

Відгук

офіційного опонента

кандидата фармацевтичних наук, доцента Дармограя Романа Євдокимовича
на дисертаційну роботу **Савельєвої Олени Валеріївни**
**“Цілеспрямований пошук рослинної сировини нейромедіаторної дії серед
представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*”**, представлену до
офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду 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.

Характерною особливістю сучасної фармакотерапії хронічних патологій, зокрема для лікування захворювань нервової системи, є широке використання лікарських засобів рослинного походження. Тому одним із важливих і пріоритетних завдань сучасної фармацевтичної науки є пошук і розробка нових лікарських засобів для лікування зазначених патологій, на основі лікарських рослин вітчизняної флори. Окрім цього, важливим напрямком наукових досліджень є опрацювання фармакопейних критеріїв стандартизації нових видів ЛРС, а також апробація методик контролю якості для вітчизняних видів рослин, монографії на які включені до ДФУ 2.0.

Дисертаційна робота Савельєвої О. В. «Цілеспрямований пошук рослинної сировини нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*» присвячена актуальній проблемі сучасної фармацевтичної науки та практики, а саме розробці та впровадженню нових лікарських засобів та біологічно активних добавок на основі вітчизняних видів лікарських рослин, опрацюванні на їх основі нових біологічно активних субстанцій як потенційних лікарських засобів з комплексною фармакологічною дією, в першу чергу із нейротропною активністю, стандартизації лікарської рослинної сировини і відповідних лікарських форм.

Вибір об'єктів дослідження є досить актуальним з огляду на широке використання вітчизняних видів цих родин в народній і науковій медицині для лікування захворювань нервової системи, потребу детального вивчення їх хімічного складу в плані отримання і стандартизації нових біологічно активних субстанцій на їх основі та визначення їх специфічної фармакологічної активності.

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та Проблемної комісії “Фармація” МОЗ та АМН України та є фрагментом комплексної теми “Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження” (№ державної реєстрації 0103U000476).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Метою роботи було фармакогностичне вивчення лікарських видів родин глухокропивні і жовтецеві, визначення ступеня їх нейромедіаторної активності в плані розробки на їх основі нових лікарських засобів.

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 завдання 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, усі дослідження проведені на достатній кількості експериментального матеріалу, адекватні поставленим цілям і задачам із застосуванням сучасного наукового обладнання. Висновки базуються на конкретних даних і логічно витікають з одержаних результатів досліджень. Обсяг виконаних теоретичних обґрунтувань і експериментальних досліджень цілком достатній для формулювання наукових положень і висновків по роботі.

Наукова новизна отриманих результатів.

В дисертаційній роботі наведено результати проведеного вперше системного фармакогностичного дослідження лікарських рослин нейромедіаторної дії серед представників родин глухокропивні і жовтецеві (роди *Thalictrum* L. та *Pulsatilla* L.), а саме: рутвиці смердючої і сону лучного, вивчення нових біологічно активних субстанцій на їх основі, опрацьовано фармакопейні критерії їх стандартизації, визначено основні види фармакологічної активності.

Дисертантом вперше методом ГХ/МС визначено вміст загальних, вільних та зв'язаних амінокислот у траві сону лучного, траві і коренях рутвиці смердючої. Для усіх видів сировини є характерний високий вміст глютамінової та аспарагінової кислот: зокрема у траві сону лучного 13,41 мкг/мг і 17,47 мкг/мг відповідно; у траві рутвиці – 17,47 та 13,41 мкг/мг, у коренях – 26,77 мкг/мг та 21,73 мкг/мг відповідно. Також з використанням методу атомно-емісійної спектроскопії визначено вміст 15 макро- та мікроелементів у сировинних органах сону лучного і рутвиці смердючої.

В плані вивчення хімічного складу сону лучного у траві цієї рослини методом ВЕРХ було встановлено наявність 9 сполук фенольної природи: 5 флавоноїдів, 2 гідроксикоричних кислот та 2 кумаринів. Ідентифіковано і визначено кількісний вміст флавоноїдів рутину, гіперозиду, апігенін-7-глюкозиду, лютеоліну та кверцетину, за вмістом переважали лютеолін (0,157 мг/г) та гіперозид (0,024 мг/г).

Також вперше автором дисертаційної роботи з використанням методу ГХ/МС у сировинних органах досліджуваних рослин визначено вміст вільних та загальних моносахаридів, зокрема: у траві рутвиці смердючої в найбільшій кількості міститься ксилоза (13,89 мг/г) та глюкоза (4,79 мг/г); у коренях рослини встановлено високий вміст глюкози (14,83 мг/г), ксилози (6,92 мг/г) та арабінози (4,57 мг/г). У траві соню лучного в найбільшій кількості міститься ксилоза (13,89 мг/г), глюкоза (4,79 мг/г) та арабіноза (3,01 мг/г).

Дисертантом вперше методом ГХ/МС проведено ідентифікацію та визначення кількісного вмісту 13 жирних кислот у траві соню лучного, 8 – у траві рутвиці смердючої, 10 – у коренях цієї рослини, встановлено, що у найбільших кількостях містяться пальмітинова, ліноленова, лінолева і лігноцерінова кислоти.

В плані розробки нових лікарських засобів на основі досліджуваних видів дисертантом розроблено технології отримання нових біологічно активних субстанцій із сировинних органів м'яточника чорного та рутвиці смердючої (сухі екстракти) та соню лучного (рідкий екстракт), опрацьовані основні параметри їх стандартизації та доведена специфічна фармакологічна активність. На нові лікувально-профілактичні засоби на основі досліджуваних рослин автором отримано 2 патенти України на корисну модель.

З метою опрацювання основних критеріїв стандартизації досліджуваних видів сировини дисертантом вперше проведено морфолого-анатомічне дослідження та визначені основні характерні діагностичні ознаки трави рутвиці смердючої та соню лучного як нових видів ЛРС.

Автором дисертації вперше розроблено склад нового засобу “Мемофіт”, визначено основні параметри його стандартизації, розроблено проект МКЯ, досліджено гостру токсичність та нейромедіаторну активність.

Теоретичне значення результатів дослідження. Теоретичне значення дисертаційної роботи полягає у тому, що автором вперше проведено узагальнення та вирішення наукової задачі, що виявилась у цілеспрямованому пошуку нових видів рослинної сировини нейромедіаторної дії серед представників родини глухокропивових та жовтецевих, системному дослідженні сировинних органів рутвиці смердючої та соню лучного, отриманні нових біологічно активних субстанцій на їх основі, встановленні їх фармакологічної активності, розробці нових лікарських засобів та біологічно активних добавок на їх основі.

Практичне значення результатів дослідження. На достатнє практичне значення дисертаційної роботи вказує розробка автором технологічних схем одержання нових біологічно активних субстанцій із трави м'яточника чорного, рутвиці смердючої (сухі екстракти) та соню лучного (рідкий екстракт), розробка комплексного засобу “Мемофіт”, який впроваджений у промислове виробництво ТзОВ “Дослідний завод “ДНЦЛС” і для якого підготовлений проект відповідної нормативної документації.

Результати морфолого-анатомічних досліджень сировинних органів

рутвиці смердючої та сону лучного використані при опрацюванні критеріїв стандартизації нових видів ЛРС цих рослин (розділ Ідентифікація), а також при виданні інформаційного листа “Параметри стандартизації рутвиці смердючої трави” (2017 р.).

За результатами апробації методик контролю якості трави м'яточника чорного, наведених в монографії ДФУ 2.0 “М'яточник чорний” дисертантом опрацьовані основні параметри стандартизації цієї ЛРС, які були використані при розробці ТУ У 15.8-31062507-022:2009 “Сировина рослинна, натуральна для виробництва добавок дієтичних”, а також розроблено доповнення до ТУ У 15.8-31062507-014:2008 “Добавка дієтична. Капсули з рослинними екстрактами серії “Захист судин” (2017 р.).

Основні результати дисертаційних досліджень впроваджено в навчальний процес та наукову роботу профільних кафедр Буковинського державного, Запорізького державного, Івано-Франківського національного, Національного ім. О.О. Богомольця, Львівського національного імені Данила Галицького, Тернопільського державного медичних університетів, Національного фармацевтичного університету, Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика

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

Основні положення дисертаційної роботи доповідались на численних науково-практичних форумах і конференціях продовж 2015-2018 рр. Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним результатам дисертаційних досліджень.

Інформація щодо змісту та оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертаційна робота викладена на 240 сторінках машинописного тексту, складається із вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 27 таблицями, 58 рисунками. Список використаних джерел літератури містить 181 найменування, з них 104 кирилицею та 77 латиницею.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, охарактеризовано її мету та завдання, акцентовано на наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, визначено особистий внесок дисертанта та наведено перелік науково-практичних форумів (симпозіуми, з'їзди, науково-практичні конференції), на яких проводилась апробація результатів дисертаційних досліджень.

У **першому розділі** “Актуальність фармакогностичного вивчення

лікарських рослин нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae* (огляд літератури)” проаналізовано та узагальнено дані сучасних наукових літературних джерел щодо поширення та стану захворювань нервової системи в Україні, наведено класифікацію основних видів порушень функцій нервової системи, причини та основні фактори, що сприяють їх виникненню, відзначено роль фітотерапевтичних засобів при лікуванні зазначених патологій.

Також наведено ботанічну характеристику, ареал, дані про хімічний склад та застосування вітчизняних видів родів *Thalictrum* L. та *Pulsatilla* L. У цьому ж розділі дисертантом обґрунтовано необхідність фармакогностичного вивчення лікарських рослин нейромедіаторної дії серед представників родин глухокропивні та жовтецеві та створення на їх основі нових фітотерапевтичних засобів.

У другому розділі “Обґрунтування вибору об’єктів дослідження. Методи дослідження” наведені результати дослідження номенклатури седативних, снодійних та ноотропних засобів, зареєстрованих в Україні, що застосовують при лікуванні захворювань нервової системи. У цьому ж розділі наведені дані щодо об’єктів, методів та основних методик дослідження, використаних у дисертаційній роботі.

У третьому розділі “Фармакогностичне вивчення та стандартизація досліджуваних видів лікарської рослинної сировини” наведені результати досліджень щодо вивчення вмісту основних груп БАР у сировинних органах рутвиці смердючої, сону лучного, визначення їх основних морфолого-анатомічних характеристик, а також апробації методик контролю якості трави м’яточника чорного, які наведені у монографії ДФУ 2.0.

Важливим аспектом цього розділу є результати досліджень із апробації методик контролю якості, наведених в монографії ДФУ 2.0 “М’яточник чорний” на 5 серіях трави цієї рослини, яку заготовляли на території Харківської області. Дисертантом встановлено відповідність усіх зразків трави м’яточника чорного фармакопейним критеріям доброякісності: ідентифікація за макро- та мікроскопічними ознаками для цілої, подрібненої та спорошкованої сировини, а також з використанням хроматографії в тонкому шарі сорбента, основні числові показники, зокрема кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот (в середньому він становив 2,5% при нормуванні не менше 1,5 %).

Значна частина цього розділу містить наведені результати морфолого-анатомічного дослідження трави рутвиці та сону лучного (листя, стебла та квіти на поверхневих препаратах та поперечних зрізах), які супроводжуються високоякісними фотоматеріалами характерних морфологічних та анатомічних ознак рослинної сировини.

У четвертому розділі “Одержання та стандартизація рослинних екстрактів, дослідження їх фармакологічної активності” наведені результати досліджень з розробки технології отримання сухих екстрактів з трави м’яточника чорного та рутвиці смердючої, для яких визначені основні параметри стандартизації у відповідності з вимогами ДФУ (в першу чергу

кількісний вміст гідроксикоричних кислот і флавоноїдів відповідно).

Дисертантом вивчені фармакогностичні і технологічні параметри досліджуваних видів ЛРС, обґрунтовано вибір екстрагентів для одержання рослинних екстрактів як активних фармацевтичних інгредієнтів, опрацьовано технологічну схему їх отримання в умовах промислового виробництва.

Для отриманих субстанцій на моделі хронічного нервово-м'язового напруження у щурів автором встановлено нейротропну активність: антиоксидантну та стресмоделюючу дію (сухі екстракти трави м'яточника та рутвиці), виражену седативну і снодійну дію (рідкий екстракт трави соню лучного).

У п'ятому розділі **“Одержання, стандартизація та вивчення фармакологічних властивостей капсул “Мемофіт”**” наведені результати вивчення фармако-технологічних та мікробіологічних параметрів сухих екстрактів трави м'яточника чорного та рутвиці смердючої, які увійшли до складу комплексного засобу желатинових капсул “Мемофіт”.

У цьому розділі дисертантом також детально обґрунтовано склад нового засобу – капсул “Мемофіт”, наведено розроблену нею промислову технологію їх отримання (схеми виробництва, матеріальний баланс та інш.), опрацьовано відповідну технічну документацію.

У відповідності до вимог ДФУ, автором для розробленої добавки дієтичної “Мемофіт” визначені параметри стандартизації: опис, ідентифікація, кількісний вміст гідроксикоричних кислот, мікробіологічна чистота; встановлений вміст токсичних елементів, пестицидів та радіонуклідів. Результати цих досліджень увійшли як додаток до ТУ У 15.8-31062507-014:2008 “Добавка дієтична. Капсули з рослинними екстрактами серії “Захист судин”.

Як завершальний етап експериментальних досліджень дисертантом визначена гостра токсичність, а на моделі хронічного нервово-м'язового напруження вивчена нейротропна активність капсул “Мемофіт”, за показниками перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи встановлена їх виражена антиоксидантна дія. Також, автором за результатами фармакологічних досліджень доведено, що комбінований засіб “Мемофіт” має виражений седативний ефект.

Зауваження і рекомендації.

Дисертаційна робота Савельєвої О. В. містить значний експериментальний матеріал, відрізняється оригінальними сучасними підходами до вирішення поставлених завдань досліджень. Висновки автора базуються на фактичному матеріалі, а достовірність отриманих автором результатів не викликає сумніву. Структура та зміст автореферату повністю відповідають розділам дисертації.

Проте, незважаючи на високий рівень дисертаційної роботи, вважаю за необхідне висловити **ряд зауважень та пропозицій:**

1. У роботі наведено результати дослідження макро- та мікроелементів в траві та коренях рутвиці смердючої та траві соню лучного, але висновок

про концентрування певних елементів можливо зробити лише після вивчення макро- та мікроелементного складу ґрунтів місць проростання рослин і заготівлі сировини. Чи планується продовження зазначених досліджень із використанням зразків рослинної сировини і ґрунту із місць природного ареалу досліджуваних видів?

2. Враховуючи обсяг проведених досліджень із апробації фармакопейних методик стандартизації трави м'яточника чорного, а також отримання сухого екстракту із цієї сировини як складової компоненти капсул «Мемофіт», чи планується підготовка «Інструкції по заготівлі та сушінню трави м'яточника чорного»?
3. При проведенні достатньо важливих і значних за обсягом фармакологічних досліджень отриманих екстрактів не вказано препарат порівняння (референс-препарат), щоб свідчило про ефективність виявлених специфічних видів фармакологічної активності.
4. Обґрунтуйте необхідність визначення макро- та мікроелементів, амінокислот, полісахаридів, жирних кислот, сапонінів у траві і коренях рутвиці та траві сону лучного, тоді як у сухих екстрактах на основі цих видів сировини вивчався лише вміст гідроксикоричних кислот і флавоноїдів.
5. В дисертаційній роботі наведені результати значного за обсягом дослідження трави сону лучного та рідкого екстракту на її основі (фітохімічне, технологічне, фармакологічне вивчення), але не окреслені подальші плани його використання.
6. В тексті дисертації зустрічаються поодинокі орфографічні помилки, невдалі вирази та неточності.

Проте, викладені зауваження і пропозиції мають рекомендаційний характер і не впливають на загальну високу позитивну оцінку виконаних досліджень.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження у практиці.

Теоретичні та практичні результати дисертаційної роботи свідчать про можливість розробки нових лікарських засобів та біологічно активних добавок на основі біологічно активних субстанцій трави м'яточника чорного, трави рутвиці смердючої, трави сону лучного. Проведені автором дослідження щодо визначення критеріїв стандартизації сировинних органів досліджуваних видів та активних фармацевтичних інгредієнтів на їх основі можуть бути використані у фармацевтичному виробництві при розробці та затвердженні відповідної нормативно-технічної документації.

Відповідність дисертації вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів». На основі вищевикладеного можливо зробити висновок, 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, актуальністю, ступенем обґрунтованості наукових положень, новизною одержаних результатів, їх теоретичним та практичним значенням 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 наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького,
кандидат фармацевтичних наук



доц. Дармограй Р. Є.

Підпис доц. Р. Є. Дармограя
засвідчую: вчений секретар
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького



Ягело С. П.