ВІДГУК
ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

професора кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут», доктора фармацевтичних наук, доцента **Краснопольського Юрія Михайловича** на дисертаційну роботу **Безкровної Катерини Сергіївни** за темою «**Розробка складу, технології та дослідження таблеток на основі родовика екстракту»,** представлену до спеціалізованої вченої ради ДФ 64.605.015 при Національному фармацевтичному університеті, що утворена наказом МОН №280 від 03.03.2021р. для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – «Фармація», галузь знань 22 – «Охорона здоров'я»

Обґрунтування вибору теми дослідження. Розширення арсеналу лікарських засобів для боротьби із захворюваннями різної етіології залишається актуальним завданням практичної медицини та фармації і має велике соціальне значення. Перспективним напрямком створення нових високоефективних лікарських засобів на основі рослинної сировини є продукти екстракту коренів родовика. Ці препарати можуть бути перспективними для комплексної терапії хвороб шлунково-кишкового тракту в якості гастропротекторних та антибактерільних засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету (НФаУ) за темою «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (номер державної реєстрації № 0114000945).

Наукова новизна одержаних результатів полягає в удосконаленні науково-методичних підходів до вибору рослинних об'єктів, одержання екстрактів та розробки лікарських засобів (ЛЗ) на їх основі для гастроентерологічної практики.

Автором уперше теоретично та експериментально обґрунтовано технологію одержання родовика коренів екстракту сухого (РКЕС), вивчено показники його якості, що закладено до проєкту МКЯ. Уперше на підставі комплексу фармако-технологічних, фізико-хімічних та біологічних досліджень теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено склад ЛЗ у формі таблеток на основі одержаного РКЕС під умовною назвою «Гастро-Сан».

Вивчено фармако-технологічні, фізико-хімічні, органолептичні властивості розроблених таблеток та опрацьовано сучасні методи контролю їх якості за вимогами ДФУ. Вивчено умови їх зберігання та термін придатності. Отримані результати внесено до проєкту МКЯ.

Уперше мікробіологічними дослідженнями, що проведено з використанням у якості тест-культур циркулюючих клінічних ізолятів *H. pylori*, вилучених з біоптатів слизової оболонки антрального відділу шлунку від хворих на запально-виразкові захворювання гастродуоденального тракту встановлено антихелікобактерну активність РКЕС. Встановлено на моделі дифузії в агар в модифікації «колодязів» антимікробну активність РКЕС, методом двократних серійних розведень – таблеток Гастро-Сан.

Уперше фармакологічними дослідженнями, на моделі субхронічного ерозивно-геморагічного ураження слизової оболонки шлунка щурів, викликаного ацетилсаліциловою кислотою встановлено гастропротекторну дію РКЕС, яку підтверджено у таблетках Гастро-Сан.

Новизна досліджень захищена 2 патентами України на корисну модель «Спосіб одержання екстракту з гастропротекторною та антимікробною дією з родовика коренів»: пат. UA 141325 від 10.04.2020 р. та «Застосування родовика коренів екстракту сухого в якості субстанції з антихелікобактерною дією»: пат. UA 141358 від 10.04.2020 р. Подано 3 заявки на отримання патенту на винахід та 1 заявку на отримання патенту на корисну модель.

За результатами теоретичних досліджень одержано свідоцтво Державної служби інтелектуальної власності України про реєстрацію авторського права на твір для методичних рекомендацій «Науково-методичні підходи до вибору рослинних об’єктів при розробці фітопрепаратів для гастроентерології» (№ 94721 від 13.12.2019 р.) Означене видання включено як нововведення до Переліку наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для упровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров’я (реєстр. № 293/6/19).

Практичне значення отриманих результатів полягає в створенні й запропонуванні для практичної медицини та фармації нового ЛЗ у формі таблеток на основі РКЕС для комплексної терапії хвороб ШКТ, у тому числі спричинених *H. pylory* як гастропротекторного та протимікробного ЛЗ.

Розроблено проєкти ТР та МКЯ на РКЕС, що апробовано на базі ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС», м. Харків (акт апробації від 14.07.2017 р.) та на виробництво таблеток «Гастро-Сан», що апробовано на базі ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка» (акт апробації від 31.08.2020 р.).

За матеріалами дисертаційної роботи впроваджено Українським центром наукової медичної інформації і патентно-ліцензійної роботи МОЗ України

(Укрмедпатентінформ) інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я «Ідентифікація та кількісне визначення танінів у родовика коренів екстракті сухому» №56-2020, що впроваджено у роботу 4-х аптечних закладів.

Методичні рекомендації та результати досліджень впроваджено в освітній процес кафедр закладів вищої освіти України медичного (фармацевтичного) профілю, про що свідчать відповідні акти впровадження.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 290 сторінках. Робота складається зі вступу, огляду літератури, експериментальної частини (розділи 2-5), висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту складає 193 сторінки. Робота містить 37 таблиць та 42 рисунки. Список використаних джерел налічує 193 найменування, з яких 77 іноземні.

У **вступі** дисертаційної роботи обґрунтовано актуальність теми, сформульована мета, яка полягає у науковому обґрунтуванні складу, розробки технології та дослідженні таблеток на основі РКЕС для лікування захворювань ШКТ. Відповідно до мети визначені завдання, об'єкти, предмет і методи досліджень, а також зазначена наукова новизна отриманих результатів, їх практичне значення, особистий внесок дисертанта, дані щодо апробації результатів роботи та публікації.

У **першому розділі** «Сучасний стан створення та дослідження лікарських засобів рослинного походження для гастроентерології (огляд літератури)» представлено результати аналізу наукових та інформаційних джерел щодо сучасного стану створення та дослідження ЛЗ рослинного походження для гастроентерології; закцентовано на ролі фітозасобів у фармакотерапії хвороб ШКТ; наведено дані експериментальних досліджень щодо результативності застосування природних продуктів, а саме лікарських рослин, рослинних екстрактів, продуктів бджільництва у терапії гастроентерологічних захворювань. Окрім того, представлена інформація про використання родовика лікарського у народній та офіційній медицині, що уможливлює його вибір як діючого об'єкту для розробки ЛЗ гастроентерологічної спрямованості.

Окремий підрозділ присвячено дослідженню асортимента зареєстрованих на фармацевтичному ринку України ЛЗ рослинного походження для лікування хвороб ШКТ, що підтверджує своєчасність пошуку перспективних рослинних об'єктів для розширення асортименту ліків для гастроентерології. Також висвітлено технологічні аспекти виробництва твердих лікарських форм з рослинними об'єктами з наведенням допоміжних речовин, які використовуються при фармацевтичній розробці.

У **другому розділі** «Обґрунтування загальної концепції та методів дослідження» представлено методологічні підходи щодо розробки ЛЗ у формі таблеток на основі РКЕС, що включають послідовне виконання фармако-технологічних, фізико-хімічних та біологічних досліджень. Наведено характеристику об'єктів та представлено методи дослідження, що були використані у роботі.

Третій розділ «Технологія отримання родовика коренів екстракту сухого та його дослідження» присвячений обґрунтуванню складу, технології та показників якості РКЕС. У розділі надано результати аналізу сегменту фітопрепаратів, репрезентованих на фармацевтичному ринку України для лікування хвороб ШКТ, якими встановлено доцільність розробки нового ЛЗ у формі таблеток. Наведено дані з вивчення споживацьких переваг щодо існуючих ЛЗ рослинного походження для лікування хвороб ШКТ, які визначено методом анкетування спеціалістів фармації. Встановлено прихильність споживачів до рослинних ЛЗ та узагальнено думку про важливість розробки нових ЛЗ у формі таблеток як найбільш затребуваної лікарської форми на думку опитуваних.

Наведено результати вивчення фармако-технологічних, фізико-хімічних властивостей родовика коренів. За результатами фізико-хімічних досліджень обґрунтовано вибір екстрагенту – 50% етанолу, що підтверджено мікробіологічним скринінгом на клінічних та музейних штамах мікроорганізмів. Проведено дослідження з визначення методу екстрагування, за результатами якого обрано дробну мацерацію, наведено технологічну схему одержання екстракту. Досліджено фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості РКЕС. Встановлено можливість одержання таблеток на його основі методом прямого пресування за умови введення до складу порошкових мас ДР, що поліпшують текучість та допоміжних речовин (ДР) з вологоадсорбуючими властивостями. За результатами фізико-хімічних та мікробіологічних досліджень розроблено проєкт МКЯ на одержаний екстракт сухий. Представлено дані щодо досліджень стабільності РКЕС, визначення терміну придатності та умов зберігання. Отримані результати довели стабільність об'єкту протягом 2 років при температурі зберігання 25±2˚С та відносній вологості 60±5% у щільно закритих флаконах.

Четвертий розділ дисертаційної роботи «Розробка складу та технології таблеток на основі родовика екстракту сухого» розпочато з обґрунтовання умовноефективної дози (40 мг) РКЕС на одну таблетку, що доведено in vivo а також визначення складових ДР за допомогою математичного планування експерименту. Вивчено вплив 25 ДР, які згруповано у 5 груп на фармако-технологічні властивості порошкових мас та таблеток (одержаних методом

прямого пресування) на основі РКЕС з побудовою ранжованих рядів переваг. Проведено фармако-технологічне вивчення, а для вибору оптимальних ДР побудовано функцію бажаності, результати якої піддавали дисперсійному аналізу. Визначено речовини (лідери) за кожним із значущих факторів. Вищенаведені дослідження дали змогу запропонувати склад таблеток на основі РКЕС методом прямого пресування під умовною назвою «Гастро-Сан». Вивчено фармако-технологічні властивості розроблених таблеток, досліджено мікробіологічну чистоту, чим установлено відповідність ЛЗ до вимог ДФУ.

Розроблено методики ідентифікації суми поліфенольних сполук та вивчено їх кількісний вміст у перерахунку на пірогалол (вміст танінів) у таблетках Гастро-Сан, що разом з фармако-технологічними параметрами закладено до проєкту МКЯ. Досліджено стабільність таблеток Гастро-Сан та встановлено їх термін придатності протягом 2 років за умов зберігання при температурі 25±2˚С та вологості 60±5% в чарунковій упаковці із плівки полівінілхлоридної і фольги алюмінієвої.

У **п'ятому розділі** «Обговорення результатів фармакологічних та мікробіологічних досліджень родовика коренів екстракту сухого та таблеток Гастро-Сан» представлено дані мікробіологічних та фармакологічних досліджень як РКЕС, так і ЛЗ Гастро-Сан. Фармакологічними дослідженнями на моделі субхронічного ерозивно-геморагічного ураження слизової оболонки шлунка щурів, що викликане ацетилсаліциловою кислотою, встановлено гастропротекторну дію РКЕС, що підтверджено вивченням даного виду активності і для таблеток Гастро-Сан. Проведено дослідження гострої токсичності та встановлено належність РКЕС, до VI класу токсичності (відносно нешкідливі сполуки), що дозволяє використовувати його як безпечну складову нового ЛЗ.

Мікробіологічними дослідженнями встановлено антихелікобактерну активність РКЕС по відношенню до клінічних штамів *H. pylori*, вилучених з біоптатів слизової оболонки антрального відділу шлунку. Методом дифузії в агар в модифікації «колодязів» встановлено антимікробну дію РКЕС у відношенні до всіх досліджуваних тест-штамів мікроорганізмів (найбільша чутливість по відношенню до *S. aureus* та *B. subtilis*), підтверджено антимікробну активність таблеток Гастро-Сан методом двократних серійних розведень відносно музейних та клінічних штамів мікроорганізмів.

Повнота викладу дисертаційних досліджень у наукових працях. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 34 наукові праці, а саме: 9 статей (7 у фахових наукових виданнях, 2 з яких у закордонних виданнях), 2 патенти України на корисну модель, 1 свідоцтво про реєстрацію авторського

права на твір, 1 інформаційний лист, 1 методичні рекомендації, 1 публікація у реєстрі нововведень, 19 тез доповідей.

Кількість фахових публікацій відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, у яких розкрито зміст дисертаційної роботи. Таким чином, за результатами теоретичних і експериментальних досліджень, наукового і практичного значення одержаних даних дисертаційна робота Безкровної К. С. відповідає вимогам до кандидатських робіт.

Також необхідно зазначити, що матеріали роботи мають високий рівень **апробації** на міжнародних, всеукраїнських науково-практичних конференціях, у тому числі наявні виступи з доповіддю.

Зауваження щодо змісту й оформлення дисертації, завершеність дисертації в цілому. Дисертаційна робота виконана й оформлена на високому рівні, має теоретичну й практичну значущість. Однак при загальній позитивній оцінці дисертаційної роботи слід висловити такі зауваження та побажання:

1. У розділі 2 доцільно було б навести час та місце заготівлі об'єкту вивчення – ЛРС родовика лікарського.
2. При вивченні мікробіологічної чистоти таблеток на основі родовика коренів екстракту сухого слід було навести методику пробопідготовки.
3. При проведенні досліджень для вибору концентрації екстрагенту для оптимального вилучення БАР з родовика коренів доречно було б об'єднати одержані витяжки на 50% та 60% етанолі, тим самим збільшивши сумарний вміст флавоноїдів.
4. Розділ 4. Доцільно було б зазначити клас чистоти приміщення при виготовленні таблеток Гастро-Сан.
5. При поданні результатів вивчення мікробіологічної чистоти родовика коренів екстракту сухого та таблеток Гастро-Сан бажано було б конкретно вказати загальне число аеробних мікроорганізмів, дріжджових і плісеневих грибів та бактерій, а не лише зазначити їх відповідність до вимог ДФУ.

Проте висловлені зауваження не носять принциповий характер і не знижують науково-практичної цінності дисертаційної роботи.

У якості наукової дискусії бажано отримати відповіді на наступні запитання:

1. Вами було проведено мікробіологічні дослідження та встановлено родовика коренів екстракту сухого антимікробну активність. Як Ви вважаєте, які БАР наявні у екстракті відповідають за означену активність?
2. Поясніть чому дослідженню антихелікобактерної дії піддавали лише екстракт, а не ЛЗ Гастро-Сан. На Вашу думку, які компоненти препарату відповідають за неї?

При розгляді дисертаційної роботи не було виявлено порушень академічної доброчесності.

Загальний висновок. Дисертаційна робота Безкровної К. С. є завершеною працею, у якій представлено розробку складу, технології та дослідження таблеток на основі родовика екстракту.

Дисертаційна робота **Безкровної Катерини Сергіївни** на тему «**Розробка складу, технології та дослідження таблеток на основі родовика екстракту**» повністю відповідає вимогам, передбаченим п.10 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 6 березня 2019 року (зі змінами, затвердженими постановою КМУ від 21 жовтня 2020 р. № 979) відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктор філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 – «Фармація».

Офіційний опонент:
професор кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут», доктор фармацевтичних наук, доцент Ю.М. Краснопольський

Підпис
ЗАСВІДЧУЮ:
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР
НАЦІОНАЛЬНОГО ТЕХНІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
"ХАРКІВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ"
Заковоротний О.Ю.
"26" 03 2021 р.

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Національний технічний університет "Харківський політехнічний інститут"
код 02071180