

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

КУДРІ ВІКТОРІЇ ВІКТОРІВНИ

«Фармакогностичне дослідження родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.), культивованого в Україні»,

представлену до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті для захисту на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 — фармацевтична хімія та фармакогнозія

Актуальність. Одним із важливих завдань сучасної фармацевтичної науки є пошук нових джерел лікарської рослинної сировини для створення лікарських препаратів з низькою токсичністю. Лікарська рослинна сировина залишається невичерпним джерелом для створення нових лікарських засобів, тому актуальним є системне фармакогностичне вивчення рослин, що здавна використовуються в медицині. Важливе науково-практичне значення має вивчення родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.) родини Розові (*Rosaceae*), який використовують у медицині як в'яжучий, протизапальний та кровоспинний засіб.

Препарати з родовика лікарського відсутні на фармацевтичному ринку України. Отже, фармакогностичне вивчення сировини даного виду та створення нових вітчизняних лікарських засобів на основі БАР трави та кореневищ і коренів родовика лікарського є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені 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).

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України (протокол № 73 від 12 грудня 2011 р.) і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (номер державної реєстрації 0103U000476).

Основний текст дисертаційної роботи викладено на 137 сторінках і складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), 5 розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку літератури зі 171 джерел (69 латиною) та додатків. Робота ілюстрована 26 таблицями і 35 рисунками.

Наукова новизна. Для серій сировини родовика лікарського, введеного в Україні в культуру, проведено системне фармакогностичне дослідження. Методами хроматографічного аналізу встановлено наявність та визначено кількісний вміст моноцукрів полісахаридів, речовин фенольної природи, органічних кислот, в тому числі амінокислот і жирних кислот. Проведено визначення елементного складу в траві та кореневищах і коренях досліджуваної рослини.

Для серій трави родовика лікарського визначено основні діагностичні ознаки морфолого-анатомічної будови. Встановлено характерні риси будови серій кореневищ і коренів культивованої рослини порівняно з монографією ДФУ 2.0. З трави та з кореневищ і коренів родовика лікарського розроблено технологію отримання сухих екстрактів та проведено визначення основних груп БАР.

Доведено протизапальну, кровоспинну та антимікробну активність та визначено гостру токсичність сухого екстракту кореневищ і коренів родовика та протизапальну й антимікробну активність сухого екстракту трави родовика.

Одержано патент України на корисну модель «Спосіб одержання фармакологічно активної субстанції з протизапальною та антимікробною дією» (№ у 2017 11796 від 25.05.2017 р.).

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) сировини культивованого родовика лікарського, біологічно активні речовини якої проявляють, згідно досліджень Кудрі В.В., протизапальну та антимікробну активність.

Практичне значення роботи. Результати комплексного фармакогностичного аналізу підземних органів культивованого в Україні родовика лікарського направлено на розгляд у ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» для розробки національної частини монографії ДФУ 2.0 «Родовика корені».

Розроблено проект МКЯ на нову ЛРС «Родовика лікарського трава». Розроблено проекти МКЯ «Родовика лікарського трави екстракт сухий» та «Родовика лікарського кореневищ і коренів екстракт сухий».

Результати фармакогностичних досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедр ботаніки, фармакогнозії та хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, кафедр фармацевтичної хімії та фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, 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».

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Аналіз матеріалів дисертаційної роботи свідчить про сучасний науковий рівень проведених досліджень. Всі наукові положення, висновки та практичні рекомендації базуються на експериментальному матеріалі та логічно витікають з одержаних

результатів. Загальні висновки до дисертації викладено чітко, стисло і цілком відображають результати проведеної роботи, а їх достовірність не викликає сумніву. Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Кудрі В.В., є новим відносно вивчення сировини родовика лікарського, що культивується в Україні, і перспективним для впровадження у практичну фармацію сухих екстрактів трави та кореневища з коренями родовика лікарського.

Повнота викладу основних результатів у наукових фахових виданнях.

Результати досліджень викладено в 14 наукових працях: з них 5 статей – у фахових наукових виданнях, в тому числі 2 – у фаховому науковому закордонному виданні), 1 патент України на корисну модель. Основні результати роботи оприлюднено на 8 наукових форумах різного рівня.

Дисертаційна робота починається з анотації, яка оформлена згідно до вимог наказу № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій». Вступ дисертації включає дані щодо актуальності, мети та завдань, матеріалів, методів дослідження, наукової новизни, практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертаційної роботи. Мета дисертаційної роботи чітко сформульована та теоретично обґрунтована. Завдання, що вирішуються для досягнення поставленої мети, конкретні.

В огляді літератури (Розділ 1 «Ботанічна характеристика, хімічний склад і фармакотерапевтичні властивості родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.)») наведено відомості наукової літератури про родовик лікарський, проведений їх аналіз і узагальнення. Значна увага приділяється ботанічним характеристикам, хімічному складу, практиці застосування в народній медицині та інших галузях народного господарства сировини цієї рослини. За розповсюдженістю, хімічним складом та видами біологічної активності, для яких надано більш розгорнуту характеристику, є перспективи для створення на їх основі нових засобів. На підставі проведених робіт сформульовано мету дисертації.

У другому розділі «Об'єкти і методи дослідження» наведено серії сировини, що вивчали, реактиви, прибори, методи та методики, що використано в дослідженнях.

Третій розділ «Дослідження якісного складу і кількісного вмісту біологічно активних речовин сировини родовика лікарського» присвячено результатам вивчення компонентного складу та кількісного вмісту основних груп БАР сировини родовика лікарського. У складі полісахаридних комплексів трави родовика лікарського встановлено наявність та визначено кількісний вміст 16 моноцукрів, а у складі полісахаридних комплексів кореневищ і коренів родовика лікарського встановлено наявність та визначено кількісний вміст 15 моноцукрів після кислотного гідролізу.

Дослідження амінокислотного складу проводили методом ВЕРХ. У результаті досліджень було встановлено у траві родовика лікарського наявність 16 зв'язаних амінокислот та 14 вільних; у підземних органах – по 15 зв'язаних і вільних амінокислот. З вільних амінокислот у траві родовика лікарського кількісно переважає пролін (0,14 мкг/мг); не виявлено лізину і метіоніну. Аналіз зв'язаних амінокислот показав, що у траві домінують пролін (7,23 мкг/мг), аспарагінова кислота (6,15 мкг/мг) і лейцин (5,66 мкг/мг).

Визначення якісного складу вільних органічних кислот проводили методом ТШХ за допомогою хроматографічних пластинок «Sorbfil»-ПТСХ-А-УФ. Визначення кількісного вмісту суми вільних органічних кислот проводили титриметричним методом в перерахунку на яблучну кислоту. У траві культивованого родовика лікарського виявлено лимонну, винну і бурштинову кислоти, у кореневищах і коренях – щавлеву, винна, лимонну і бензойну кислоти. Методом ГХ у траві родовика лікарського виявлено лимонну кислоту, у кореневищах і коренях ідентифіковано лимонну і бензойну кислоту.

Кількісний вміст кислоти аскорбінової визначали спектрофотометричним методом. Кількісний вміст кислоти аскорбінової в досліджуваних органах родовика лікарського також визначали титриметричним методом, використовуючи титрант – 0,001 моль/л розчин 2,6-дихлорфеноліндофеноляту

натрію, за методикою «Плоди шипшини» ДФ СРСР XI видання. Результати досліджень показали, що вміст аскорбінової кислоти у траві родовика лікарського (титриметричний метод) був у межах 0,046-0,054 %, у кореневищах і коренях – у межах 0,038-0,043 % у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту жирних кислот у досліджуваній ЛРС проводили методом ГХ/МС метилових естерів жирних кислот на газовій хромато-мас-спектрометричній системі. У результаті досліджень у траві культивованого родовика лікарського виявлено 9 жирних кислот, 2 з яких поліненасичені – лінолева (0,57 мг/г) і лінолева (0,06 мг/г); у кореневищах і коренях – 5 жирних кислот.

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот визначали в перерахунку на хлорогенову кислоту. Методом ТШХ і ПХ у водно-спиртовому екстракті кореневищ і коренів родовика лікарського виявлено лише кислоту розмаринову; у водно-спиртовому екстракті трави – 5: неохлорогенову, хлорогенову, кофейну, ферулову і розмаринову.

Вміст флавоноїдів визначали також методом ВЕРХ. Також кількісний вміст суми флавоноїдів у траві родовика лікарського визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на рутин. Кількісний вміст суми флавоноїдів у серіях трави родовика лікарського становив не менше 3,2 % у перерахунку на абсолютно суху сировину і коливався в межах 3,25-4,04 %, у серіях кореневищ і коренів – не менше 1,3 % і коливався в межах 1,31-1,63 %.

Кількісне визначення танінів у досліджуваних об'єктах визначали спектрофотометричним методом. Кількісний вміст танінів у серіях трави родовика лікарського був у межах 1,98-2,28 % у перерахунку на суху сировину, у серіях кореневищ і коренів – у межах 8,92-9,95 %.

Встановлення якісного складу та кількісного вмісту макро- і мікроелементів у зразках досліджуваних видів сировини проводили методом ААС з атомізацією у повітряно-ацетиленовому полум'ї. Слід відмітити високий вміст у сировині родовика лікарського фосфору, кальцію, калію і магнію.

Розділ 4 «Морфолого-анатомічний аналіз сировини культивованого родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.)» присвячений результатам вивчення морфологічних та анатомічних особливостей будови сировини родовика лікарського. З фармакогностичної точки зору найбільш важливим та першим кроком ідентифікації сировини є характеристика ознак зовнішньої та внутрішньої будови з виділенням загальних та відмінних рис.

Так, основними діагностичними ознаками трави родовика лікарського є: стебло: тип будови та коленхіми, розмір клітин серцевини, наявність ідіобластів з темнуватим вмістом; листок: має дорсовентральну будову, гіпостоматичний, деякі клітини верхньої епідерми містять друзи кальцію оксалату; клітини нижньої епідерми з чоткоподібними потовщеннями; продихів багато; квітка: епідерма квітколистків з пігментованими антоціаном клітинами; оболонки клітин з порами, чоткоподібні; тичинкові нитки опушені тонкими волосками. Основними діагностичними анатомічними ознаками підземних органів рослини були: для кореневищ – тип будови, особливості паренхіми корової та серцевинної частин, локалізація та особливості включень – друз оксалату кальцію та крохмальних зерен. Для коренів – наявність кристалів оксалату кальцію, ступінь здерев'яніння тканин.

У розділі 5 «Одержання субстанцій з трави та з кореневищ і коренів родовика лікарського та вивчення їх біологічної активності» наведено дані щодо вперше розробленої технології одержання сухого екстракту трави та сухого екстракту кореневищ та коренів родовика лікарського, що культивовані в Україні, напрацьовані серії цих субстанцій. У серіях субстанцій визначено кількісний вміст суми флавоноїдів, суми кислот гідроксикоричних, суми поліфенолів та танінів. Встановлено нижні межі цих показників.

Встановлено, що за результатами визначення гострої токсичності сухий екстракт кореневищ та коренів родовика лікарського можна віднести до класу малотоксичних речовин, $LD_{50} > 5000$ мг/кг. БАР родовика лікарського проявляють антимікробні властивості, особливо на грампозитивні коки і дріжджові гриби.

Найбільш виражену активність проявляє сухий екстракт кореневищ та коренів родовика лікарського. БАР сухого екстракту кореневищ та коренів родовика лікарського проявляють кровоспинну дію на рівні 30 % у дозі 20 мг/кг, яка обумовлена високим вмістом сполук фенольного характеру.

У розділі 6 «Стандартизація трави родовика лікарського та субстанцій, одержаних з трави та кореневищ та коренів» запропоновано параметри стандартизації та вперше розроблено проект МКЯ «Родовика лікарського трави екстракт сухий». Кількісний вміст танінів у родовика лікарського екстракті сухому трави у перерахунку на пірогалол та сухий залишок повинен бути не менше 5,7 %; поліфенолів – не менше 15,0 %. Також запропоновано параметри стандартизації та вперше розроблено проекти МКЯ «Родовика лікарського кореневищ і коренів екстракт сухий» та «Родовика лікарського трави екстракт сухий». Кількісний вміст танінів у родовика лікарського кореневищ і коренів екстракті сухому у перерахунку на пірогалол та сухий залишок повинен бути не менше 8,0 %; поліфенолів – не менше 20,0 %.

Отримані сухі екстракти на основі сировини родовика лікарського є конкретною реалізацією наукової задачі системного фармакогностичного вивчення трави та кореневищ і коренів родовика лікарського.

Підводячи висновки, можна сказати, що дисертаційна робота Кудрі Вікторії Вікторівни базується на значному обсязі доказового експериментального матеріалу, що сприяє створенню наукового підґрунтя для всіх подальших досліджень сировини родовика лікарського та лікарських субстанцій на її основі.

В дисертації можна відзначити такі дискусійні моменти:

1. У розділі 1 – огляді літератури бажано б було більше уваги приділити характеристиці умов культивування та наявності сортів, якщо вони мають місце як декоративні.

2. Бажано було б порівняти одержані результати з даними визначення параметрів дикорослої сировини родовика вітчизняних регіонів заготівлі.

3. У підрозділі 3.11 наведені результати вивчення макро- та мікроелементного складу сировини родовика лікарського, але відсутні дані щодо

елементного складу ґрунтів місцевості, де проводилась заготівля зазначених зразків ЛРС. Тому важко зробити висновок щодо можливого концентрування окремих елементів у досліджуваних видах сировини.

4. У роботі зустрічаються невдалі вислови, орфографічні та граматичні помилки.

Вказані дискусійні моменти не впливають на загальну позитивну оцінку роботи, яка виконана на сучасному науковому рівні і розвиває актуальний наукову задачу – системне фармакогностичне вивчення сировини родовика лікарського, створенню лікарських субстанцій на її основі з встановленням їх фармакологічної активності, стандартизацією сировини та субстанцій.

Зміст автореферату відповідає основним положенням дисертаційної роботи, він в цілому відображає обсяг і результати проведених досліджень та проілюстрований достатньою кількістю рисунків і таблиць. В авторефераті висвітлено наукову новизну та практичне значення, надано інформацію про публікації дисертанта у наукових фахових виданнях.

Рекомендації щодо використання дисертаційного дослідження. Оскільки сухі екстракти трави та кореневищ з коренями родовика лікарського проявили ряд видів біологічної активності, то було б доцільно провести подальші дослідження та обрати оптимальну лікарську форму для впровадження у промислове виробництво одержаних засобів.

Висновок. Дисертаційна робота Кудрі Вікторії Вікторівни «Фармакогностичне дослідження родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.), культивованого в Україні», є завершеною науково-дослідною працею, в ході якої отримані нові науково обґрунтовані теоретичні та експериментальні результати, що дозволили вирішити актуальну наукову проблема створення лікарських препаратів актуальної спрямованості дії. З огляду на актуальність теми, наукову новизну, високий сучасний рівень і обсяг проведених експериментальних досліджень, практичне значення, а також повноту викладення одержаних результатів у публікаціях в фахових наукових виданнях, вважаю, що дисертаційна робота Кудрі Вікторії Вікторівни «Фармакогностичне

дослідження родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis L.*), культивованого в Україні» цілком відповідає положенням «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року, а її автор Кудря Вікторія Вікторівна заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

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

О.П. Хворост

Підпис Хворост О.П. засвідчую
Начальник відділу кадрів НФаУ



З.Ф. Подстрелова