

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Гудзь Надії Анатоліївни на тему «Фармакогностичне дослідження стевії (*Stevia rebaudiana* Bertoni) та якона (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.)», 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 вибраної теми дисертації. Цукровий діабет є складною медико-соціальною проблемою міжнародного масштабу. До 2030 року очікується збільшення кількості хворих на цукровий діабет до 380 млн хворих. Ступінь поширеності цього захворювання потребує подальшого пошуку додаткових методів традиційного і нетрадиційного лікування та використання профілактичних заходів. Застосування лікарських рослин у зазначеній проблемі виступає як ад'ювантний метод. До відкриття інсуліну і синтетичних цукрознижувальних препаратів саме фітотерапія була єдиним методом лікування хворих на дану патологію. Призначення препаратів рослинного походження не є альтернативою застосування інсуліну та синтетичних цукрознижувальних препаратів. Але фітотерапія здатна проявляти суттєву підтримку стандартному способу лікування на усіх стадіях захворювання, а на ранніх етапах спроможна на певний період замінити традиційне лікування.

Асортимент офіційних лікарських рослин і лікарських засобів на їх основі, що застосовуються для лікування цукрового діабету II типу, досить обмежений. Тому дослідження та пошук лікарських рослин, що широко культивуються на території України та застосовуються у терапії даного захворювання, є актуальним.

До таких рослин належить якон (*Polymnia sonchifolia*) та стевія медоносна (*Stevia rebaudiana*) родини Айстрові (*Asteraceae*). Біологічно активні речовини цих рослин виявляють гіпоглікемічну, антиоксидантну, імуностимулюючу, протизапальну, жовчогінну, діуретичну, антисклеротичну та інші види активності.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України» «Фармакогностичне вивчення культивованих і дикорослих лікарських рослин; фізико-хімічні дослідження продуктів перетворення 1,3-диметилксантину та стандартизація, фармакологічні і фармакотехнологічні випробування лікарських засобів» (номер Державної реєстрації 0115 U003359).

Новизна дисертаційних досліджень. Проведено фармакогностичне дослідження культивованих в Україні якона та стевії, одержані екстракти з яких проявляють цукрознижувальну дію, особливо у їх комбінації. У видах сировини, що вивчалася, встановлено наявність та визначено вміст фенольних сполук, органічних, аскорбінової, аміно- та жирних кислот, полісахаридів, зокрема інуліну, моносахаридів. Методом атомно-абсорбційної спектрометрії вперше визначено вміст макро- і мікроелементів у сировині якона та стевії.

Методом ВЕРХ у листках якона виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст кислот гідроксикоричних (хлорогенової, розмаринової, кофейної, ферулової), флавоноїдів (рутину, ізокверцитрину, лютеоліну, апігеніну, кверцетину, кемпферолу), кумаринів (кумарину, скополетину, умбеліферону); у листках якона і стевії – компонентів дубильних речовин (кислоти галової, епігалокатехіну, галокатехіну, катехіну, епікатехіну, епікатехінгалату, кислоти елагової).

Для ідентифікації листя та кореневих бульб якона і листя стевії проведено морфолого-анатомічне вивчення з визначенням основних діагностичних ознак досліджуваної сировини.

Дисертантом досліджено гостру токсичність комбінованого екстракту якона і стевії та гіпоглікемічну активність сухого екстракту з листя стевії, густого з кореневих бульб якона та комбінованого екстракту якона і стевії.

Наукова новизна проведених досліджень підтверджена патентами України на корисну модель № 122803 від 25.01.2018 р. «Спосіб одержання комбінованої рослинної субстанції з гіпоглікемічною дією», № 122778 від 25.01.2018 р. «Спосіб одержання субстанції з гіпоглікемічною дією з кореневих бульб якона» та № 123718 від 12.03.2018 р. «Спосіб отримання рослинної субстанції з гіпоглікемічною дією».

Теоретичне значення результатів дослідження. Результати дисертаційних досліджень мають певний теоретичний інтерес, який полягає у комплексному фармакогностичному вивченні з використанням сучасних методів аналізу (ВЕРХ, ГХ/МС, ААС тощо) листя стевії, листя та кореневих бульб якона, біологічно активні речовини яких проявляють, згідно досліджень Гудзь Н. А., гіпоглікемічну активність.

Практичне значення роботи. Результати фітохімічних і морфолого-анатомічних досліджень лягли в основу методичних рекомендацій «Фітохімічний склад та макро- і мікроскопічні ознаки якона листків і кореневих бульб», м. Київ, 2017 р., які впроваджені в практичну діяльність лабораторій з контролю якості лікарських засобів територіальних представництв Державної служби України з лікарських засобів та контролю за наркотиками (акт впровадження від 26.11.2017 р.).

На нову лікарську рослинну сировину розроблено проекти МКЯ «Якона кореневі бульби», «Якона листки» та «Стевії листки», а також на комбінований екстракт «Якона і стевії комбінований екстракт густий», для якого вивчено гостру токсичність та гіпоглікемічну дію.

Результати, одержані в процесі виконання дисертації, впроваджено у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедр фармакогнозії та хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії ДВНЗ України «Буковинський державний медичний університет», кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет

імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедр фармацевтичної хімії та фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Аналіз матеріалів дисертаційної роботи свідчить про сучасний науковий рівень проведених досліджень. Усі наукові положення, висновки та практичні рекомендації базуються на експериментальному матеріалі та логічно витікають з одержаних результатів. Загальні висновки до дисертації викладені чітко, стисло і повністю відображають результати проведеної роботи, а їх достовірність не викликає сумніву.

Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Гудзь Н. А., є новим відносно вивчення кореневих бульб і листя якона, що культивується в Україні, і перспективним для впровадження у практичну фармацію комбінованого густого екстракту якона та стевії.

Повнота викладу основних результатів у наукових фахових виданнях. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 21 наукову роботу, у тому числі 9 статей, з них 7 у фахових виданнях, 2 статті у фаховому закордонному виданні, 1 методичні рекомендації та 8 тез доповідей, отримано 3 патенти України на корисну модель.

Опубліковані результати достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи, а автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом, відповідає основним положенням роботи.

Структура, зміст і оформлення дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел літератури. Загальний обсяг дисертації складає 227 сторінок друкованого тексту, основного тексту – 178 сторінок. Робота ілюстрована 25 таблицями та 70 рисунками. Перелік використаних джерел містить 238 найменувань, з яких 148 кирилицею та 90 латиною.

Дисертаційна робота починається з **анотації**, яка оформлена згідно до вимог наказу № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

Вступ дисертації включає дані щодо актуальності, мети та завдання роботи, методів дослідження, наукової новизни, практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертаційної роботи.

Мета дисертаційної роботи чітко сформульована та теоретично обґрунтована. Завдання, які вирішуються для досягнення поставленої мети, конкретні.

Перший розділ – огляд літератури – присвячений аналізу літературних джерел стосовно сучасного стану досліджень якона та стевії. Автор наводить коротку характеристику цукрового діабету II типу та обґрунтовує роль фітотерапії у комплексному лікуванні даної патології. Даний розділ містить узагальнені дані щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу, застосування у народній та науковій медицині якона та стевії. Автор надає теоретичне обґрунтування доцільності та перспективності створення нових вітчизняних лікарських засобів на основі фітосубстанцій, одержаних з досліджуваних видів сировини.

У **другому розділі** наведено дані щодо об'єктів та методів дослідження. При виконанні досліджень використано сучасні фізичні, фізико-хімічні, хімічні, технологічні, макро- і мікроскопічні, фармакологічні та статистичні методи аналізу. Автором наведено прилади та реактиви, які були використані при проведенні дисертаційних досліджень.

Третій розділ присвячений дослідженню якісного складу та кількісного вмісту біологічно активних речовин у сировині якона та стевії, а також визначенню показників якості сировини, які регламентує Державна Фармакопея України. Дисертантом за допомогою сучасних методів аналізу вивчено якісний склад і визначено кількісний вміст аскорбінової, вільних органічних, жирних і амінокислот, вуглеводів, ліпофільних, летких і фенольних сполук, макро- та мікроелементів.

Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст жирних кислот. У ліпофільному екстракті листя якона виявлено 9, корневих бульб якона – 2, листя стевії – 8 жирних кислот. Вміст ненасичених жирних кислот в усіх ліпофільних екстрактах переважав над насиченими.

Склад цукрів листя стевії, листя та корневих бульб якона вивчали методом ГХ/МС. У листі якона виявлено 10 цукрів, у корневих бульбах якона – 7, у листя стевії – 17, серед яких в усіх об'єктах дослідження ідентифіковано D-глюкозу, D-фруктозу та сахарозу. Методом ГХ/МС визначено вміст інуліну у корі корневих бульб якона – 47,17 мг/кг, у корневих бульбах – 46,28 мг/кг та у листках якона – 10,67 мг/кг.

За допомогою методу ВЕРХ у сировині якона та стевії визначено якісний склад та кількісний вміст амінокислот. Домінуючими у стевії листі є серин, цистин, пролін, аспарагінова та глютамінова кислоти. Кореневі бульби якона у значній кількості містять пролін, серин, аргінін, а листя – цистин, лізин, серин, аспарагінову та глютамінову кислоти.

Визначення складу та кількісного вмісту фенольних сполук у видах сировини, що вивчалася, проводити також методом ВЕРХ. У результаті було ідентифіковано та визначено вмісту компонентів дубильних речовин – епігалокатехіну, галокатехіну, катехіну, епікатехіну, епікатехін галату, галлової та елагової кислот; гідроксикоричних кислот – хлорогенової, розмаринової, кофейної та ферулової кислот; флавоноїдів – рутину, ізокверцитрину, лютеоліну, апігеніну, кверцетину та кемпферолу; а також кумаринів у листі якона – кумарину, умбеліферону та скополетину.

Методом ГХ/МС проведено дослідження леткої фракції сировини якона та стевії. У листі якона виявлено 60 компонентів, з яких ідентифіковано 34, у корневих бульбах якона – 55 і 16 компонентів, а у листі стевії – 51 і 22 компоненти відповідно.

Методом атомно-абсорбційної спектроскопії вивчено елементний склад листя стевії, листя та корневих бульб якона. В усіх досліджуваних видах сировини за вмістом переважали калій, кальцій, фосфор і магній.

У даному розділі також наведено результати визначення показників якості сировини досліджуваних об'єктів, які використано при розробці проєктів МКЯ.

Четвертий розділ присвячено макро- та мікроскопічному вивченню листя стевії, листя та кореневих бульб якона, визначено їх основні діагностичні ознаки. Розділ ілюстрований рисунками морфологічних і анатомічних ознак досліджуваних видів ЛРС.

У **п'ятому розділі** обговорюються результати виявленої фармакологічної активності та гострої токсичності сухого екстракту листя стевії, густого екстракту кореневих бульб якона та комбінованого густого екстракту якона та стевії. Для усіх досліджуваних екстрактів встановлено наявність гіпоглікемічної активності. За класифікацією К. К. Сидорова комбінований густий екстракт якона та стевії віднесено до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

У цілому, результати, одержані під час виконання дисертаційної роботи, підтверджують доцільність створення на основі одержаних фітосубстанцій нових, ефективних та безпечних лікарських засобів.

Матеріал дисертаційної роботи якісно проілюстрований та грамотно описаний.

Поряд з позитивними характеристиками роботи необхідно відмітити деякі зауваження та пропозиції:

1. По тексті дисертації дисертант використовує термін «листки». Даний термін слід використовувати тільки при описанні морфологічних і анатомічних ознак. Якщо мова йде про сировину, згідно вимог ДФУ, слід застосовувати термін «листя».

2. Термін «час утримання» вже не використовується, оскільки ДФУ регламентує вживати термін «час утримування».

3. У розділі 1, підрозділ 1.1 займає досить великий обсяг. Його можна було б скоротити за рахунок виключення загальновідомої інформації щодо патогенезу цукрового діабету II типу.

4. В огляді літератури, підрозділ 1.3.1 при згадуванні вмісту «унікальних речовин» у листі стевії доречно було б не тільки їх перерахувати, а й навести їх структурні формули для більш наглядного та кращого сприйняття матеріалу (ребаудіазиди А, В, С, D, Е, дулькозмид А).

5. У розділі 2.2.1 «Визначення кислоти аскорбінової» не потрібно наводити методику ДФУ, а тільки посилання на неї. Аналогічне зауваження стосується розділу 2.3.4 «Дубильні речовини».

6. У розділі 2.2.2 «Органічні кислоти» при визначенні їх кількісного вмісту автору слід посилатися на методику, яка наведена у ДФУ, а не на застаріле джерело ДФ СРСР XI видання.

7. У розділі 4 доцільно було б наголосити саме на характерні анатомічні діагностичні ознаки, які притаманні досліджуваним видам лікарської рослини сировини якона та стевії.

8. П'ятий розділ, який містить результати фармакологічних досліджень, слід було б скоротити.

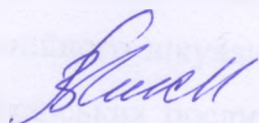
Проте наведені зауваження не зменшують загальної позитивної оцінки і значення дисертаційної роботи, яка є закінченим дослідженням з достатньою науковою новизною та практичним значенням одержаних результатів.

Рекомендації щодо використання дисертаційного дослідження. Оскільки комбінований густий екстракт якона та стевії виявив виражену гіпоглікемічну дію та низьку токсичність, було б доцільно провести подальші поглиблені фармакологічні дослідження та здійснити пошук зацікавленого виробника для впровадження у промислове виробництво одержаного засобу.

Висновок про відповідність дисертації вимогам Положення. Дисертаційна робота Гудзь Надії Анатоліївни «Фармакогностичне дослідження стевії (*Stevia rebaudiana* Bertoni) та якона (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.)» є закінченою науковою працею, у якій одержано дані, що є суттєвими у вирішенні проблеми пошуку та дослідження лікарських рослин з метою створення нових лікарських засобів на їх основі для профілактики та лікування цукрового діабету II типу, особливо на ранніх стадіях хвороби. Дана

робота за актуальністю, теоретичним і практичним значенням, використан-
ням сучасних методів і підходів до експериментальних фармакогностичних і
фармакологічних досліджень, за обсягом проведених досліджень повністю
відповідає вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів»,
затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013
р. (зі змінами), а її автор, Гудзь Надія Анатоліївна, заслуговує на присвоєння
наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02
– фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Завідувач кафедри хімії природних сполук
Національного фармацевтичного
університету,
доктор фармацевтичних наук, професор

 В. С. Кисличенко

Підпис проф. Кисличенко В.С. засвідчую.

Начальник відділу кадрів НФаУ



З. Ф. Подстрелова