

## ВІДГУК

офіційного опонента професора закладу вищої освіти кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, доктора фармацевтичних наук, професорки Одинцової Віри Миколаївни на дисертаційну роботу Михайленко Ольги Олександрівни «Фармакогностичне дослідження крокусу посівного та рослин роду Ірис: перспективи комплексного використання та оптимізація вирощування», поданої до спеціалізованої Вченої ради Д 35.600.02 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**Актуальність теми дисертації.** Дослідження нових видів лікарської рослинної сировини обумовлена необхідністю розширення терапевтичних можливостей, подолання резистентності, збереження біорізноманіття, економічними вигодами та інтеграцією традиційних знань у сучасну медицину. Враховуючи екологічні умови, фармацевтичні потреби та медичне застосування лікарських рослин, надзвичайно важливими є комплексні фармакогностичні дослідження рослинної сировини з метою пошуку нових і перспективних джерел БАР та субстанцій.

Крокус посівний, або шафран, є цінною лікарською рослиною, яку нещодавно почали вирощувати в Україні. Рослина містить біологічно активні речовини з потужними фармакологічними властивостями, зокрема протираковими та нейропротекторними. Дослідження хімічного складу цієї рослини можуть відкрити нові можливості для фармацевтичної галузі, зокрема у створенні лікарських препаратів з протизапальними, протираковими та антиоксидантними властивостями. Також важливо дослідити поширені види та сорти ірисів, які традиційно використовуються в народній медицині і мають потенціал для розширення спектра фармакологічних застосувань.

Оцінка впливу факторів навколишнього середовища на накопичення біологічно активних речовин є ключовим аспектом цих досліджень, тому що має суттєвий вплив на якість сировини та терапевтичну дію рослинних субстанцій. Екологічні умови, такі як склад ґрунту, кліматичні фактори та рівень опадів, мають значний вплив на кількість і якість активних компонентів у рослинній сировині. Розуміння цих взаємозв'язків дозволяє оптимізувати умови вирощування для досягнення стабільного вмісту біологічно активних речовин.

Перспективність вирощування лікарських рослин відповідно до Належної практики вирощування лікарських рослин (GACP) забезпечує високу якість і безпеку рослинної сировини. Це дозволяє контролювати кожен етап виробничого процесу, від посіву до збору врожаю і подальшої обробки, що гарантує сталість і ефективність лікарських засобів.

Комплексні фармакогностичні дослідження мають велике значення не лише для фармації та медицини, але й для екології та агрохімії. Вони сприяють розвитку нових лікарських препаратів, розумінню екологічних впливів на рослини та

оптимізації агротехнічних практик. Такий підхід забезпечує стабільний вміст біологічно активних речовин у рослинній сировині, що є критично важливим для створення ефективних і безпечних лікарських засобів. Враховуючи вищевикладене, представлена дисертаційна робота Ольги Михайленко є безперечно актуальною та своєчасною.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної наукової роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946). Крім цього, фрагменти дисертаційного дослідження виконані в рамках гранту International Cooperation Add-on Project (MAGIC), 108WFDG310121 (2019–2020).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Дисертаційна робота має цілеспрямований та ґрунтовний підхід до реалізації поставлених цілей. Здобувачкою проведено комплексне дослідження хімічного складу та фармакологічної дії сировини крокусу посівного та рослин роду Ірис з обґрунтуванням можливості досягнення стабільного складу компонентів. Етапи дисертаційного дослідження та одержання кінцевого продукту – рослинних субстанцій було сплановано з використанням концепції «Якість шляхом розробки». Уперше наведено критичні етапи виробництва рослинних екстрактів та коригувальні дії з крокусу посівного та рослин роду Ірис.

До головних моментів наукової новизни слід віднести:

- порівняльний аналіз хімічного складу приймочок, листя, оцвітини та бульбоцибулин крокусу посівного, листя та кореневищ видів і сортів ірисів із урахуванням впливу факторів навколишнього середовища.
- виділення індивідуальних речовин з оцвітини крокусу посівного вирощеного в с. Любимівка, Херсонської області та з кореневищ ірису угорського з Ботанічного саду НФаУ, Харків. З крокусу софорофлавонолозид, космосіїн, текторидин, нігрицин, іристекекторигенін В, мангіферин, рутин, ферулова кислота виділено вперше, а з ірису – ірисолідон, ірилон, кікалідон, германаїзм В, кемпферол, іристекекторигенін В, іристекекторин В, ізокверцитрин, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавонол, апігенін-7-глюкозид, коричну та кумарову кислоти.
- використання фізичних методів впливу на вторинні метаболіти ЛРС, а саме холодна плазма, електромагнітне поле та вакуум на стадії передпосівної обробки бульбоцибулин крокусу посівного, а для видів та сортів ірису вперше запропоновано використовувати монокомпонентне живлення для збільшення вмісту фенольних сполук у ірисів листі та кореневищах.
- розробку методики одержання стандартних робочих зразків пікрокроцину, транс-4GG, транс-2G, транс-3Gg.
- розробку нових методик аналізу апокаротиноїдів, фенольних сполук, карбонових кислот, амінокислот та колхіцину у рослинній сировині.

- методику визначення фальсифікацій у приймочках крокусу посівного.
- розробку параметрів стандартизації сировини крокусу посівного, яку впроваджено у вигляді монографії ДФУ на приймочки крокусу посівного.
- Одержання, модифікованою методикою, сухих екстрактів з рослинної сировини, в тому числі для видів ірисів.
- визначення хімічного складу оригінальних рослинних субстанцій та проведення фармакологічного скринінгу на антивірусну, протизапальну, антиоксидантну, протиалергійну, цитотоксичну та антибактеріальну активність, експресію NRF2, крапельну активність ліпідів.
- Застосування ChemGPS-NP методу для прогнозування протигрипозних та протиентеровірусних властивостей фенольних сполук ірисів, в тому числі створення власної оригінальної бази даних клінічних препаратів для порівняння.
- Визначення термінів заготівлі сировини ірисів в залежності від вегетаційного періоду збору.
- використання підходу Herb MaRS для обґрунтування вибору маркерів якості для рослинної сировини та сухих екстрактів.
- запропоновані автором етапи належного вирощування крокусу посівного та рослин роду Ірис впровадженні у роботу фермерств України та Нідерландів, ботанічних садів України.

Новизна досліджень підтверджена патентом на винахід України № 124210 від 04.08.2021, Бюл. № 31, крім того патентом № 146567 на корисну модель України від 03.03.2021, Бюл. № 9; патентом на корисну модель № 142213 від 25.05.2020, Бюл. № 10 та патентом на корисну модель України № 135685 від 10.07.2019, Бюл. № 13. Здобувачем подано заявку на отримання патенту Європейського Союзу LT2021 527, 106245, від 03.06.2021 на технологію отримання полісахаридного комплексу бульбоцибулин крокусу посівного з цитотоксичною дією.

#### **Теоретичне та практичне значення отриманих результатів.**

Теоретичне значення полягає у проведенні систематичних фармакогностичних досліджень умов вирощування, хімічного складу та фармакологічної дії крокусу посівного та рослин роду Ірис. Дослідження дозволило теоретично обґрунтувати перспективні джерела лікарської рослинної сировини зі стабільним вмістом біологічно активних речовин. Використання підходу «Якість шляхом розробки» має великий потенціал при плануванні та проведенні досліджень рослинної сировини. Визначені критичні крапки виробництва рослинних екстрактів та коригувальні дії, сприятимуть одержанню якісного кінцевого продукту. Крім того, в роботі вперше наведено результати впливу факторів навколишнього середовища на накопичення БАР у різних зразках шафрану та популяціях рослин роду Ірис з України, що дозволило здобувачці обґрунтувати вибір оптимальних регіонів для вирощування рослин. Вперше вивчено позитивний вплив передпосівної обробки крокусу посівного на вміст кроцинів та фенольних сполук у рослинах, а також розроблено методики одержання та аналізу нових сполук, виявлених у досліджених видах.

Результати дослідження мають практичне значення для фармацевтичної, косметичної та харчової промисловості. Знання про хімічний склад та біологічну активність рослинних екстрактів дозволяють розробляти нові лікарські препарати, спеціальні харчові продукти та косметичні засоби. Розроблені методи впливу на вирощування рослин можуть збільшити врожайність та покращити якість рослинної сировини. Впровадження стандартів якості для сировини та готових продуктів забезпечує стабільність та надійність продукції.

Результати впровадження принципів GACP при вирощуванні лікарських рослин сприяють міжнародному експорту високоякісної української рослинної сировини та фітопрепаратів. Застосування отриманих даних у медицині дозволяє створювати ефективні лікарські засоби природного походження. На основі досліджень розроблено рекомендації для створення монографій на сировину приймочок крокусу посівного для введення до національної частини Державної фармакопеї України – «Шафрану посівного приймочки<sup>N</sup>» (2020).

Здобувачкою отримано 30 нових оригінальних рослинних субстанцій, виділено 50 індивідуальних речовин з крокусу посівного оцвітини і приймочок та ірису угорського кореневищ.

Розроблено методики аналізу різних груп біологічно активних речовин (фенольні сполуки, амінокислоти, карбонові кислоти, алкалоїд колхіцин) в рослинній сировині, що має практичне використання для аналізу різних рослин.

Отже, дослідження має значний внесок як у теоретичну, так і у практичну сферу науки про лікарські рослини, відкривши нові можливості для подальших досліджень та комерційного використання отриманих результатів.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Експериментальні дослідження виконані на високому науковому рівні завдяки використанню сучасних хроматографічних методів аналізу, колонкової хроматографії, препаративної хроматографії, сучасних фізико-хімічних методів, агрохімічних та кореляційних досліджень. Отримані авторкою результати та їх інтерпретація не викликають сумнівів. Біологічна частина роботи виконана з використанням загальноприйнятих і коректних підходів до встановлення вираженої активності рослинних екстрактів та виділених біологічно активних сполук.

Дослідження проведені у співпраці з провідними науковими установами: Литовський університет наук здоров'я (Литва), Chang Gung University (Тайвань); Kaohsiung Medical University, (Тайвань), Ain Sham University (Єгипет), БС ХНУ ім. В.Н. Каразіна (Україна), НБС ім. М.М. Гришка НАН України (Україна), Університет Вітовта Великого (Литва), Центр природничих досліджень (Литва), Харківська філія Державної установи Інститут охорони ґрунтів України (Україна), Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України (Україна), Центральна науково-дослідна лабораторія НФаУ (Україна), Державне підприємство «Державний науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» (Україна) і не викликають сумнівів. Наукові положення, висновки і рекомендації, які сформульовані у дисертаційній роботі Ольги Михайленко є обґрунтованими та достовірними.

**Повнота викладення матеріалів дослідження.** За результатами дослідження опубліковано 78 наукових праць, серед них 36 статей, 5 з яких опубліковані у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 29 статей, які надруковані у журналах, що індексуються міжнародними базами даних Scopus та Web of Science, 1 патенті України на винахід, 3 патенти на корисну модель, 1 інформаційний лист, 1 методичну рекомендацію, 1 авторське свідоцтво на твір; додатково опубліковано дві оглядові статті. Результати досліджень представлені громадськості на вітчизняних і міжнародних конгресах та конференціях, про що свідчать 31 публікація в їх матеріалах. Робота є достатньо розпублікованою.

**Оцінка структури, оформлення та змісту дисертації та реферату.** Дисертаційна робота викладена на 446 сторінках друкованого тексту, обсяг основного тексту складає 332 сторінки. Робота ілюстрована 70 таблицями та 120 рисунками, 1 схемою. Вона складається з анотації українською та англійською мовами, переліку власних публікацій, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, а також 4 розділів власних експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел і додатків. Список використаних джерел містить 520 найменувань, з них 467 латиницею.

*У першому розділі (огляд літератури)* узагальнено дані хімічного складу та фармакологічної активності сировини крокусу посівного та рослин роду Ірис, описано фактори навколишнього середовища, які чинять вплив на накопичення біологічно активних речовин у рослинній сировині; проаналізовано законодавчу базу щодо принципів Належної практики культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження. Проведені аналітичні та теоретичні дані обґрунтовують вибір об'єктів дослідження та перспективність обраного напрямку.

*Другий розділ* містить відомості про об'єкти дослідження, методики хімічного, фармакологічного, агрохімічного, кореляційного досліджень. Дані представлені на сучасному науковому рівні, що свідчить про обізнаність дисертантки у аспектах фармакогнозії та фармацевтичної хімії.

*Третій розділ* дисертації присвячений дослідженню хімічного складу крокусу посівного приймочок з 18 регіонів України та з 13 країн світу для порівняльного аналізу. Встановлено якість сировини відповідно до вимог ISO 3632, досліджено профіль апокаротиноїдів, карбонових кислот, амінокислот, фенольних сполук. Розроблено методику аналізу колхіцину у рослинній сировині, параметри стандартизації крокусу посівного приймочок та обговорені результати фармакологічного дослідження сухих екстрактів з шафрану.

*Четвертий розділ* містить результати дослідження хімічного складу та фармакологічної активності крокус посівного листя, оцвітини та бульбоцибулин, які є побічними продуктами виробництва шафрану для обґрунтування комплексного використання рослинної сировини.

*У п'ятому розділі* проведено порівняльний аналіз фенольних сполук, терпеноїдів, карбонових кислот у рослинах роду Ірис. Встановлено взаємозв'язок із факторами навколишнього середовища та рівнем накопичення фенольних сполук у ірисів листі та кореневищах. Наведено результати виділення індивідуальних речовин з ірису угорського кореневищ модифікованою

методикою та встановлено хімічну будову речовин. З використанням вдосконаленої методики одержання екстрактів, було отримано сухі екстракти з видів ірисів та досліджено їх фармакологічний потенціал, особливо противірусну та цитотоксичну дії.

*Шостий розділ* є узагальненням проведених досліджень, які покладено в основу розробки етапів належного вирощування крокусу посівного та рослин роду Ірис з урахуванням впливу факторів навколишнього середовища на накопичення речовин-маркерів у сировині. Крім того, у розділі наведено результати використання методів передпосівного впливу на посадковий матеріал та монокомпонентного живлення на біосинтез фенольних сполук у сировині ірисів та вплив нових екологічних методів на склад та вміст БАР.

Кожен розділ містить виковки, які точно узагальнюють отримані дані, а в кінці дисертації наведено загальні висновки, які відповідають поставленим завданням та змісту дисертаційної роботи і не викликають сумнівів.

Реферат повністю відповідає вимогам оформлення та чітко і ґрунтовно передає суть дисертаційного дослідження.

**Зауваження щодо змісту й оформлення дисертації.** Дисертаційна робота безперечно має актуальність, новизну, теоретичне та практичне значення, а достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів. Вона написана сучасною, якісною, науковою мовою, має логічне та послідовне викладення. Під час опанування роботи та аналізу публікацій здобувачки не було виявлено порушень академічної доброчесності.

Дисертаційна робота Ольги Михайленко має загальну позитивну оцінку. Проте поряд із позитивною оцінкою варто відмітити деякі зауваження та побажання:

1. По тексті слід використовувати однотипність у написанні лапок – «\_», або “\_”; %; розмір шрифту у підписах до таблиць та рисунків.
2. Не для всіх екстрактів проведені дослідження *in vivo*, хоча вони мали гарні показники у дослідженнях *in vitro* (наприклад цитотоксична дія шафрану, протиалергійна дія бульбоцибулин крокусу посівного чи противірусна дія екстрактів ірисів).
3. У роботі подекуди речення сформульовані як у англійській транскрипції, що робить матеріал заважким для сприйняття; назви сполук по тексті дисертації та підписи на рисунках подані в деяких місцях українською, а в деяких англійською мовами.
4. Дисертантка по тексті роботи використовує різні варіанти назв досліджуваної сировини. Слід використовувати назви рослинної сировини відповідно до вимог ДФУ.
5. У роботі подекуди зустрічаються друкарські помилки, невдалі вирази, граматичні та орфографічні помилки.

Але вищезазначені зауваження не носять принципового характеру та не впливають на позитивну оцінку дисертації.

В рамках наукової дискусії хотілося б почути відповіді дисертантки на такі запитання:

1. Обґрунтуйте використання кореляційних методів при оцінці вмісту фенольних сполук в зразках ірисів з параметрами навколишнього середовища.
2. Чому Загальний вміст ізофлавоноїдів у кореневищах ірисів проводили у перерахунку на онозид?
3. Вміст шафраналу в українських зразках шафрану дуже різнився – від 4 до 17 % (табл. 3.12). Чим, на вашу думку, це зумовлено?
4. Пізньоцвіт осінній помилково приймають за крокус посівний через наявність спільних зовнішніх макроскопічних ознак. Чи не вивчали Ви відмінні анатомічні ознаки цих рослин?

**Рекомендації щодо використання результатів дослідження.**

Представлені у роботі підходи та методики аналізу лікарської рослинної сировини у подальшому можна використовувати при дослідженні інших видів рослин України та світу. Дані можуть бути використані при розробці параметрів стандартизації рослин, які ще не введені до ДФУ. Отримані дисертанткою результати мають теоретичний та практичний інтерес для фахівців у галузі фітохімії, фармакогнозії, біохімії, екології; сприятимуть збереженню біорізноманіття та створенню нових лікарських засобів. Запропоновані етапи належного вирощування лікарських рослин можуть бути імплементовані на інші лікарські рослини для збереження екосистем та рідкісних видів рослин. Окремі досягнення роботи можуть бути реалізованими як фрагменти освітньо-професійних та освітньо-наукових програм в освітньому і науковому процесі для підготовки здобувачів профільних ЗВО та факультетів.

**Висновок.** За результатами аналізу дисертаційної роботи Михайленко Ольги Олександрівни «Фармакогностичне дослідження крокусу посівного та рослин роду Ірис: перспективи комплексного використання та оптимізація вирощування» за рівнем наукових публікацій та доповідей, за актуальністю, новизною, повнотою виконаних досліджень, теоретичною та практичною значимістю, відсутністю проявів академічної недобросовісності, робота відповідає вимогам пунктів 7-9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук» затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 року № 1197 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМ № 502 від 19.05.2023 та № 507 від 03.05.2024), а її авторка, **Михайленко Ольга Олександрівна**, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

**Офіційний опонент:**

професор закладу вищої освіти  
кафедри фармакогнозії, фармакології  
та ботаніки Запорізького державного  
медико-фармацевтичного університету,  
доктор фармацевтичних наук, професорка



Віра ОДИНЦОВА