

ВІДГУК

офіційного опонента завідувача кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, доктора фармацевтичних наук, професора Світлани Михайлівни Марчишин на дисертаційну роботу Шпичак Аліни Олегівни «Фармакогностичне дослідження вітчизняної сировини представників роду Цетрарія», подану до спеціалізованої вченої ради ДФ 64.605.096 Національного фармацевтичного університету МОЗ України, що утворена наказом Національного фармацевтичного університету № 50-Адм. від 26.06.2024 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 дисертації

В сучасних умовах з числа інфекційних та паразитарних патологій, що становлять суттєві ризики в розвитку хронічних патологічних процесів організму є гострі інфекційні захворювання верхніх дихальних шляхів, зокрема ускладнених COVID-19, які вважають одними з найчастіших причин звернення пацієнтів до лікаря.

З метою вирішення проблеми стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів вкрай важливим та актуальним напрямком медичної та фармацевтичної науки є проведення науково-прикладних досліджень щодо цілеспрямованого пошуку, одержання та стандартизації нових ефективних вітчизняних біологічно активних субстанцій природного походження антимікробної та антиоксидантної дії.

Особливого значення у даному відношенні заслуговує лишайник цетрарія ісландська (*Cetraria islandica* (L.) Ach.) родини Пармелієві (*Parmeliaceae*) вітчизняної флори, який з успіхом використовується впродовж останніх десятиліть як у традиційній, так і у доказовій медицині Європи і Азії, зокрема при патологічних процесах верхніх дихальних шляхів та порушеннях

травлення.

Біологічно активні сполуки, що входять до складу сланей цетрарії ісландської, достатня вітчизняна сировинна база та наявність розробленої нормативної документації на рівні сировини фармакопейного значення відкривають широкі можливості для поглибленого системного дослідження вітчизняних представників роду Цетрарія, що підкреслює актуальність проведення даного дисертаційного дослідження та впровадження його результатів у практичну діяльність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

Наукова новизна отриманих результатів

У дисертації представлені результати наукового обґрунтування дослідження сировини представників роду Цетрарія, що зростають на території України. Дисертанткою уперше проведено системне фармакогностичне вивчення серій сланей *C. islandica* та *C. aculeata* вітчизняної заготівлі, у результаті якого з використанням сучасних методів аналізу в досліджуваній сировині встановлено ряд біологічно активних сполук, зокрема вільних та зв'язаних амінокислот, вуглеводів, жирних кислот, сполук фенольної природи, сполук, що переганялися з водяною парою.

Для доповнення національної частини монографії ДФУ 2.0 «Цетрарія ісландська», дисертанткою вперше диференційовано частку мінеральних та органічних домішок у серіях досліджуваної сировини, заготовленої в Україні.

Вперше для досліджуваної сировини *C. islandica* встановлено наявність флавонового аглікону лютеоліну, флавонолових агліконів кемпферолу та

кверцетину, а також похідного кверцетину – біозиду рутину, гідроксикоричної синапової кислоти, ароматичної ненасиченої карбонової кислоти з групи фенілпропаноїдів – *trans*-цинамової кислоти, та одноосновної полігідроксикарбонової хінної кислоти. У досліджуваних серіях сланей *C. islandica* та *C. aculeata* визначено кількісний вміст суми флавоноїдів, поліфенолів та органічних кислот.

Шпичак А. О. досліджено параметри технологічного процесу, зокрема здійснено вибір оптимального екстрагенту, часового терміну, співвідношення сировина-екстрагент для отримання екстракту густого сланей *C. islandica* вітчизняної заготівлі, розроблено його технологію, визначено основні параметри контролю якості та антиоксидантну і антимікробну активність одержаного екстракту.

Наукова новизна проведених досліджень підтверджена заявками на патент України на корисну модель «Спосіб одержання лікарського засобу у формі пластиру протизапальної, антимікробної, антиоксидантної дії» (№ заявки а202304172, заявл. 04.09.2023 р.) та патент України на винахід «Фармацевтична композиція протизапальної, протиалергійної та імуномодулювальної дії» (№ заявки u202304173, заявл. 04.09.2023 р.).

Практичне значення отриманих результатів

Дисертанткою обґрунтовано технологію одержання екстракту густого із сланей *C. islandica*, досліджено його антиоксидантну та антимікробну активність. Розроблено проєкт МКЯ «Цетрарії ісландської сланей екстракт густий».

Результати досліджень дисертаційної роботи Шпичак А.О. впроваджено в науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України; кафедри хімії та фармації Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя; кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного

медико-фармацевтичного університету.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Проведені дослідження виконані дисертанткою на сучасному науковому рівні. Сформульовані в роботі наукові положення, висновки та практичні рекомендації базуються на достатньо викладеному експериментальному матеріалі та логічно витікають з одержаних результатів дисертаційної роботи. Загальні висновки в дисертації викладені чітко, послідовно та стисло і повністю відображають суть і характер одержаних результатів наукової роботи, а їх достовірність не викликає сумніву. Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Шпичак А. О., містить нові науково-прикладні положення, що є перспективними для впровадження у практичну фармацію. Отримані дисертанткою результати проведених досліджень у повній мірі оприлюднені у фахових наукових виданнях та матеріалах науково-практичних конференцій.

Повнота викладення матеріалів дослідження

За матеріалами дисертаційної роботи здобувачка опубліковано 16 наукових робіт, у тому числі 5 статей (з них 1 – у виданні, що входить до переліку наукометричної бази Scopus та 4 – у вітчизняних наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України), 11 тез доповідей. Подано заявки на 1 патент України на корисну модель та 1 патент України на винахід. Результати дисертаційної роботи оприлюднено на науково-практичних конференціях та семінарах різного рівня.

Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків

Дисертаційна робота викладена на 184 сторінках друкованого тексту, складається із анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 139 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 29 таблицями та 33 рисунками. Список використаних джерел містить 193 найменування, з них 41

кирилицею та 152 латиницею.

Робота починається з **анотацій** українською та англійською мовами, у яких стисло представлено результати проведених наукових дисертаційних досліджень. Анотація, що викладена англійською мовою повністю відповідає змісту анотації українською мовою.

У **вступі** дисертанткою обґрунтовано вибір теми дисертації, викладено мету, завдання, об'єкти, предмет, методи дослідження, розділи, що містять опис наукової новизни і практичного значення одержаних результатів, інформацію щодо особистого внеску здобувача, апробацію результатів дисертаційної роботи, її обсяг і структуру.

Перший розділ присвячений аналізу наукових літературних першоджерел щодо ботанічної характеристики, хімічного складу та застосування представників роду Цетрарія, за результатами якого обґрунтована доцільність проведення подальшого системного фармакогностичного дослідження серій сланей *C. islandica* та *C. aculeata* вітчизняної заготівлі та перспективи розробки на їх основі нових рослинних стандартизованих субстанцій та фітопрепаратів.

У **другому розділі** наведено інформацію про об'єкти, методи, методики, прилади та реактиви, які використовували при проведенні наукових досліджень. У роботі використано сучасні фізичні, фізико-хімічні, хімічні, фармако-технологічні, товарознавчі, мікробіологічні методи та методи математичної статистики.

У **третьому розділі** представлено результати морфологічного та анатомічного аналізу 7-ми досліджуваних серій сланей *C. islandica*, встановлено їх морфометричні параметри та визначено фракційний склад за розмірами сланей з відсотковим співвідношенням фракцій.

Уперше для досліджуваної сировини дисертанткою диференційовано частку домішок, регламентованих монографією «Цетрарія ісландська» ДФУ 2.0, на мінеральні та органічні. Встановлено відповідність опису серій сланей *C. islandica* вимогам розділів «Ідентифікація А» та «Ідентифікація В»

монографії. Вперше визначено такі діагностичні особливості морфологічної будови, як: зростання лопатей за допомогою перетинок і розгалуженість війок по краю лопатей.

Встановлено особливості морфолого-анатомічної будови сланей *C. aculeata*. Досліджено морфометричні параметри цілих сланей та характерні для даного виду ознаки: розміри, характер розгалуження, колір сланей, особливості поверхні. Встановлені діагностичні ознаки сланей *C. islandica* запропоновані автором для подальшого включення їх до відповідного розділу національної частини монографії ДФУ 2.0 «Цетрарія ісландська».

Четвертий розділ містить результати визначення якісного складу та кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин у досліджуваних серіях сировини *C. islandica* та *C. aculeata*.

У сировині *C. islandica* методом ВЕРХ ідентифіковано 7 сполук, що належать до амінокислот, з яких 5 замінні та 2 – незамінні.

Методом ГХ/МС у сланях *C. islandica* ідентифіковано не менше 2 вільних моносахаридів з домінуванням персеїтолу та не менше 7 зв'язаних моносахаридів, серед яких домінувала глюкоза.

Методом ГХ/МС у досліджуваній сировині встановлено якісний склад та кількісний вміст жирних кислот. Одержані результати кількісного вмісту насичених (арахінової, пентадецилової, стеаринової) та ненасичених (лінолевої, елаїдинової та олеїнової) жирних кислот у сировині *C. islandica*, дисертантом визначено вперше.

Методом спектрофотометрії визначено кількісний вміст аскорбінової кислоти у 7 досліджуваних серіях сланей *C. islandica* та сланях *C. aculeata*, що становить не менше 15,0 мг% та 9,0 мг% відповідно.

Титриметричним методом проведено визначення кількісного вмісту суми органічних кислот у 7 досліджуваних серіях сланей *C. islandica* та сланях *C. aculeata* у перерахунку на яблучну кислоту, що становив від 2,8 % у зразках сировини *C. islandica* та 2,1 % – у сланях *C. aculeata*.

З використанням методу ГХ/МС проведено дослідження сполук, що

переганялися з водяною парою, у сланях *C. islandica*, заготовлених в Україні, у результаті якого ідентифіковано 24 сполуки, у тому числі: терпеноїди та їхні похідні, ациклічні насичені вуглеводні, дієнові вуглеводні, жирні кислоти, естери тощо.

Кількісний вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол у досліджуваних серіях сировини *C. islandica* становив не менше ніж 1,2 %, а у сланях *C. aculeata* – 0,8 %.

Методом ВЕРХ у сировині *C. islandica* визначено 4 сполуки флавоноїдної природи. Наявність флавонового аглікону лютеоліну, флавонолових агліконів кемпферолу та кверцетину, а також похідного кверцетину – біозиду рутину для сланей встановлена вперше. Кількісний вміст суми флавоноїдів в сланях *C. islandica* у перерахунку на гіперозид становив не менше 0,5 %, а у сланях *C. aculeata* – 0,2 %.

Методом ВЕРХ визначено якісний склад 3-х сполук, що належать до карбонових кислот та виділено в індивідуальному стані одну речовину з лишайникових кислот, структуру якої було встановлено як фумаропротоцеттарову кислоту. Мінеральний склад досліджуваних серій сировини *C. islandica* був представлений 19 елементами з домінуванням калію.

У п'ятому розділі дисертантка наводить результати проведених досліджень з визначення основних технологічних параметрів серій *C. islandica*, зокрема втрати маси при висушуванні, питомої, об'ємної і насипної густини, пористості, порізності, вільного об'єму шару, коефіцієнтів поглинання ряду екстрагентів та ін.

На підставі одержаних результатів проведених досліджень розроблено технологію одержання цетрарії ісландської сланей екстракту густого. Встановлено оптимальні параметри для одержання екстракту густого, зокрема: ступінь подрібнення сировини – 3-5 мм; екстрагент – водно-етанольна суміш у концентрації 70 %; співвідношення сировина – екстрагент – 1:10; спосіб екстракції – дробова мацерація; кратність зливів – 2; час однієї операції – 12 год.; температура проведення процесу екстракції – 20 ± 2 °С.

Визначені оптимальні умови екстрагування для водних і водно-етанольних екстрактів сланей *C. islandica* з метою вилучення екстрактивних речовин та суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, як потенційних критеріїв для оцінки якості одержаного екстракту густого.

Розроблено технологічну блок-схему виробництва цетрарії ісландської сланей екстракту густого у промислових умовах та визначено критичні параметри технологічного процесу його виробництва. Результати визначення показників якості використано при розробці проєкту МКЯ «Цетрарії ісландської сланей екстракт густий», а досліджені технологічні параметри були враховані при розробці технології одержання екстракту густого та фітопрепаратів на основі досліджуваної сировини, що наведені у поданих заявках до патенту України на корисну модель та патенту України на винахід.

Досліджено спектр антимікробної активності цетрарії ісландської сланей екстракту густого, вивчено антирадикальну активність різних витяжок сланей *C. islandica* та цетрарії ісландської сланей екстракту густого, що підтверджує значне підвищення антирадикальної активності при використанні як екстрагенту водно-етанольних сумішей у концентраціях від 60 % до 90 % та 96 % етанолу.

Слід відзначити, що експериментальна частина дисертаційної роботи Шпичак А. О. виконана на високому науковому рівні, має теоретичне обґрунтування, експериментальне підтвердження, наукову новизну та практичне значення. Висновки в роботі повністю відповідають поставленій меті та завданням досліджень, є чіткими, лаконічними та обґрунтованими. Одержані результати, що викладені в дисертації добре розпубліковані у вітчизняних фахових виданнях та у науковій праці, опублікованій в журналі, що цитується в наукометричній базі Scopus.

Оцінюючи дисертаційну роботу Шпичак Аліни Олегівни у цілому позитивно, відзначаючи її актуальність, наукову та практичну цінність, слід висловити деякі зауваження та пропозиції:

1. Для більш системного і повного фітохімічного аналізу сировини варто

було б приділити більшу увагу вивченню лишайникових кислот.

2. Доцільно було б визначити кількісний вміст полісахаридів цетрарії ісландської – ліхеніну та ізоліхеніну.

3. З огляду на системність дослідження варто було б провести порівняльний аналіз кількісного вмісту основних груп БАР у зразках сировини з різних регіонів України.

4. У дисертації наявні поодинокі технічні помилки, по тексту роботи зустрічаються окремі невдалі стилістичні вирази.

6. У списку використаних джерел зустрічаються статті, які опубліковані понад 10 років тому.

Однак, вище зазначені зауваження не є принциповими, мають редакційний характер і не зменшують наукову новизну та практичну цінність дисертаційної роботи.

У порядку наукової дискусії вважаю доцільним, щоб дисертантка відповіла на такі запитання:

1. Які лікарські форми Ви плануєте з отриманої субстанції?

2. Чому Ви не використали гістохімічні реакції для з'ясування локалізації ряду БАР?

3. Обґрунтуйте, будь ласка, чому Ви обрали метод мацерації при одержанні субстанції з досліджуваної Вами сировини?

Висновок про відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України

Розглянувши дисертацію Шпичак Аліни Олегівни «Фармакогностичне дослідження вітчизняної сировини представників роду Цетрарія» та наукові праці, в яких в повному обсязі висвітлено основні результати проведених експериментальних досліджень, вважаю, що представлена робота є самостійною працею та актуальним і завершеним науковим дослідженням, у якому наведено нові науково обґрунтовані результати. Робота виконана на високому науковому рівні з використанням сучасних методів аналізу. В роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Таким чином, дисертаційна робота Шпичак Аліни Олегівни «Фармакогностичне дослідження вітчизняної сировини представників роду Цетрарія» за актуальністю, обсягом проведених досліджень, науковою новизною, практичним значенням та рівнем впровадження одержаних результатів, відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Офіційний опонент:

завідувач кафедри фармакогнозії

з медичною ботанікою

Тернопільського національного медичного

університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,

доктор фармацевтичних наук, професор

Світлана МАРЧИШИН

