

ВІДГУК

офіційного опонента, професора кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, доктора фармацевтичних наук Карпюк Уляни Володимирівни на дисертаційну роботу Гордей Карини Романівни «Фармакогностичне вивчення маруни дівочої та розробка лікарських рослинних засобів на її основі»,

подану до спеціалізованої вченої ради ДФ 64.605.026 при Національному фармацевтичному університеті, що утворена наказом МОН № 765 від 02.07.2021 р. для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність теми досліджень та зв'язок її з науковими програмами, планами та темами

У наш час пошук та створення нових лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини залишається актуальним та має тенденцію до розвитку. Певним чином, це пояснюється вищим рівнем безпечності лікарських рослинних засобів порівняно із синтетичними лікарськими засобами. Окрім цього, стрімкий технічний прогрес дозволяє поглибити знання про недостатньо вивчені лікарські рослини, їх хімічний склад та використання у медицині. Однією із перспективних рослин є маруни дівоча, яка має унікальний хімічний склад та широко культивується в Україні.

Проведений дисертантом аналіз наукових першоджерел показав, що маруна дівоча використовується у більшості західних країн як антимігренозний та протизапальний засіб, а наразі вивчається її протиракова активність. Такий широкий спектр фармакологічної активності зумовлений сесквітерпеновими лактонами та фенольними сполуками у складі сировини. Трава маруни дівочої є офіційною сировиною, однак комплексних досліджень даного виду не проводилось раніше. Окремий інтерес представляють сорти маруни дівочої, що мають подібний склад до виду та їх вивчення є перспективним у якості додаткової сировини.

Також важливим питанням є врахування особливостей хімічного складу сировини та їх подальше відображення у національній частині до монографії Державної фармакопеї України «Маруни дівочої трава».

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (№ держреєстрації 0103U000476) та Проблемної комісії «Фармація» МОЗ і АМН України.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення серій трави маруни дівочої, що заготовляли у 7 областях України.

У ході дисертаційної роботи проведено дослідження якісного складу та кількісного вмісту біологічно-активних речовин у траві маруни дівочої. Встановлено, що БАР маруни дівочої представлені переважно ефірною олією, сесквітерпеновими лактонами, фенольними сполуками, жирними і органічними кислотами. Ідентифіковано 97 сполук різної природи.

Дисертантом уперше:

- актуалізовано якісний склад та кількісний вміст вітчизняних зразків сировини маруни дівочої;
- з вітчизняних серій трави маруни дівочої та її сортів отримано ефірну олію, а методом ГХ-МС у траві маруни дівочої виявлено 23 компоненти ефірної олії;
- ідентифіковано методами ТШХ та ВЕРХ 14 сполук фенольної природи у вітчизняній сировині маруни дівочої, із яких 5 речовин визначено уперше для даного виду: неохлорогенову кислоту, 4-О-кафеїлхінову кислоту, кемпферол-3-рутинозид, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид;
- розроблено методику ідентифікації флавоноїду сантину методом ТШХ;
- виявлено партенолід у зразках трави маруни дівочої та її сортів методом ТШХ та методом ВЕРХ визначено його вміст, який варіював від 0,16 % до 0,39 %;
- визначено антирадикальну активність у вітчизняних серіях трави маруни дівочої та її сортах White Gem та Phlora Pleno;
- досліджено динаміку накопичення партеноліду та фенольних сполук у вітчизняних зразках трави маруни дівочої.
- визначено вміст 14 мінеральних сполук у серіях трави маруни дівочої і сортах White Gem та Phlora Pleno.
- досліджено морфолого-анатомічну будову трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno, визначено загальні та відмінні ознаки;
- розроблено технології одержання екстрактів із трави маруни дівочої, проведено дослідження їх складу та стандартизацію;
- проведено дослідження фармакологічних ефектів отриманих екстрактів.

Практична значимість роботи. Перспективність використання трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno як додаткової сировини підтверджено широким спектром досліджень.

До національної частини монографії «Маруни дівочої трава» до розділу «Ідентифікація Б» запропоновано внести виявлені додаткові діагностичні мікроскопічні ознаки трави маруни дівочої. Окремо запропоновано в національну частину монографії «Маруни дівочої трава» внести додатково визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот методом СФ (не менше 2 %), що підтверджено актом впровадження № 11/1330-5 від 28.09.2020 р.

Розроблено інформаційний лист «Терміни заготівлі трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.)» (видано за № 252-2019 від

36.03.2019 р.) із результатами досліджень динаміки накопичення суми фенольних сполук у траві маруни дівочої.

Отримано патент 140385 України на корисну модель «Засіб з протизапальною дією» на технологію отримання густого водно-спиртового екстракту із трави маруни дівочої.

Розроблено проекти МКЯ на отримані лікарські рослинні препарати «Тапацетіл екстракт густий» та «Танапарт екстракт густий», апробовані на ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК»».

Дані експериментальних досліджень маруни дівочої та її сортів впроваджено в навчальний процес 4 профільних кафедр ЗВО України: кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет»; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій дисертації та їх достовірність. Дисертаційна робота Гордей Карини Романівни основана на комплексному та системному підході, встановлені наукові положення, висновки та рекомендації, наведені в дисертаційній роботі є повністю обґрунтованими та мають практичне значення.

Робота виконана на належному рівні з використання сучасних методів дослідження. Достовірність отриманих результатів підтверджена статистичною обробкою отриманих даних. Структура дисертація характеризується логічністю викладення матеріалу. Достовірність результатів і висновків не викликають сумніву.

Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків. Дисертаційну роботу викладено на 190 сторінках машинописного тексту, вона складається з анотації, вступу, огляду літератури, 5 розділів, загальних висновків, списку джерел літератури і додатків. Обсяг основного тексту становить 148 сторінок. Робота ілюстрована 44 рисунками і 29 таблицями. Список використаної літератури складає 160 найменувань, з них кирилицею – 29 та латиницею – 131.

У **вступі** визначено актуальність обраної теми, сформульовані мета, задачі досліджень, висвітлено наукову новизну і практичне значення отриманих результатів.

У **розділі 1** проведено аналіз літератури. Дисертант висвітлює аспекти систематичного походження та ботанічної характеристики виду, ареалів розповсюдження, стану вивченості хімічного складу та фармакологічної активності маруни дівочої та її сортів Phlora Pleno і White Gem . Дисертантом проведено аналіз існуючих монографій на офіційну сировину маруни дівочої та підтверджено необхідність у розробці національної частини монографії до Державної фармакопеї України з використанням сучасних аналітичних методик. Дисертантом проаналізовані літературні джерела щодо

сортів маруни дівочої та актуальності їх використання як додаткової сировинної бази.

У розділі 2 обґрунтовано вибір об'єктів дослідження, прилади та методи дослідження. Об'єктами дослідження були трава маруни дівочої та її сортів, заготовлені у різних областях території України та густі екстракти на основі трави маруни дівочої.

У розділі 3 наведено результати порівняльного аналізу хімічного складу серій трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno.

Отримано ліпофільні фракції з досліджуваних зразків та визначено їх вміст: для трави маруни дівочої – 5,7 %, сорту Phlora Pleno – 4,1 %, сорту White Gem – 3,9 %. В отриманих фракціях ідентифіковано хлорофіл а, хлорофіл b та β-каротин.

У досліджуваних зразках виявлено та ідентифіковано 35 карбонових кислот. Загальний вміст карбонових кислот у траві маруни дівочої склав 26540,13 мг/кг, сорту Phlora Pleno – 22960,52 мг/кг та сорту White Gem – 24312,51 мг/кг відповідно. Серед визначених карбонових кислот у всіх зразках домінували бурштинова, левулінова, лимонна, щавлева та ліноленова кислоти.

Отримано ефірну олію з вітчизняних серій трави маруни дівочої та її сортів, її вміст коливався в межах від 0,39 до 1,60 %. В ефірній олії маруни дівочої виявлено 44 сполуки, сорту Phlora Pleno – 37, сорту White Gem – 34. Найбільшу кількість компонентів ефірної олії ідентифіковано в зразку White Gem – 4390,64 мг/кг, у 2 рази менше в зразку сорту Phlora Pleno – 2194,81 мг/кг, та у 3,2 рази менше в ефірній олії трави маруни дівочої – 1375,02 мг/кг. Домінантними компонентами в усіх зразках були камфора, транс-хризантеїлацетат та фенхілацетат.

Методами ТШХ та ВЕРХ ідентифіковано фенольних 14 сполук. Уперше в досліджених зразках ідентифіковано неохлорогенову кислоту, 4-О-кафеїлхінову кислоту, кемпферол-3-рутинозид, лутеолін, лутеолін-7-глюкозид.

Розроблено методику ідентифікації ліпофільного флавоноїду сантину методом ТШХ. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів (від 0,79 до 3,03 %) та суми гідроксикоричних кислот (від 3,34 до 6,47 %). Домінантним компонентом у зразках трави маруни дівочої була 3,5-дикофеїлхінова кислота (від до 5402,57 до 11276,17 мкг/г).

Визначено антирадикальну активність у досліджуваних зразках. У серіях трави маруни дівочої антирадикальна активність варіювала від 86,49 до 127,89 мкмоль/л. У траві маруни дівочої з 7 речовин, що виявляли антирадикальну активність, ідентифіковано хлорогенову кислоту, а в траві сортів White Gem та Phlora Pleno з 12 сполук ідентифіковано рутин та хлорогенову кислоту.

Визначено елементний склад у серіях трави маруни дівочої та сортах White Gem та Phlora Pleno. Найбільший сумарний вміст елементів визначено в зразку трави маруни дівочої з Харківської області (6402,77 мг/100г). Серед

визначених елементів у всіх зразках доміантними були калій, кальцій, магній та силіцій.

У розділі 4 визначено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави маруни дівочої та її сортів, виділено загальні та відмінні ознаки. Наведено методики ідентифікації і встановлення кількісного вмісту партеноліду у досліджуваних зразках. Визначено оптимальні терміни заготівлі трави маруни дівочої.

Досліджено вітчизняні серії трави маруни дівочої згідно з вимогами ДФУ до якості сировини. Виявлено додаткові діагностичні мікроскопічні ознаки, які запропоновано внести до національної частини монографії «Маруни дівочої трава»: 4-6-клітинні головчасті волоски; стебло ребристе, у ребрах субепідермально розташована 5-6-шарова кутова коленхіма; склеренхіма розташована над пучками і між ними; судини ксилеми спіральні та пористі; схізо-лізигенні вмістища з брунатним вмістом у паренхімі ложа кошика; сосочкоподібна епідерма несправжньоязичкових квіток; паренхімні, прямостінні клітини епідерми трубчастих квіток; кристали оксалату кальцію у листочках обгортки представлені друзами.

В усіх серіях трави маруни дівочої та її сортів методом ТШХ згідно з методикою ДФУ ідентифіковано партенолід ($R_f = 0,5$). Визначено вміст партеноліду в серіях сировини маруни дівочої, який коливався від 0,16 % до 0,39 %. Високий вміст партеноліду визначено в сортах Phlora Pleno – 0,56 % та White Gem – 0,47 %. Проведено верифікацію методики кількісного визначення партеноліду за такими критеріями: лінійність, правильність та прецизійність. Методика визначення партеноліду задовольняла критеріям прийнятності валідаційних показників за необхідними критеріями.

Запропоновано до національної частини монографії «Маруни дівочої трава» внести додатково визначення сантину методом ТШХ та вмісту суми гідроксикоричних кислот методом СФ (не менше 2 %), що підтверджується актом впровадження № 11/1330-5 від 28.09.2020 р.

Досліджено динаміку накопичення партеноліду та суми флавоноїдів і суми гідроксикоричних кислот у траві маруни дівочої, визначено оптимальну фазу для накопичення цих БАР і період заготівлі сировини – масове цвітіння.

У розділ 5 наведені результати вивчення умов екстрагування та розробки технології отримання екстрактів на основі трави маруни дівочої, аналіз їх хімічного складу та дослідження біологічної дії екстрактів. Для отримання густого екстракту «Танапарт» оптимальним обрано метод циркуляційної екстракції, екстрагент – хлороформ, час екстракції – 2,5 години.

Для отримання густого екстракту «Тапацетіл» оптимальним екстрагентом обрано 70 % етанол, час настоювання – 12 годин, співвідношення сировина/екстрагент – 1:12, кратність екстракцій – 3, температура екстракції – 25 °С. Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 140385 від 25.02.2020 р.

Ідентифіковано та визначено кількісний вміст партенолідиду у екстракті «Танапарт» методом ТШХ та ВЕРХ. Вміст партенолідиду в досліджуваному екстракті «Танапарт» склав $6,48 \pm 0,02$ %.

Досліджено якісний склад та кількісний вміст сполук фенольної природи в екстракті «Тапацетіл». Методом ВЕРХ ідентифіковано 12 сполук загальною сумою 72432,09 мкг/г. У найбільшій кількості містилась 3,4-дикофеїлхінна кислота (27304,75 мкг/г).

Досліджено якісний склад сполук, що виявляли антирадикальну активність у екстракті «Тапацетіл». В екстракті виявлено 11 сполук зі здатністю зв'язувати вільні радикали, з них ідентифіковано хлорогенову кислоту та рутин. Загальна сума Тролокс-еквівалент антирадикальної ємності досліджуваного екстракту склала 27285,52 мкг/г.

Розроблено проекти МКЯ на екстракти «Танапарт» і «Тапацетіл».

Проведено дослідження фармакологічної активності екстрактів трави маруни дівочої «Танапарт» і «Тапацетіл». Підтверджено антибактеріальну, антигрибкову, протизапальну та анальгетичну активність екстрактів. Екстракт «Тапацетіл» виявляв протизапальну активність у дозі 50 мг/кг на моделях карагенінового та гістамінового набряку. Анальгетична активність екстракту «Танапарт» у дозі 50 мг/кг складала 60,53 %.

За матеріалами дисертації опубліковано 26 наукових робіт, у тому числі 7 статей у наукових фахових виданнях, 17 тез доповідей, 1 патент України на корисну модель та 1 інформаційний лист.

Результати дисертації були оприлюднені на 17 конференціях, у тому числі і міжнародних.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації, завершеність дисертації в цілому. Дисертаційна робота оформлена відповідно до чинних вимог, містить всі необхідні ознаки актуальності, наукової і практичної значущості. Результати роботи вірогідні, висновки зроблені на їх основі не викликають заперечень.

Відмічаючи актуальність, наукову і практичну значимість дисертаційної роботи Гордей Карини Романівни слід висловити деякі зауваження:

1. У розділі 1 згадано про специфічні сполуки маруни дівочої «піретрини». Наявність формул даних речовин та більш детальний опис їх будови, дії, використання були б доречні та розширили б розуміння особливостей згаданих сполук.

2. У таблиці 3.3 та 3.9 відсутні значення стандартного відхилення та довірчого інтервалу

3. У розділі 3 наведено результати розробки методики ідентифікації сировини маруни дівочої за наявністю сантину методом ТШХ, де змінено аліквоту стандартного зразка сантину та фазу розділення. Доречним було б описати необхідність наведених змін та підкреслити різницю методик.

4. У роботі мають місце окремі стилістичні та граматичні помилки, невдалі вирази.

Але, наявні зауваження є незначними та не впливають на рівень проведених досліджень і не знижують наукового та практичного значення роботи.

Під час ознайомлення із дисертацією виникли деякі дискусійні питання, зокрема:

1. Які види родини *Asteraceae* можуть виступати домішками до сировини маруни дівочої? Чи була необхідність порівняння морфологічного та хімічного аналізу сировини маруни дівочої із сировиною представників роду *Tanacetum*, *Matricaria*, *Chrysanthemum*, тощо.
2. У дисертаційній роботі описані відмінності у морфологічній будові трави маруни дівочої та її сортів. Чи виявлені морфологічні ознаки сировини маруни дівочої, що не описані у монографії на даний вид сировини у розділі «Ідентифікація А»? Яка перспектива подальшого дослідження сортів?

З усього вищевикладеного можна зробити висновок про те, що дисертаційна робота «Фармакогностичне вивчення маруни дівочої та розробка лікарських рослинних засобів на її основі» є закінченою науковою працею, в якій досягнута основна мета та вирішені задачі дослідження, і відповідає п.10 Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії, затвердженого Постановою КМУ від 6 березня 2019 р. № 167 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ від 21 жовтня 2020 р. № 979 та від 9 червня 2021 р. № 608) стосовно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор Гордей Карина Романівна – заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Професор кафедри фармакогнозії
та ботаніки Національного медичного
університету імені О.О. Богомольця
д.фарм.н., професор

У.В. Карпюк

