

## ВІДГУК

**офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук,  
проф. Ковальнової Алли Михайлівни на дисертаційну роботу  
Лисюка Романа Миколайовича на тему «Фармакогностичне дослідження  
видів лікарських рослин з нефропротекторною (гіпоазотемічною)  
активністю» на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних  
наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія**

**Актуальність теми.** Пошук рослинних джерел отримання біологічно активних речовин (БАР) для розробки ефективних засобів фармакологічної корекції порушення функцій нирок при ХНН та є актуальним питанням сучасної нефрології та фармакології. Широко розповсюджені гострі та хронічні запальні захворювання нирок та сечовидільної системи часто супроводжуються гіперазотемією, зумовленою зниженням виведення з організму рідини і продуктів азотистого обміну.

Актуальність теми дисертаційного дослідження Лисюка Р.М. пояснюється потребою у лікарських засобах з гіпоазотемічною активністю, номенклатурний перелік яких є вкрай обмеженим. Саме тому дисертаційну роботу автора присвячено пошуку і комплексному фармакогностичному вивченню видів лікарських рослин флори України з потенційною нефропротекторною (гіпоазотемічною) дією. Мета є науково обґрунтованою і назрілою.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано відповідно до плану Проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України; робота є фрагментом комплексної наукової роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за темою “Синтез та перетворення нових фізіологічно-активних речовин – похідних неконденсованих, конденсованих і макрогетероциклічних азолідонів і споріднених гетероциклічних систем, з використанням методів віртуального синтезу, вивчення фізико-хімічних властивостей та проведення фармакологічного скринінгу одержаних сполук, дослідження різних видів рослин Прикарпатської флори з метою одержання

нових лікарських засобів, розробка технології лікарських форм нових складів та опрацювання сучасних методик фармацевтичного та токсикологічного аналізу” (№ державної реєстрації 0111U010499). Шифр теми ІН 10.06.0001.16.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, їх достовірність.** Експериментальні дослідження виконані на високому науковому рівні. При вирішенні поставлених у дисертації завдань автором використано як традиційні, так і сучасні методи досліджень: морфологічні, органолептичні і анатомічні – опис, ідентифікація, стандартизація лікарської рослинної сировини (ЛРС); фізико-хімічні – тонкошарова хроматографія (ТШХ), вискоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), ВЕРХ з УФ-детектуванням; газорідинна хроматографія – мас-спектрометрія (ГРХ-МС), атомно-абсорбційної спектрофотометрія з електротермічною атомізацією (ААС/ЕА), спектрофотометрія в УФ- та видимих областях спектрів; фармакологічні *in vivo* – нефропротекторна й гіпоазотемічна дія за стандартними методиками; статистичні – дослідження кореляції і обробка результатів експерименту.

Наукові положення дисертації та висновки аргументовані і логічно витікають з результатів експериментальних досліджень.

Дані, наведені Лисюком Р. М. у дисертаційній роботі, є новими як з наукової точки зору, так і перспективними для впровадження у медичну та фармацевтичну практику.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Дисертантом вперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення вітчизняної сировини трави астрагалу солодколистого, досліджено якісний склад і кількісний вміст БАР ЛРС; методами ТШХ та ВЕРХ за хроматографічним профілем ідентифіковано флавоноїди, катехіни й гідроксикоричні кислоти; методом ААС/ЕА кількісно визначено вміст мікроелементів у складі трави астрагалу солодколистого.

Уперше у процесі дослідження автором виявлено та описано, відповідно до вимог ДФУ, діагностичні ознаки трави астрагалу солодколистого та визначено критерії стандартизації даної ЛРС. Для трави астрагалу солодколистого і створеної автором добавки дієтичної (ДД) Фіточай

«Нефропротектол» опрацьовано критерії стандартизації за органолептичними властивостями, числовими показниками якості та кількісним вмістом основних БАР.

Дисертантом вперше обґрунтовано та розроблено склад комплексного рослинного засобу гіпоазотемічної дії ДД Фіточай «Нефропротектол», до якого входять квітки робінії звичайної, листя і квітки глоду, листя берези і трава споришу.

Автором вперше встановлено гіпоазотемічну активність сумарних рідких екстрактів із надземних органів астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодного і астрагалу козлятникоподібного, а також ДД Фіточаю «Нефропротектол».

Дисертант вперше теоретично обґрунтував і експериментально підтвердив розроблену «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю».

**Практичне значення одержаних результатів.** При виконанні дисертаційних досліджень Лисюк Р. М. отримав нові наукові дані, які мають теоретичне та практичне значення. Отримані результати фармакогностичного та фармакологічного дослідження трави астрагалу солодколистого, астрагалу козлятникоподібного і астрагалу серпоплодного, а також ДД Фіточай «Нефропротектол» свідчать про можливість використання ЛРЗ на їх основі у практичній медицині.

Автор за результатами досліджень розробив проєкт МКЯ на «Астрагалу солодколистого траву» і проєкт МКЯ на ДД Фіточай «Нефропротектол», на який у співпраці з ПрАТ «Ліктрави» (м. Житомир) розроблено Технічні умови України ТУ У 10.8-00481181-013:2019 (змiна №1) «Дієтичні добавки «Фіточай».

«Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю» можливо використовувати науково-дослідними установами з метою опрацювання та впровадження нових лікарських засобів (ЛЗРП) різної терапевтичної дії.

Результати дисертаційного дослідження щодо морфолого-анатомічної будови та хімічного складу сировинних органів астрагалу солодколистого,

нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності перспективних видів лікарських рослин, впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу ЗВО України.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертанту належить вирішальна роль у визначенні мети, завдання та методів проведення досліджень. Дисертант особисто провів інформаційно-патентний пошук за темою дисертаційної роботи; дослідив зразки сировини астрагалу солодколистого за макро- і мікроскопічними ознаками; провів дослідження якісного складу і кількісного вмісту основних груп БАР сировини та запропонував підходи до стандартизації; розробив проєкт МКЯ на «Астрагалу солодколистого траву» і проєкт МКЯ на ДД Фіточай «Нефропротектол»; проаналізував та систематизував результати дослідження нефропротекторної й гіпоазотемічної активності екстрактів трави астрагалу солодколистого, трави астрагалу серпоплодного і трави астрагалу козлятникоподібного, ДД Фіточаю «Нефропротектол»; провів статистичну обробку даних; написав розділи дисертації та сформулював висновки.

**Повнота викладу матеріалів дослідження в опублікованих роботах.** За матеріалами дисертації опубліковано 43 наукові праці, з них 17 статей (2 статті у міжнародних наукових виданнях, індексованих у базі Scopus; 3 у фахових виданнях; 1 у науковому фаховому виданні Білорусі; 7 у закордонних виданнях; 4 статті у інших виданнях); 1 монографія (Switzerland); 25 тез доповідей.

Результати дисертаційного дослідження апробовано на наукових конференціях різного рівня та впроваджені у навчальний процес кафедр фармацевтичного профілю ВНЗ України.

**Аналіз дисертаційної роботи.** Дисертаційну роботу викладено на 221 сторінках машинописного тексту, вона складається з анотації, вступу, огляду літератури та експериментальної частини, яка містить розділ з описом об'єктів і методів дослідження, чотири розділи з результатами експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію ілюстровано 42 рисунками, 17 таблицями. Список використаних джерел містить 267 публікацій, з яких 120 кирилицею та 147 латиною.

Робота Лисюка Р. М., на перший погляд, має класичну фармакогностичну структуру. Проте, при детальному рецензуванні виявляються своєрідні риси, які торкаються великого фрагменту, присвяченому інтродукції рослин, характеристиці морфологічної будови інтродуцентів, особливостям їх онтогенезу у порівнянні з дикорослими та автохтонними видами. Автором проведено комплексне багатоцільове дослідження з фітохімічного аналізу; встановлено морфолого-анатомічну будову траву астрагалу солодколистого; вивчено фармакологічну активність розроблених фітосубстанцій.

Дисертаційна робота починається з анотації, яка оформлена згідно до вимог наказу № 40 МОН України від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

У **Вступі** дисертаційної роботи приводиться обґрунтування актуальності, постановка мети роботи, наукової новизни і практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертації, її структури та обсягу.

Мету досліджень автором сформульовано чітко і достатньо теоретично обґрунтовано. Завдання, які поставлені автором для досягнення мети дослідження, конкретні, спрямовані на комплексне вирішення проблеми, адекватні з висновками.

**Перший розділ** присвячено дослідженню рослинних засобів для лікування захворювань сечовидільної системи фармакотерапевтичної групи G04B «Засоби, що застосовуються в урології» Анатомо-терапевтично-хімічної класифікації ВООЗ; дисертантом визначено лідери серед ЛРС у складі лікарських засобів даної групи; проведено узагальнення даних щодо фармакологічних властивостей, які мають терапевтичне значення при захворюваннях нирок і сечовивідних шляхів. Проведено інформаційно-пошукові дослідження щодо БАР видів ЛРС вітчизняної флори, які виявляють нефропротекторну (гіпоазотемічну) активність.

Здійснено теоретичне обґрунтування вибору для подальшого вивчення рослинних субстанцій, що містять активні речовини-маркери гіпоазотемічної активності.

У другому розділі наведено дані стосовно об'єктів, матеріалів та методів дослідження: фізичні, фізико-хімічні, хімічні, біологічні, фармакогностичні, фармакологічні та статистичні методи.

У третьому розділі дисертантом представлено морфолого-біологічні особливості робінінвмісних видів роду Астрагал (*Astragalus (A.) galegiformis*, *A. falcatus*, *A. glycyphyllos*) і леспедеци двокольорової (*Lespedeza bicolor*), інтродукованих в умовах міста Львова. Наведено результати вивчення особливостей вирощування леспедеци двоколірної в умовах західного регіону України. Визначено макро- і мікроскопічні ознаки трави астрагалу солодколистого, які ввійшли до МКЯ на сировину

У четвертому розділі наведено результати фітохімічного вивчення БАР. Методами ТШХ і ВЕРХ встановлено склад та вміст флавоноїдів і гідроксикоричних кислот – маркерів гіпоазотемічної активності у фітосубстанціях, отриманих на основі ЛРС представників родини Бобові – астрагал солодколистий, астрагал серпоплодий, астрагал козлятникоподібний, робінія звичайна.

Дисертантом вперше встановлено у траві астрагалу солодколистого (методом ВЕРХ з УФ-детектуванням) кількісний вміст індивідуальних флаван-3-олів: галокатехіну, епігалокатехіну, епікатехіну, галової кислоти, катехіну, епікатехінгалату, а також вміст гідроксикоричних кислот: хлорогенової, кавової, *n*-кумарової, ферулової та розмаринової.

Автором визначено кількісний вміст найбільш важливих мікроелементів у фізіологічному і токсикологічному аспектах у надземних органах астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодного і астрагалу козлятникоподібного. Досліджено вміст суми флавоноїдів та мікроелементний склад (феруму, цинку, мангану, купруму) трави астрагалу солодколистого, трави астрагалу козлятникоподібного, трави астрагалу серпоплодного, трави споришу, листя і квіток глоду, листя берези, які у своєму складі містять маркери нефропротекторної активності. Встановлено кореляційний зв'язок між сумарним вмістом флавоноїдів та екстрагованого у настій мангану у листках з квітками глоду і траві споришу.

**П'ятий розділ** присвячено дослідженню *in vivo* впливу сумарних екстрактів надземних органів астрагалу солодколистого, астрагалу козлятникоподібного, астрагалу серпоплодного та ДД Фіточай «Нефропротектол», на показники функції нирок щурів-самців з використанням моделі гострої сулемової нефропатії. Дані проведеного фармакологічного вивчення механізмів дії аналізованих екстрактів підтверджують їх виражену гіпоазотемічну активність.

У **шостому розділі** дисертант наводить результати досліджень щодо розробки складу засобу гіпоазотемічної дії, стандартизації трави астрагалу солодколистого і фіточаю «Нефропротектол». Опрацьовані критерії стандартизації сировини трави *A. glycyphyllos* за розділами «Ідентифікація А, В, С» та «Кількісне визначення», розроблено проєкт МКЯ на добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол». За результатами експериментальних досліджень дисертантом теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено розроблену «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю».

Висновки, зроблені дисертантом, відповідають поставленим завданням та змісту роботи. Матеріал дисертаційної роботи якісно проілюстрований і грамотно описаний. Поряд з позитивними характеристиками роботи необхідно відмітити деякі **зауваження, побажання та пропозиції**:

В роботі є невдалі, не зовсім точні вислови, технічні помилки.

- Наприклад, автор пише, що для аналізу обрано методику *колориметричного* визначення з розчином хлориду алюмінію, що дозволяє кількісно визначати флавоноїди у перерахунку на рутин при аналітичній довжині хвилі 510 нм (розділ 2, п. 2.2.9). Проте у роботі використовується метод диференціальної спектрофотометрії, а не *колориметрії*.

- Вміст флавоноїдів автор здійснює методом диференційної спектрофотометрії, у перерахунку на гіперозид або рутин. Так, наприклад, автор обчислює вміст, використовуючи показник питомого поглинання гіперозиду, що дорівнює 500 при довжині хвилі 425 нм. Потрібно вказати, що

це показник питомого поглинання саме комплексу гіперозиду з  $AlCl_3$ , а не індивідуального гіперозиду.

- Бажано скласти порівняльну таблицю відмінних морфологічних ознак інтродуцентів в умовах західної України та відповідних рослин, які зростають у звичайних умовах існування. Як приклад розбіжностей можна навести *Solanum laciniatum*, який у себе на батьківщині – Південній Австралії, Тасманії, а також у Новій Зеландії – це великий кущ, чагарник 4 м заввишки і 5 м завширшки. Водночас інтродукований у країнах помірних північних широт виростає трав'янистою рослиною, культивується як однорічник; має інший склад та кількісний вміст псевдоалкалоїдів. Ваш об'єкт – леспедецу двоколірну інтродуковано у БС ЛНУ імені Івана Франка на колекційній ділянці «Лікарські рослини») у 1998 р. з первинного насінневого матеріалу, отриманого з Японії. Уточніть відмінності у морфологічній будові та у вмісті БАР леспедеци двоколірної.

- Протягом тривалого часу, починаючи з 2015 року, Ви вивчали біологічні властивості інтродуцентів, чи досліджувались Вами зміни, які відбуваються у якісному складі та кількісному вмісті БАР в онтогенезі та залежно від екологічних змін існування інтродукованих рослин?

- Потрібно уточнити та аргументувати, чому скринінгові *in vivo* дослідження гіпоазотемічної активності сумарних рослинних екстрактів видів роду *Astragalus* L. Вами проводились саме у декапітованих щурів?

- Поясніть основні принципи методу оцінки рослинної сировини для розробленого Вами збору, яка забезпечує необхідну дію на рівні не нижче, ніж у 5 балів, за висновками експертів к. фарм. н. А. Я. Кобзар та д. фарм. н. О. М. Гриценко. Яка достовірність цього методу?

- Поясніть Ваш підхід до вибору об'єктів з роду *Astragalus*, який охоплює понад 2000 видів або за іншими даними 1600 видів. Два види Вами вибрано із підроду *Phaca* (L.) Bunge *A. galegiformis* L. (*Sectio Grossheimia* R. Kam. або *Galegiformis* Gontsch.) та *A. glycyphyllos* (*Sectio Glycyphylla* (Stev.) Bunge), один із підроду *Cercidothrix* – *A. falcatus* (*Sectio Euodmus* Bunge.). Уточніть, чому перспективним видом було визначено *A. glycyphyllos*?



Проте, наведені зауваження не мають принципового характеру і не зменшують наукової та практичної цінності дисертаційної роботи.

**Висновок про відповідність дисертації вимогам Положення.** Вважаю, що дисертаційна робота Лисюка Романа Миколайовича на тему «Фармакогностичне дослідження видів лікарських рослин з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю» є закінченою науковою працею, у якій одержано результати, 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 і сечовивідних шляхів. Дана робота за актуальністю, теоретичним і практичним значенням, використанням методів 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.

**Офіційний опонент:**

професор кафедри фармакогнозії

Національного фармацевтичного університету

доктор фармацевтичних наук, професор

Ковальова А. М.

Підпис професора Ковальової А. М. засвідчую

**Провідний фахівець**

з питань кадрової роботи НФаУ



Дверницька В. І.