

В І Д Г У К

**офіційного опонента на дисертаційну роботу Гамулі Ольги Володимирівни
”Фармакогностичне дослідження сировини огірка посівного”, поданої до спеціалізованої
Вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття
наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 –
фармацевтична хімія та фармакогнозія**

Актуальність теми дисертації та її зв’язок з державними чи галузевими науковими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки.

Одним із важливих і пріоритетних завдань сучасної фармацевтичної науки є пошук нових видів лікарських рослин, особливо із достатньою сировинною базою, для створення на їх основі ефективних лікарських засобів. Перспективним напрямком у цьому плані є фармакогностичне вивчення культивованих, зокрема сільськогосподарських видів рослин.

Дисертаційна робота Гамулі О.В. присвячена дослідженню огірка посівного, який широко вирощується на території України як великотоннажна сільськогосподарська культура (у 2014 році зареєстровано більше 150 сортів і гібридів цієї рослини), що дає можливість забезпечення достатньої сировинної бази. В Інституті овочівництва та баштанництва УААН створено новий сорт ”Джерело”, який на сьогодні являється широко районованим та одним з найпоширеніших.

Вибір об’єкту дослідження (сировинні органи огірка посівного сорту ”Джерело”) є актуальним з огляду на доступну сировинну базу, актуальні аспекти їх використання у народній медицині, а також відсутність лікарських засобів на фармацевтичному ринку.

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України (протокол № 73 від 12.12.2011 р.) і є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (номер державної реєстрації 0103U000476) (2013 р.) та «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946) (2014 – 2016 рр.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Мета дисертаційної роботи достатньо обґрунтована і базується на наявних теоретичних і практичних проблемах, що мають місце в фармацевтичній науці. Мета чітко сформульована, а поставлені в роботі задачі витікають із мети і слугують інструментом для її досягнення. Дослідження, виконані дисертантом, у методичному плані відповідають достатньому науково-теоретичному рівневі, глибокі за

опрацюванням і забезпечують базу для розробки нових підходів щодо їх практичного використання.

Робота загалом виглядає цілісним і завершеним на даному етапі науково-теоретичним дослідженням, має чіткий практичний вихід, слугує підґрунтям для створення нормативно-технічної документації і методів контролю якості (МКЯ) досліджуваної лікарської рослинної сировини (ЛРС). Обсяг виконаних теоретичних обґрунтувань і експериментальних досліджень цілком достатній для формулювання наукових положень і висновків по роботі.

Всі дослідження проведені на достатній кількості експериментального матеріалу, адекватні поставленим цілям і задачам із застосуванням високоточного наукового обладнання. Вірогідність отриманих результатів математично обґрунтована, обрахована і підтверджена методами комп'ютерної статистики із застосуванням сучасного програмного забезпечення. Висновки базуються на конкретних даних і логічно витікають з одержаних результатів досліджень.

Дисертація Гамулі О.В. є самостійною і закінченою науково-дослідницькою роботою. Поставлена в роботі мета автором досягнута, її задачі реалізовані.

Новизна дисертаційних досліджень. Наукова новизна і наукова значимість дисертаційної роботи полягає у тому, що автором вперше проведено системне фармакогностичне вивчення листя, стебел, квіток, насіння огірка посівного, внаслідок чого у сировинних органах рослини визначено вміст суми окиснюваних фенолів, фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та дубильних речовин. З використанням методів атомно-емісійної спектроскопії, ГХ, ВЕРХ вперше проведено вивчення якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікро-елементів, сполук, що переганялися з водяною парою, органічних кислот, жирних кислот, амінокислот, фенольних сполук в сировинних органах огірка посівного. Зокрема, автором встановлено наявність та кількісний вміст 18 органічних моно-, ди-, трикарбонівих, ароматичних кислот, 20 жирних кислот, 23 амінокислот, з яких 9 є незамінними, визначено наявність 19 макро- та мікроелементів. Також встановлено компонентний склад сполук, що переганялися з водяною парою, у жіночих та чоловічих квітках рослини виявлено 24 сполуки та 30 сполук відповідно, у зав'язі жіночих квітів - 31 сполука, домінуючою з яких виявився сквален.

З використанням методу ВЕРХ у листках і стеблах рослини вивчено склад основних фенольних речовин (наявність та кількісний вміст розмаринової кислоти, флавонових агліконів лютеоліну та апігеніну).

Автором дисертаційної роботи вперше для листя огірка посівного як нового виду ЛРС встановлено основні технологічні параметри сировини, параметри технологічного процесу (оптимальний екстрагент, часовий термін, режим екстрагування), внаслідок чого вперше

розроблено технологію одержання настойки з листя рослини та визначено основні параметри контролю її якості.

Гамулею О.В. також вперше визначено антимікробну активність полісахаридного комплексу та настойки листя огірка посівного. Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 94509 «Антимікробний лікарський засіб на рослинній основі»

Теоретичне значення результатів дослідження. Робота має теоретичне значення у області фармакогнозії та фармацевтичної хімії. Автором вперше проведено теоретичне узагальнення та вирішення наукової задачі, що виявилась у системному фармакогностичному дослідженні сировинних органів огірка посівного (сорт "Джерело"), розробці біологічно активних субстанцій на їх основі, стандартизації сировини та отриманого лікарського засобу.

В ході проведених досліджень автором були запропоновані параметри стандартизації листя огірка посівного як нового виду ЛРС та настоянки на його основі, які можуть бути використані при вхідному контролі в умовах промислового виробництва, а також проведено нормування числових показників доброякості і кількісне визначення діючих речовин (фенолкарбонових кислот і флавоноїдів).

Результати фармакологічних досліджень автора дозволили обґрунтувати можливості практичного використання настойки листя огірка посівного у якості протимікробного засобу.

Практичне значення отриманих результатів. Автором дисертаційної роботи опрацьовані основні критерії стандартизації та підготовлені проекти МКЯ «Огірка листя» та «Огірка настойка». Технологія отримання настойки з листя огірка посівного пройшла апробацію у виробничих умовах ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», що може стати підставою для впровадження одержаної лікарської субстанції у промислове виробництво.

Результати дисертаційних досліджень Гамулі О.В. впроваджені в наукову роботу та навчальний процес профільних кафедр ряду вищих навчальних закладів медичного (фармацевтичного) профілю III-IV рівня акредитації МОЗ України.

Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. Результати дисертації в повній мірі викладені у наукових фахових виданнях. Автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом, відповідає основним положенням роботи. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 17 наукових праць, у т.ч. 6 статей у фахових виданнях України та інших держав, 1 патент України на корисну модель, 10 тез доповідей. Основні положення дисертації доповідалися на науково-практичних форумах і конференціях (всього 10). Зазначені наукові публікації і тези доповідей повністю відповідають змісту дисертації і її автореферату.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому.

Результати досліджень, одержані автором, викликають професійну довіру, оскільки тема дисертаційної роботи актуальна, отримані дані важливі з теоретичного і практичного погляду.

Дисертаційна робота Гамулі О.В. написана у традиційній формі і викладена на 167 сторінках друкованого тексту, складається із вступу, огляду літератури, трьох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, додатків, списку використаних літературних джерел. Роботу ілюстровано 27 таблицями, 52 рисунками, бібліографія становить 167 джерел наукової літератури, з яких 94 кирилицею та 83 латиницею.

Вступ дисертаційної роботи включає дані щодо актуальності, мети роботи, наукової новизни і практичної значимості, особистого внеску здобувача, апробації результатів досліджень, її структури та обсягу. Мета досліджень автором сформульована чітко і має достатнє теоретичне обґрунтування.

Огляд літератури (перший розділ) присвячено основним аспектам ботанічної характеристики, особливостям поширення і культивування, хімічного складу та аспектам застосування в медицині та інших галузях представників роду Огірок, переважно виду огірок посівний. Проведений аналіз літературних даних показав, що хімічний склад сировинних органів цього виду вивчено недостатньо, на вітчизняному ринку лікарські засоби на їх основі відсутні. Це створило передумови для більш поглибленого фармакогностичного вивчення сировинних органів огірка посівного та визначення перспективи створення вітчизняних лікувально-профілактичних і лікувальних засобів на основі цього виду сировини.

У другому розділі автор дає коротку характеристику об'єктів та методів дослідження. У роботі було використано традиційні та нові сучасні фізичні, фізико-хімічні та хімічні методи аналізу, а достовірність отриманих результатів підтверджено статистично.

Третій розділ присвячений вивченню якісного складу та кількісного вмісту основних груп БАР в сировинних органах огірка посівного.

В листках, стеблах, квітах та насінні рослини автором встановлено якісний склад органічних кислот, в тому числі жирних, а також кількісний вміст компонентів кожної групи, виявлено домінуючі речовини: лимонна кислота, найбільший вміст якої спостерігається в стеблах, і яблучна кислота з найвищим вмістом в квітках огірка, а також визначено в квітах рослини досить високий вміст саліцилової кислоти, порівняно з листям і стеблами. Домінуючими компонентами з органічних кислот в насінні є азелаїнова та яблучна кислоти, з жирних кислот переважають ліноленова і пальмітинова.

Гамулею О.В. встановлено якісний склад і кількісний вміст вільних і зв'язаних амінокислот у листках, стеблах та насінні огірка посівного. Виявлено, що в насінні якісний склад вільних амінокислот представлений 20, а зв'язаних – 19 сполуками. З 20 ідентифікованих амінокислот 9 є незамінними. У кількісному відношенні в усіх видах сировини, що вивчалися, переважали

аспарагінова і глутамінова кислоти, в стеблах – також серин, в листках – лейцин, в насінні – аргінін.

У цьому ж розділі наведені результати вивчення фенольних сполук листя та стебел огірка посівного (метод ВЕРХ з УФ-детектуванням). В листках огірка посівного ідентифіковано та кількісно визначено розмаринову кислоту та флавонові аглікони лютеолін і апігенін, в стеблах рослини-розмаринову, кофейну і ферулову кислоти та епігенін.

В результаті дослідження летких сполук жіночих і чоловічих квіток огірка посівного автором виявлено 45 речовин, що переганяються з водяною парою, серед яких 14 сполук виявились загальними для усіх видів сировини. У зав'язях жіночих квіток – ідентифіковано 31 сполуку, у віночках жіночих квіток - 24 сполуки цієї групи. Компонентний склад сполук, що переганяються з водяною парою, віночків чоловічих квіток представлено 28 речовинами, зокрема значний вміст у віночках та зав'язі жіночих квіток та в віночках чоловічих квіток визначено для сквалену .

У цьому ж розділі наведені результати вивчення складу сполук мінеральної природи в сировинних органах огірка посівного (метод атомно-емісійної спектроскопії). Відмічено високий вміст калію, кальцію, магнію та силіцію в усіх видах сировини рослини.

В завершальній частині цього розділу автор наводить результати кількісного визначення основних груп БАР в листках, стеблах та квітах огірка посівного: суми фенольних сполук (в перерахунку на галову кислоту), гідроксикоричних кислот (у перерахунку на хлорогенову кислоту), флавоноїдів (у перерахунку на цинарозид), окиснюваних фенолів (метод перманганатометрії) і дубильних речовин (комплексометричний метод). У листках рослини, крім цього, встановлено вміст аскорбінової кислоти та суми органічних кислот (у перерахунку на яблучну кислоту).

У четвертому розділі дисертаційної роботи Гамуля О.В. наводить результати вивчення морфологічних та анатомічних особливостей будови сировинних органів (листя, стебла, квіти, насіння) огірка посівного, а також визначення характерних діагностичних макро- та мікроскопічних ознак, які були використанні при розробці критеріїв діагностики листя огірка посівного як нового виду ЛРС- проект МКЯ "Огірка листя".

У п'ятому розділі дисертаційної роботи наведені результати визначення технологічних параметрів сировинних органів огірка посівного (листя), основних етапів технологічного процесу одержання лікарського засобу на його основі (настоянка), визначення деяких аспектів їх фармакологічної активності.

Автором визначено технологічні параметри листя огірка посівного як нового виду ЛРС: втрата в масі при висушуванні, середній розмір часток, питома, об'ємна, насипна маси, а також пористість сировини, порозність та вільний об'єм шару, питома поверхня часток, плинність, кут

природного ухилу і коефіцієнти поглинання екстрагентів.

В плані розробки технології отримання настоянки з листя огірка посівного нею визначено динаміку вилучення екстрактивних речовин, суми окиснюваних фенолів та флавоноїдів з використанням екстрагентів різної природи, встановлено оптимальний температурний та часовий режим екстракції сировини, визначено оптимальне співвідношення сировинна-готовий продукт для листя огірка посівного.

На основі отриманих експериментальних даних було розроблено технологію одержання настоянки з листя огірка посівного, яку апробовано у виробничих умовах ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка».

В плані визначення напрямків використання отриманих біологічно активних субстанцій листя огірка посівного автором дисертаційної роботи проведено дослідження антимікробної активності їх відносно 6 еталонних культур мікроорганізмів. З використанням методу серійних розведень у рідких поживних середовищах встановлено, що настоянка листа огірка виявляє антибактеріальну активність щодо грамнегативної бактерії синьогнійної палички (*Ps. aeruginosa*) і має антагоністичну активність до дріжджеподібних грибів роду *Candida* (*C. albicans*), а полісахаридний комплекс листя рослини проявив антибактеріальну активність відносно *B. cereus*.

У цьому ж розділі наведені результати досліджень щодо визначення основних методик і критеріїв ідентифікації листя та настоянки огірка посівного і кількісного визначення в них діючих речовин. Результати цього вивчення лягли в основу розроблених автором проектів МКЯ "Огірка листя" та "Огірка настоянка".

Однак, поряд з позитивними характеристиками при рецензуванні дисертаційної роботи виникли деякі зауваження і пропозиції:

1. У розділі 2 дисертаційної роботи детально описані загальноприйняті (у тому числі фармакопейні) методики аналізу сировинних органів лікарських рослин та біологічно активних субстанцій. На нашу думку щодо деяких із них, можливо було б обмежитись посиланнями на відповідні статті Державної фармакопеї України або інші літературні джерела.
2. У підрозділі 3.2.1 наведені результати вивчення макро- і мікроелементного складу сировинних органів огірка посівного, але відсутні дані щодо елементного складу ґрунтів місцевостей, де проводилась заготівля зазначених зразків ЛРС. Тому важко зробити висновок щодо можливого концентрування окремих елементів у досліджуваних видах сировини.
3. У розділі 3 наведені результати детального аналізу складу органічних, жирних кислот та амінокислот досліджуваних сировинних органів огірка посівного, але не обґрунтовується їх можливий вплив на фармакологічну активність отриманих субстанцій і напрямки їх медичного використання.

4. Не обґрунтовано, чому для кількісного визначення в листках огірка посівного суми флавоноїдів використовується методика у перерахунку на цинарозид., а суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту.

Однак, вказані недоліки є несуттєвими і не впливають на загальну цілком позитивну оцінку дисертації, не зменшують її наукового та практичного значення.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Результати теоретичних та експериментальних досліджень свідчать про можливість розробки нових лікарських засобів антимікробної дії на основі біологічних активних субстанцій нового виду ЛРС "Огірка посівного листа". Встановлені характерні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки сировинних органів цієї рослини можуть бути використані при їх ідентифікації, а також розробці відповідної нормативно-технічної документації.

Висновок про відповідність дисертації вимогам «Порядку присудження наукових ступенів». На основі вищевикладеного можна зробити висновок, що дисертаційна робота Гамулі Ольги Володимирівни на тему «Фармакогностичне дослідження сировини огірка посівного» є завершеною науковою працею і за об'ємом виконаних досліджень, одержаними результатами, їх теоретичним та практичним значенням відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р., а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02- фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, канд.фарм.наук



доц. Р.Є.Дармограй

Підпис доц. Р.Є. Дармограя засвідчую: Вчений секретар Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, доктор мед. наук



проф. О.Б. Надрага