

ВІДГУК

офіційного опонента професора Грицика Андрія Романовича на дисертаційну роботу Врубель Ольги Романівни на тему «Фармакогностичне дослідження бруслини європейської (*Euonymus europaea* L.)», представлену до спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Актуальність теми. Пошук нових джерел біологічно активних субстанцій різної фармакологічної дії серед рослин флори України для розширення номенклатури вітчизняних лікарських препаратів є актуальним. Представники роду Бруслина (*Euonymus* L.) родини Бруслинові (*Celastraceae* Lindl.) використовують в народній медицині. Широко розповсюдженими на території України є 2 види цього роду, а саме бруслина (б.) європейська (*Euonymus (E). europaea* L.) та б. бородавчаста (*E. verrucosa* Scop.). Види роду вміщують алкалоїди, сесквітерпени, флавоноїди, жирна олія, білки, зокрема лектини, екстракти, отримані із різних сировинних органів рослин цього роду, проявляють антиоксиданту, антирадикальну, антимікробну дію та інсектицидну активність. Актуальним є дослідження бруслини європейської, враховуючи доступну інформацію про хімічний склад і біологічну дію.

Це є передумовою для проведення фармакогностичного дослідження бруслини європейської флори України з метою пошуку перспективних джерел сировини для отримання біологічно активних.

Дисертаційна робота Врубель Ольги Романівни присвячена системному фармакогностичному дослідженню бруслини європейської, розробці комплексної методики отримання БАР з сировини та вивченню фармакологічної дії одержаних біологічно активних субстанцій.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планами проблемної комісії «Фармація»

МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (№ державної реєстрації 0116U004500, шифр теми ІН 10.06.0001.16).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, їх достовірність. При вирішенні поставлених у дисертації завдань дисертантом було використано як традиційні, так і сучасні методи досліджень: морфологічні, органолептичні і анатомічні, фізико-хімічні, фізичні, хімічні, технологічні, фармакологічні, мікробіологічні та статистичні.

Наукові положення дисертації та висновки обґрунтовані і логічно витікають з результатів власних досліджень.

Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Врубель О.Р., є перспективним для впровадження у практичну медицину та фармацію.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертантом проведено комплексне дослідження б. європейської. В об'єктах дослідження за допомогою якісних реакції, тонкошарової (ТШХ), газової (ГХ) та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ-МС) та імунохімічних реакцій (реакція гемаглютинації та пригнічення гемаглютинації) встановлено наявність лектинів, жирних кислот, токоферолів, каротиноїдів, стероїдів, сквалену та інших сполук терпенової природи.

Вперше одержано лектин з кори б. європейської та здійснено його очистку з використанням методів осадження, діалізу, центрифугування, афінної, іонообмінної та гель-хроматографії, ліофільного висушування. Проведено порівняльний аналіз лектинів кори та насіння б. європейської. Встановлено ідентичність одержаних лектинів з використанням сучасних методів електрофорезу та диск-електрофорезу, взаємодії з еритроцитами, визначенням вуглеводної специфічності та використанням у гістологічних дослідженнях.

Одержано жирну олію б. європейської, методом ГХ-МС досліджено її хімічний склад. В жирній олії визначено вміст токоферолів (40 ± 5 мг% в перерахунку на α -токоферол) та каротиноїдів (26 ± 5 мг% в перерахунку на β -каротин). У жирній олії методом високоефективної хроматографії з УФ-

детекцією із оберненою фазою (RP-HPLC_{UV}) виявлено та визначено кількісний вміст сквалену (1,84 мг/мл).

Методом ГХ-МС в ліпофільній фракції листків та квітів б. європейської виявлено 19 і 28 сполук відповідно. Кора, квіти і листя б. європейської характеризуються високим вмістом парафінових вуглеводнів (від C₂₀H₄₂ до C₃₁H₆₄). Їх вміст є найвищим у квітах (понад 50 % від усіх ліпофільних речовин), а в листках і корі складає біля 35 %.

Дисертантом проведено морфолого-анатомічний аналіз листя, кори, насіння б. європейської, встановлено основні діагностичні ознаки рослини.

Вперше вивчено гостру токсичність жирної олії насіння б. європейської та досліджена протизапальна активність.

Новизну досліджень підтверджено та захищено патентом України на корисну «Спосіб одержання лектину бруслини європейської (*Euonymus europaea* L.)». № 59331 від 10.05.2011 р.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено технологічну схему промислової переробки насіння б. європейської, яка передбачає сумісне отримання лектину і жирної олії. За результатами дисертаційної роботи розроблено «Лабораторний регламент одержання лектину з кори бруслини європейської (*Euonymus europaeus* L.)», який використовують в практичній роботі НВК «Лектинотест».

Запропоновано насіння бруслини європейської як джерело жирної олії, опрацьовано критерії та параметри її стандартизації і підготовлено проекти МКЯ «Бруслини європейської насіння», «Бруслини європейської олія насіння» та «Інструкції із заготівлі та сушіння насіння бруслини європейської», «Інструкції із заготівлі та сушіння кори бруслини європейської».

Результати наукових досліджень впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедр ЗВО України.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз літературних даних щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічних властивостей, особливостей використання б. європейської. Разом з науковим керівником

здобувачем визначені мета, завдання, методики експериментальних досліджень. Проведено заготівлю сировини, вивчення якісного складу і кількісного вмісту БАР б. європейської, підготовку проб для проведення ГХ, ГХ-МС, ВЕРХ та фармакологічних досліджень. Досліджено морфолого-анатомічні особливості будови листя, кори та насіння досліджуваної рослини та розроблено проекти МКЯ на нові перспективні види лікарської рослинної сировини та субстанції, одержані із них. Обґрунтовано технологію спільного одержання лектинів та ліпофільних сполук із кори та насіння бруслини європейської. Здійснено статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів, оформлено усі розділи дисертаційної роботи. Дисертантом взято безпосередню участь в оформленні статей, тез доповідей та патенту України на корисну модель. Наукові роботи опубліковані у співавторстві з науковим керівником Дармограєм Р. Є. та науковцями, спільно з якими проведені дослідження, що відображено в списку опублікованих праць.

Повнота викладу матеріалів дослідження в опублікованих роботах. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць, 2 статті у вітчизняних наукових фахових виданнях, 3 статті у міжнародних фахових виданнях (Естонія та Індія), 1 стаття у виданні, що включене до міжнародних наукових баз даних, 7 тез конференцій та 1 патент на корисну модель.

Результати досліджень пройшли апробацію на наукових конференціях різних рівнів.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційну роботу викладено на 156 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 133 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 24 таблицями, 44 рисунками. Список використаних джерел містить 196 найменування, з них 66 кирилицею та 129 латиницею.

Анотація дисертаційної роботи оформлена згідно до вимог наказу № 40 МОН України від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

У *вступі* Врубель О.Р. обґрунтовує актуальність обраної теми дослідження, формулює мету та завдання досліджень, відзначає наукову новизну та практичне значення отриманих результатів.

Перший розділ присвячено аналізу ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічних властивостей бруслини європейської. Дисертантом поведено детальний аналіз джерел літератури щодо систематичного положення, морфологічних особливостей, географічного поширення, стану природних ресурсів та культивування, хімічного складу та використання бруслини європейської в медицині. Дисертант робить висновок, що рослинна сировина вміщує різні групи БАР, проявляє різнобічну фармакологічну активність. Недостатнє їх фітохімічне та фармакологічне дослідження бруслини європейської створює передумови для комплексного вивчення субстанцій з метою створення на основі їх БАР нових лікарських засобів.

У *другому розділі* автор наводить дані щодо об'єктів, матеріалів та методів дослідження. Для досліджень використано сучасні фізичні, фізико-хімічні, хімічні, макро-і мікроскопічні, технологічні, фармакологічні, мікробіологічні та статистичні методи.

У *третьому розділі* автором дисертації проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту біологічно активних речовин бруслини європейської.

Дисертантом з кори бруслини європейської виділено лектин, який за вуглеводною специфічністю не відрізняється від лектину насіння рослини. Проведено порівняльне дослідження імунохімічних властивостей лектинів кори та насіння бруслини європейської. Гістохімічне дослідження зв'язування лектинів кори та насіння з глікокон'югатами тканин савців підтвердило їх ідентичність.

Врубель О.Р. дослідила динаміку змін гемаглютинуючої активності лектинів в сировинних органах бруслини європейської протягом річного вегетаційного циклу розвитку рослини, визначила оптимальні календарні терміни заготівлі сировини для отримання цих субстанцій. Дисертант наводить результати одержання жирної олії насіння бруслини європейської, дослідження

вмісту жирних кислот, каротиноїдів та токоферолів у олії рослини: виявлено 9 жирних кислот, вміст каротиноїдів становить $26 \pm 5 \%$ та токоферолів - $40 \pm 5 \%$. У жирній олії бруслини європейської виявлено сквален (1,84 мг/мл).

Розроблено схему комплексного одержання біологічно активних речовин кори бруслини європейської, що передбачає отримання ліпофільних фракцій шляхом екстракції метанолом та хлороформом після виділення лектину.

Визначено хімічний склад ліпофільних фракцій, де переважали вуглеводні, жирні олії, стероїди та тритерпенові сполуки. Встановлено, що кора і листя є перспективнішими сировинними джерелами, ніж квітки. Вперше проведено визначення основних мікроелементів у листках і корі бруслини європейської, вміст токсичних елементів і важких металів не перевищував нормативів ВООЗ і ДФУ 2.0.

У четвертому розділі висвітлено матеріали щодо проведеного дисертантом дослідження токсичності та протизапальної активності олії бруслини європейської. Олія бруслини європейської належить до 4 класу токсичності, проявляє помірну протизапальну активність. У результаті дослідження дисертантом не встановлено помітної антибактеріальної дії проти досліджуваних штамів бактерій, проте спостерігалась виражена дія проти пліснявих грибів *Penicillium natatum*, *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger* досліджуваних екстрактів.

П'ятий розділ присвячено стандартизації сировини бруслини європейської. Встановлено відмітні діагностичні морфолого-анатомічні ознаки бруслини європейської і бруслини бородавчастої, які сумісно зростають. Дисертантом опрацьовано правила заготівлі, сушіння і зберігання насіння і кори бруслини європейської, запропоновано проекти МКЯ «Бруслини європейської насіння», «Бруслини європейської олія насіння», розроблено проекти МКЯ «Бруслини європейської насіння», «Бруслини європейської олія насіння» та «Інструкції із заготівлі та сушіння насіння бруслини європейської», «Інструкції із заготівлі та сушіння кори бруслини європейської».

Зауваження і пропозиції.

Робота Врубель О.Р. відрізняється оригінальним підходом до проведення

дослідження з використанням різних сучасних методів фітохімічного, фармакологічного та мікроскопічного дослідження тощо. Висновки, наведені автором, ґрунтуються на власному експериментальному матеріалі.

Проте поряд з позитивною оцінкою дисертаційної роботи Врубель О.Р. є деякі зауваження та пропозиції.

В роботі зустрічаються орфографічні та технічні помилки, невдалі або не точні вислови.

В таблиці 3.8 наведено числові показники жирної олії насіння бруслини європейської (екстрагент - гексан). Чи були проведені вами дослідження щодо вмісту органічного розчинника в олії? Яким є можливе використання олії насіння бруслини європейської, одержаної екстракцією гексаном?

У таблиці 3.16 наведено результати кількісного вмісту деяких мікроелементів в листі і корі бруслини європейської. Чи було проведено дослідження мікроелементів насіння рослини? Чи встановлені коефіцієнти переходу мікроелементів з ґрунту в ЛРС і з ЛРС в субстанції?

В розділі 4.2 Ви стверджуєте, що «Одержана шляхом екстракції петролейним ефіром вона не містить токсичних речовин і може бути рекомендована для лікування шкірних захворювань у складі мазей». Обґрунтуйте шлях введення олії насіння бруслини європейської при дослідженні гострої токсичності.

В табл.4.4 наведено результати дослідження антимікробної дії настоек листя, квіток, насіння, кори (екстрагент – 40% етанол) та олії бруслини європейської. Результати свідчать, що «спостерігалась виражена дія проти пліснявих грибів *Penicillium natatum*, *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger* усіх досліджуваних екстрактів приблизно однаковою мірою». Чим можна це обґрунтувати? Які групи БАР вегетативних і генеративних органів бруслини європейської забезпечують цю дію?

В розділі 5.2.2 представлено результати розробки методів контролю якості жирної олії насіння бруслини європейської. Визначення розчинності та числових показників (кислотне число, число омилення, ефірне число, йодне число) рекомендовано проводити за ДФУ, 2-е видання.

В розділі 5.2.3 «Розробка інструкцій із заготівлі та сушіння насіння та кори бруслини європейської» інформацію про розробку проектів доцільно представити окремо для кори, і окремо для насіння. Інформація, наведена в інструкціях, повинна дозволити заготівельнику ідентифікувати рослину, вказати процедуру заготівлі сировини, первинної обробки, сушіння для одержання кори і насіння належної якості.

Наведені зауваження не мають принципового характеру і не зменшують наукової та практичної цінності дисертаційної роботи.

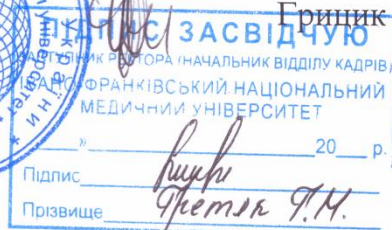
Висновок про відповідність дисертації вимогам Положення.

Дисертаційна робота Врубель Ольги Романівни на тему «**Фармакогностичне дослідження бруслини європейської (*Euonymus europaea* L.)**» 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 захворювань нирок. Дана робота за актуальністю, теоретичним і практичним значенням, використанням сучасних методів і підходів у експериментальних фітохімічних, фармакогностичних і фармакологічних дослідженнях, за обсягом проведених досліджень повністю відповідає вимогам п. п. 9, 10, 11 «Порядку присудження наукових ступенів» (Постанова Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2017р., зі змінами), а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Завідувач кафедри фармації

Івано-Франківського національного
медичного університету

доктор фармацевтичних наук, професор



Гришик А.Р.

Підпис

Прізвище

Гришик
А.Р.