

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента на дисертаційну роботу Криворучко Олени Вікторівни на тему: «Фармакогностичне дослідження представників родин розові та деренові як джерел одержання лікарських засобів», представлену на офіційний захист до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук зі спеціальності 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.**

### **Актуальність теми дисертації.**

Дослідження нових перспективних лікарських рослин з достатньо забезпеченою сировинною базою і створення на їх основі нових ефективних лікарських є актуальним завданням сучасної фармації. Особливої уваги заслуговують рослини родів, які містять високо активні сполуки та довготривале застосовуються в медицині: Горобина (*Sorbus*), Аронія (*Aronia*), Черемха (*Padus*), Шипшина (*Rosa*) з родини Розові (*Rosaceae*) та роду Дерен (*Cornus*) з родини Деренові (*Cornaceae*). Комплексне фармакогностичне дослідження цих рослин не проводилось, що вказує на необхідність їх поглибленого вивчення. Чинна нормативна документація на плоди горобини звичайної, шипшини, аронії чорноплідної (свіжі) і черемхи звичайної потребує перегляду з урахуванням вимог ДФУ і Європейської фармакопеї (ЄФ). У зв'язку з вищезазначеним, фітохімічне, морфолого-анатомічне та фармакологічне дослідження видів родин Розові та Деренові, розробка відповідної МКЯ на перспективну сировину й одержані з неї лікарські засоби є актуальним, доцільним та обґрунтованим.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом Проблемної комісії “Фармація” МОЗ та АМН України і є фрагментом НДР

Національного фармацевтичного університету “Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження” (№ державної реєстрації 0103U000476), “Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на їх основі” (№ державної реєстрації 0114U000946).

### **Наукова новизна одержаних результатів.**

Вперше проведено комплексне фітохімічне дослідження 28 видів родів Горобина, Аронія, Черемха, Шипшина та Дерен. Сучасними методами фізико-хімічного аналізу ідентифіковано понад 180 сполук: 18 флавоноїдів, 3 фенолкарбонові кислоти, 50 терпеноїдів, 3 стероїдні сполуки, 27 органічних кислот, 32 жирні кислоти, 19 амінокислот, 24 ароматичні сполуки, 8 гетероциклічних і аліциклічних сполук, а також неорганічні елементи, алкани, алкени та їх похідні.

Вперше в листі горобини глоговини ідентифіковано апігенін-7-О-софорозид, у листі горобини грецької – хлорогенову кислоту, рутин і 4'-метоксикверцетин-3-О-софорозид, у листі горобини бузинолистої – хлорогенову кислоту, в листі горобини сибірської – хлорогенову кислоту, рутин і астрагалін, у листі горобини домашньої – хлорогенову кислоту, рутин, ізокверцетин і кверцетин; у листі черемхи віргінської – рутин і кверцетин-3-О-рамнозид, у листі черемхи Маака – кемпферол-3-О-софорозид та ізокверцетин, у листі черемхи азійської – хлорогенову кислоту і рутин.

В ліпофільних екстрактах з листя 6 видів родів Горобина, Черемха і Дерен визначено вміст хлорофілів, каротиноїдів, жирних кислот і летких речовин. Виявлено та ідентифіковано понад 43 сполуки, з яких 17 терпеноїдів, 11 ароматичних сполук, 1 стероїд, 1 гетероциклічна сполука, 11 жирних кислот, 2 похідні карбонових кислот, а також алкани, алкени та їх похідні.

Вперше проведено порівняльне дослідження анатомічної будови листя

6 видів горобини, 5 видів черемхи, 2 видів дерену. Встановлено їх загальні та відмінні анатомо-діагностичні ознаки.

Вперше проведено одержання сухих екстрактів листя дерену справжнього «Корнуфен» і «Корнуфіт». У сухому екстракті «Корнуфіт» ідентифіковано та визначено вміст 30 сполук, із яких 7 органічних, 5 ароматичних і 13 жирних кислот, 3 терпеноїда, 1 гетероциклічний альдегід, 1 похідне карбонової кислоти, а також 19 неорганічних елементів. Визначено гостру токсичність, гіпоглікемічну і гепатопротекторну активності дерену справжнього листя екстрактів сухих «Корнуфен» і «Корнуфіт».

Розроблено технологію одержання екстракту листя горобини звичайної. В ньому ідентифіковано та визначено вміст 37 сполук, із них 4 гідроксикоричні кислоти, 8 флавонолів, 7 органічних, 10 ароматичних і 8 жирних кислот, а також 19 неорганічних елементів. Визначено його гостру токсичність, антиексудативну, антиальтеративну, протизапальну, антиоксидантну активності.

Розроблені проекти МКЯ на листя горобини звичайної і дерену справжнього та отримані з них субстанції; проекти монографій ДФУ на плоди аронії чорноплідної висушені і свіжі, шипшини плоди і шипшини плоди із видаленими плодиками-горішками.

Одержано густі водні екстракти з плодів аронії чорноплідної, горобини звичайної та черемхи звичайної, з листя дерену справжнього листя та черемхи звичайної, густі спиртові (50 %) екстракти з листя дерену справжнього і горобини звичайної, хлороформний екстракт листя дерену справжнього, настойки з листя дерену справжнього листя (40% і 70 %), досліджено їх біологічну активність.

Новизну дисертаційних досліджень підтверджено патентами України на винахід (№ 98175, Бюл. № 8 від 25.04.2012, № 106894 Бюл. № 20 від 27.10.2014), патентами України на корисну модель (№ 61596 Бюл. № 14 від 25.07.2011, № 89735 Бюл. № 8 від 25.04.2014).

### **Практичне значення одержаних результатів.**

Розроблено та запропоновано проекти національних монографій ДФУ «Аронії чорноплідної плоди висушені<sup>N</sup>», «Аронії чорноплідної плоди свіжі<sup>N</sup>» і «Шипшина<sup>N</sup>», рекомендовані ДП «Українським науковим фармакопейним центром якості лікарських засобів» до внесення в ДФУ 2.0 (акти впровадження № 11/848-4, № 11/850-4, № 11/852-4 від 02. 06. 2015 р.), гармонізовано з ЄФ монографію «Шипшина», яку внесено в ДФУ 2.0 (акт впровадження № 11/856-4 від 02. 06. 2015 р.).

Розроблено проекти МКЯ «Горобини звичайної листя», «Горобини звичайної листя екстракт густий», «Дерену справжнього листя», «Дерену справжнього листя екстракт сухий «Корнуфіт»» і «Дерену справжнього листя екстракт сухий «Корнуфен»».

Розроблено та впроваджено інформаційний лист № 81 «Інноваційні перспективи застосування густого екстракту листя горобини звичайної в якості протизапального засобу».

Одержано 13 перспективних для подальшого впровадження субстанцій з вираженою фармакологічною активністю для потенційного розширення арсеналу існуючих лікарських засобів.

Результати наукових досліджень упроваджено в науково-навчальний процес низькі профільних кафедр медичних університетів IV рівня акредитації.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, що сформульовані у дисертаційній роботі та їх достовірність.**

Дисертаційна робота виконана на достатньому експериментальному матеріалі з застосуванням сучасних: морфолого-анатомічних, фізико-хімічних методів (ПХ, ТШХ, РХ, УФ-, ІЧ-спектрометрії, ВЕРХ, ГРХ-МС, АЕС), хімічних, фармакологічних, статистичних методів досліджень.

На захист виносяться наукові положення, що узагальнюють результати проведених експериментальних досліджень автора за темою

дисертаційної роботи. Одержані результати не викликають сумнівів. Автореферат повністю відображає основні положення дисертації.

### **Особистий внесок здобувача у дослідження.**

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Здобувачем проаналізовані та узагальнені літературні джерела, визначені мета дослідження та шляхи її реалізації, виконана експериментальна частина, статистично оброблені та узагальнені одержані результати.

Здобувачем самостійно:

– проведено анатомічне вивчення листя перспективних видів родів Горобина, Черемха та Дерен; встановлено діагностичні морфолого-анатомічні ознаки плодів аронії чорноплідної, шипшини, листя горобини звичайної і дерену справжнього;

– у сировині 28 видів родів Горобина, Аронія, Черемха, Шипшина та Дерен сучасними фізико-хімічними методами ідентифіковано понад 180 сполук, неорганічні елементи, алкани, алкени та їх похідні; встановлено вміст основних БАР;

– розроблено основні технологічні параметри одержання субстанцій, проведено їх стандартизацію;

– визначено основні показники якості сировини та одержаних субстанцій;

– проаналізовано і систематизовано результати фармакологічних досліджень;

– розроблено проекти МКЯ «Горобини звичайної листя», «Горобини звичайної листя екстракт густий», «Дерену справжнього листя», «Дерену справжнього листя екстракт сухий «Корнуфіт»» і «Дерену справжнього листя екстракт сухий «Корнуфен»»;

– досліджено показники якості 7 серій плодів аронії чорноплідної (висушених і свіжих), шипшини плодів і шипшини плодів із видаленими плодиками-горішками, розроблено проекти національних монографій ДФУ

«Аронії чорноплідної плоди висушені<sup>N</sup>», «Аронії чорноплідної плоди свіжі<sup>N</sup>» і «Шипшина<sup>N</sup>», гармонізовано з ЄФ монографію «Шипшина».

Спільно з науковим консультантом проведено вибір теми дисертаційної роботи, планування експериментів, публікація наукових робіт та узагальнення одержаних результатів.

**Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробації.** За матеріалами дисертації опубліковано 38 статей, із них 27 у фахових виданнях України, 8 статей в зарубіжних наукометричних фахових виданнях, 2 статті в іноземній збірці наукових праць, 22 тези доповідей. Отримано 2 патенти України на винахід, 2 патенти України на корисну модель. Видано 1 інформаційний лист. Матеріали досліджень доповідались на 16 конференціях, із котрих 4 закордонні.

**Загальна оцінка дисертації, автореферату, їх структури, мови та стилю викладання.** Зміст та структура дисертації і автореферату відповідають вимогам, що висуваються до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня доктора наук згідно з «Порядком присудження наукових ступенів», що затверджений Кабінетом Міністрів України (постанова № 567 від 24.07.2013 р.).

Представлена до захисту дисертаційна робота виконана на сучасному рівні і сучасному обладнанні. Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним результатам досліджень.

Результати наукових досліджень, за якими здобувач захищала кандидатську дисертацію, не винесені на захист докторської дисертації.

Дисертаційна робота написана грамотно, легко читається, оформлена акуратно.

Дисертаційна робота викладена на 350 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 241 сторінку друкованого тексту. Список використаних джерел

містить 357 найменувань, із них 195 кирилицею та 162 латиною. Здобувач підтверджує результати експериментальних досліджень 60 таблицями і 88 рисунком.

**Перший розділ** присвячено огляду наукових джерел стосовно розповсюдження, ботанічної характеристики, хімічного складу, медичного та народногосподарського застосування видів родів Горобина, Аронія, Черемха, Шипшина родини Розові та Дерен родини Деренові. Обґрунтовано доцільність подальше фармакогностичного дослідження найбільш перспективних видів.

**Другий розділ** надає відомості про об'єкти дослідження, прилади, матеріали, методи та реактиви, які використовувались в дисертаційній роботі. Приведено результати комплексного фітохімічного вивчення 28 видів родів Горобина, Аронія, Черемха, Шипшина і Дерен, визначено перспективні сировинні джерела для одержання лікарських засобів. За допомогою сучасних фізико-хімічних методів (ПХ, ТШХ, АЕС, ГРХ, ГХ-МС, ВЕРХ) встановлено присутність понад 180 біологічно активних сполук.

Вперше в листі горобини глоговини ідентифіковано апігенін-7-О-софорозид, у листі горобини грецької – хлорогенову кислоту, рутин і 4'-метоксикверцетин-3-О-софорозид, у листі горобини бузинолистої – хлорогенову кислоту, в листі горобини сибірської – хлорогенову кислоту, рутин і астрагалін, у листі горобини домашньої – хлорогенову кислоту, рутин, кверцетин-3-О-глюкозид і кверцетин; у листі черемхи віргінської – рутин і кверцетин-3-О-рамнозид, у листі черемхи Маака – кверцетин-3-О-глюкозид і кемпферол-3-О-софорозид, у листі черемхи азіатської – хлорогенову кислоту і рутин.

Одержано ліпофільні екстракти з листя 6 видів родів Горобина, Черемха і Дерен. Визначено вміст хлорофілів, каротиноїдів, жирних кислот і летких сполук. Методами ГРХ і ГХ-МС у досліджуваних екстрактах виявлено та ідентифіковано понад 40 сполук: 17 терпеноїдів, 11

ароматичних сполук, 1 стероїд, 1 гетероциклічна сполука, 11 жирних кислот, 2 похідні карбонових кислот, а також алкани, алкени та їх похідні.

**Третій розділ** містить порівняльне дослідження анатомічної будови листя 6 видів горобини, 5 видів черемхи та 2 видів дерену. Встановлено загальні та відмінні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки досліджуваної сировини.

У **четвертому розділі** наведено результати розробки нормативної документації на досліджувану рослинну сировину. У результаті досліджень висушених плодів аронії чорноплідної, свіжих плодів аронії чорноплідної і плодів шипшиши розроблено проекти національних монографій ДФУ «Аронії чорноплідної плоди висушені<sup>N</sup>», «Аронії чорноплідної плоди свіжі<sup>N</sup>» і «Шипшина<sup>N</sup>», які рекомендовано ДП «Українським науковим фармакопейним центром якості лікарських засобів» до внесення в ДФУ 2.0 (акти впровадження № 11/848-4, № 11/850-4, № 11/852-4 від 02. 06. 2015 р. відповідно). У результаті гармонізації національних вимог ДФУ з вимогами ЄФ підготовлена і введена до ДФУ 2.0 монографія «Шипшина» (акт впровадження № 11/856-4 від 02. 06. 2015 р.).

Запропоновано МКЯ «Горобини звичайної листя» і «Дерену справжнього листя».

**П'ятий розділ** присвячено одержанню з досліджуваної сировини субстанцій різної фармакологічної активності, їх фітохімічному вивченню та стандартизації. У розділі наведено розробку технології одержання горобини звичайної листя екстракту густого, його фітохімічне та фармакологічне вивчення. У горобини звичайної листя екстракті густому ідентифіковано та визначено вміст 37 сполук: 4 гідроксикоричних кислот, 8 флавонолів, 7 органічних, 10 ароматичних і 8 жирних кислот, а також 19 неорганічних елементів. У густому екстракті визначено вміст гідроксикоричних кислот і флавоноїдів. Визначено антиексудативну, антиальтеративну, протизапальну, антиоксидантну активності та гостру токсичність густого екстракту з листя горобини звичайної.



Розроблено технологію одержання сухих екстрактів з листя дерену справжнього «Корнуфен» і «Корнуфіт», проведено їх фітохімічне та фармакологічне вивчення. У сухому екстракті «Корнуфіт» ідентифіковано та визначено вміст 30 сполук: 7 органічних, 5 ароматичних і 13 жирних кислот, 3 терпеноїдів, 1 гетероциклічного альдегіду, 1 похідного карбонової кислоти, а також 19 неорганічних елементів. Визначено вміст флавоноїдів у сухих екстрактах «Корнуфен» і «Корнуфіт». Встановлено гіпоглікемічну і гепатопротекторну активності та гостру токсичність сухих екстрактів з листя дерену справжнього «Корнуфен» і «Корнуфіт».

Одержано густі екстракти з плодів аронії чорноплідної, горобини звичайної та черемхи звичайної, вивчено їх урикозуричну і діуретичну активність.

Одержано водні густі екстракти з листя дерену справжнього та черемхи звичайної, густі спиртові екстракти (50 %) з листя дерену справжнього і горобини звичайної, хлороформний екстракт з листя дерену справжнього, настойки (40 % і 70 %) з листя дерену справжнього. Досліджено їх антимікробну і протигрибкову активності.

За одержаними результатами запропоновано проекти МКЯ «Горобини звичайної листя екстракт густий», «Дерену справжнього листя екстракт сухий «Корнуфіт» і «Дерену справжнього листя екстракт сухий «Корнуфен».

Наукові положення, висновки та рекомендації, які наведені у дисертації Криворучко Олени Вікторівни базуються на достатньо використаному експериментальному матеріалі. Мета і завдання досліджень сформульовані після ретельного аналізу стану фармакогностичних та фітохімічних досліджень перспективних видів родів Горобина, Аронія, Черемха, Шипшина та Дерен.

Експериментальна частина виконана на високому науковому рівні з застосуванням сучасних фізико-хімічних, хімічних, мікроскопічних методів та статистичною обробкою отриманих результатів за вимогами

ДФУ.

Новизна і достовірність отриманих теоретичних та практичних висновків та їх об'єктивний аналіз не викликає ніяких сумнівів. Висновки і рекомендації є достовірними та повністю обґрунтованими. Представлений автореферат та основні положення дисертації повністю ідентичні.

**Рекомендації щодо використання результатів дисертації.** Результати дисертаційної роботи Криворучко О. В. можуть бути використані при стандартизації рослинної сировини родів Горобина, Аронія, Черемха, Шипшина і Дерен, створенні нових лікарських засобів різної фармакологічної дії на її основі; в навчальному процесі профільних кафедр вищих медичних і фармацевтичних закладів.

Поряд з позитивною характеристикою роботи, необхідно відмітити окремі зауваження та побажання:

1. Огляд літератури декілька перевантажений інформацією, тому таблиці, характеризуючи хімічний склад досліджуваних рослин з розділу 1 доцільно було би навести в додатках.

2. У розділі 2 іноді детально описані загальноприйняті методики аналізу рослинної сировини. Достатньо було би обмежитись в цих випадках посиланнями на відповідні статті ДФУ.

3. Назви розділів 2.2.4 та 5.1.1.1 краще було навести не як “Фенольні сполуки”, а “Флавоноїди та гідроксикоричні кислоти”, відповідно також рис. 2.6, 2.7, табл. 2.9., рис. 5.1.

4. Результати фармакологічних досліджень екстрактів, отриманих з рослинної сировини краще було би навести в окремому розділі.

5. Іноді в роботі зустрічаються незначні технічні помилки.

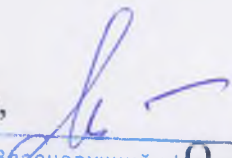
Але надані вище зауваження не носять принципового характеру, не зменшують наукову та практичну цінність дисертаційної роботи і не впливають на загальну високу позитивну оцінку виконаних досліджень та їх успішне впровадження.

**Відповідність дисертації вимогам пункту 10 положення «Порядку присудження наукових ступенів», що висуваються до докторських дисертацій.** Підсумовуючи вищенаведене вважаю, що дисертаційна робота «Фармакогностичне дослідження представників родин Розові та Деренові як джерел одержання лікарських засобів» на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за своєю актуальністю, новизною, науковим рівнем, обсягом і повнотою досліджень, достовірністю отриманих результатів, їх теоретичною та практичною значимістю відповідає вимогам пункту 10 положення «Порядку присудження наукових ступенів», що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук, а її автор Криворучко Олена Вікторівна заслуговує присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

**Офіційний опонент:**

завідувач кафедри фармакогнозії,  
фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО  
Запорізького державного медичного університету,  
доктор фармацевтичних наук, професор



  
Власноручний підпис **О. В. Мазулін**  
ПІДТВЕРДЖУЮ  
Нач. відділу кадрів Запорізького  
державного медичного університету  
\_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ р. Підпис 