

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**КРЮКОВА АННА ІГОРІВНА**

**УДК: 615.11:615.322:615.072**

**РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ КОМБІНОВАНИХ РОСЛИННИХ  
ЗАСОБІВ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПРИ РЕВМАТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ  
СУГЛОБІВ**

**15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів**

**Автореферат**

**дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук**

**Харків – 2019**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України, м. Харків

**Науковий керівник:** доктор фармацевтичних наук, доцент  
**ВЛАДИМИРОВА ІННА МИКОЛАЇВНА**  
Національний фармацевтичний університет,  
доцент кафедри фармакогнозії

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**КУЧЕРЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА**  
Запорізький державний медичний університет,  
завідувач кафедри фармацевтичної хімії

кандидат фармацевтичних наук,  
старший науковий співробітник,  
**НАЗАРОВА ОЛЕНА СЕРГІЇВНА**  
Публічне акціонерне товариство  
«ФАРМСТАНДАРТ-БІОЛІК»,  
начальник відділу фармацевтичної розробки

Захист відбудеться «17» травня 2019 р. о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Із дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «16» квітня 2019 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
професор

В. А. Георгіянц

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Ревматичні захворювання є однією з найбільш поширених груп патологій людини. Функціональні обмеження та підвищений ризик розвитку коморбідних станів з часом призводять до інвалідизації. За поширеністю дана група захворювань займає четверте місце після захворювань серцево-судинної системи, органів травлення і респіраторних захворювань. У структурі первинної інвалідності ревматичні захворювання посідають друге місце серед захворювань внутрішніх органів (Шафранський В.В., 2016 р.).

Важливим є той факт, що за лікарською допомогою з приводу різних симптомів, обумовлених ураженням суглобів, все частіше звертаються не тільки пацієнти літнього віку, а й молодші особи з активним способом життя, для яких постійний біль і деформація суглобів означає обмеження працездатності, а різке зниження рухової активності призводить до вираженого зниження рівня якості життя.

Серед ревматичних захворювань найбільше медико-соціальне значення мають остеоартроз, ревматоїдний артрит та остеопороз, зважаючи на високий рівень захворюваності (у тому числі з тимчасовою втратою працездатності), інвалідності, істотного зниження якості життя хворих (Якименко О.О., 2014 р.).

Комплексне лікування ревматичних захворювань включає немедикаментозну терапію з регулярними освітніми програмами, зниження маси тіла, фізичними вправами, підтримуючими засобами (фіксатори, ортези), фармакотерапію та хірургічне втручання.

Застосування лікарських рослин при даних захворюваннях базується на знаннях стосовно хімічного складу рослин, чіткому розумінні природи біологічно активних сполук та їх фармакологічної дії. Такий підхід дозволяє раціонально розробляти нові рослинні лікарські засоби, пропонувати успішні схеми лікування, складати ефективні лікарські прописи та фітокомпозиції. Кокранівський систематичний огляд підтверджує доцільність і ефективність клінічного застосування рослинних засобів для лікування остеоартриту.

Вивченню лікарських рослин, що застосовуються при ревматичних захворюваннях, присвячені роботи вітчизняних і іноземних вчених. Так, проведені дослідження з визначення оптимального екстрагенту активних речовин стулок квасолі звичайної (Вронська В.В., 2014 р.), з визначення амінокислотного та мінерального складу деяких видів в *Phaseolus L.* (Ковальов С.В., Ковальов В.М., 2010 р., 2011 р.). У роботах (Чолак І.С., 2012 р.) досліджено полісахариди софори японської пуп'янок, (Котов А.Г., Галкін О.Ю.) проведені дослідження з розробки методик ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів у софори японської плодах. Ефективності застосування гарпагофітуму лежачого при остеоартритах присвячені роботи (Савустьяненко А.В., 2014 р.; Fiebich V. L, 2012 р.; Abdelouahab N., 2008 р.). Вивчення антиартритної активності похідних солей глюкозаміну представлено у роботах (Зупанець І.А., Дроговоз С.М., 2014 р.).

Тому актуальним і доцільним є проведення комплексних досліджень щодо розробки та стандартизації вітчизняних комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів.

**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).

**Мета і завдання дослідження.** Метою нашої 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 необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати сучасний стан та поширеність ревматичних захворювань, напрямки їх фармакотерапії та фітотерапії;
- провести аналітичний огляд сучасних лікарських засобів та добавок дієтичних рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату;
- обґрунтувати вибір об'єктів дослідження в залежності від стратегії лікування ревматичних захворювань та розробити алгоритм вибору лікарських рослин;
- провести дослідження з апробації методик контролю якості софори японської бутонів, софори японської квіток та гарпагофітуму лежачого коренів у відповідності до вимог монографій ДФУ та ЄФ;
- розробити методики ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних сполук сировини софори японської плоди та квасолі звичайної стулки плодів, визначити їх валідаційні параметри, розробити проекти національних монографій ДФУ «Софори плоди<sup>N</sup>», «Квасолі звичайної стулки плодів<sup>N</sup>»;
- визначити вміст діючих біологічно активних речовин у софори бутонах, софори квітках, софори плодах, гарпагофітуму лежачого коренях та квасолі звичайної стулках плодів, що мають безпосереднє значення при ревматичних захворюваннях суглобів;
- провести дослідження з визначення оптимальних умов одержання гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого, визначити параметри стандартизації, дослідити анальгетичні та протизапальні властивості;
- розробити склад, технологію одержання, визначити параметри стандартизації та розробити методики контролю якості добавки дієтичної «Остеоверт» та збору «Ревмаверт», дослідити анальгетичні та протизапальні властивості.

*Об'єкт дослідження* – розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів, фітохімічне вивчення та стандартизація вихідної рослинної сировини та

отриманих субстанцій, дослідження протизапальної та анальгетичної активності одержаних засобів.

*Предмет дослідження* – стандартизація лікарської рослинної сировини – софори японської квітки, плоди та бутони, квасолі звичайної стулки плодів, гарпагофітуму лежачого корені; дослідження хімічного складу даних видів сировини (визначення флавоноїдів, амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, макро- та мікроелементів); одержання та стандартизація гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого; розробка та визначення параметрів стандартизації комбінованих рослинних засобів у вигляді м'яких желатинових капсул «Остеоверт» та збору «Ревмаверт»; дослідження протизапальної та анальгетичної активності одержаних засобів.

**Методи дослідження.** Для вирішення поставлених завдань були використані методи дослідження: ТШХ, ВЕРХ, ГХ/МС, атомно-емісійний спектрографічний, гравіметричні, спектрофотометричні, титриметричні, технологічні, фармако-технологічні, фармакологічні, мікробіологічні. Макроскопічні дослідження сировини проводили за допомогою збільшеної лупи та неозброєним оком. Мікроскопічні ознаки сировини вивчали методом світлової мікроскопії з фотофіксацією. Фармакологічні дослідження проводили *in vivo*. Результати експериментальних досліджень статистично оброблені, запропоновані методики контролю якості є прийнятними відповідно до вимог ДФУ.

**Наукова новизна одержаних результатів.** 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.

Розроблені методики ідентифікації методом ТШХ амінокислот квасолі звичайної стулок плодів, як речовини маркери обрані аргінін та глутамінова кислота та спектрофотометрична методика кількісного вмісту суми амінокислот у перерахунку на аргінін; методика ідентифікації методом ТШХ флавоноїдів софори плодів, як речовини маркери обрані рутин та гіперозид. Для розроблених методик визначені валідаційні характеристики.

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

Вперше у гарпагофітуму лежачому коренях визначений вміст 12 макро- та мікроелементів, серед яких переважали калій (800 мкг/100 г), кальцій (450 мкг/100 г) та сіліцій (400 мкг/100 г); вміст 16 амінокислот, який після повного гідролізу зростав в 6,5 рази, що свідчило, що амінокислоти знаходяться у сировині переважно у зв'язаному стані; 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів. Домінантними були пропіонова, стеаринова та пальмітинова кислоти (2,08 мг/г, 1,17 мг/г та 0,89 мг/г відповідно); встановлена наявність та визначено кількісний вміст 18 вільних та зв'язаних моносахаридів, основними з яких були глюкоза – 64,12 мг/кг, галактоза – 77,98 мг/кг, рамноза – 4,38 мг/кг, арабіноза – 3,80 мг/кг.

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.

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 отриманого збору досліджені анальгетична та протизапальна активності 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.

Вивчено вплив способу настоювання отриманого збору на якість одержаних водних витягів зі збору та встановлений оптимальний спосіб настоювання збору при використанні споживачем.

**Практичне значення отриманих результатів.** В результаті проведених досліджень з апробації методик контролю якості сировини софори бутонів, софори квіток та гарпагофітуму лежачого коренів розроблені монографії ДФУ 2.1 «Софори бутони» (Акт впровадження від 22.05.18 № 11/626-5), «Софори квітки» (Акт впровадження від 22.05.18 № 11/625-5) та ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені» (Акт впровадження від 22.05.18 № 11/628-5).

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).

Розроблено методику визначення амінокислот у квасолі звичайної стулка 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».

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 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 ім. 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.** 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.

Експериментальні дослідження виконані на базі ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС», Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ та кафедри біологічної хімії НФаУ.

Персональний внесок у всіх опублікованих зі співавторами (Сіра Л.М., Владимірова І.М., Губарь С.М., Котов А.Г., Котова Е.Е., Загайко А.Л., Литкін Д.В., Тішакова Т.С.) 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.

**Апробація результатів дисертації.** Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях: 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-летію фармацевтичного 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.).

**Публікації.** 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.

**Структура та обсяг дисертації.** 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

**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 огляді літератури проаналізовано та узагальнено дані сучасних наукових джерел літератури щодо поширеності ревматичних захворювань у різних областях України; наведено міжнародну класифікацію основних типів ревматичних порушень; проаналізовано причини та основні фактори, що сприяють їх виникненню, напрямки діагностики та сучасної фармакотерапії; представлено напрямки та можливості застосування фітотерапевтичних засобів при ревматичних захворюваннях. Визначено, що важливим є застосування засобів рослинного походження, що впливає на етіологічні чинники, патогенетичні ланки та усуває клінічні прояви захворювання.

На підставі вищенаведеного обґрунтовано актуальність і доцільність комплексних досліджень щодо розробки та стандартизації комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів.

**Розділ 2. Обґрунтування вибору об'єктів дослідження. Методи дослідження.** З урахуванням відомостей, наведених у розділі 1 щодо етіології, патогенезу та основних тенденцій у стратегії та тактиці лікування ревматичних захворювань, нами досліджено номенклатуру рослинних лікарських засобів та добавок дієтичних, зареєстрованих в Україні, що застосовуються при ревматичних захворюваннях суглобів, їх компонентний склад, фармакотерапевтичні групи, лікарські форми, виробники тощо. За результатами проведеного аналітичного огляду встановлено наявність 18 торгових найменувань у різних лікарських формах. Серед яких найбільшу частку займають таблетки (42,4 %), розчини для ін'єкцій та краплі для перорального застосування займають 24,2 % та 9,1 % відповідно, м'які лікарські форми представлені мазями та гелями (по 6,1 %), інші лікарські форми (капсули, гранули) представлені незначною часткою. У даній групі лікарських засобів переважаючу частку займають гомеопатичні препарати (34,6 %) та хондропротектори (26,9 %). Асортимент добавок дієтичних представлений засобами імпортного виробництва. Серед монокомпонентних – «Ревмафіт» і «Босвелін» містять екстракти гарпагофітуму лежачого та босвелії відповідно; комбіновані з синтетичним хондропротектором метілсульфонілметаном – «Картиліум» і «Артромаксимум 5 днів» та багатокомпонентні рослинні добавки дієтичні – «Ревмагерб», «Ревмасол», «Артроведа», «Котячий кіготь екстра плюс».

Розроблено алгоритм вибору лікарських рослин для лікування ревматичних захворювань (рис. 1). При виборі лікарських рослин для подальшого дослідження особливу увагу привернули рослини, які поєднують декілька видів фармакологічної дії, впливають на різні чинники захворювання, що дає можливість зменшити кількість найменувань лікарських рослин при розробці складу фітокомпозиції, зменшуючи при цьому ризик виникнення небажаних побічних явищ при їх застосуванні, а також мають достатню сировинну базу.

У розділі наведені об'єкти та методи дослідження.

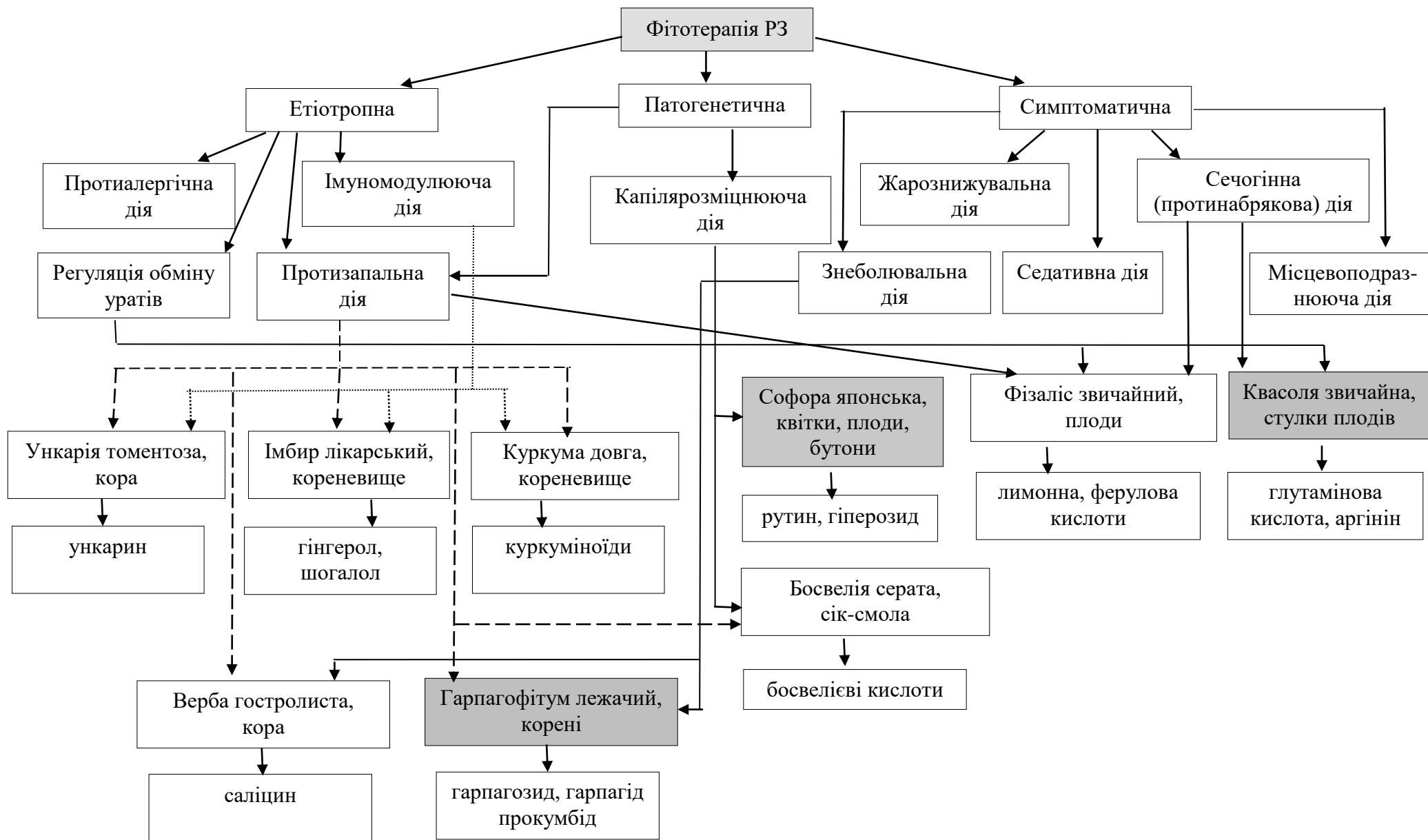


Рис. 1 Фітотерапія ревматичних захворювань (алгоритм вибору лікарських рослин)

**Розділ 3. Фітохімічне вивчення та стандартизація лікарської рослинної сировини – софори японської бутони, квітки та плоди, гарпагофітуму лежачого корені, квасолі звичайної стулки плодів.** З метою розробки національної монографії на сировину софори японської плоди були проведені дослідження з визначення макро- та мікроскопічних діагностичних ознак. У порошку плодів виявлялися фрагменти і тканини члеників оплодня (рис. 2), насіння (рис. 3), перетяжок оплодня (рис. 4) і плодоніжок (рис. 5).

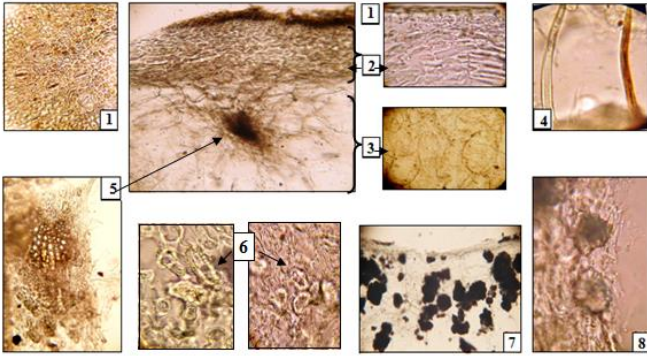


Рис. 2 Фрагменти і тканини члеників оплодня софори японської: 1 – зовнішня епідерма з продихами, 2 – клітини екзокарпія, 3 – пухка паренхіма мезокарпія, 4 – прості волоски, 5 – провідні пучки, 6 – судини і кристали кальцію оксалату, 7 – кристали рутину, 8 – склереїди

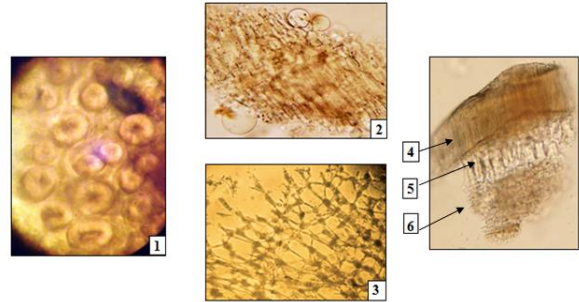


Рис. 3 Фрагменти і тканини насінин софори японської: 1 – епідерма насінної шкірки; 2 – ендосперм з краплями жирної олії; 3 – слизовмісні клітини; 4 – палісадний шар; 5 – катушковидні клітини; 6 – внутрішній шар шкірки

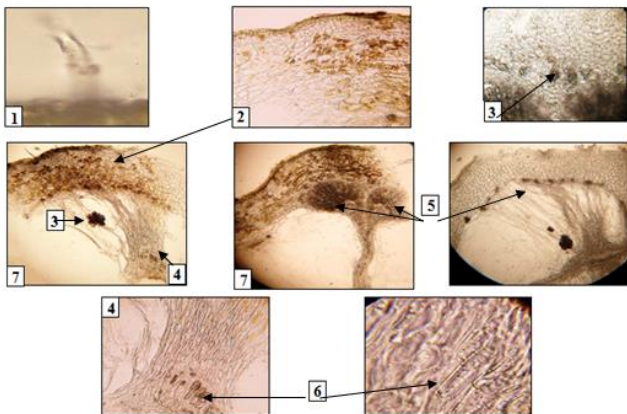


Рис. 4 Фрагменти і тканини оплодня софори японської у зоні перетяжок: 1 – прості волоски; 2 – екзокарпій; 3 – сферокристали БАР; 4 – мезокарпій; 5 – провідні пучки; 6 – склереїди; 7 – порожнини

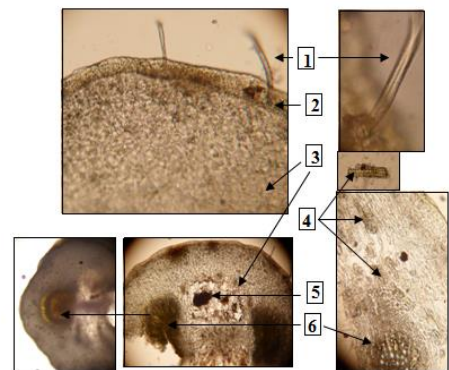


Рис. 5 Фрагменти плодоніжки плодів софори японської: 1 – епідерма з простими волосками; 2 – екзокарпій; 3 – мезокарпій; 4 – склереїди; 5 – грудки БАР; 6 – провідні пучки

Ідентифікацію флавоноїдів софори японської плодів проводили методом ТШХ з використанням уніфікованої методики, наведеної у монографіях ДФУ 2.1 «Софори бутони» та «Софори квітки». Експериментально було підібрано оптимальну наважку сировини та об'єм проб для проведення хроматографування (рис. 6).

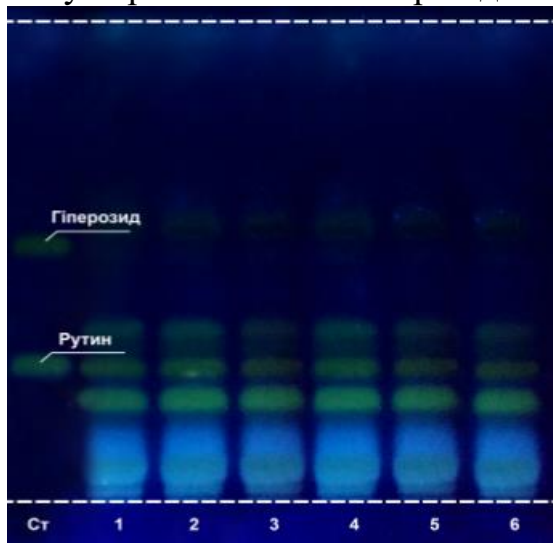


Рис. 6 Хроматограма розчину ЛРС софори японської за методикою ідентифікації монографії ДФУ «Софори бутони»: 1 – ФЗС ДФУ гіперозиду та ФЗС ДФУ рутину; 2-6 – випробовувані розчини

Для софори японської плодів встановлені показники якості: сторонні домішки (наявність почорнілих і недозрілих плодів не більше 5,0 %, наявність стебел і листків не більше 4,0 %), втрата в масі при висушуванні (не більше 12,0 %), загальна зола (не більше 10,0 %).

При визначенні кількісного вмісту флавоноїдів у софори плодах застосовано методику, розроблену Котовим А. Г. та Галкіним О. Ю. Для сировини софори плодів вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин встановлено на рівні не менше 5,00 %. Розраховані параметри лінійності та стабільності випробовуваних розчинів софори плодів у часі відповідають валідаційним критеріям.

При розробці національної монографії на сировину kwasoli звичайної стулки плодів був використаний досвід Державної Фармакопеї Республіки Білорусь (ДФРБ), яка містить монографію «Кwasoli стулки». При мікроскопічному дослідженні сировини у порошку виявлялися частини і тканини стулок у поздовжніх, поперечних і тангентальних зламах (рис. 7-9).

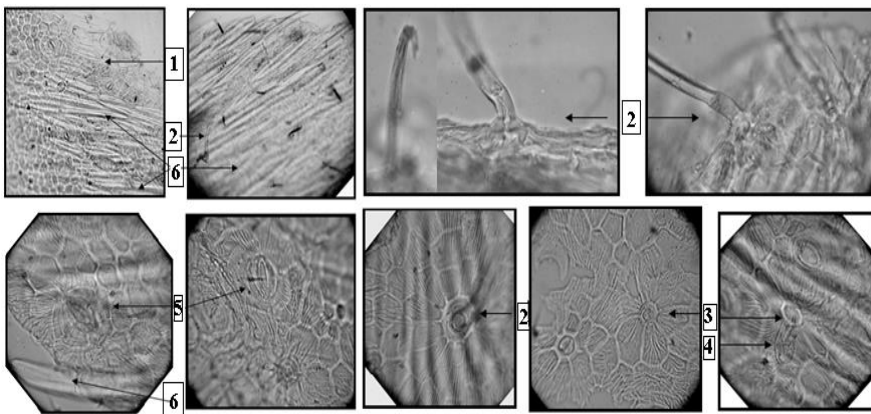


Рис. 7 Фрагменти екзокарпу: 1 – клітини епідерми, 2 – прості волоски з гострою гачкоподібною і прямою верхівкою, розеткою при основі зі складчастою кутикулою, 3 – валики від волосків, 4 – залозистий волосок, 5 – прорихи, 6 – клітини гіподерми

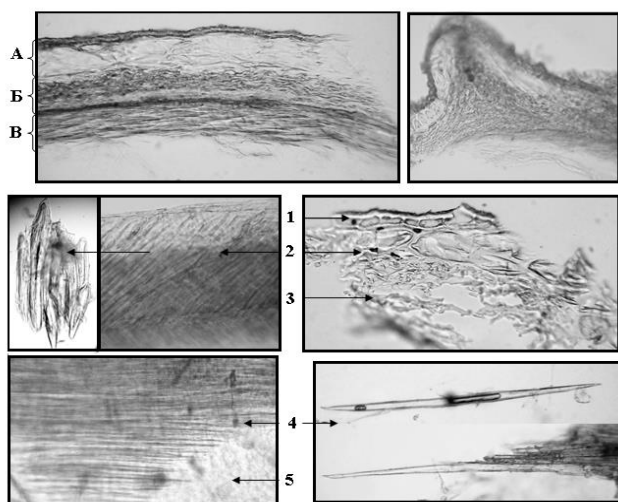


Рис. 8 Стулки на зламi: А – екзодерма, Б – мезодерма, В – ендодерма, 1 – зовнішня епідерма, 2 – гіподерма, 3 – зовнішня паренхіма, 4 – склеренхімні волокна, 5 – внутрішня паренхіма

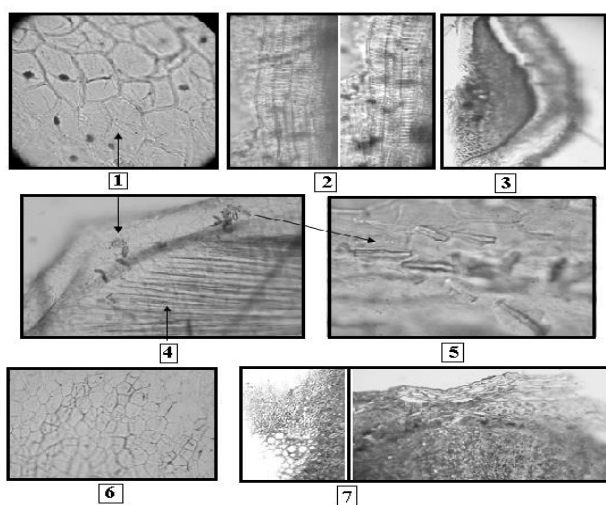


Рис. 9 Фрагменти частин і тканин мезо- і ендокарпу: 1 – внутрішня паренхіма мезокарпію, 2 – судини і трахеїди ксилеми, 3 – частина провідного латерального пучка, 4 – склеренхімні волокна, 5 – кристали кальцій оксалату, 6 – внутрішня епідерма, 7 – частини плодоніжки у поперечному січенні

Розроблено спосіб ідентифікації аргініну та глютамінової кислоти методом ТШХ, досліджено такі валідаційні характеристики як специфічність, прецизійність та робасність. При вивченні робасності методики ідентифікації досліджували стабільність випробовуваних розчинів під час аналізу, насиченість хроматографічної камери, вплив нерухомої фази та умов висушування. Дослідження впливу максимальної кількості факторів, від яких залежить процес хроматографування, забезпечує отримання надійного результату. Стабільність витягу квасолі звичайної стулок плодів до хроматографування на пластинці оцінювали паралельно на одній ТШХ-пластинці (рис. 10).

Розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення амінокислот, для якої визначені валідаційні характеристики: лінійність, діапазон застосування та робасність. Для сировини квасолі звичайної стулки плодів вміст амінокислот у перерахунку на аргінін встановлено на рівні не менше 0,03 %.

Проведені дослідження з апробації методик контролю якості сировини софори бутони та софори квітки відповідних монографій ДФУ 2.1 «Софори бутони», «Софори квітки».

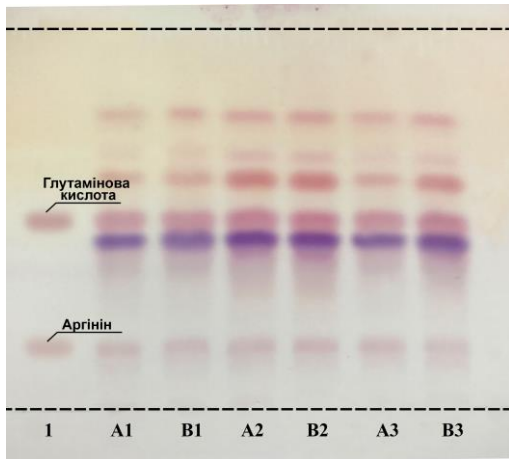


Рис. 10 Стабільність випробовуваного розчину на пластинці протягом 3 год: 1 – розчин ФСЗ ДФУ аргініну та ФСЗ ДФУ глутамінової кислоти; А1, А2, А3 – випробовувані розчини (три години на пластинці); В1, В2, В3 – випробовувані розчини (10 хв на пластинці)

Встановлена відповідність сировини за макро- та мікроскопічними ознаками. Ідентифікацію БАР софори японської бутонів та софори японської квіток проводили методом ТШХ на пластинках з шаром *силікагелю Р* у системі розчинників *мурашина кислота безводна Р – вода Р – етилацетат Р* (10:10:80), проявник – розчин, що містить 10 г/л *дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р* і 50 г/л *макрогелю 400 Р* у *метанолі Р*. Перегляд хроматограм здійснювали через 30 хв в УФ-світлі за довжиною хвилі 365 нм. На рис. 11 представлена послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння.

Визначені показники якості для софори бутонів та софори квіток: втрата в масі при висушуванні (не більше 11 %), зола загальна (не більше 9 %), сторонні домішки (наявність відкритих квіток не більше 5,0 % і наявність інших домішок не більше 2,0 %; наявність бутонів софори не більше 5,0 % і наявність інших домішок не більше 2,0 % відповідно).

Визначений вміст суми флавоноїдів спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин у софори японської бутонів та софори японської квіток складав не менше 20 % та не менше 8 % відповідно.

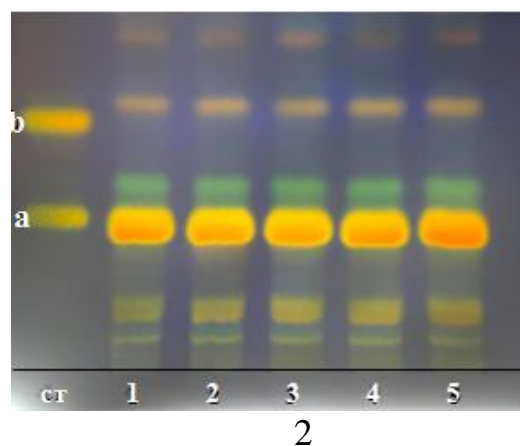
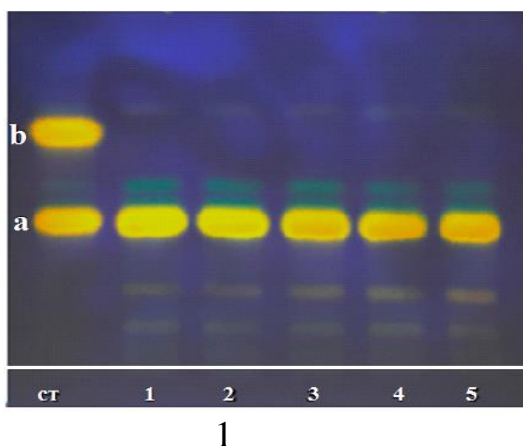


Рис. 11 Хроматограма отримана у процесі ідентифікації С софори японської бутонів (1) та квіток (2): 1-5 випробовувані розчини зразків софори №1-5 відповідно; а – зона рутину; б – зона гіперозиду

Визначений вміст рутину методом ВЕРХ у сировині софори складав не менше 15 % та менше 6 % для софори бутонів та софори квіток відповідно.

Проведені дослідження з апробації методик контролю якості монографії ДФУ 2.0 «Гарпагофітуму лежачого корені». За результатами анатомо-морфологічних досліджень серій гарпагофітуму лежачого коренів встановлена відповідність досліджуваних серій сировини вимогам монографії (рис. 12).

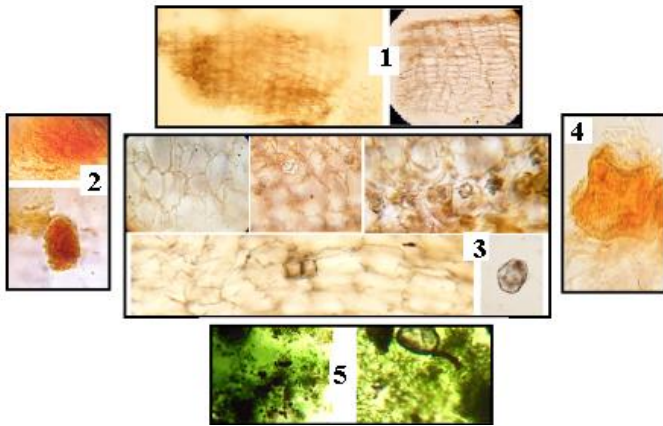
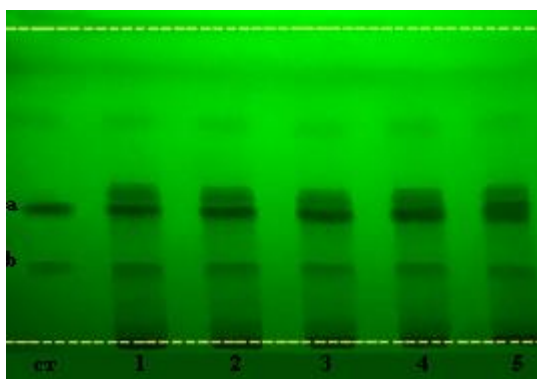
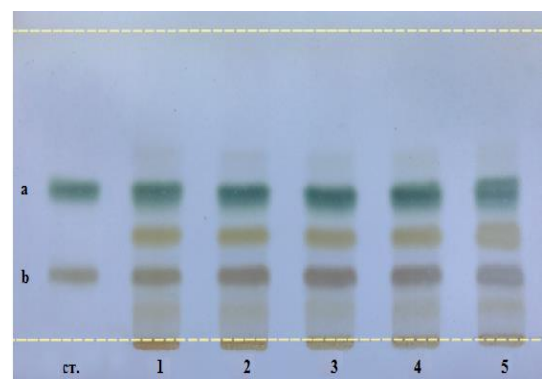


Рис. 12 Діагностичні структури гарпагофітуму лежачого кореня: 1 - фрагменти корової паренхіми із крупних тонкостінних клітин; 2 - фрагменти корової паренхіми; 3 - фрагменти сітчасто потовщених або пористих судин та фрагменти здерев'янілої паренхіми; призматичні кристали; 4 - прямокутні або багатокутні склереїди; 5 - паренхіма є зеленого забарвлення

Ідентифікацію БАР гарпагофітуму лежачого коренів проводили методом ТШХ з використанням пластинки із шаром *силікагелю Р* у системі розчинників *вода Р - метанол Р - етилацетат Р* (8:15:77). В якості розчину порівняння використовували метанольні розчини стандартного зразку *гарпагозиду Р* (*Sigma-Aldrich; product number 68527*) та *ФСЗ ДФУ фруктози* (рис. 13). Кількісний вміст гарпагозиду визначений методом ВЕРХ складав не менше 1,2 %.



1



2

Рис. 13 Хроматограми, отримані у процесі ідентифікації С гарпагофітуму коренів: 1 – виявлення А; 2 – виявлення В: а – зона *гарпагозиду Р*; б – зона *ФСЗ ДФУ фруктози*; 1-5 випробовувані розчини зразків №1-5 гарпагофітуму коренів відповідно

Методом атомно-емісійної спектрографії був визначений вміст 12 макро- та мікроелементів у софори бутонів, софори квіток, гарпагофітуму лежачого коренів та квасолі звичайної плодах. Софора характеризувалась високим вмістом

кровоотворних мікроелементів – феруму – 23,00 мг/100г у квітках та 7,40 мг/100 г у бутонах і купруму – 0,65 мг/100 г у квітках і 1,55 мг/100г у бутонах. У гарпагофітуму лежачого коренях та квасолі звичайної стулках плодів переважали калій (800 мг/100 г, 2520,00 мг/100 г відповідно) та кальцій (450 мг/100 мг, 650,00 мг/100 г відповідно). Методом ВЕРХ у гарпагофітуму лежачому коренях визначений вміст амінокислот. У найбільшій кількості у вільному стані були визначені аргінін та аспарагінова кислота (1,55 мкг/мг та 0,26 мкг/мг відповідно). Методом ГХ-МС у гарпагофітуму лежачому коренях було виявлено 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів; визначено кількісний вміст 18 вільних та зв'язаних моносахаридів. 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. Методом ВЕРХ з мас-спектрометричним детектуванням у п'яти зразках квасолі звичайної стулках плодів ідентифіковано наявність 14 амінокислот, з них 6 є незамінними.

**Розділ 4. Розробка та стандартизація добавки дієтичної «Остеоверт».** Досліджені технологічні параметри гарпагофітуму лежачого коренів з метою визначення та підвищення ефективності процесу екстрагування і визначення витратних норм сировини та екстрагенту: подрібненість ( $3-5\pm 0,03$  мм), об'ємна маса ( $0,83\pm 0,03$  г/см<sup>3</sup>), насипна маса ( $0,50\pm 0,02$  г/см<sup>3</sup>), питома маса ( $1,40\pm 0,02$  г/см<sup>3</sup>), пористість сировини ( $1,69\pm 0,03$  г/см), нарізність сировини ( $0,40\pm 0,02$  г/см<sup>3</sup>), вільний об'єм шару ( $2,01\pm 0,04$  г/см<sup>3</sup>), коефіцієнт поглинання води ( $1,02\pm 0,04$  мл/г), коефіцієнт поглинання спирту етилового (20 %; 80 %) -  $1,09\pm 0,04$  мл/г та  $0,69\pm 0,02$  мл/г відповідно.

Проведені дослідження з обґрунтування вибору оптимального екстрагенту та способу одержання гарпагофітуму коренів екстракту сухого та встановлено, що найбільший вихід екстрактивних речовин спостерігався під час екстрагування протягом 2 годин з використанням лопатевої мішалки при використанні в якості екстрагенту води та спирту етилового 20 %.

В одержаних екстрактах проводили визначення кількісного вмісту основної БАР – гарпагозиду методом ВЕРХ. Отримані результати кількісного визначення наведені у табл. 1.

Таблиця 1

**Результати кількісного вмісту гарпагозиду в отриманих витяжках гарпагофітуму лежачого коренів (n=3)**

Екстрагент	Кількісний вміст гарпагозиду, %					
	Лопатева мішалка			Метод мацерації		
	1 год	2 год	3 год	1 доба	2 доби	3 доби
Вода	$1,94\pm 0,03$	$2,61\pm 0,01$	$2,54\pm 0,02$	$1,69\pm 0,03$	$2,14\pm 0,04$	$2,12\pm 0,0$
Етанол, 20 %	$1,82\pm 0,02$	$2,54\pm 0,02$	$2,48\pm 0,03$	$1,62\pm 0,02$	$2,08\pm 0,02$	$2,01\pm 0,02$
Етанол, 40 %	$1,63\pm 0,04$	$2,38\pm 0,03$	$2,31\pm 0,03$	$1,48\pm 0,04$	$1,87\pm 0,03$	$1,66\pm 0,03$
Етанол, 60 %	$1,54\pm 0,01$	$2,24\pm 0,02$	$2,19\pm 0,04$	$1,18\pm 0,03$	$1,79\pm 0,02$	$1,75\pm 0,03$
Етанол, 80 %	$1,42\pm 0,03$	$2,01\pm 0,02$	$1,99\pm 0,02$	$0,97\pm 0,03$	$1,62\pm 0,04$	$1,58\pm 0,02$



Враховуючи незначні відмінності у вмісті екстрактивних речовин та кількісному вмісті гарпагозиду, запропоновано в якості екстрагенту для одержання гарпагофітуму екстракту використовувати етиловий спирт 20 %. Який в даному випадку виступає не тільки в якості екстрагента, а також консерванту, що сприятиме збереженню властивостей та подовженню терміну зберігання отриманого екстракту.

Одержано гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий та визначені параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ: опис, ідентифікація гарпагозиду та фруктози, втрата в масі при висушуванні, вміст важких металів, мікробіологічна чистота, кількісне визначення гарпагозиду (не менше 1,2 %). Для отриманого сухого екстракту визначені фармако-технологічні показники.

Фармакологічні дослідження гарпагофітуму екстракту проводились на базі кафедри біологічної хімії під керівництвом д.ф.н., професора Загайко А.Л. та асистента Литкіна Д.В.

Для гарпагофітуму коренів екстракту сухого встановлені анальгетична та протизапальна дії на моделі формалінового набряку нижньої кінцівки у щурів. Препаратом порівняння був обраний зареєстрований в Україні препарат «Фонг Те Тхап» (виробник «ЛТД «ФІТО ФАРМА Ко.», В'єтнам), який за АТС-класифікацією належить до засобів, що застосовуються при патології опорно-рухового апарату (M09AX10\*\*) й позиціонується як рослинний препарат з протизапальними й анальгетичними властивостями для лікування ревматичних артралгій, артрозо-артритів різної етіології та остеохондрозу. Встановлено, що гарпагофітуму коренів екстракт сухий у дозі 1500 мг/кг (що відповідає не менше ніж 37,0 мг/кг гарпагозиду) виявляв більш виражену антиексудативну дію у порівнянні з референтним засобом.

Обґрунтовано склад та розроблено промислову технологію одержання м'яких капсул «Остеоверт», для яких визначені показники якості у відповідності до вимог ДФУ: середня маса капсул – 1500,6 мг; час розпадання – від 12 до 14 хв; кількісний вміст діючих речовин: глюкозаміну сульфат (301,02 мг±0,02), хондроїтину сульфат (249,56 мг±0,02), гарпагофітуму лежачого екстракт сухий (202,43 мг±0,01).

Склад добавки дієтичної «Остеоверт» (вміст 1 капсули):

*Активні компоненти*

глюкозаміну сульфат	300,0 мг
хондроїтину сульфат	250,0 мг
гарпагофітуму лежачого екстракт сухий	200,0 мг

*Допоміжні компоненти:* олія соєва, віск бджолиний (E901), лецитин (E322)

*Оболонка капсули:* желатин (E441), гліцерин (E422), вода очищена, оксид заліза

Розрахований матеріальний баланс серії капсул «Остеоверт» підтвердив правильність обраного технологічного процесу. Технологія виробництва капсул «Остеоверт» впроваджена в умовах ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС».

**Розділ 5. Розробка та стандартизація рослинного збору «Ревмаверт».**

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), який захищено патентом України на корисну модель № 129448 «Рослинний збір з анальгетичною та протизапальною активністю». У відповідності до вимог ДФУ встановлені показники якості збору: макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки, втрата в масі при висушуванні ( $9,46 \pm 0,29$  %), зола загальна ( $4,53 \pm 0,32$  %), вміст екстрактивних речовин, що екстрагуються водою ( $55,24 \pm 0,02$  %).

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 становив  $0,36 \pm 0,01$  %, вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин -  $4,93 \pm 0,01$  %, вміст гарпагозиду -  $0,41 \pm 0,01$  %.

Визначені технологічні параметри вихідної сировини: питома, об'ємна та насипна маса, пористість, порізність сировини та встановлений оптимальний ступень подрібнення сировини у зборі, що становив від 0,35 мм до 2,00 мм. Вивчено вплив способу настоювання (протягом 15, 30, 45, 60 хв та до повного охолодження) на якість одержаних водних витягів зі збору. Встановлено, що рекомендованим способом настоювання збору для пацієнтів є 60 хв, оскільки вміст екстрактивних речовин та флавоноїдів в отриманому водному витязі був найбільшим і складав  $49,57 \pm 0,52$  % та  $0,52 \pm 0,03$  % відповідно.

Для розробленого рослинного збору «Ревмаверт» встановлені анальгетична та протизапальна активності у дозі 11,3 мл/кг (що відповідає не менше ніж 37,0 мг/кг гарпагозиду).

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено вирішення наукової проблеми, що полягає у розробці та стандартизації комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів, фітохімічному вивченні та стандартизації вихідної лікарської рослинної сировини і напівпродуктів та дослідженні їх протизапальних і анальгетичних властивостей.

1. У результаті проведеного аналізу даних наукової літератури встановлено актуальність розробки комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів, проаналізовано сучасний стан та поширеність даних захворювань, напрямки їх фармакотерапії та фітотерапії.

2. Проаналізовано номенклатуру сучасних лікарських засобів, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату та встановлено наявність 18 торгових найменувань у різних лікарських формах. Серед яких найбільшу частку займають таблетки (42,4 %), розчини для ін'єкцій та краплі для перорального застосування займають 24,2 % та 9,1 % відповідно, м'які лікарські форми представлені мазями та гелями (по 6,1 %), інші лікарські форми (капсули, гранули) представлені незначною часткою. У даній групі ЛЗ переважаючу частку

займають гомеопатичні препарати (34,6 %) та хондропротектори (26,9 %). Досліджено асортимент добавок дієтичних, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату, який, в основному, представлений засобами імпортного виробництва.

3. Обґрунтовано вибір об'єктів дослідження в залежності від стратегії лікування ревматичних захворювань та розроблено алгоритм вибору лікарських рослин при ревматичних захворюваннях з урахуванням етіопатогенетичних чинників та нозологічних форм захворювань.

4. 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. Визначено якість сировини за такими показниками як ідентифікація, що включає зовнішні та мікроскопічні ознаки, тонкошарову хроматографію; кількісне визначення; сторонні домішки; втрата в масі при висушуванні; загальна зола.

5. Розроблено спосіб ідентифікації та кількісного визначення аргініну та глютамінової кислоти у квасолі звичайної стулках плодів та визначено її валідаційні характеристики. Розроблено проекти національних монографій ДФУ «Квасолі звичайної стулки плодів<sup>N</sup>» та «Софори плоди<sup>N</sup>».

6. Методом атомно-емісійної спектрографії визначений вміст 12 макро- та мікроелементів у софорі бутонах, софорі квітках, гарпагофітуму лежачого коренях та квасолі звичайної плодах. Софора характеризувалась високим вміст кровотворних мікроелементів: феруму – 23,00 мг/100г у квітках та 7,40 мг/100 г у бутонах і купруму – 0,65 мг/100г у квітках і 1,55 мг/100г у бутонах. У гарпагофітуму лежачого коренях та квасолі звичайної стулках плодів переважали калій (800 мг/100 г, 2520,00 мг/100 г відповідно) та кальцій (450 мг/100 мг, 650,00 мг/100 г відповідно). Методом ВЕРХ у гарпагофітуму лежачому коренях та квасолі звичайної стулках плодів визначений вміст амінокислот та встановлений переважний вміст загальних амінокислот. Методом ГХ-МС у гарпагофітуму лежачому коренях було виявлено 19 карбонових кислот, похідні алканів та алкенів; встановлений вміст 18 вільних та зв'язаних моносахаридів.

7. Встановлено, що оптимальним екстрагентом для одержання гарпагофітуму коренів екстракту сухого є етиловий спирт 20 %. Для одержаного гарпагофітуму екстракту визначені параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ, визначені фармако-технологічні показники, досліджені протизапальні та анальгетичні властивості.

8. Обґрунтовано склад та розроблено промислову технологію одержання м'яких капсул «Остеоверт» та збору рослинного «Ревмаверт», для яких визначені показники якості у відповідності до вимог ДФУ. Технологія виробництва впроваджена в умовах ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС», досліджені протизапальні та анальгетичні властивості збору.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Аналітичний огляд сучасних засобів рослинного походження, що застосовуються при захворюваннях опорно-рухового апарату. *ScienceRise*. 2015. № 10/4 (15). С. 24–31 (особистий внесок – проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у написанні статті).
2. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Визначення діагностичних морфолого-анатомічних ознак плодів софори японської та їх стандартизація. *Фітотерапія. Часопис*. 2015. № 3. С. 48–51 (особистий внесок - підготовка лікарської сировини до аналізу, обробка отриманих експериментальних даних, участь у написанні статті).
3. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація квіток софори японської за макроскопічними та мікроскопічними ознаками. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 1. С. 42–45 (особистий внесок – підготовка лікарської сировини до аналізу, участь у проведенні експериментальних досліджень, участь у написанні статті).
4. Крюкова А. І., Сіра Л. М., Владимірова І. М. Стандартизація стулок квасолі звичайної за макро– та мікроскопічними ознаками. *ScienceRise*. 2016. № 2/4 (19). С. 32–37 (особистий внесок – підготовка лікарської сировини до аналізу, участь у проведенні експериментальних досліджень, участь у написанні статті).
5. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Софори квітки», «Софори бутони». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2017. № 4 (52). С. 12–19 (особистий внесок - проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, підготовка статті до друку).
6. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М., Котов А. Г., Котова Е. Е. Питання введення до Державної фармакопеї України монографій «Гарпагофітуму лежачого корені». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2018. № 1 (53). С. 6–13 (особистий внесок - проведення літературного пошуку, обробка отриманих даних, участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, підготовка статті до друку).
7. Kriukova A. I., Vladymyrova I. M. The study of the technological and microbiological parameters of a dietary supplement «Osteovert». *Visnik Farmacii*. 2018. № 2 (94). P. 41–47 (особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, участь у написанні статті).
8. Kriukova A., Vladymyrova I. Determination of technological parameters and indicators of the quality of new herbal collection. *EUREKA: Health Sciences*. 2018.

- № 6. Р. 61-68 (особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці та узагальненні результатів, участь у написанні статті).
9. Рослинний збір з анагетичною та протизапальною активністю : пат. 129448 України № u201805966; заявл. 29.05.18 ; опубл. 25.10.2018, Бюл. № 19. (особистий внесок – участь у патентному пошуку, плануванні та проведенні експериментальних досліджень та оформленні матеріалів).
  10. Крюкова А. І., Губарь С. М., Владимірова І. М. Кількісне визначення суми амінокислот у сировині квасолі звичайної стулок плодів методом спектрофотометрії : інформ. лист № 222018 / Український центр наукової медичної інформації та патентноліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. Вип. 4. 4 с. (Рішення ПК «Фармація» Протокол № 103 від 25.10.2017 р.).
  11. Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Мартиния душистая перспективное растение для создания лекарственных средств. *Наука в современном мире* : I Междунар. науч. практ. конф. для студентов, аспирантов и молодых ученых, 19 сент. 2015 г. К., 2015. С. 65–66.
  12. Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Анализ лекарственных средств, содержащих гарпагофитум. *Vestnik*. 2015. Т. IV, № 4 (73) : Перспективы развития биологии, медицины и фармации : III междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, 9–10 дек. 2015 г. С. 115–117.
  13. Kriukova A., Vladimirova I. The application by thinlayer chromatography for the standardization of Sophora Flower. *Ceska a slovenska farmacie*. 44-th Conference drug synthesis and analysis, Brno, 2th to 4th September 2015. Part 3. 2016. С. 34–35.
  14. Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Макроскопический анализ бутонов софоры японской. *Университетская наука: взгляд в будущее* : материалы междунар. науч.–практ. конф., посвящ. 81–летию Курского гос. мед. ун–та и 50–летию фармац. ф–та, г. Курск, 4–5 февр. 2016 г. Курск : ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, 2016. Т. III. С. 56–59.
  15. Крюкова А. И., Владимірова И. Н. Изучение минерального состава створок фасоли обыкновенной. *IV International scientific conference of young researchers*. Baku, Azerbaijan, 29–30 April, 2016. Baku, 2016. С. 261–262.
  16. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Вивчення мінерального складу коренів гарпагофітуму лежачого (*Harpagophytum procumbens* DS.). *Актуальні питання теоретичної, практичної та експериментальної фармації* : Всеукр. наук.–практ. конф., м. Вінниця, 16 берез. 2016 р. Вінниця, 2016. С. 72–74.
  17. Kriukova A., Vladymyrova I. The definition of numeric indicators for the root of *Harpagophytum procumbens*. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of xxiii international scientific and practical conference of young scientists and student, Kharkiv, April 21, 2016. Kharkiv, 2016. Vol. 1. P. 188.
  18. Крюкова А. І., Серая Л. М., Владимірова І. М. Изучение макроскопических признаков корня *Harpagophytum procumbens* DC. *Теоретичні та практичні*

- аспекти дослідження лікарських рослин* : II Міжнарод. наук.–практ. internet–конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. X., 2016. С. 144–145.
19. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Ідентифікація флавоноїдів пуп'янок софори японської. *Інновації в медицині* : 85–а наук.–практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, м. Івано–Франківськ, 24–25 берез. 2016 р. Івано–Франківськ, 2016. С. 236–337.
  20. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Ідентифікація біологічно активних речовин коренів гарпагофітуму лежачого. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24-25 берез. 2016 р. X., 2016. С. 158–159.
  21. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Питання стандартизації стулок квасолі звичайної за вмістом амінокислот. *Хімія природних сполук* : матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 21-22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 121–122.
  22. Kriukova A., Vladymyrova I. The macroscopic study of Sophora Japonica flowers. *Be in progress 2* : International Conference of Pharmacy Students, Lublin, April 21–25 2016. Lublin, 2016. P. 6.
  23. Крюкова А. І., Владимірова І. М., Губарь С. М. Розробка методики ідентифікація амінокислот стулок квасолі звичайної. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 56.
  24. Kriukova A., Vladimirova I. Quantitative determination of carbohydrates in radix harpogophytum procombens. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student, April 20, 2017. – Kh. : Publishing Office NUPh, 2017. – Vol. 1. – P.87.
  25. Kriukova A., Vladymyrova I. GCMS determination of chemical constituents of Radix Harpagophytum procumbens DS. *Technology transfer: innovative solutions in medicine* : proceedings of the 1–st Annual Conference, Tallinn, Estonia, 26 October 2017. Tallinn, 2017. P. 52–54.
  26. Kriukova A., Vladymyrova I. The element composition study of Sophora Japonica. *Topical problems of modern science* : II International Scientific and Practical Conference, Warsaw, Poland, 18 November, 2017. Warsaw, 2017. Vol. 5. P. 53–54.
  27. Крюкова А.І., Владимірова І. М. Визначення технологічних параметрів коренів гарпагофітуму лежачого (Harpogaphytum procombens DC). *XXI міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60–річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України*. Тернопіль, 2017. С. 244.
  28. Kriukova A., Vladymyrova I., Tishakova T. Rationale for choosing of extraction solvent for obtaining liquid extract from the roots of Harpagophytum Procumbens DC. *Innovations and prospects in pharmaceutical practice* : Fourth Pharmaceutical

- Business Forum and Scientific and Practical Conference, Varna, October 27–29, 2017. Varna, 2017. P. 37.
29. Kriukova A., Vladymyrova I., Gubar S. Development of standardization parameters of herbal species. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student*, Kharkiv, April 18–20, 2018. Kharkiv : NUPh, 2018. P. 22.
30. Крюкова А. І., Владимірова І. М. Вивчення показників безпечності добавки дієтичної «Остеоверт». *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів та дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження : матеріали I Міжнарод. наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 5 квіт. 2018 р. X., 2018. С. 71–72.*

### АНОТАЦІЯ

**Крюкова А.І. Розробка та стандартизація комбінованих рослинних засобів для застосування при ревматичних захворюваннях суглобів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 «Стандартизація та організація виробництва лікарських засобів». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2019.

Дисертаційна робота присвячена стандартизації сировини софори японської квітки, плоди та бутони, квасолі звичайної стулки плодів, гарпагофітуму лежачого корені; дослідженню хімічного складу даних видів сировини (визначення флавоноїдів, амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, макро- та мікроелементів); одержанню та стандартизації гарпагофітуму лежачого коренів екстракту сухого; розробці та стандартизації рослинних засобів та дослідженню їх протизапальної та анальгетичної активності.

В результаті проведених 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<sup>N</sup>» і «Квасолі звичайної стулки плодів<sup>N</sup>». Розроблено спосіб ідентифікації та кількісного визначення амінокислот у сировині квасолі звичайної стулках плодів.

Розроблено добавку дієтичну комбінованого складу «Остеоверт», що містить гарпагофітуму лежачого коренів екстракт сухий, глюкозаміну сульфат і хондроїтину сульфат, та рослинний збір «Ревмаверт», склад якого захищено патентом України на корисну модель № 129448 «Рослинний збір з анальгетичною та протизапальною активністю», визначені їх параметри стандартизації та розроблені методики контролю якості. Добавка дієтична «Остеоверт» впроваджена у промислове виробництво в умовах ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС» на замовлення ТОВ «Фармацевтична фірма «Вертекс» (м. Харків).

**Ключові слова:** гарпагофітум лежачий, софора японська, квасоля звичайна, корені, плоди, квітки, бутони, стулки плодів, екстракти, капсули, збір, речовини-маркери, стандартизація, протизапальна дія, анальгетична дія.

## АННОТАЦИЯ

**Крюкова А.И. Разработка и стандартизация комбинированных лекарственных средств для применения при ревматических заболеваниях суставов.** Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.03 – стандартизация и организация производства лекарственных средств, Национальный фармацевтический университет, Харьков, МЗ Украины, 2019.

Диссертационная работа посвящена стандартизации сырья софоры японской цветки, плоды и бутоны, фасоли обыкновенной створки плодов, гарпагофитума растопыренного корня; исследованию химического состава данных видов сырья (определение флавоноидов, аминокислот, моносахаридов, жирных кислот, макро- и микроэлементов); получению и стандартизации гарпагофитума растопыренного корней экстракта сухого; разработке и стандартизации растительных средств и исследованию их противовоспалительной и анальгетической активности.

Разработана добавка диетическая комбинированного состава "Остеоверт", которая содержит гарпагофитум растопыренного корней экстракт сухой, глюкозамина сульфат и хондроитина сульфат, определены ее параметры стандартизации, утверждены технические условия Украины и внедрена в промышленное производство в условиях ООО "Опытный завод "ГНЦЛС" на заказ ООО "Фармацевтическая фирма "Вертекс" (г. Харьков). Впервые проведены исследования по обоснованию выбора оптимального экстрагента и способу получения гарпагофитума растопыренного корней экстракта сухого как активного компонента добавки диетической "Остеоверт", для которого определены параметры стандартизации и фармако-технологические показатели в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Украины (ГФУ). Для полученного гарпагофитума корней экстракта сухого изучены анальгетическое и противовоспалительное действие.

Разработан состав и технологическая схема производства нового растительного сбора "Ревмаверт", который содержит гарпагофитума растопыренного корня (*Harpagophyti radix*), софоры японской бутоны (*Sophorae japonicae flos immaturus*), фасоли обыкновенной створки плодов (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*), спорыша трава (*Polygoni avicularis herba*) (50:20:20:10), который защищен патентом Украины на полезную модель № 129448 "Растительный сбор с анальгетической и противовоспалительной активностью". В соответствии с требованиями ГФУ, определены параметры стандартизации и показатели качества сбора.

Проведены исследования сырья софоры бутонов, софоры цветков и гарпагофитуму растопыренного корней в соответствии с требованиями монографии ЕФ "Sophora Flower - buds", "Sophora Flower", "Devil's claw Root" по апробации методик контроля качества монографий ГФУ 2.1 "Софоры бутоны", "Софоры цветки" и ГФУ 2.0 "Гарпагофитума растопыренного корня" соответственно.

Проведено исследование сырья софоры японской плоды и фасоли обыкновенной створки плодов по разработке проектов национальных монографий



ГФУ "Софоры плоды" и "Фасоли обыкновенной створки плодов". Исследовано качество сырья софоры японской плоды по таким показателям как идентификация, которая включает макро- и микроскопические диагностические признаки, тонкослойную хроматографию (определение рутина и гиперозида); показатели качества (потеря в массе при высушивании, общая зола, посторонние примеси); количественное определение (содержимое флавоноидов в пересчете на рутин). Разработан проект национальной монографии ГФУ "Фасоли обыкновенной створки плодов" по таким показателям: макроскопия, микроскопия, идентификация методом ТШХ (аргинин, глутаминовая кислота), посторонние примеси (почерневшие по обеим сторонам створки плодов не больше 8,0 %, другие части растения не больше 3,0 %), потеря в массе при высушивании (не больше 15,0 %), общая зола (не больше 10,0 %), содержание экстрактивных веществ (не меньше 15,0 %), количественное определение (содержание аминокислот в пересчете на аргинин не меньше 0,03 %). Разработанный способ идентификации аргинина и глутаминовой кислоты методом ТСХ получил приоритетную заявку № и 2018 01136 "Способ хроматографического определения аргинина и глутаминовой кислоты в фасоли обыкновенной створках плодов" на получение патента Украины на полезную модель. На основе полученных данных разработан информационный лист о нововведении в системе здравоохранения № 22-2018 "Количественное определение суммы аминокислот в сырье фасоли обыкновенной створках плодов методом спектрофотометрии".

Впервые в гарпагофитуме растопыренном корнях определено содержание 12 макро- и микроэлементов; 16 аминокислот, содержание которых после полного гидролиза увеличилось в 6,5 раз, что свидетельствовало, а присутствии аминокислот преимущественно в связанном виде в сырье; 19 карбоновых кислот, производные алканов и алкенов. Доминантными были пропионовая, стеариновая и пальмитиновая кислоты (2,08 мг/г, 1,17 мг/г и 0,89 мг/г соответственно); установлено наличие и определено количественное содержание 18 свободных и связанных моносахаридов, основными из которых были глюкоза - 64,12 мг/кг, галактоза - 77,98 мг/кг, рамноза - 4,38 мг/кг, арабиноза - 3,80 мг/кг, ксилоза - 2,33 мг/кг.

**Ключевые слова:** гарпагофитум растопыренный, софора японская, фасоль обыкновенная, корни, плоды, цветки, бутоны, створки плодов, экстракты, капсулы, сбор, вещества-маркеры, стандартизация, противовоспалительное, анальгетическое действие.

## ABSTRACT

**Kriukova A. Development and standardization of combined plant drugs for use in rheumatic diseases of the joints. - Qualifying scientific work as a manuscript.**

Thesis for a Ph.D. in Pharmaceutical Sciences by specialty 15.00.03 "Standardization and organization of the manufacture of drugs". - National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The dissertation is devoted to standardization of medicinal plant material *Sophora japonica* flowers, fruits and buds, common bean fruit's glumes, devil's claw roots; study of the chemical composition of these kinds of raw materials (definition of flavonoids, amino

acids, monosaccharides, fatty acids, macro- and microelements); obtaining and standardizing the dry extract of the devil's claw roots; the development and standardization of plant products and the study of their anti-inflammatory and analgesic activity.

As a result of conducted research on approbation of methods for quality control raw Sophora buds, Sophora flowers and devil's claw roots were developed monographs SPHU 2.1 "Sophora buds", "Sophora flowers" and SPHU 2.0 "Devil's claw root".

The project of the SPHU national monograph "Common bean fruit's glumes<sup>N</sup>" and "Sophora japonica buds<sup>N</sup>" was developed. The method of identification and quantitative determination of amino acids in raw common bean fruit's glumes was developed.

A dietary supplement of combined composition "Osteovert" containing the dry extract of the devil's claw roots, glucosamine sulfate and chondroitin sulfate, and the composition of the new herbal collection "Rheumavert", which is protected by the patent of Ukraine on the utility model No. 129448 "Plant collection with analgesic and anti-inflammatory activity" were developed. Dietary supplement "Osteovert" was introduced into industrial production in the conditions of TOV "Experimental factory" GNTSLS" by order of the TOV "Pharmaceutical firm "Vertex" (Kharkiv).

**Key words:** Devil's claw, Sophora japonica, common bean, roots, fruits, flowers, buds, fruit's glumes, extracts, capsules, herbal collection, substance markers, standardization, anti-inflammatory action, analgesic action

Підписано до друку 10.04.2019. Формат 60×84/16.  
Папір офсетний. Гарнітура Times New Roman. Друк цифровий.  
Ум. друк.арк.0,9. Наклад 100 пр. Зам. № б/н.  
Надруковано ФОП Пісня О.В., м. Харків, вул. Гіршмана 16-а  
Свідоцтво про державну реєстрацію В02 № 248750 від 13.09.2007 р.