступному співвідношенні компонентів: (50:20:20:10). Проведено ідентифікацію БАР кожного з рослинних компонентів збору з

визначенням речовин-маркерів методом ТШХ та визначені технологічні параметри вихідної сировини. Для розробленого рослинного збору «Ревмаверт» встановлені анальгетична та протизапальна активності.

За матеріалами дисертації опубліковано 30 наукових робіт: 8 статей, з них 7 у фахових виданнях, в тому числі 1 стаття у фаховому закордонному виданні, 1 інформаційний лист та 20 тез доповідей, отримано 1 патент України на корисну модель. Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним результатам досліджень та змісту роботи.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень і практичних рекомендацій.** Наукові положення та висновки, які сформульовані у дисертаційній роботі, експериментально обґрунтовані та логічно витікають з одержаних результатів.

Робота виконана на високому науковому рівні. Достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів, підтверджена достатньою кількістю дослідів та їх статистичною обробкою. При вирішенні поставлених у дисертації завдань дисертантом були використані сучасні методи досліджень.

Матеріал дисертаційної роботи Крюкової Анни Ігорівни є новим з наукової точки зору і перспективним з позиції впровадження в практичну фармацію.

Поряд з тим до роботи є декілька зауважень та рекомендацій:

1. На мій погляд вважаю недоцільним в дисертаційній роботі виносити в вигляді рисунків (2.2, 2.4, 2.5), методи лікування ревматичних захворювань, алгоритм вибору лікарських рослин при ревматичних захворюванням, характеристика ревматичних захворювань, адже це добре відомо і можливо було б представити в вигляді посилань на літературні джерела.

2. На деяких рисунках не можливо розгледіти числові значення, що робить ці рисунки не змістовними (3.45, 3.48 та інші).

3. Як екстрагент для отримання сухого екстракту у витяжках гарпафітума лежачого коренів вибрано 20 % етанол, хоча за результатами



показано, що найліпшим екстрагентом діючих речовин є вода. Чи проводили Ви дослідження стабільності екстрактів отриманих з води та 20 % спирті? Чи відрізняється стабільність і на скільки

4. На мій погляд вибір референс-препарату не є коректним. Згідно з вимогами ДЕЦ МОЗ України, як референс-препарат вибирають ЛЗ з найбільш вивченим механізмом дії і, який демонстрував високу терапевтичну ефективність. Фонг Ті Тхап не відноситься до таких.

Крім того в результаті роботи над дисертаційною роботою виникли деякі запитання, а саме:

- У патогенезі ревматоїдних захворювань суглобів особливе місце займає дисбаланс цитокінів, NO-залежна експресія IL-1b. Чи можна розглядати механізм противоревматоїдної дії Вашого ЛЗ через призму цитокінового профілю?

- До складу Вашого рослинного ЛЗ входять мікроелементи, амінокислоти і біофлаваноїди. Поясніть, на які структури ЦНС і їх функціонування вони можуть впливати, надаючи аналгетичний ефект?

5. Зустрічаються посилання на літературні джерела, які видані понад десять років тому (114, 133, 159 та інші).

Вказані недоліки не впливають на загальну високу оцінку роботи, яка виконана на сучасному науковому рівні і розвиває актуальний напрямок – щодо розробки та стандартизації нових комбінованих рослинних засобів.

На основі вищевикладеного можна зробити висновок, що дисертаційна робота Крюкової Анни Ігорівни на тему "Розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів" є завершеною науковою працею і за обсягом виконаних досліджень, своєю актуальністю, ступенем обґрунтованості наукових положень, новизною одержаних результатів, теоретичним та практичним значенням, висновками повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою КМУ від 24 липня 2013 р. № 567., а її автор, Крюкова Анна Ігорівна, заслуговує присвоєння вченого ступеня

кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 – стандартизація і організація виробництва лікарських засобів.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії,  
доктор фармацевтичних наук,  
професор



*Л.І. Кучеренко*  
Підтверджую  
Ділянку кадрів Запорізького  
національного медичного університету  
20 р. Підпис *В.В. Володимиренко*

Л.І. Кучеренко

*Володимиренко В.В.*