

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Савельєвої Олени Валеріївни на тему: «Цілеспрямований пошук рослинної сировини нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*» 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.

Захворювання нервової системи виникають в результаті ряду причин, зокрема, стресових ситуацій, порушення режиму дня, малоактивного способу життя, тривалого нервового напруження, що призводить до порушень сна, постійного головного болю, хронічної втоми тощо.

Важливим є зведення кількості і вираженості стресових факторів до мінімуму, профілактика виникнення порушень роботи нервової системи та їх раціональна терапія. Для цього застосовують препарати з нейромедіаторною дією, що мають комплексний вплив на етіологічні фактори, патогенетичні ланки та симптоматичні прояви захворювання.

Безперечний інтерес для сучасної фармакотерапії представляє застосування лікарських засобів рослинного походження, зокрема, представників родин Глухокропивні (*Lamiaceae*) та Ранникові (*Ranunculaceae*).

Одним з сучасних підходів до визначення перспективних видів рослин, які проявляють нейромедіаторну дію, є фітохімічне та фармакологічне вивчення видів рослин родин Глухокропивні (*Lamiaceae*) та Ранникові (*Ranunculaceae*), стандартизація лікарської рослинної сировини та отриманих

субстанцій, що створює передумови для створення лікарських засобів для профілактики та лікування відповідних патологій.

Отже, системне фармакогностичне вивчення представників родин Глухокропивні (*Lamiaceae*) та Ранникові (*Ranunculaceae*), дослідження БАР, розробка способів одержання фармакологічно активних субстанцій, створення на їх основі лікарських засобів є актуальними для фармації.

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

Дисертаційну роботу виконано у відповідності з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та Проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України, вона є фрагментом комплексної теми «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

Мета і завдання дослідження.

Метою роботи було фармакогностичне вивчення рослинної сировини нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae* та створення на їх основі лікарських засобів.

Для досягнення поставленої мети автором проведено аналіз наукових літературних даних щодо актуальності фармакогностичного вивчення лікарських рослин нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*, їх ботанічної характеристики, хімічного складу та застосування; номенклатури седативних, снодійних та ноотропних засобів в Україні; морфолого-анатомічні дослідження рутвиці смердючої трави та соню лучного трави; визначення кількісного вмісту груп біологічно активних речовин (макро- та мікроелементів, амінокислот, моносахаридів, фенольних сполук, жирних кислот, сапонінів) у соню лучного трави, рутвиці смердючої трави та коренях; розроблено критерії стандартизації рутвиці смердючої трави та соню лучного трави, визначити технологічні параметри сировини; апробацію методик контролю якості м'яточнику чорного трави; проведено дослідження з обґрунтування вибору екстрагенту; отримано екстракти з

рослинної сировини, визначено їх фармакотехнологічні параметри та показники якості, визначено їх нейромедіаторну активність; обґрунтовано склад, технологію отримання, визначено параметри стандартизації добавки дієтичної «Мемофіт», визначено її нейромедіаторну дію та гостру токсичність.

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше проведено фармакогностичне вивчення лікарських рослин нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae* роду *Thalictrum* та роду *Pulsatilla* – рутвиці смердючої (трава та корені) та соню лучного (трава). В досліджуваних видах сировини встановлена наявність та визначено кількісний вміст макро- та мікроелементів, амінокислот, моносахаридів, фенольних сполук, жирних кислот.

Вперше проведено морфолого-анатомічне дослідження з визначенням діагностичних ознак рутвиці смердючої трави та соню лучного трави, визначені показники їх якості.

Методом атомно-емісійної спектрографії визначено вміст 15 макро- та мікроелементів у соню лучного траві, рутвиці смердючої траві та коренях. Вперше методом ГХ/МС визначено вміст 15 вільних та зв'язаних амінокислот у соню лучного траві, рутвиці смердючої траві та коренях. Для всіх видів сировини високим вмістом характеризуються глютамінова та аспарагінова кислоти. У соню лучного траві вперше методом ВЕРХ було ідентифіковано 9 сполук фенольної природи: 5 флавоноїдів, 2 гідроксикоричні кислоти та 2 кумарини. Вперше методом ГХ/МС у сировині досліджуваних видів визначено вміст вільних цукрів та суми вільних та зв'язаних цукрів з переважаючим вмістом останніх. Вперше методом ГХ/МС ідентифіковано та визначено кількісний вміст жирних кислот: у соню лучного траві – 13, у рутвиці смердючої траві – 8, у рутвиці коренях – 10; у найбільшій кількості містилися пальмітинова, ліноленова, лінолева та лігноцерінова кислоти.

Розроблена технологія отримання сухих екстрактів з м'яточнику чорного трави та рутвиці смердючої трави, для яких розроблені параметри стандартизації, визначена фармакологічна дія. Отримано сону лучного трави екстракт рідкий, визначено його параметри стандартизації та досліджено фармакологічну дію. Новизна дисертаційних досліджень підтверджена патентами України на корисну модель № 110388 «Лікувально-профілактичний засіб з седативною та снодійною дією на основі рослинної сировини» та № 111636 «Лікувально-профілактичний засіб з нейромедіаторною та антиоксидантною дією на основі рослинної сировини». Вперше розроблено добавку дієтичну «Мемофіт», визначені параметри її стандартизації, розроблено методики контролю, досліджено нейромедіаторну дію та гостру токсичність.

Практичне значення отриманих результатів.

В результаті проведених досліджень з апробації методик контролю якості м'яточнику чорного трави розроблено монографію ДФУ 2.0 Т. 3 «М'яточник чорний» (акт впровадження від 22.05.2018 р. №11/625 -5).

Визначено параметри стандартизації рослинної сировини, в тому числі рутвиці смердючої трави, які включено до інформаційного листа про нововведення в системі охорони здоров'я «Параметри стандартизації рутвиці смердючої трави» (Рішення ПК «Фармація», протокол № 103 від 25.10.2017 р.).

Результати досліджень з розробки параметрів стандартизації м'яточнику чорного трави були використані при розробці ТУ У 15.8-31062507-022:2009 «Сировина рослинна, натуральна для виробництва добавок дієтичних» (акт впровадження від 21.12.2017 р.).

Розроблено зміну № 7 до ТУ У 15.8-31062507-014:2008 від 24.04.2017 р. «Добавка дієтична. Капсули з рослинними екстрактами серії «Захист судин». Розроблені параметри стандартизації та методики контролю добавки дієтичної «Мемофіт». Добавка дієтична «Мемофіт» впроваджена у промислове виробництво в умовах ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС» на

замовлення ТОВ «Фармацевтична фірма «Вертекс» (м. Харків) (акт впровадження від 21.12.2017 р.).

Результати наукових досліджень впроваджено в науково-дослідну роботу та навчальний процес 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 фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця; 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; кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробація. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 30 наукових робіт, у тому числі 9 статей (8 – у наукових фахових виданнях України, 1 – в іноземному виданні, що індексується у базі Scopus), 18 тез доповідей, 2 патенти України на корисну модель, 1 інформаційний лист.

Результати роботи доповідалися на конференціях різного рівня. Автореферат дисертації повністю висвітлює її зміст.

Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним результатам досліджень.

Аналіз дисертаційної роботи.

Робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу з описом об'єктів і методів дослідження, розділів з результатами експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних наукових

першоджерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Дисертацію ілюстровано 27 таблицями, 58 рисунками. Список використаних джерел містить 181 найменування, з них 104 кирилицею та 77 латиною.

У **вступі** (стор. - 9) обґрунтовано актуальність фармакогностичного вивчення лікарських рослин нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*. Наведено наукову новизну одержаних результатів досліджень та їх практичне значення, сформульовані мета і завдання дослідження, відображено зв'язок з науковими програмами і планами.

У першому розділі “**Актуальність фармакогностичного вивчення лікарських рослин нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*”** (стор. - 21, рис. - 21) проаналізовано та узагальнено дані сучасних наукових літературних джерел щодо поширеності та стану захворювань нервової системи в Україні; наведено аналіз основних типів порушень функцій нервової системи, причини та основні фактори, що сприяють їх виникненню; представлено роль фітотерапевтичних засобів при порушеннях нервової системи.

Автор робить висновок, що дослідження рослин родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae* має суттєве значення для пошуку нових перспективних видів для введення до офіційної номенклатури.

Це створює передумови для проведення фармакогностичних та фармакологічних досліджень рослин родів *Thalictrum* L. та *Pulsatilla* L. з метою визначення перспективних видів і створення нових лікувальних і профілактичних засобів нейромедіаторної дії.

Другий розділ “**Обґрунтування вибору об'єктів дослідження. Методи дослідження**” (стор. – 27, рис. – 7, табл. - 1) дисертаційної роботи присвячено вибору об'єктів дослідження з описом використаних методик та наведенням коротких відомостей про прилади і реактиви. Автором проаналізовано номенклатуру седативних, снодійних та ноотропних засобів,

zareestrowanih v Ukraїni, sho zastosovuyut pri likuvanni zahvorovanih nerovnoї sistemi, їh komponentniy sklad, farmakoterapevtichni grupi, likarskiy форми, виробники тощо. Автор стверджує про надзвичайно низьку долю ринку препаратів рослинного походження та перспективність дослідження рутвиці смердючої трави та коренів, сону лучного трави, м'яточнику чорного трави, одержаних рослинних екстрактів та добавки дієтичної «Мемофіт» як засобів нейромедіаторної дії.

У третьому експериментальному розділі **“Фармакогностичне вивчення та стандартизація досліджуваних видів лікарської рослинної сировини”** (стор. - 39, рис. – 21, табл. - 3) представлено результати дослідження з апробації методик контролю якості м'яточнику чорного трави, морфолого-анатомічного вивчення сону лучного трави і рутвиці смердючої трави, визначено кількісний вміст груп біологічно активних речовин (макро- і мікроелементи, амінокислоти, моносахариди, фенольні сполуки, сапоніни, жирні кислоти).

Апробовано методики контролю якості монографії «М'яточник чорний», яка увійшла до ДФУ 2.0 Т.3, визначено показники нормування сировини. Проведено морфолого-анатомічне дослідження з визначенням діагностичних ознак рутвиці смердючої трави та сону лучного трави, визначено вміст флавоноїдів для рутвиці трави (не менше 1,5 %) та вміст сапонінів для сону трави (не менше 2 %). Методом атомно-емісійної спектрографії був визначений вміст 15 макро- та мікроелементів у сону лучного трави, рутвиці смердючої трави та коренях. Встановлено, що вміст елементів у рутвиці коренях перевищував вміст аналогічних елементів у траві. Вміст мінеральних речовин у сону лучного трави значно менший, в порівнянні із сировиною рутвиці смердючої. Вміст важких металів не перевищував їх допустимі норми в лікарській сировині.

Методом ГХ/МС був визначений вміст 15 вільних та зв'язаних амінокислот у сону лучного трави, рутвиці смердючої трави та коренях. Для всіх видів сировини високим вмістом характеризувалися глютамінова та

аспарагінова кислоти: 13,41 - 26,77 мкг/мг і 13,41 - 21,73 мкг/мг відповідно в залежності від виду сировини.

Методом ВЕРХ у сону лучного траві було ідентифіковано 9 сполук фенольної природи: 5 флавоноїдів (рутин, гіперозид, апігенін-7-глюкозид, лютеолін та кверцетин), 2 гідроксикоричні кислоти та 2 кумарини. Методом ТШХ в порівнянні зі стандартними зразками ідентифіковані лактоза, сахароза, глюкоза та фруктоза у сону лучного траві та рутвиці смердючої траві. Методом ГХ/МС у сировині визначено вміст вільних цукрів та суми вільних та зв'язаних цукрів з переважаючим вмістом останніх. Методом ГХ/МС ідентифіковано та визначено кількісний вміст жирних кислот: у сону лучного траві – 13, у рутвиці смердючої траві – 8, у коренях – 10.

У четвертому експериментальному розділі **“Одержання та стандартизація рослинних екстрактів, дослідження їх фармакологічної активності”** (стор. – 36, рис. – 4, табл. - 12) опрацьовано оптимальні параметри екстракції рослинної сировини, розроблена технологія отримання сухих екстрактів та визначені параметри їх стандартизації та досліджена їх фармакологічна активність.

Дисертантом для м'яточника чорного траві, рутвиці смердючої траві та сону лучного траві були визначені такі технологічні параметри, як ступінь подрібнення сировини; питома поверхня часток сировини; поглинання сировиною екстрагента; питома, об'ємна та насипна маси, пористість і нарізність, вільний об'єм шару сировини та показники якості, що дозволило підвищити ефективність процесу екстрагування та визначення витратних норм сировини та екстрагента.

При проведенні дослідження з вибору оптимального екстрагента для м'яточника чорного траві, сону лучного траві та рутвиці смердючої траві, враховуючи вміст гідроксикоричних кислот та екстрактивних речовин, запропоновано 50 % спирт етиловий для екстракції груп фенольних сполук або воду очищену для комплексної екстракції інших груп БАР.

Отримано сухі екстракти м'яточника чорного трави та рутвиці смердючої трави, для яких визначені параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ: опис, ідентифікація, втрата в масі при висушуванні, вміст важких металів, мікробіологічна чистота, кількісне визначення гідроксикоричних кислот для м'яточника трави екстракту сухого та флавоноїдів для рутвиці трави екстракту сухого. Встановлено нейротропну дію для екстрактів сонну лучного трави, м'яточника чорного трави та рутвиці смердючої трави.

У п'ятому експериментальному розділі “**Одержання, стандартизація та вивчення фармакологічних властивостей капсул «Мемофіт»**” (стор. – 24, рис. 5, табл. - 8) обґрунтовано склад капсул «Мемофіт», розроблена технологія одержання та їх стандартизація, представлено результати дослідження гострої токсичності та нейромедіаторної дії.

Вивченні фармако-технологічні та мікробіологічні параметри сухих екстрактів, що входять до складу твердих желатинових капсул «Мемофіт», запропоновано раціональний склад та оптимальні технологічні параметри виробництва капсул «Мемофіт», визначені параметри стандартизації: опис, ідентифікація і кількісний вміст гідроксикоричних кислот, мікробіологічна чистота; визначений вміст токсичних елементів, пестицидів та радіонуклідів.

Добавка дієтична «Мемофіт» віднесена до V класу токсичності «Практично нетоксичні речовини» відповідно до класифікації К. К. Сидорова, досліджена нейромедіаторна, антиоксидантна та седативна дії.

Особистий внесок здобувача. Усі експериментальні дослідження, наведені у дисертаційній роботі, виконані дисертантом особисто: аналіз наукових літературних даних щодо поширеності та сучасного стану захворювань нервової системи в Україні, фармакогностичне вивчення досліджуваних видів ЛРС та їх стандартизація; розробка та стандартизація напівпродуктів та готової форми з ЛРС; узагальнення та інтерпретація отриманих результатів.

Експериментальні дослідження виконані на базі ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС», Центральної науково-дослідної лабораторії Харківського національного медичного університету та Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів Національного фармацевтичного університету.

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.

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею здобувача.

Зауваження і пропозиції.

Результати роботи вірогідні, висновки зроблені на їх основі не викликають заперечень. Проте виникають питання та є ряд зауважень:

В розділі 3.3.1 представлено результати визначення вмісту макро- і мікроелементів в рутвиці смердючої траві та коренях і соню лучного траві. Відомо, що макро- і мікроелементи беруть участь у багатьох фізіологічних і біологічних процесах в організмі людини. Чи переходять макро- і мікроелементи в розроблені Вами фітозасоби?

Об'єктом дослідження були рутвиці смердючої корені, заготовлені в період цвітіння (розділ 2.5, стор. 63). Чим Ви можете обґрунтувати обрану фазу заготівлі сировини?

Літературні джерела свідчать, що рутвиці смердючої трава містить до 2,2 % алкалоїдів. Чи визначали Ви їх вміст в екстракті рутвиці смердючої трави?

Рутвиця смердюча занесена до Червоної книги України, заборонено знищення місць її зростання, але є можливим розмноження та розведення у спеціально створених умовах. Якими є перспективи забезпечення сировиною розробленого фармакологічного засобу?

Для екстракту сону лучного вміст гідроксикоричних кислот визначали в перерахунку на хлорогенову кислоту, в той час як в сировині ідентифіковані кофейна і ферулова. Чим це можна пояснити?

На фармацевтичному ринку України представлено 5 зареєстрованих гомеопатичних препаратів сону лучного. Рослина в Україні є рідкісною, занесена до Червоної книги України, зростає практично по всій території України, господарська діяльність людей призводить до скорочення чисельності. Які рекомендації щодо збереження рослини, заготівлі сировини Ви можете запропонувати?

До роботи є побажання.

В розділі 5.3, стор. 168 при визначенні гострої токсичності використано дозу 10000 мг/кг. Згідно методичних рекомендацій ДФЦ України лімітуючим показником при визначенні гострої токсичності є максимальна доза IV класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення. Для внутрішньошлункового введення ця доза складає 5000 мг/кг маси тварини. Якщо при цьому не спостерігається загибелі тварин, введення більшої дози, як правило, є недоцільним.

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

Проте ці питання, зауваження, побажання мають в основному дискусійний характер і не впливають на основні положення та висновки, наведені в роботі. Матеріал викладено послідовно і логічно; ілюстрації у вигляді схем, рисунків, таблиць та діаграм інформативні. Результати достовірні, що підтверджується методами статистичної обробки.

Відповідність дисертації вимогам «Порядку присудження наукових ступенів»

Експериментальні дослідження виконані на достатньому науковому рівні з застосуванням сучасних методів аналізу. Достовірність одержаних результатів підтверджено за допомогою методів математичної статистики. Дисертаційна робота є самостійною, завершеною працею, в якій отримані

нові науково обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують поставлені завдання, у тому числі основне з них – пошук рослинної сировини нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*. В опублікованих наукових працях результати досліджень висвітлені з достатньою повнотою. Дисертація має теоретичну новизну і практичне значення.

Вважаю, що дисертаційна робота Савельєвої Олени Валеріївни «Цілеспрямований пошук рослинної сировини нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*» є завершеною науковою працею і за обсягом виконаних досліджень, своєю актуальністю, ступенем обґрунтованості наукових положень, новизною одержаних результатів, теоретичним та практичним значенням, висновками повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. зі змінами, а її автор – Савельєва Олена Валеріївна заслуговує присвоєння вченого ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент

Завідувач кафедри фармації

Івано-Франківського національного

медичного університету,

доктор фармацевтичних наук, професор

Грицик А.Р.

