

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА НА ДИСЕРТАЦІЙНУ РОБОТУ

КРЮКОВОЇ АННИ ІГОРІВНИ на тему «**РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ КОМБІНОВАНИХ РОСЛИННИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПРИ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ СУГЛОБІВ**», яка представлена 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

Актуальність теми. Згідно Міжнародної класифікації хвороб X перегляду, ревматичні хвороби належать до XIII класу «Хвороби кістково-м'язової системи і сполучної тканини», що налічує біля 100 нозологічних одиниць, і який, в свою чергу, містить підкласи артропатій, системних захворювань сполучної тканини, дископатій, хвороб м'яких тканин, остеохондропатій та інші. Потреба у вільному орієнтуванні у найважливіших питаннях ревматології, а також актуальність хронічних ревматичних захворювань з позицій загальної лікарської практики обумовлена також і тим, що на них страждають без виключення всі вікові групи - діти, підлітки, дорослі, літні люди, тобто ревматична патологія нерідко зустрічається у декількох членів однієї родини.

Ревматичні хвороби і синдроми є достатньо розповсюдженою патологією. На сьогоднішній день в Україні зареєстровано більше 3 мільйонів таких пацієнтів. За поширеністю ревматичні захворювання поступаються тільки хворобам органів кровообігу і травлення. В структурі первинної інвалідності вони займають друге, а за тимчасовою непрацездатністю навіть перше місце серед хвороб внутрішніх органів. Значне клінічне різноманіття ревматичних хвороб з різними механізмами розвитку, ревматичні маски іншої патології, є об'єктивною причиною діагностичних труднощів і вибору терапевтичних підходів.

На підставі вищевикладеного можна зробити висновок, що розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів представляє собою актуальну задачу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом 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 одержаних результатів З використанням сучасних методів досліджень, проведено дослідження сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності з вимогами монографії ЄФ «Sophora Flower-buds», «Sophora Flower», «Devil's claw Root» із апробації методик

контролю якості монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки» та ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» відповідно.

Проведено дослідження сировини софори японської плоди та квасолі звичайної стулки плодів з розробки проектів національних монографій ДФУ «Софори бутони^N» і «Квасолі звичайної стулки плодів^N».

Вперше у гарпагофітуму лежачому коренях визначений вміст 15 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, домінуючими серед яких були пропіонова, стеаринова та пальмітинова кислоти; встановлена наявність та визначено кількісний вміст 18 загальних моносахаридів після кислотного гідролізу, основними з яких були глюкоза, галактоза, рамноза, арабіноза.

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 вимогам 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 розроблено технічні умови України.

Вперше розроблено склад нового рослинного збору «Ревмаверт», що містить гарпагофітуму лежачого корені, софори японської бутони, квасолі звичайної стулки плодів, споришу звичайного трава (50:20:20:10), для якого вивчені анальгетична та протизапальна дії на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів. Склад збору захищено 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.

Проведено експериментальні дослідження щодо вивчення впливу способу настоювання отриманого збору на якість одержаних водних витягів зі збору та встановлений оптимальний спосіб настоювання збору при використанні споживачем.

Проведений дисертантом комплекс науково-дослідних робіт, виконаний на сучасному рівні, експериментально підтверджує якісний склад та кількісний вміст макро- і мікроелементів, амінокислот, карбонових кислот, похідні алканів та алкенів, моносахаридів у гарпагофітуму лежачому коренях.

Практичне значення одержаних результатів. В результаті проведених експериментальних досліджень з апробації методик контролю якості сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів розроблені монографії ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки» та ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені».

Розроблено проекти національних монографій ДФУ «Софори плоди^N» і «Квасолі звичайної стулки плодів^N».

Розроблений спосіб ідентифікації амінокислот у сировині квасолі звичайної стулки плодів методом ТШХ отримав заявку № u 2018 01136 «Спосіб хромато-

рафічного визначення аргініну та глютамінової кислоти квасолі звичайної стулок плодів» на отримання патенту України на корисну модель.

Розроблено методику визначення амінокислот у квасолі звичайної стулок плодів. За результатами отриманих 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».

Практичне значення має розробка технічних умов України ТУ У 15.8-31062507-022:2009 «Сировина рослинна, натуральна для виробництва добавок дієтичних», які визначають параметри стандартизації квасолі звичайної стулок плодів, софори японської плодів, гарпагофітуму лежачого коренів. А також розробка зміни № 1 до ТУ У 10.8-31062507-059:2016 від 07.04.2017 р. «Добавки дієтичні на основі олій рослинних та жирів тваринних».

Практичне значення має впровадження у промислове виробництво в умовах ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС» на замовлення ТОВ «Фармацевтична фірма «Вертекс» (м. Харків) добавки дієтичної «Остеоверт». Розроблені параметри стандартизації добавки дієтичної «Остеоверт» увійшли до проекту МКЯ «Остеоверт».

Розроблено МКЯ для вхідного контролю лікарської рослинної сировини квасолі звичайної стулок плодів в умовах ТОВ ДКП «Фармацевтична фабрика».

Розроблено склад нового рослинного збору «Ревмаверт», що містить гарпагофітуму лежачого корені, софори японської бутони, квасолі звичайної стулки плодів, споришу звичайного трава (50:20:20:10), для якого вивчені анальгетична та протизапальна дії. Склад збору захищено патентом України на корисну модель № 129448 «Рослинний збір з анальгетичною та протизапальною активністю». Розроблені параметри стандартизації збору, які увійшли до проекту МКЯ «Ревмаверт».

Практичне значення також підтверджується актами впровадження у практику кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ФПО Запорізького державного медичного університету; кафедри фітотерапії, гомеопатії та біоенергоінформаційної медицини ПВНЗ «Київський медичний університет»; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського»; кафедри фармації Буковинського державного медичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача. Автором дисертаційної роботи особисто проведені усі експериментальні дослідження, наведені у дисертаційній роботі: 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.

Персональний внесок у всіх опублікованих зі співавторами в працях наводиться за текстом дисертації та в авторефераті у списку фахових публікацій.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробації. Основні положення дисертаційної роботи пройшли апробацію на науково-практичних конференціях та конгресах: Наука в современном мире: I Международной научно-практической конференции для студентов, аспирантов и молодых ученых, (Киев, 19 сентября 2015 г.); III Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, Республика Казахстан, 9-10 декабря 2015 г.); 44-th Conference drug synthesis and analysis (Brno, 2-4 September 2015.); IV International scientific conference of young researchers (Azerbaijan, Baku, April 29–30, 2016.); Международной научно-практической конференции посвященной 81-летию Курского государственного медицинского университета и 50-летию фармацевтического факультета, «Университетская наука: взгляд в будущее» (Курск, 4-5 февраля 2016 г.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації» (Вінниця, 16 березня 2016 р.); 85-ій Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р.); I Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (м. Харків, 24-25 березня 2016 р.); II Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 21-23 березня 2016 р.); IV Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.); International Conference of Pharmacy Students (Poland, Lublin, April 21–25, 2016.); XXIII International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 21, 2016); VI науково-практична конференція з міжнародною участю (Тернопіль, 10–11 листопада, 2016 р.); XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 20, 2017); Proceedings of the 1st Annual Conference (Ukrainian Section) «Technology transfer: innovative solutions in medicine» (Estonia, Tallinn, October 26, 2017); II International Scientific and Practical Conference «Topical problems of modern science» (Warsaw, Poland, November 18, 2017); XXI міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60–річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (Тернопіль, 24-26 квітня, 2017); Fourth Pharmaceutical Business Forum and Scientific and Practical Conference «Innovations and prospects in pharmaceutical practice» (Varna, October 27-29, 2017); XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 18-20, 2018); I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів та дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 5 квітня 2018 р.).

За темою дисертації опубліковано 30 друкована наукова праця, з них 8 статей, з яких 7 у провідних наукових фахових виданнях, 1 патент України на корисну модель, 1 інформаційний лист, 20 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій. Це відповідає Наказу № 1112 від 17.10.2012 р. Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України «Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук».

Представлена дисертаційна робота викладена на 275 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту – 179 сторінок), ілюстрована 73 таблицями та 72 рисунками. Список використаної літератури містить 254 джерела, з яких 105 робіт іноземних авторів. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків з результатами впровадження наукових досліджень.

Розділ 1 під назвою «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)» носить оглядовий характер, в якому дисертант наводить аналіз літератури, яка відображає суть визначеної проблеми щодо: сучасного стану та поширеність ревматичних захворювань в Україні та світі (розділ 1.1), фармакотерапії ревматичних захворювань (розділ 1.2) та застосуванню фітотерапевтичних засобів для профілактики та лікування ревматичних захворювань суглобів (розділ 1.3).

Зроблено висновки про те, що важливим є застосування засобів рослинного походження, що впливає на етіологічні чинники, патогенетичні ланки та усуває клінічні прояви при ревматичних захворюваннях.

Слід відзначити, що огляд літератури свідчить про актуальність та доцільність проведення подальших досліджень щодо розробки та стандартизації комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів.

У **розділі 2** «Обґрунтування вибору об'єктів дослідження. Методи дослідження» роботи здійснено аналіз сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату (розділ 2.1.1) та добавок дієтичних, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату (розділ 2.1.2). Розроблено алгоритм вибору лікарських рослин при ревматичних захворюваннях та вибір об'єктів дослідження (розділ 2.1.3, рис. 2.5) з урахуванням нозологічних форм та форми перебігу захворювання, наявних факторів ризику у пацієнта, а також можливих профілактичних напрямків.

В розділі також наведена характеристика об'єктів (розділ 2.4) та методів дослідження та обладнання та матеріали для проведення дослідження (розділ 2.5).

Таким чином, дисертантом обґрунтовано вибір рослинних об'єктів, перспективних для розробки на їх основі фітотерапевтичних засобів – софори японської бутони, квітки, плоди; гарпагофітуму лежачого корені; квасолі звичайної стручки плодів; напівпродукт – гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий; готові лікарські форми – добавка дієтична у вигляді м'яких желатинових капсул «Остеоверт» та рослинний збір «Ревмаверт».

В розділі 3 дисертаційної роботи «Фітохімічне вивчення та стандартизація лікарської рослинної сировини – софори японської бутони, квітки та плоди, гарпагофітуму лежачого корені, квасолі звичайної стулки плодів» наведені результати стандартизація цієї ЛРС, що є гарантією їх якості і забезпечує ефективність та безпечність при застосуванні.

Проведені експериментальні дослідження з апробації методик контролю якості монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки» (розділ 3.1), ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» (розділ 3.3) та дослідження з розробки національних монографій ДФУ «Софори бутони^N» і «Квасолі звичайної стулки плодів^N».

При проведенні макроскопічних та мікроскопічних досліджень було встановлено, що сировина бутонів софори японської (розділ 3.1.1.1) та софори японської квіток (розділ 3.1.1.2) відповідає вимогам відповідних монографій ЄФ 8.3 «*Sophora Flower-buds*», «*Sophora Flower*» за морфолого-анатомічними ознаками;

Проведено ідентифікацією біологічно активних сполук методом тонкошарової хроматографії (розділ 3.1.2), яка експериментально підтвердила, що у досліджуваних зразках сировини софори виявляються відповідні хроматографічні зони, що регламентуються монографіями ЄФ «*Sophora Flower-buds*», «*Sophora Flower*».

На підставі визначення показників якості софори японської бутонів та софори японської квіток (розділ 3.1.3) відповідно до вимог монографій ЄФ 8.3, для даних видів рослинної сировини також було встановлено, що досліджувані зразки софори японської бутонів та софори японської квіток відповідали даним вимогам (табл. 3.5 та табл. 3.6).

Визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук софори японської бутонів та софори японської квіток (розділ 3.1.4), а саме визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на рутин спектрофотометричним методом та методом ВЕРХ свідчить, що досліджувана сировина відповідає вимогам ЄФ (табл. 3.5, 3.6).

Визначення вмісту макро- та мікроелементів софори японської бутонів і софори японської квіток (розділ 3.1.4.2) дозволило встановити, що софори квітки характеризуються більшим кількісним вмістом макро- і мікроелементів в порівнянні з софори японської бутонами. Слід відзначити високий вміст кровотворних мікроелементів: феруму – 23,00 мкг/100г у софори квітках та 7,40 мкг/100 г у софори бутонах і купруму – 0,65 мкг/100г у квітках і 1,55 мкг/100г у бутонах.

З огляду на те, що на фармацевтичному ринку України представлені різноманітні засоби вітчизняного виробництва, до складу яких входять софори японської плоди науковий інтерес представляло розробка нормативної документації, зокрема національної монографії ДФУ «Софори японської плоди^N», яка на даний час відсутня в Україні (розділ 3.2). Дисертантом для софори японської плодів були проведені макроскопічних та мікроскопічних дослідження (розділ 3.2.1); ідентифікація біологічно активних сполук, а саме флавоноїдів методом ТШХ з використанням уніфікованої методики наведеної у монографіях ДФУ 2.1. «Софори бутони» та «Софори квітки» (розділ 3.2.2); визначенні показників якості та встановлено їх нормування (розділ 3.2.3); визначено кількісний вмісту біологічно активних сполук, а саме суми флавоноїдів у перерахунку на рутин (розділ 3.2.4.1) та розраховані окремі валідаційні параметри цієї методики (табл. 3.9, 3.10); визначено вмісту макро- та мікроелементів (розділ 3.2.4.2).

Актуальними є проведені дисертантом дослідження з верифікації методик контролю якості монографії ЄФ 8.0 «Devil's claw Root» та монографії ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» (розділ 3.3), на підставі яких встановлено, що за результатами анатомо-морфологічних досліджень серії гарпагофітуму лежачого коренів відповідала вимогам вищезазначених монографій ЄФ 8.0 та ДФУ 2.0 (табл. 3.13 і 3.14, рис. 3.22 і 3.23). Визначені показників якості гарпагофітуму лежачого коренів (розділ 3.3.2); експериментально підтверджено ідентифікацію біологічно активних сполук, а саме гарпагозиду та фруктози методом ТШХ (розділ 3.3.3); визначено кількісний вміст біологічно активних сполук (розділ 3.3.4), а саме гарпагозиду і вільних, зв'язаних та загальних амінокислот методом ВЕРХ. У найбільшій кількості у вільному стані були визначені аргінін та аспарагінова кислота (1,55 мкг/мг та 0,26 мкг/мг відповідно) (розділ 3.3.4.2). Методом ГХ-МС у гарпагофітуму лежачому коренях було виявлено 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів (розділ 3.3.4.3); визначено кількісний вміст 18 загальних моносахаридів після кислотного гідролізу (розділ 3.3.4.4). Основними з яких визначені глюкоза – 64,12 мг/кг, галактоза – 77,98 мг/кг, рамноза – 4,38 мг/кг, арабіноза – 3,80 мг/кг, ксилоза – 2,33 мг/кг. Визначено компонентний складу леткої фракції у гарпагофітуму лежачому коренях методом ГХ-МС (розділ 3.3.4.5). Визначено вміст макро- та мікроелементів у гарпагофітуму лежачому коренях методом атомно-емісійної спектрографії (розділ 3.3.4.6). Результати проведеного дослідження свідчать, що у гарпагофітуму лежачого коренях серед макроелементів переважають калій (800 мкг/100 г), кальцій (450 мкг/100 г) і сіліцій (400 мкг/100 г). З мікроелементів слід відзначити високий вміст феруму (24 мкг/100 г), алюмінію (32 мкг/100 г), феруму (24 мкг/100 г).

Таким чином, результати проведених дисертантом дослідження 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.

Важливими з наукової точки зору є дослідження з фармакопейної стандартизації лікарської рослинної сировини та розробка проекту національної монографії Державної фармакопеї України «Квасолі звичайної стулки плодів^N» (розділ 3.4). Для квасолі звичайної стулки плодів були проведені дослідження з визначення макро- та мікроскопічних діагностичних ознак (розділ 3.4.1).

Дисертантом вперше розроблена методика ідентифікації біологічно активних сполук (аргініну та глютамінової кислоти) квасолі звичайної стулки плодів (розділ 3.4.2) методом ТШХ, на яку отримано пріоритетну заявку № u 2018 01136 «Спосіб хроматографічного визначення аргініну та глютамінової кислоти квасолі звичайної стулок плодів» на отримання патенту України на корисну модель. Для цієї методики згідно з вимогами ДФУ були вивчені такі валідаційні характеристики, як специфічність, прецизійність та робастність. Експериментально визначенні показників якості квасолі звичайної стулки плодів та їх нормування для 7 різних зразків (розділ 3.4.3, табл. 3.24).

Визначено кількісного вмісту біологічно активних сполук квасолі звичайної стулки плодів - суми гідроксикоричних кислот (розділ 3.4.4); амінокислот (розділ 3.4.4.2). Досить високий вміст L-аланіну та аргініну дає можливість розглядати їх як потенційні речовини-маркери при розробці методики кількісного визначення для стандартизації сировини. Дисертантом була розроблена методика визначення суми амінокислот у перерахунку на аргінін, яка представлена у інформаційному

листу «Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії» за № 222018 від 25.10.2017 р. Для розробленої методики були дослідженні валідаційні характеристики, такі як: лінійність, діапазон застосування та робастність. В результаті проведеного вивчення мінерального складу квасолі звичайної стулок плодів встановлено наявність 15 макро- і мікроелементів (розділ 3.4.4.4). Результати свідчать, що серед макроелементів переважають калій (2520,00 мкг/100 г), кальцій (670,00 мкг/100 г) і магній (335,00 мкг/100 г). З мікроелементів слід зазначити високий вміст кремнію (335,00 мкг/100 г), який у вигляді кремнезему представлений практично у всіх ролинах, фосфору (8,40 мкг/100 г) і алюмінію (6,70 мкг/100 г), які необхідні для фізіологічно нормального функціонування організму.

Розділ 4 дисертації «Розробка та стандартизація добавки дієтичної «Остеоверт»» присвячений розробці розробки та стандартизації дієтичної добавки «Остеоверт» у вигляді м'яких желатинових капсул, що містить гарпагофітуму лежачого коренів екстракт.

При одержанні та стандартизації гарпагофітуму лежачого коренів екстракту було проведено визначення оптимальних умов екстрагування гарпагофітуму лежачого коренів (розділ 4.2.1) дозволили встановити, що найбільший вихід екстрактивних речовин спостерігався під час екстрагування протягом 2 год з використанням лопатевої мішалки при використанні в якості екстрагента 20 % спирту етилового (20 об/об.), що було підтверджено визначенням кількісного вмісту основної БАР – іридоїдів у перерахунку на гарпагозид методом ВЕРХ (табл. 4.2, 4.3).

Одержано гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий (розділ 4.2.2, рис. 4.1) та визначені параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ (табл. 4.5): опис, ідентифікація гарпагозиду та фруктози, втрата в масі при висушуванні, вміст важких металів, мікробіологічна чистота, кількісне визначення гарпагозиду.

Для отриманого сухого екстракту визначена аналгетичної та протизапальної активності на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів (розділ 4.2.3). Препаратом порівняння був обраний зареєстрований в Україні препарат «Фонг Те Тхап» (виробник «ЛТД «ФІТО ФАРМА Ко.», В'єтнам). Встановлено, що гарпагофітуму коренів екстракт сухий у дозі 1500 мг/кг мав більш виражені аналгетичні та протизапальні властивості у порівнянні з референтним засобом.

Практичне значення полягає в тому, що на підставі отриманих експериментальних даних розроблено склад та промислово технологію одержання добавки дієтичної та впроваджено її у виробництво ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС». Розроблена схема технологічного процесу виробництва капсул «Остеоверт» у промислових умовах (розділ 4.3, рис 4.5).

Стандартизацію отриманої дієтичної добавки «Остеоверт» проводили за органолептичними (табл. 4.9), фізико-хімічними (табл. 4.10), мікробіологічними показниками (табл. 4.12). Також було досліджено вміст токсичних елементів, пестицидів та радіонуклідів (табл. 4.11). Отримані експериментальні дані використані при розробці технічних умов України на дану продукцію ТУ У 10.8-31062507-059:2016 «Добавки дієтичні на основі олій та жирів тваринних».

До досягнень цього розділу можна віднести результати зі стандартизація якості дієтичної добавки «Остеоверт», як лікарського препарату, а само з розробки

методики визначення ідентифікації глюкозаміну сульфату та хондроїтину сульфату методом ВЕРХ, ідентифікації гарпагофітуму лежачого екстракту сухого ТШХ-методом, кількісного вмісту хондроїтину сульфату фотометричним титруванням, кількісного вмісту глюкозаміну методом потенціометричного титрування, кількісного вмісту гарпагозиду у сировині гарпагофітуму екстракту сухого методом ВЕРХ.

Важливим, з точки зору наукової та практичної цінності, є **розділ 5 «Розробка та стандартизація рослинного збору «Ревмаверт»»**, в якому наведені результати з розробки складу та технології 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), який захищено патентом України на корисну модель № 129448 «Рослинний збір з аналгетичною та протизапальною активністю». З метою встановлення доброякісності сировини, яка входить до складу збору було визначено показники якості та встановлена їх відповідність до вимог ДФУ за такими показниками, як «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола» та вимог монографії ДФУ 2.0 «Полин гіркий^N» за показником «Вміст екстрактивних речовин» (табл. 5.1). При розробці оптимальної технології одержання збору та вивченні оптимального режиму отримання витяжки зі збору були враховані показників питомої маси для різних видів сировини (табл. 5.2). На основі отриманих експериментальних даних було розроблено технологічну схему виробництва рослинного збору за представленим складом (рис. 5.1).

На підставі експериментальних досліджень (табл. 5.4) за вмістом екстрактивних речовин та флавоноїдів у водному витязі було обрано час настоювання 90 хв, який дисертант рекомендувати як оптимальний для використання у домашніх умовах при застосуванні збору.

Згідно зі статтею ДФУ «Лікарські збори» для засобу «Ревмаверт» визначені такі параметри стандартизації, як макро- та мікроскопічні ознаки (розділ 5.4.1); показники якості (вміст екстрактивних речовин, втрата в масі при висушуванні, вміст загальної золи, вміст органічних та мінеральних домішок і ступінь подрібнення) (розділ 5.4.3), мікробіологічна чистота (розділ 5.4.4). Проведено ідентифікацію БАР кожного з рослинних компонентів збору з визначенням речовин-маркерів методом ТШХ: гарпагофітуму лежачого корені (*гарпагозид*), софори японської бутони (*рутин та гіперозид*), квасолі звичайної стулки плодів (*аргінін та глутамінова кислота*), споришу звичайного трава (*кофейна кислота, гіперозид, хлорогенова кислота*) та встановлена відповідність вимогам відповідних монографій на ЛРС, яка входить до складу збору. Досліджено кількісний вміст БАР у зборі: вміст суми амінокислот у перерахунку на аргінін, вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин та вміст гарпагозиду. Результати проведених фармакологічних досліджень підтвердили аналгетичну та протизапальну активність досліджуваного збору (розділ 5.5).

Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним результатам досліджень та змісту роботи.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень, висновків і практичних результатів. Дослідження виконані на сучасному науковому рівні. Достовірність експериментальних даних підтверджена валідаційними дослідженнями та статистичним аналізом результатів хімічного експерименту, що є сучасним елементом розробки і стандартизації лікарських засобів. Наукові висновки і практичні рекомендації базуються на експериментальному матеріалі та повністю відображають зміст роботи. Висновки теоретично обґрунтовані й експериментально підтверджені. Достовірність отриманих автором результатів не викликає сумніву. 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 рекомендацій та зауважень:

1. Відповідно до розробленої промислової технології одержання добавки дієтичної в формі капсул «Остеоверт» (розділ 4.3) на стадії 2 «Приготування маси для інкапсулювання» після додавання в реактор з глюкозаміну сульфатом, хондроїтину сульфатом, гарпагофітуму коренів екстрактом сухим та частиною соєвої олії маси, яка містить соєву олію, лецитин і бджолиний віск вміст реактору перемішують при температурі 45 °С протягом 15±5 хв. Такий температурний режим викликає питання з точки розу можливого утворення домішок глюкозаміну, а саме домішки 5-гідроксиметилфурфуролу, що потребує контролю за показником Супровідні домішки в капсулах.

2. В розділах 4.3 та 5.3 відповідно до положень Настанови 42-3.5:2004 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Валідація процесу» (п. 5.5 «Маштабування») доцільно було б провести оцінку технологічного процесу, зазначивши можливі критичні операції та критичні параметри, які можуть мати вплив на якість добавки дієтичної у вигляді м'яких желатинових капсул «Остеоверт» та рослинного збору «Ревмаверт», відповідно, та критерії їх прийнятності.

3. На наш погляд, бажано було б в розділах 4 і 5 в відповідності до вимог Настанова 42-3.3:2004. «Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності» провести досліджень стабільності з встановлення терміну придатності добавки дієтичної «Остеоверт» та збору «Ревмаверт», відповідно, які б підтвердили зберігання хімічних, фізичних і мікробіологічних властивостей цих засобів.

Однак вказані зауваження не зменшують наукової значимості роботи.

Відповідність дисертації вимогам. На основі вище вказаного можна зробити висновок, що дисертаційна робота **КРЮКОВОЇ АННИ ІГОРІВНИ «РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ КОМБІНОВАНИХ РОСЛИННИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПРИ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ СУГЛОБІВ»**, є закінченою науково-дослідною працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані теоретичні і експериментальні результати, що в сукупності вирішують конкретну задачу в галузі розробки профілактичних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів на основі рослинних компонентів.

Вважаю, що за актуальністю теми, новизною, теоретичною та практичною значимістю, а також обсягом досліджень дисертаційна робота «**РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ КОМБІНОВАНИХ РОСЛИННИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПРИ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ СУГЛОБІВ**» відповідає сучасним вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», які висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук. Її автор **КРЮКОВА АННА ІГОРІВНА** заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03–стандартизація та організація виробництва лікарських засобів.

Офіційний опонент:
кандидат фармацевтичних наук,
старший науковий співробітник,
начальник відділу фармацевтичної розробки
Публічного акціонерного товариства
«ФАРМСТАНДАРТ-БІОЛІК»

Назарова О.С.

Копія Назарової О.С. завірено
Нач. відділу кадрів Олександр В. Онова

