

ВІДГУК
офіційного опонента, доктора хімічних наук,
професора Лубенець В.І. на дисертаційну роботу
Мельник Марії Володимирівни на тему «Фармакогностичне дослідження
рослин роду Рута» на здобуття наукового ступеня кандидата
фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія
та фармакогнозія

Актуальність теми дисертації та її зв'язок з державними чи галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки. На сучасному етапі розвитку фармацевтичної науки створенню нових лікарських препаратів з рослинної сировини приділяється багато уваги. Широке застосування лікарських рослин та препаратів на їх основі, обумовлене наявністю в них різноманітних за хімічним складом і дією біологічно активних речовин, багато з яких мають здатність м'яко включатися в метаболізм і викликати мінімальну кількість побічних ефектів. Одним із важливих завдань сучасної фармації є пошук рослин з достатньою сировинною базою, раціональне і комплексне використання рослинної сировини і створення на її основі нових ефективних фітозасобів.

Цінним джерелом біологічно активних речовин є рослини видів роду Рута родини Рутові (*Rutaceae*), оскільки відоме їх використання в народній медицині, гомеопатії, а також рута садова внесена до Фармакопеї восьми країн. На території України зростає два види роду Рута: рута розлога та рута садова. Для фармакогнозії та ресурсознавства лікарських рослин важливими є питання вивчення механізмів акліматизації та інтродукції рослинного організму до різноманітних зовнішніх факторів, зокрема і для рути садової це є актуальним.

Актуальною є також проблема встановлення хімічного складу, біологічних та експлуатаційних запасів рути садової, розробка на її основі субстанцій, встановлення їх фармакологічної дії та створення ефективних вітчизняних фітозасобів.

Злободенним постає також питання введення цієї рослини до культури, а саме: розробка методик інтродукції і, в перспективі, селекція та створення сортів з цільовим та очікуваним кількісним вмістом біологічно активних речовин.

Дисертаційна робота виконана у відповідності до плану науково-дослідних робіт Проблемної комісії «Фармація» МОЗ і АМН України (протокол № 71 від 19.10.2011 р.) та є фрагментом комплексної науково-

дослідної роботи кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (номер державної реєстрації 0110U006205).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено фармакогностичне вивчення трави рути садової. Встановлено наявність та визначено кількісний вміст флавоноїдів, танінів, суми поліфенолів, окиснюваних фенолів, органічних кислот, в тому числі гідроксикоричних, аскорбінової, жирних та амінокислот, а також елементний склад сировини. Вперше ідентифіковано та встановлено вміст компонентів ефірних олій в траві рути садової, вирощеної в ґрунтово-кліматичних умовах Прикарпаття. Виділено фракції полісахаридів та встановлено їх мономерний склад. Методом високоефективної рідинної хроматографії у траві рути садової ідентифіковано 18 речовин: 6 флавоноїдів, 4 гідроксикоричних кислоти, 2 кумарини, 6 дубильних речовин. Методом колонкової хроматографії в індивідуальному стані дисертантом виділено 9 сполук: 3 гідроксикоричні кислоти – *n*-кумарова, кавова, хлорогенова; 1 кумарин – кумарин; 5 флавоноїдів – апігенін, лютеолін, кверцетин, гіперозид, рутин.

Розроблено оптимальні параметри одержання екстрактів трави рути садової, встановлено показники їх якості, досліджено токсичність та встановлено антимікробну, антифунгальну та протизапальну дію. На основі екстрактів трави рути садової розроблено лікарську форму у вигляді мазі. Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель «Спосіб одержання мазі з екстрактом рути садової, яка проявляє протизапальні властивості» (№ 108973 від 10.08.2016 р.).

Вперше проведено морфолого-анатомічне вивчення рути садової та рути розлогої, встановлено їх макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки, розроблено розсадний спосіб вирощування рути садової в касетах із полімерних матеріалів, який захищено патентом України на винахід «Спосіб вирощування розсади рути садової» (№ 110566 від 12.01.2016 р.). Вперше вивчено фенологічні умови та розроблено агротехнічні методики вирощування рути садової в умовах Прикарпаття за вимогами GACP.

Практичне значення одержаних результатів. На основі проведених фітохімічних, фармакологічних та агротехнічних досліджень доведено можливість застосування трави рути садової у практичній медицині як перспективного джерела БАР і показана доцільність створення на її основі фітопрепаратів.

За результатами досліджень розроблено проекти МКЯ «Рути садової трава», «Рути садової трави екстракт густий», а також проект «Інструкції із заготівлі та сушіння трави рути садової».

За матеріалами роботи видано монографію «Природа лікує... Перспективи використання рослин роду Рута у медицині та фармації», основні положення якої впроваджено в навчальний процес кафедр фармацевтичного спрямування.

Результати експериментальних досліджень з агротехніки вирощування рути садової впроваджено в практичну роботу відділу з інтродукції та акліматизації лікарських рослин Ботанічного саду Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника (акт впровадження від 17.12.2013 р.). Експериментальні дослідження з розмноження та вивчення фенологічних етапів органогенезу рути садової впроваджені на навчально-дослідних ділянках лікарських рослин фармацевтичного факультету Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 29.12.2015 р.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційне дослідження виконане з використанням сучасних методів та прийомів фармакогностичного аналізу, зокрема фізичних та фізико-хімічних методів - тонкошарова хроматографія, газорідинна хроматографія, вискоефективна рідинна хроматографія, хромато-мас-спектрометрія, ІЧ, УФ- спектроскопія, хімічні реакції (кольорові, осадові, комплексоутворення), а також фармакологічного та біофармацевтичного скринінгу, біологічних та агротехнічних методів. Достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів, підтверджується достатньою кількістю дослідів та їх статистичною обробкою. Дисертаційна робота виконана на належному науковому рівні. Наукові положення та висновки, які сформовані у дисертаційній роботі є достовірними, експериментально обґрунтованими, логічно витікають з отриманих результатів та вирішують поставлені завдання.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах. За матеріалами роботи опубліковано 25 наукових праці, у тому числі 11 статей (із них 5 - у фахових наукових виданнях України та 1 у іноземному виданні), 1 патент України на винахід, 1 патент України на корисну модель, 11 тез доповідей, 1 монографія.

Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним результатам досліджень.

Аналіз дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, 4 розділів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних літературних джерел і додатків. Робота ілюстрована 26 рисунками і 68 таблицями. Список використаних джерел включає 190 найменувань, з яких 166 кирилицею та 24 латиною.

У вступі обґрунтовано актуальність теми дисертації, визначено предмет та об'єкт дослідження, його мету і завдання, розкрито наукову новизну, підкреслено теоретичне та практичне значення роботи, зазначено ступінь апробації одержаних результатів.

У першому розділі дисертант наводить критичний аналіз сучасного стану дослідження проблеми вивчення рослин роду Рута.

В розділі проаналізовані та узагальнені дані первинних джерел з ботанічної характеристики, ареалу розповсюдження, сучасного стану вивчення хімічного складу, використання в науковій та народній медицині рослин роду Рута.

Автор робить висновок про недостатність вивченості хімічного складу рослин роду Рута, що зростають на території України. Це має суттєве значення для пошуку нових перспективних видів для введення у офіційну номенклатуру. Досвід використання у народній медицині, недостатня інформація про хімічний склад у джерелах наукової літератури створюють передумови для проведення фармакогностичних та фармакологічних досліджень видів рути з метою створення нових лікарських засобів.

Другий розділ присвячено характеристиці об'єктів і методів дослідження щодо якісного виявлення та кількісного визначення біологічно активних речовин, а саме танінів, флавоноїдів, аскорбінової, гідроксикоричних, жирних, амінокислот, окиснюваних фенолів, кумаринів, складу ефірної олії, полісахаридів, макро- та мікроелементного складу трави рути садової. Представлено методики біофармацевтичних досліджень мазі, визначення рН мазі, її мікробіологічної чистоти, гострої токсичності та фармакологічної активності, визначення числових показників доброякісності сировини рути садової, а також вивчення морфолого-анатомічних ознак видів роду Ruta, визначення показників ґрунту, визначення схожості насіння рути садової, вирощування розсади та культивування рути садової і статистичні методи.

В третьому розділі представлено результати якісного та кількісного визначення біологічно активних речовин у траві рути садової, а також виділення деяких сполук в індивідуальному стані. За допомогою якісних реакцій та хроматографії з використанням водних, водно-спиртових,

хлороформних та етилацетатних витяжок у траві рути садової встановлено наявність вуглеводів, аскорбінової, гідроксикоричних і амінокислот, окиснюваних фенолів, кумаринів, флавоноїдів.

Представлені результати хромато-мас-спектрометричного дослідження компонентного складу ефірних олій та жирнокислотного вмісту у траві рути садової.

За допомогою амінокислотного аналізатора ААА Т-339 М (Чехія) у траві рути садової ідентифіковано 17 амінокислот, серед яких домінуючими є гліцин, аргінін, валін, аланін та серин.

В **четвертому розділі** приводяться дані розробки технології одержання екстрактів БАР з трави рути садової та дослідження їх фармакологічної активності. Подано дослідження по розробці параметрів екстракції біологічно активних речовин з сировини рути садової: встановлено оптимальний ступінь подрібнення, по вибору екстрагентів, встановлено оптимальні співвідношення між сировиною і екстрагентами, час екстракції.

На основі встановлених параметрів розроблена технологія одержання густого екстракту з трави рути садової РС-7, який був досліджений на гостру токсичність, протизапальну, антимікробну та антифунгальну активність. Проведено стандартизацію екстракту за показниками розробленого проекту МКЯ «Рути садової трави екстракт густий»: опис, ідентифікація, залишкові кількості органічних розчинників, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, важкі метали, мікробіологічна чистота та кількісне визначення діючих речовин.

Проведено розробку складу та технології одержання м'якої лікарської форми з екстрактом рути садової, оцінку якості лікарської форми з екстрактом, дослідження фармакологічної активності, вивчення гострої токсичності, вивчення протизапальної дії.

Для м'якої лікарської форми досліджено рівномірність розподілу на поверхні шкіри, стабільність при зберіганні, рН, концентрацію діючих речовин, швидкість та повноту вивільнення діючих речовин, органолептичні показники.

На основі проведених технологічних, біофармацевтичних та мікробіологічних досліджень було розроблено склад та запропоновано технологію виготовлення мазі.

Дослідження гострої токсичності мазі, а також основи мазі проводили на білих мишах за різних умов введення. Токсичну дію препарату оцінювали за загальним станом тварин, їх летальністю, зміною маси. Результати дослідження вказують на те, що розроблена лікарська форма не має токсичного впливу на організм тварин в порівнянні з контролем. Наведені

дані свідчать, що досліджувана мазь проявляє протизапальну активність. Спосіб одержання мазі з екстрактом трави рути садової, яка проявляє протизапальні властивості, захищено патентом України на корисну модель № 108973.

В п'ятому розділі розглядаються результати дослідження морфолого-анатомічних ознак трави рути садової для встановлення тотожності цілої та подрібненої рослинної сировини для включення до проекту МКЯ «Рути садової трава». Розроблено умови культивування рути садової: глибина обробки ґрунту, спосіб сівби, норма висіву насіння, глибина загортання насіння, рекомендовані мінеральні добрива. Проведено фенологічні дослідження розвитку рути садової на дослідних ділянках та опрацьовані прийоми заготівлі, первинної обробки і сушіння трави рути садової, які внесені до проекту інструкції із заготівлі та сушіння трави рути садової.

Зауваження і пропозиції. Загальна оцінка роботи є позитивною, проте слід зазначити, що в роботі зустрічаються окремі недоліки:

- В огляді літератури на стор. 23 некоректно наведені формули бергаптену, диктамініну, скіміаніну, кверцетину, стор. 26 для виявлення кумаринів відбувається реакція дезалкілування, а не окиснення;

- У системах розчинників (стор. 34), де входить оцтова кислота не вказано її концентрацію;

- В таблицях 3.7 - 3.9 не вказано одиниці виміру концентрації, а також в 3 колонці цих таблиць наведено бруто формули сполук.

- В таблиці 3.11 стор. 81 серед компонентів ефірної олії вжито некоректні назви речовин, зокрема, № 2, 9, 14, 20, 30.

- На стор. 107, 130 представлено дисертанткою замість технологічних схем - блок схеми процесів одержання густого екстракту та мазі на його основі.

Втім, вказані недоліки не знижують загальної позитивної оцінки представленої роботи. Вказані зауваження не є суттєвими і не впливають на цінність виконаної дисертації і не знижують її наукового та практичного значення роботи.

Відповідність дисертації вимогам «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника»

На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Мельник Марії Володимирівни «Фармакогностичне дослідження рослин роду Рута» є завершеним науковим дослідженням, в якому отримано нові науково обґрунтовані теоретичні і експериментальні результати, які за своєю новизною, об'ємом проведених досліджень, рівнем виконання і

впровадження відповідають сучасним вимогам до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:
професор кафедри технології
біологічно активних сполук,
фармації та біотехнології
інституту хімії та хімічних
технологій національного університету
«Львівська політехніка», професор

 В. І. Лубенець

Підпис професора Лубенець В. І. засвідчую
Вчений секретар Національного університету «Львівська політехніка»





Р.Б. Брилинський