

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, професора Кошового Олега Миколайовича на дисертаційну роботу Гузьо Наталії Миколаївни на тему: „Фармакогностичне дослідження парила звичайного" 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 обраної теми. Рослини є одними з найважливіших джерел біологічно активних речовин, які мають широке застосування в медицині. Відмітними рисами препаратів рослинного походження є комплексна і взаємодоповнювальна дія сукупності компонентів, які вони містять. Тому одним з головних завдань сучасної науки є дослідження лікарської рослинної сировини та створення нових лікарських засобів на її основі.

Перспективним об'єктом для фармакогностичного вивчення є рослина роду Парило (*Agrimonia* L.) родини Розові (*Rosaceae*) парило звичайне (*Agrimonia eupatoria* L.), яке здавна використовують у медичній практиці багатьох країн як протизапальний, гепатопротекторний, жовчогінний, сечогінний, протиглисний та спазмолітичний засіб. Значна сировинна база, недостатньо вивчений склад окремих груп діючих речовин стали підґрунтям для проведення наукових досліджень. Отже, тема дисертаційної роботи Гузьо Наталії Миколаївни є актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відповідності до плану проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармації ІФНМУ «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (номер державної реєстрації 0110U006205) та «Дослідження

культивованих і дикорослих лікарських рослин Західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (номер державної реєстрації 018U003809).

Ступінь обґрунтованості наукових положень дисертації, висновків, сформульованих у дисертаційній роботі та їх достовірність. Дисертація Гузьо Н. М. виконана на достатньо високому науковому рівні. Докладний аналіз наукової літератури підтвердив доцільність та актуальність проведення досліджень за напрямками, представленими в дисертації. Для досягнення окреслених напрямків досліджень була вибудована структура дисертаційної роботи, яка складалася із п'яти етапів.

При виконанні дисертаційних досліджень було проведено комплексні дослідження, які дисертантка здійснила за допомогою сучасних методів: морфологічних, гістохімічних (ідентифікація рослин), фізико-хімічних (тонкошарова хроматографія, хромато-мас-спектрометрія, спектроскопія в УФ - та видимій області спектру, реакції ідентифікації, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, розчинність та ін.). Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням критерію Стьюдента.

Дисертантка послідовно і логічно викладає отримані результати, підтверджує їх хроматограмами, даними кількісного визначення вмісту біологічно активних речовин, даними щодо отримання екстрактів і їх стандартизації. Ілюстративний матеріал свідчить і підтверджує достовірність і значущість проведених експериментів.

Наукові положення дисертації та висновки обґрунтовані і логічно витікають з результатів власних досліджень. Робота не містить плагіату.

Отже, високий ступінь обґрунтованості та достовірності отриманих результатів, рекомендацій і висновків, представлених у дисертації Гузьо Н. М. не викликає сумнівів. Дисертаційна робота добре оформлена та має логічну структуру.

На основі переліку та аналізу результатів роботи можна зробити висновок про її значну наукову і практичну цінність.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертанткою вперше було проведено фармакогностичні та ресурсознавчі дослідження парила звичайного. Вивчено вміст БАР у листках, квітках, траві, стеблах парила звичайного. Опрацьовано оптимальні умови одержання екстрактів, методики аналізу якісного складу та кількісного вмісту діючих речовин.

Методом ВЕРХ у траві парила звичайного ідентифіковано фенольні сполуки: 7 компонентів дубильних речовин – галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехіну галат, галову та елагову кислоти; 4 флавоноїди – ізокверцитрин, неогесперидин, нарингенін, лютеолін; 7 гідроксикоричних кислот – гідроксифенілацетатна, кофейна, сирінгова, *n*-кумарова, ферулова, синапова, цинамова та хінна. Виявлено і встановлено вміст методом ВЕРХ 6 органічних кислот – винна, піровиноградна, ізолимонна, лимонна, бурштинова, яблучна.

Вперше у сировині парила звичайного методом ГХ-МС ідентифіковано і встановлено вміст компонентів летких сполук: у листках – 49; у квітках – 41; у плодах – 49; у стеблах – 50. Серед ідентифікованих сполук найбільшу частку становлять сесквітерпен β -каріофілен та його похідне каріофіленоксид, моноциклічний сесквітерпен гумулен та ациклічний сесквітерпен – β -фарнезен.

Вивчено динаміку накопичення БАР (окиснюваних фенолів, суми гідроксикоричних кислот, танінів, поліфенолів і суми флавоноїдів) у траві досліджуваного об'єкту в залежності від фази вегетації та місця зростання.

Вперше проведено анатомічне дослідження трави *Agrimonia eupatoria* L. методом скануючої мікроскопії, в результаті якого встановлено діагностичні ознаки сировини.

Вперше за допомогою мікрохімічних реакцій встановлено локалізацію дубильних речовин, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, слизу, пектинових речовин, які використано для ідентифікації лікарської рослинної сировини.

Новизну досліджень підтверджено та захищено патентом України на винахід «Спосіб одержання екстракту трави парила звичайного з

гепатопротекторною активністю» (№ 108382) та патентами України на корисну модель «Спосіб одержання екстракту трави парила звичайного з гепатопротекторною активністю» (№ 82949) та «Спосіб визначення локалізації гідроксикоричних кислот у рослинній сировині за допомогою мікрохімічної реакції» (№ 124069).

Практичне значення одержаних результатів. Встановлено оптимальні параметри екстракції БАР та отримано 3 екстракти трави парила звичайного. Доведено можливість використання екстракту трави парила звичайного (екстрагент - 40 % етанол *P*) як лікарського засобу з гепатопротекторною та протизапальною активністю.

Встановлено обсяги можливих щорічних заготівель трави парила звичайного в Івано-Франківській та Тернопільській областях.

Розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) «Парила звичайного трави екстракт сухий» та «Інструкції з заготівлі та сушіння трави парила звичайного».

Матеріали дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес вищих навчальних закладів України фармацевтичного і медичного спрямування. Отримано свідоцтво на раціоналізаторську пропозицію у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького (№1889 від 22.07.2015 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертанту належить вирішальна роль у визначенні мети дослідження, шляхів її реалізації, плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації та узагальненні одержаних результатів, формуванні основних положень та висновків, що захищаються.

Безпосередньо автором здійснено інформаційно-патентний пошук та аналіз сучасного стану досліджень, встановлено основні групи БАР в траві парила звичайного в залежності від фази вегетації, проведено морфолого-анатомічне дослідження, встановлено діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки досліджуваної сировини. Розроблено параметри одержання

екстрактів із парила звичайного трави та проведено їх стандартизацію, досліджено фармакологічну активність та встановлено запаси сировини.

Результати експериментальних досліджень самостійно проаналізовано та систематизовано, оформлено у вигляді таблиць, рисунків, діаграм, актів впровадження, проекту МКЯ, фотознімків. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, особистий внесок здобувача відображено в списку публікацій.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Аналіз експериментальних матеріалів, наведених у дисертаційній роботі свідчить, що всі дослідження були проведені на сучасному науковому рівні. Достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів, підтверджується достатньою кількістю дослідів та їх статистичною обробкою. Висновки, сформульовані в дисертаційній роботі, є достовірними, обґрунтованими та логічно витікають з отриманих результатів та дають відповіді на поставлені завдання.

Повнота викладених результатів дисертаційної роботи в опублікованих працях. За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукові праці, у тому числі 9 статей (із них 5 - у фахових наукових виданнях України, 4 у іноземних виданнях, у тому числі 1 у виданні Scopus), 1 патент України на винахід, 2 патенти України на корисну модель, 11 тез доповідей, отримано 1 раціоналізаторську пропозицію.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційна робота викладена на 225 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту - 163 сторінки) та складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів, загальних висновків, списку літератури та 20 додатків. Робота ілюстрована 48 таблицями та 33 рисунками. Список використаної літератури містить 220 джерел, з яких – 60 латиницею.

У вступі обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, визначено предмет та об'єкт дослідження, мету, завдання. Розкрито наукову

новизну, виокремлено теоретичне та практичне значення роботи, зазначено особистий внесок дисертантки.

У першому розділі наведено опрацьовані дані ботанічної характеристики та розповсюдження, хімічного складу, фармакологічні властивості та застосування парила звичайного в офіційній та народній медицині. Авторка робить обґрунтовані висновки про недостатність вивчення хімічного складу рослини, що створює передумови для проведення фітохімічних, фармакологічних та ресурсознавчих досліджень для створення нових лікарських засобів.

У другому розділі наведено методологію, об'єкти та методи проведення фармакогностичних, технологічних, фармакологічних та ресурсознавчих досліджень з наведенням відомостей про використані прилади та реактиви.

Для фармакогностичного аналізу заготовлено зразки сировини парила звичайного в Івано-Франківській та Тернопільській областях в 2003 – 2015 рр. з врахуванням бережливого відношення до флори.

В третьому розділі описано фіто-хімічне дослідження сировини парила звичайного, а саме виявлення та хімічне вивчення основних груп біологічно активних речовин, кількісне визначення вмісту природних сполук в досліджуваній рослині: летких сполук, вуглеводів, амінокислот, окиснюваних фенолів, танінів та поліфенолів, флавоноїдів і гідроксикоричних кислот, органічних кислот, мінерального складу.

Четвертий розділ. В результаті проведеної експериментальної роботи представлено дані з розробки параметрів екстракції біологічно активних речовин із трави парила звичайного; одержання, стандартизація і вивчення фармакологічної активності екстрактів, зокрема гострої токсичності, протизапальної, гепатопротекторної, антимікробної активності. Досліджено показники якості сухого екстракту парила звичайного трави, а саме: опис, розчинність, ідентифікація, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, важкі метали, мікробіологічна чистота та кількісне визначення діючих речовин.

В п'ятому розділі описано результати морфолого-анатомічних досліджень трави парила звичайного методом скануючої мікроскопії. Гістохімічними реакціями ідентифіковано та встановлено локалізацію конденсованих та гідролізованих дубильних речовин, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, слизу та пектинових речовин. Досліджено зміну числових показників доброякісності парила звичайного трави під час зберігання сировини. Ці дані були використані при розробці проекту «Інструкції із заготівлі та сушіння трави парила звичайного». Встановлено місце зростання парила звичайного та досліджено сировинні запаси рослини.

Робота Гузьо Н.М. відрізняється значним фактичним матеріалом, сучасними підходами до вирішення завдань. Висновки автора ґрунтуються на достовірному фактичному матеріалі.

Проте, поряд з позитивною характеристикою дисертаційної роботи здобувача Гузьо Наталії Миколаївни є ряд **зауважень та пропозицій**:

1. У таблиці 1.3 «Характеристика готових фітозасобів, що вміщують парило звичайне» доцільно було б навести, яка лікарська рослинна сировина входить до їх складу, а не тільки рослини.

2. У роботі доцільно було б провести більш ретельне фітохімічне дослідження найбільш перспективного сухого екстракту парила звичайного трави.

3. У роботі автор іноді використовує застарілі хімічні назви речовин. Необхідно було б дотримуватись сучасної номенклатури згідно з ДСТУ 2439:2018 «Хімічні елементи та прості речовини. Терміни та визначення основних понять, назви й символи». Київ: ДП «УкрНДНЦ, 2019.

4. В роботі присутні деякі повтори, невдалі вирази та друкарські помилки.

У порядку проведення наукової дискусії вважаю доцільним, щоб дисертант дав відповідь на деякі запитання:

1. При проведенні мікроскопічних досліджень сировини парила звичайного використовували два методи: скануючої електронної та світлової

мікроскопії. Чому використовували ці два методи і на якому зупинились?

2. В якому обсязі були проведені валідаційні дослідження методик кількісного визначення, що наведені у розробленому проєкті методів контролю якості.

3. Як визначали тотожність сировини париля звичайного, яку Ви заготовляли власноруч?

Проте, ці зауваження не мають принципового характеру, не впливають на позитивне враження від роботи і не знижують її наукової та практичної цінності.

Відповідність дисертації вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів». На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Гузьо Наталії Миколаївни на тему «Фармакогностичне дослідження париля звичайного» є завершеним науковим дослідженням, в якому отримано нові науково обгрунтовані 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:

Завідувач кафедри фармакогнозії

Національного фармацевтичного

університету,

доктор фармацевтичних наук, професор

О. М. Кошовий

Підпис д.фарм.н., проф. Кошового О. М. засвідчую:

Провідний фахівець з питань кадрової

роботи відділу кадрів НФаУ



О. В. Купіна