

## ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертаційну роботу Прокопенко Юлії Сергіївни на тему «Експериментально-теоретичне обґрунтування оптимізації пошуку рослинних протисудомних засобів», представлену на офіційний захист в спеціалізовану Вчену раду Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія**

### **Актуальність теми.**

На наш час актуальною проблемою сучасної медицини України є лікування неврологічних захворювань ЦНС, зокрема епілепсії.

Епілепсія вважається одним з найбільш розповсюджених захворювань у глобальних масштабах: за оцінками ВООЗ, дане захворювання щороку діагностують у 5 мільйонів людей. Незважаючи на наявність в арсеналі сучасної медицини протиепілептичних засобів синтетичного походження, залишаються не вирішеними проблеми фармакорезистентності та розвитку важких побічних ефектів на тлі неадекватної терапії.

Але слід зазначити, що дуже сприятливою для лікування цієї хвороби є фітотерапія. Лікарські рослини містять комплекс споріднених до організму людини БАР здатних легко включатися у метаболічні процеси, корегувати відновлення життєдіяльності ЦНС. Комплексне застосування у рослинних екстрактах одночасно декількох видів рослинної сировини забезпечує більш виражену фармакологічну дію.

Враховуючи вищенаведене, впровадження нових алгоритмів пошуку, розробки та стандартизації фітотерапевтичних засобів із доведеною протисудомною активністю є доцільним та актуальним.

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

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне



вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (номер державної реєстрації 0103U000476) та «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

### **Наукова новизна отриманих результатів.**

У дисертаційній роботі наведено результати проведеного вперше теоретичного обґрунтування та експериментального підтвердження систематизації цілеспрямованого пошуку рослинних засобів протисудомної дії.

Вперше для рослин вітчизняної флори, що входять до родин барбарисові, березові, глухокропивні, гортензіїві, жимолостеві, маслинові, омелові, пасльонові, руткові, синюхові, встановлено вплив БАР на реалізацію протисудомного потенціалу.

Дисертантом розроблено оригінальну методику визначення амінокислот у ЛРС методом ВЕРХ з використанням колонки НІІС та мас-детектуванням, запропоновано методики визначення алкалоїдів методом екстракційної фотометрії.

Вперше для обраних видів ЛРС визначено кількісний вміст БАР, які можуть розглядатись як маркери протисудомної активності, та за допомогою фармакологічного скринінгу визначено вплив сухих екстрактів з досліджуваної ЛРС на перебіг судом. За результатами фармакологічного дослідження встановлено високий протисудомний потенціал сухих водних екстрактів трави рутки Шлейхера та трави базилику камфорного сорту Пурпурний.

Вперше здійснено порівняльне дослідження вмісту суми амінокислот, флавоноїдів, алкалоїдів, гідроксикоричних кислот та поліфенольних сполук як перспективних маркерів протисудомної активності.



Вперше здійснено кореляційне дослідження для встановлення взаємозв'язку «хімічний склад – протисудомна активність» для досліджуваної лікарської рослинної сировини.

Науковий інтерес представляють запропоновані дисертантом методики PASS-прогнозування протисудомного потенціалу БАР та *in silico* моделювання протисудомної активності за допомогою молекулярного докінгу. Автором з сухого екстракту трави рутки Шлейхера виділено суму флавоноїдів, протеїн-полісахаридний комплекс, суму алкалоїдів та окремо алкалоїд протопін та здійснено *in vivo* дослідження їхнього впливу на реалізацію протисудомної активності екстракту.

Вперше запропоновано методологію цілеспрямованого пошуку рослинних протисудомних засобів та розроблено оригінальне програмне забезпечення для розрахунку протисудомного потенціалу лікарської рослинної сировини в залежності від її хімічного складу.

Наукова новизна дисертаційних досліджень підтверджена патентами України на винаходи та корисні моделі.

#### **Практичне значення отриманих результатів.**

Дисертантом розроблено алгоритм пошуку рослинних протисудомних засобів, який може бути використаний науковцями для вирішення відповідних завдань.

Завдяки проведеним дослідженням сухі водні екстракти трави базиліку камфорного сорту Пурпуриний та рутки Шлейхера впроваджені у промислове виробництво ТОВ «Дослідний завод ДНЦЛЗ» та ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика»» та заплановані до випуску в якості лікарських засобів.

Узагальнені результати здійсненого дослідження стали підґрунтям для розробки оригінального програмного забезпечення «AntiConvulsant\_Test» для розрахунку протисудомного потенціалу ЛРС в залежності від особливостей її хімічного складу.



Результати досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу профільних кафедр закладів вищої освіти України та опубліковано у вигляді інформаційних листів у галузі охорони здоров'я.

### **Особистий внесок здобувача.**

Дисертаційна робота є самостійно проведеним експериментальним дослідженням автора. Науковим консультантом запропоновано: тема, об'єкти та програма виконання експериментів. Співавторами були залучені науковці, які приймали участь у виконанні досліджень.

Особисто автором проведено:

-аналіз наукових літературних даних з метою визначення подальших напрямів експериментального дослідження, обґрунтування та пошуку оптимального алгоритмів вибору джерел ЛРС для лікування епілепсії.

-визначення хімічного складу ЛРС досліджуваних видів та сухих екстрактів на її основі.

-розробка методів екстрагування БАР з рослинної сировини обраних видів.

-молекулярний докінг та кореляційні дослідження QSAR отриманих експериментальних результатів.

-запропоновано 3 патента на винахід, 4 на корисну модель та 2 інформаційних листа.

-розроблено відповідні МКЯ на сухий екстракт з трави базилику камфорного сорту Пурпурний та сухий екстракт з трави рутки Шлейхера.

У наукових працях, які були опубліковані у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації, їх достовірність.**

Встановлені автором наукові положення, висновки і рекомендації, наведені в дисертаційній роботі є повністю обґрунтованими і статистично достовірними, маючими практичне значення. Вони забезпечені



використанням сучасних методів досліджень запропонованих об'єктів: фізико-хімічних, фармакогностичних, технологічних, фармакологічних.

**Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробації.**

За виконаними матеріалами дисертаційної роботи опубліковано: 25 статей у наукових фахових виданнях, у тому числі 7 у зарубіжних фахових виданнях; 3 патенти України на винахід; 4 патенти України на корисну модель; 19 тез доповідей; 2 інформаційних листи.

**Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків.**

Основний текст дисертаційної роботи викладено на 270 сторінках. Робота ілюстрована 20 таблицями, 98 рисунками. Список використаних джерел містить 459 найменувань, з них 51 кирилицею та 286 латиною.

Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків.

У першому розділі (огляд літератури) автором проведено аналіз сучасних літературних першоджерел з проблеми вивчення епілепсії, тенденцій розвитку захворюваності в Україні та країнах світу.

Наведено загальну характеристику захворювання та основні принципи фармакотерапії. Проаналізовано інформаційні дані стосовно призначення рослинної сировини перспективних видів різних родин, а також окремих БАР, для лікування епілепсії.

Автор робить висновок про перспективність подальшого дослідження з пошуку рослинних протисудомних засобів.

Другий розділ присвячений розробці алгоритму вибору джерел ЛРС видів флори України для подальшого детального дослідження. Враховувались такі критерії, як відомості щодо застосування ЛРС для лікування розладів ЦНС офіційною чи народною медициною; здатність БАР, що входять до складу ЛРС, впливати на роботу ЦНС: наявність сировинної бази перспективної ЛРС у флорі України.



Автор дає коротку характеристику обраним 27 видам ЛРС, представлено матеріали, методики, прилади та реактиви, які були використані при проведенні досліджень.

У третьому розділі наведено результати визначення у досліджуваних видах ЛРС. вмісту БАР. Автор надає результати вивчення вмісту тих груп БАР, вміст яких може сприяти реалізації протисудомної активності сировини.

Методом ГРХ-МС у досліджуваній ЛРС встановлено вміст структурного аналогу вальпроєвої кислоти – гексенової кислоти, аміді якої входять до складу протисудомних лікарських засобів, каприлової кислоти, а також сполук терпенової природи, які виявляють як про-, так і антиконвульсивні властивості.

Для визначення кількісного вмісту нейромедіаторних амінокислот у ЛРС дисертантом запропоновано використання методу ВЕРХ із застосуванням колонки НІЛІС.

За допомогою методів ВЕТШХ, абсорбційної спектрофотометрії та ВЕРХ дисертантом здійснено ідентифікацію та кількісне визначення флавоноїдів у досліджуваній ЛРС. У випробовуваних зразках сировини було ідентифіковано флавоноїди рутин, лютеолін, гіперозид та кверцитрин. Враховуючи протисудомний потенціал урсолової кислоти, досліджено її накопичення у випробовуваній сировині та встановлено, що дана сполука притаманна рослинам родини глухокропивні та омелові.

Автор надає результати кількісного визначення поліфенольних сполук у ЛРС.

Науково-практичний інтерес представляють розроблені та валідовані методики кількісного визначення алкалоїдів у відповідній ЛРС.

Розділ 4 присвячений вивченню протисудомної активності та хімічного складу сухих екстрактів з досліджуваної ЛРС. Дисертантом обґрунтовано технологію одержання сухих водних, водно-спиртових, спиртових та



ліпофільних екстрактів та представлено результати фармакологічного скринінгу на моделі пентилентетразолових судом.

У даному розділі також наведено результати прогнозування протисудомного потенціалу основних БАР, що входять до складу досліджуваної ЛРС, за допомогою програми PASS та встановлено наявність ймовірної протисудомної активності за рахунок взаємодії з рецепторами ГАМК та обрано речовини-маркери для подальшого хімічного аналізу.

За допомогою методів ВЕРХ, абсорбційної спектрофотометрії та ацидиметрії встановлено вміст основних груп БАР у сухих водних екстрактах з досліджуваної ЛРС. Встановлено сумарний вміст нейромедіаторних амінокислот, флавоноїдів, поліфенольних сполук, гідроксикоричних кислот, алкалоїдів, а також визначено кількісний вміст флавоноїдуу рутину та урсолової кислоти.

Науковий інтерес представляє дослідження антиоксидантного потенціалу сухих екстрактів з використанням сучасного методу ВЕРХ з АВТС катіон-радикалом, в результаті чого встановлено наявність антиоксидантних властивостей для сухого водного екстракту трави базиліку камфорного сорту Пурпурний.

Узагальнені результати фармакологічного та фітохімічного дослідження, викладені у розділі 4, використані дисертантом для встановлення кількісних параметрів кореляції «вміст БАР – протисудомна активність» за допомогою програми BuildQSAR.

У розділі 5 наведено результати поглибленого фармакологічного дослідження сухого екстракту трави базиліку камфорного сорту Пурпурний, що вказує на перспективність його застосування у фармації та медицині. Наведені у розділі 5.3 результати апробації портативного обладнання відкривають нові перспективи в галузі фітохімічного аналізу при здійсненні контролю якості ЛРС або фітотерапевтичних засобів. У розділі 5.4, присвяченому стандартизації готового сухого екстракту трави базиліку



камфорного сорту Пурпурний, дисертантом обґрунтовані параметри якості та наведені числові показники сухого екстракту.

**Розділ 6** містить результати поглибленого фармакологічного дослідження сухого екстракту трави рутки Шлейхера, в результаті яких було не тільки встановлено високий протисудомний потенціал даного екстракту, але й виявлено супутні нейрогенні властивості та визначено гостру токсичність та дозозалежність фармакологічної дії.

У даному розділі також подано результати *in silico* прогнозування протисудомної активності окремих БАР, що входять до складу трави рутки Шлейхера.

За допомогою здійсненого *in vivo* дослідження встановлена роль окремих БАР (флавоноїдів, протеїн-полісахаридного комплексу, алкалоїдів та протопіну) у реалізації протисудомної активності сухого екстракту трави рутки Шлейхера.

На основі описаних у розділі 6 результатів обґрунтовано вибір маркерів для стандартизації сухого екстракту трави рутки Шлейхера.

**Розділ 7** представляє собою узагальнення результатів, одержаних дисертантом.

У розділі 7.1 автор формулює методологічний підхід до цілеспрямованого пошуку рослинних поти судомних засобів та схематично представляє його у вигляді дерева рішень на рис. 7.1.

На підставі висунутого положення, що співвідношення різних груп БАР між собою зумовлює наявність чи відсутність протисудомного потенціалу рослин, дисертант пояснює доцільність розробки оригінального програмного забезпечення для обчислення протисудомного потенціалу ЛРС та представляє результати його тестування на рис. 7.4.

**Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації, завершеність дисертації в цілому.**

Характеризуючи дисертаційну роботу Прокопенко Юлії Сергіївни у цілому, слід зазначити, що вона безперечно має всі необхідні ознаки



актуальності, наукової і практичної значущості. Відрізняється оригінальними сучасними підходами до виконання запланованих експериментальних досліджень.

Проте при розгляді виникають деякі зауваження та пропозиції:

1. У розділі 2 не було необхідності детально наводити відомі фармакопейні методики, а краще обмежитися посиланням на джерела літератури.

2. Дані таблиць 3.2, 3.3, 3.5, 3.6, 3.10, 4.4 – 4.7 доцільно було б представити у додатках.

3. Які можливості культивування сортів базиліку камфорного Пурпурний, Генуезький в умовах України.

4. Яке розповсюдження рутки Шлейхера в умовах України.

5. Які відмінності встановлені автором у хімічному складі трави омели білої з різних видів дерев.

6. У тексті дисертаційної роботи зустрічаються не фармакопейна термінологія, деякі повтори, орфографічні та стилістичні помилки.

Але при цьому слід зазначити, що наведені недоліки та зауваження не мають принципового характеру.

Дисертаційна робота виконана та оформлена згідно із існуючими вимогами, встановленими для докторських дисертацій, повністю відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. У ній вирішено актуальне питання сучасної фармацевтичної науки в галузі експериментально-теоретичного обґрунтування та впровадження у виробництво перспективних рослинних проти судомних засобів.

**Відповідність дисертації вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів».**

Підсумовуючи вищенаведене вважаю, що дисертаційна робота Прокопенко Юлії Сергіївни «Експериментально-теоретичне обґрунтування оптимізації пошуку рослинних протисудомних засобів» на здобуття

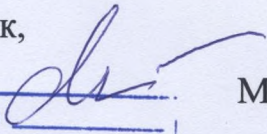



наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за своєю актуальністю, науковою новизною, обсягом та рівнем досліджень, теоретичною та практичною значимістю, достовірністю отриманих результатів, публікаціями у фахових виданнях, відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів» постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, які пред'являються до докторських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

**Офіційний опонент:**

Завідувач кафедри фармакогнозії, фармхімії  
і технології ліків Запорізького державного медичного  
університету, доктор фармацевтичних наук,  
професор



Власноручний підпис   
ПІДТВЕРДЖУЮ  
Нач. відділу кадрів Запорізького  
державного медичного університету  
24. 10 20 19 р. Підпис 

Мазулін О. В.

Соловйченко А. С.