

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Гончарова Олександра Володимировича «Фармакогностичне дослідження видів роду Глуха кропива», представлену 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. Фітопрепарати можуть забезпечувати тривалу та різнобічну фармакологічну дію на організм, завдяки органічному поєднанню різних біологічно активних речовин (БАР) в лікарській рослинній сировині (ЛРС). Зазвичай препарати з лікарської рослинної сировини малотоксичні при тривалому застосуванні, не мають побічної дії та характеризуються уповільненим розвитком резистентності мікроорганізмів до них. У зв'язку з цим актуальним є пошук перспективних лікарських рослин, що мають високий потенціал щодо біосинтезу БАР з відповідною активністю. До таких рослин належать види роду Глуха кропива (*Lamium L.*), які широко застосовують у народній медицині як заспокійливі, кровоспинні, діуретичні, відхаркувальні, антимікробні та протизапальні засоби. З наукових першоджерел відомо, що види роду Глуха кропива (г. к.) вміщують комплекс БАР, який представлений фенолкарбоновими та гідроксикоричними кислотами, флавоноїдами, іридоїдами, сапонінами, терпеноїдами, дубильними речовинами, азотовмісними сполуками та органічними кислотами. Широкий спектр БАР та використання видів роду Глуха кропива в народній медицині багатьох країн світу створюють передумови для їх комплексного фармакогностичного дослідження з метою розробки нових лікарських субстанцій, наділених антибактеріальною та седативною активністю.

Дисертаційна робота Гончарова Олександра Володимировича присвячена фармакогностичному дослідженню видів роду *Lamium L.* флори

України, широко розповсюджених лікарських рослин з достатньою сировинною базою. Дисертаційна робота є актуальною і спрямована на вирішення важливих завдань фармацевтичної науки щодо розширення номенклатури фітотерапевтичних засобів антибактеріальної та седативної дії.

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

Дисертаційна робота Гончарова Олександра Володимировича виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України (Протокол № 54 від 15.10.2008 р.); робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (номер державної реєстрації 0103U000476), «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації НДР: 0114U000946).

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертантом вперше проведено порівняльне фітохімічне дослідження 4 видів роду Глуха кропива (*Lamium* L.) – глуха кропива біла (*L. album* L.), глуха кропива пурпурова (*L. purpureum* L.), глуха кропива гола (*L. glaberrimum* (C. Koch.) Taliev), глуха кропива крапчаста (*L. maculatum* (L.) L.). Зокрема, досліджено якісний склад біологічно активних речовин надземної частини рослин (виявлено гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, таніди, органічні кислоти, іридоїди і тритерпенові сапоніни) та встановлено вміст основних груп БАР.

Отримані результати свідчать, що перспективними для дослідження є два види – глуха кропива біла і глуха кропива пурпурова. В траві досліджуваних видів встановлено кількісний вміст органічних та гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, окиснюваних фенолів.

Вперше ідентифіковано та визначено вміст 135 сполук в сировині і екстракті глухої кропиви білої та 85 сполук в сировині глухої кропиви пурпурової: серед них ароматичні альдегіди, спирти, кетони; ароматичні кислоти – фенолкарбонові та гідроксикоричні, амінокислоти, жирні кислоти,

флавоноїди, іридоїди, вуглеводні, хлорофіли, каротиноїди, азотовмісна сполука.

Вперше методом хромато-мас-спектрометрії в екстракті трави глухої кропиви білої виявлено та встановлено кількісний вміст 11 фенольних сполук: 8 гідроксикоричних кислот і 3 флавоноїдів.

Вперше методом хромато-мас-спектрометрії визначено компонентний склад ефірної олії квіток (віночків і чашечок), листя і стебел глухої кропиви білої і глухої кропиви пурпурової. Вперше у квітках, листі і стеблах глухої кропиви білої і глухої кропиви пурпурової визначено низькомолекулярні карбонові кислоти, жирнокислотний склад, ароматичні кислоти, амінокислоти та їх вміст.

Вперше розроблені технологічні схеми отримання сухого екстракту трави глухої кропиви білої “Ламісед”, який виявляє седативну дію, субстанцій “Ламі-Л”, “Ламі-Ф”, для яких встановлено антибактеріальну дію. Визначено, що екстракт “Ламісед” відноситься до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини.

Вперше у досліджуваному екстракті ідентифіковано та визначено вміст карбонових кислот – низькомолекулярних, ароматичних, жирних; вільних амінокислот та суми вільних і зв’язаних амінокислот; ідентифіковано та визначено вміст вільних та зв’язаних моноцукрів.

Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 105903 «Лікувально-профілактичний засіб із седативною дією (Опубл. 11.04.2016, бюл. № 7/2016; заяв. № u201509399 від 30.09.2015).

Практичне значення одержаних результатів. Дисертантом розроблено основні технологічні параметри одержання трьох субстанцій з сировини глухої кропиви білої, досліджено їх антибактеріальну та седативну активність.

Визначено основні анатомо-діагностичні ознаки глухої кропиви білої та інших досліджуваних видів як можливих домішок.

Розроблено проекти МКЯ “Глухої кропиви білої трава”, “Глухої кропиви білої екстракт сухий”.

Матеріали дисертаційних досліджень впроваджено в навчальний процес кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького, кафедри фармакогнозії з курсом ботаніки Запорізького державного медичного університету, кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць, у тому числі 7 статей, з яких – 4 статті у наукових фахових виданнях України, 3 статті у закордонних фахових виданнях, 1 патент України на корисну модель та 9 тез доповідей.

Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним результатам досліджень.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації, їх достовірність. Наукові положення та висновки, сформульовані в дисертаційній роботі є достатньо обґрунтованими і достовірними. Це забезпечується використанням сучасних методів аналізу хімічного складу об’єктів дослідження, математичним підтвердженням достовірності та коректності результатів, отриманих у дисертації, підтвердженням основних методів та рішень дисертаційної роботи патентом України на корисну модель та МКЯ, апробацією та впровадженням результатів дисертаційної роботи в практичну роботу і в навчальний процес ряду профільних кафедр ВНЗ України.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів експериментальних досліджень,

загальних висновків, списку використаної літератури та додатків.

Обсяг основного тексту складає 144 сторінки. Роботу ілюстровано 4 схемами, 32 таблицями, 60 рисунками. Бібліографія містить 174 літературних джерела, з них 71 кирилицею та 103 латиною.

У **вступі** (7 стор.) обґрунтовується актуальність обраної теми, формулюються мета та завдання досліджень, відзначаються наукова новизна та практична значимість отриманих результатів.

У **першому розділі** (24 стор., табл. – 3, рис. – 7) дисертант наводить критичний аналіз сучасного стану дослідження, розповсюдження, використання в науковій та народній медицині видів роду Глуха кропива. Автор свідчить, що види роду Глуха кропива здавна використовують в народній медицині, значною є сировинна база, що свідчить про перспективність фітохімічних та фармакологічних досліджень та створення на їх основі оригінальних лікарських засобів.

Другий розділ (31 стор., табл. – 3) присвячено характеристиці об'єктів і методів дослідження. Представлено методи виявлення та кількісного визначення біологічно активних речовин видів роду Глуха кропива, морфолого-анатомічного дослідження ЛРС, порівняльного дослідження якісного складу БАР глухої кропиви білої, глухої кропиви пурпурової, глухої кропиви крапчастої та глухої кропиви голої та їх фармакологічної активності.

У **третьому розділі** (44 стор., табл. – 17, рис. – 20) наведено результати визначення вмісту БАР глухої кропиви білої та глухої кропиви пурпурової – органічних кислот, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, окиснюваних фенолів, ефірної олії, карбонових кислот.

У траві глухої кропиви білої та глухої кропиви пурпурової встановлено кількісний вміст органічних кислот (у т. ч. аскорбінової кислоти), дубильних речовин, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів.

Визначено вміст гідроксикоричних кислот та флавоноїдів спектрофотометричними методами у траві глухої кропиви білої та глухої

кропиви пурпурової становить $3,28 \pm 0,02\%$ та $2,04 \pm 0,02\%$ відповідно та $1,62 \pm 0,01\%$ та $1,54 \pm 0,01\%$ відповідно.

Вміст окиснюваних фенолів, визначений спектрофотометричним методом, у траві глухої кропиви білої та траві глухої кропиви пурпурової становить $5,38 \pm 0,08\%$ та $4,96 \pm 0,18\%$ відповідно.

Вперше методом хромато-мас-спектрометрії було визначено компонентний склад ефірних олій та карбонових кислот квіток, листя і стебел глухої кропиви білої та глухої кропиви пурпурової.

Дисертантом встановлено, що для обох видів загальними сполуками терпеноїдної природи є: для віночків – геранілацетон, гермакрен D, гексагідрофарнезилацетон та сквален; для чашечок – геранілацетон, фітол, сквален; для листя – евгенол, геранілацетон, β -іонон-епоксид, гексагідрофарнезилацетон, сквален.

Ароматичні сполуки і терпеноїди у траві г. к. білої більш різноманітні, кількісний вміст терпеноїдів перевищує вміст у траві г. к. пурпурової: у віночках квіток – у 1,6; у чашечках – у 1,2; у листі – у 3,1 раз. Автор свідчить, що за вмістом терпеноїдів г. к. біла є більш перспективним видом.

У **четвертому розділі** (28 стор., табл. – 6, рис. – 7, схем – 3) наведено технологічні параметри отримання сухого екстракту трави глухої білої “Ламісед”; складена технологічна схема; за розробленими параметрами отримано сухий екстракт, в якому в результаті якісних хімічних реакцій і хроматографічного дослідження флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, іридоїди, тритерпенові сапоніни, органічні кислоти, амінокислоти, моносахариди. Методами паперової хроматографії і ВЕРХ досліджені амінокислотний і моносахаридний склад екстракту “Ламісед” до і після гідролізу; ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 20 амінокислот і 5 моносахаридів. Автор робить висновок, що виявлений амінокислотний склад (зокрема, високий вміст глютамінової та аспарагінової кислот) дозволяє прогнозувати для екстракту такі види фармакологічної дії, як седативну, антигіпоксичну, антитоксичну, гіпоамоніємічну та гепатопротекторну.

Методом хромато-мас-спектрометрії в екстракті виявлено 34 карбонові кислоти. Серед ідентифікованих низькомолекулярних аліфатичних кислот домінує яблучна. Вміст ненасичених кислот становить більше 55% загального змісту вищих жирних кислот, при цьому значно переважають поліненасичені кислоти (лінолева і ліноленова). Серед ароматичних кислот домінуючими є ферулова і *n*-кумарова. Методом ВЕРХ в екстракті “Ламісед” виявлено та встановлено вміст 11 фенольних сполук: 8 гідроксикоричних кислот і 3 флавоноїдів. Сумарний вміст фенольних сполук складає 1759,5 мг/100 г. Серед флавоноїдних сполук переважають глікозиди кверцетину, серед гідроксикоричних кислот – хлорогенова і похідні кофейної. Дисертант робить висновок, що виявлені гідроксикоричні кислоти проявляють антибактеріальну, протизапальну, антиоксидантну дію, крім того, розмаринова кислота відома як противірусний, ферулова – як антиаритмічний засіб.

Виходячи зі складу виявлених фенольних сполук, можна передбачати наявність седативної, антигіпоксичної та антиоксидантної активності екстракту “Ламісед” трави г. к. білої.

Методом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Сокслета одержано субстанцію “Ламі-Л”, вихід якого склав 2,56 %; зі шроту, що залишився після екстракції хлороформом, тим же методом з використанням суміші етилацетат – спирт (8:2) одержано субстанцію “Ламі-Ф” (вихід 4,34 %). Спектрофотометричним методом визначено вміст хлорофілів та каротиноїдів в субстанції “Ламі-Л”, який складає $0,62 \pm 0,01$ % і $0,03 \pm 0,01$ % відповідно. Спектрофотометричним методом в субстанції “Ламі-Ф” визначено вміст флавоноїдів, який складає $6,25 \pm 0,03$ %.

П’ятий розділ (34 стор., табл. – 3, рис. – 26, схема – 1) присвячено дослідженню біологічної активності екстрактів трави глухої кропиви білої, розробці проектів МКЯ на траву та екстракт «Ламісед». Досліджено антимікробні властивості субстанцій, отриманих з трави г. к. білої (“Ламісед”, “Ламі-Л” та “Ламі-Ф”). Сухий екстракт трави г. к. білої

“Ламісед” проявляє психоседативні властивості в дозі 100 мг/кг, а також тенденцію до антигіпоксичної дії та зниження тривожності в дозі 10 мг/кг.

В результаті анатомічного дослідження виявлено основні мікроскопічні ознаки г. к.білої та можливих домішок – г. к. крапчастої, г. к. голої, г. к. пурпурової. Розроблено проекти МКЯ «Глухої кропиви білої трава», «Глухої кропиви білої трави екстракт сухий».

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Здобувачем визначено мету, завдання, методики експериментальних досліджень. Дисертантом особисто проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз даних літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, використання видів роду Глуха кропива у народній та науковій медицині, різних галузях народного господарства.

Безпосередньо автором самостійно встановлено видову тотожність зразків видів роду Глуха кропива; проведено порівняльне фітохімічне дослідження 4 видів роду Глуха кропива флори України з метою встановлення перспективних об’єктів для комплексного фармакогностичного дослідження; проведено виявлення, ідентифікацію та визначення вмісту БАР у траві глухої кропиви білої і траві глухої кропиви пурпурової; розроблено основні технологічні параметри одержання ліпофільного та фенольного комплексів та сухого екстракту з трави глухої кропиви білої; досліджено якісний склад та вміст основних БАР в одержаних екстрактах; підібрано параметри одержання субстанцій та розроблено технологічні схеми; визначено фармакологічну активність та дослідити токсичність одержаних субстанцій; визначено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки видів роду Глуха кропива; розроблено проекти МКЯ на сировину та сухий екстракт глухої кропиви білої.

Результати експериментальних досліджень самостійно оброблені, проаналізовані та систематизовані, оформлені у вигляді таблиць, рисунків, діаграм, актів впровадження, проектів МКЯ, фотознімків.

Зауваження і пропозиції. Робота Гончарова О.В. відрізняється значним фактичним матеріалом, оригінальними сучасними підходами до

вирішення завдань, сучасними методами аналізу, наприклад, фітохімічні дослідження, визначення мікроскопічних ознак сировини тощо. Новизна, достовірність наукових теоретичних і практичних результатів не викликає сумнівів. Висновки автора базуються на достовірному фактичному матеріалі.

Проте, поряд з позитивною характеристикою дисертаційної роботи Гончарова О.В. треба висловити деякі зауваження та пропозиції:

Фармакологічна активність екстрактів глухої кропиви білої зумовлена різними класами сполук, серед яких флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, амінокислоти, іридоїди. Якими є особливості виділення останніх, яку фармакологічну дію можна прогнозувати для цього класу сполук?

В роботі представлено показники якості ЛРС (морфологічні, анатомічні, вміст діючих речовин, числові показники доброякості сировини), що дозволяє ідентифікувати рослинну сировину. При заготівлі культивованої або дикорослої сировини заготівельники використовують інструкцію по заготівлі і сушінню сировини. Які рекомендації щодо заготівлі сировини?

Чим Ви можете пояснити високий вихід екстракту, при використанні 70 % етанолу, які групи БАР будуть виділятися екстрагентами з різним вмістом етанолу?

Наукова новизна підтверджена патентом України на корисну модель. Якими, на вашу думку, є можливі лікарські форми з субстанцій, виділених з трави г. к. білої (“Ламісед”, “Ламі-Л” та “Ламі-Ф”) та їх медичне використання?

Деякі літературні джерела була опубліковані понад 10 років тому (2, 33, 35, 55).

Робота написана грамотно, легко читається, але іноді зустрічаються технічні помилки, невдалі або неточні вислови тощо.

Проте, виявлені недоліки не мають принципового характеру, не впливають на позитивне враження від дисертації і не знижують її наукової та практичної цінності.

Відповідність дисертації вимогам «Порядку присудження наукових ступенів». Дисертаційна робота Гончарова О. В. «Фармакогностичне дослідження видів роду Глуха кропива» є завершеною науковою працею і за актуальністю теми, обсягом виконаних досліджень, новизною отриманих результатів, ступенем обґрунтованості наукових положень і рекомендацій, результатами впровадження, повнотою викладення результатів у фахових виданнях, теоретичним і практичним значенням відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р., які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор, Гончаров О. В., заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри фармації ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»,

доктор фармацевтичних наук, професор

Грицик А.Р.

