

ВІДГУК

**офіційного опонента, доктора хімічних наук,
професора Лубенець Віри Ільківни
на дисертаційну роботу Легінь Надії Ігорівни
на тему «Фармакогностичне дослідження підлісника європейського
(*Sanicula europaea* L.)» на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук
за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія**

Актуальність теми. Підвищення якості та ефективності лікарського забезпечення населення є актуальним завданням фармації. Протягом останніх десятиліть у сучасній медичній практиці велику увагу приділяють лікарським засобам рослинного походження та їх раціональному використанню. Збільшення асортименту фітопрепаратів та пошук додаткових джерел сировинної бази лікарських рослин є однією з важливих проблем сучасної медицини та фармації України.

Дисертаційна робота Легінь Н.І. присвячена фітохімічним, морфолого-анатомічним, технологічним, ресурсознавчим та фармакологічним дослідженням сировини підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.).

Сировина підлісника європейського у народній медицині використовується як кровоспинний, протизапальний, ранозагоювальний, відхаркувальний, жовчогінний, в'язучий, седативний, антибактеріальний та протигрибковий засіб.

В Україні підлісник європейський є рослиною неофіційною і лікарські засоби на її основі відсутні на фармацевтичному ринку, тому мета, поставлена автором – фармакогностичне дослідження підлісника європейського та встановлення можливості створення лікарських засобів на основі БАР досліджуваної сировини – є цілком обґрунтованою і актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт 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 0110 U 006205) та «Дослідження культивованих і дикорослих рослин західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (номер державної реєстрації 0118 U 003809).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, їх достовірність. Експериментальні дослідження виконані на високому науковому рівні. При вирішенні поставлених у дисертації завдань дисертантом було використано як традиційні, так і сучасні методи досліджень: паперової хроматографії (ПХ), тонкошарової хроматографії (ТШХ), газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ-МС), високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), спектроскопії в УФ- та видимій областях спектра, атомно-абсорбційної спектрометрії (ААС) з використанням сучасного обладнання; макро- та мікроскопічних; ресурсознавчих; фармакологічних досліджень.

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

Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Легінь Н. І., є новим як з наукової точки зору, так і перспективним для впровадження у практичну фармацію та медицину.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертантом вперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження трави та кореневищ з коренями підлісника європейського та встановлено наявність основних груп БАР. Визначено кількісний вміст окиснюваних фенолів, суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, тритерпенових сапонінів, гідроксикоричних та органічних кислот, в тому числі кислоти аскорбінової, вітаміну K_1 .

Дисертантом з трави підлісника європейського виділено в індивідуальному стані 7 речовин – 6 гідроксикоричних кислот, 1 флавоноїд; із кореневищ з коренями п. європейського – 5 речовин (5 гідроксикоричних кислот).

Методом ВЕРХ у траві п. європейського ідентифіковано 14 фенольних сполук, а в кореневищах з коренями – 13 сполук. Серед танінів найбільший вміст

у траві п. європейського припадає на епікатехіну галат – 1,11 %; кореневища з коренями найбільше містять у своєму складі галокатехін – 0,31 %. Серед ідентифікованих флавоноїдів у траві п. європейського переважає кверцетин. Найбільший вміст гідроксикоричних кислот у траві та кореневищах з коренями п. європейського припадає на розмаринову кислоту – 0,49 % та 0,33 % відповідно. І трава, і кореневища з коренями містять кумарин.

Методом ГХ-МС визначено 39 компонентів летких сполук, з яких 14 ідентифіковано та встановлено їх вміст, 3 сполуки стероїдної природи та 9 жирних кислот.

Вперше встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки та числові показники якості трави та кореневищ з коренями підлісника європейського, які використано для ідентифікації та стандартизації сировини.

Дисертантом опрацьовано оптимальні параметри одержання екстрактів з трави та кореневищ з коренями підлісника європейського, визначено основні параметри контролю їх якості.

На підставі проведених скринінгових фармакологічних досліджень екстрактів підлісника європейського встановлено, що виражену кровоспинну, ранозагоювальну, протизапальну та антимікробну активність проявляють екстракти трави п. європейського.

Наукову новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 132069 від 11.02.2019 р. «Спосіб одержання екстракту з трави підлісника європейського з кровоспинною дією».

Практичне значення одержаних результатів. При виконанні дисертаційних досліджень Легінь Н. І. одержала нові наукові дані, які мають не лише теоретичне, але й практичне значення. Дисертантом доведено можливість використання підлісника європейського як лікарської рослинної сировини з кровоспинними, ранозагоювальними та протизапальними властивостями.

Розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) «Підлісника європейського трава», «Підлісника європейського трави екстракт сухий» та «Інструкцію із заготівлі та сушіння трави підлісника європейського».

За матеріалами дисертаційної роботи опублікована монографія «Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації», яка впроваджена в навчальний процес кафедр ВНЗ України, а також в практичну роботу випробувального центру ДП «Івано-Франківськстандартметрологія» та ТОВ «Фітолік».

Повнота викладу матеріалів дослідження в опублікованих роботах. За матеріалами дисертації опубліковано 11 статей (із них 6 – у фахових наукових виданнях України та 2 у іноземних виданнях), 1 патент України на корисну модель, 1 монографію і 9 тез доповідей.

Результати досліджень пройшли апробацію на наукових конференціях різних рівнів та впроваджені у навчальний процес кафедр фармацевтичного профілю ВНЗ України.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційну роботу викладено на 260 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту – 186 сторінок), вона складається з анотації, вступу, огляду літератури, експериментальної частини, яка містить розділ з описом об'єктів і методів дослідження та три розділи з результатами експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію ілюстровано 31 рисунком та 54 таблицями. Список використаних джерел містить 160 найменувань, з яких 121 кирилицею та 39 латиною.

Робота Легінь Н. І. має класичний комплексний фармакогностичний характер. Автором проведено комплексне багатоцільове дослідження з фітохімічного аналізу; підібрано оптимальні технологічні параметри одержання субстанції та вивчено її фармакологічну активність; встановлено морфолого-анатомічну будову сировини; проведено ресурсознавчі дослідження.

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

Вступ дисертаційної роботи включає дані щодо актуальності, мети роботи, наукової новизни і практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертації, її структури та обсягу.

Мета досліджень автором сформульована чітко і має достатню теоретичну обґрунтованість. Завдання, які поставлені здобувачем для досягнення мети дослідження, конкретні, адекватні, спрямовані на комплексне вирішення проблеми, що вивчалася.

Перший розділ присвячений аналізу джерел літератури щодо сучасного стану фармакогностичного дослідження підлісника європейського, ареали поширення даного виду, хімічний склад, біологічну дію, застосування у народній медицині. Автор наводить теоретичне обґрунтування доцільності і перспективності створення нових вітчизняних лікарських засобів на основі досліджуваної сировини.

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

У третьому розділі автором дисертації проведено фітохімічний аналіз трави та кореневищ з коренями підлісника європейського. У траві та кореневищах з коренями підлісника європейського методом ВЕРХ ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 14 та 13 речовин фенольної природи відповідно. Методом ГХ-МС у траві підлісника європейського встановлено жирнокислотний склад та ідентифіковано 9 сполук, в тому числі 3 насичені жирні кислоти і 6 ненасичених жирних кислот; 3 сполуки стероїдної будови; 14 компонентів летких сполук. У траві та кореневищах з коренями підлісника європейського ідентифіковано 17 амінокислот: в тому числі 7 незамінних та 10 замінних. Виділено та визначено кількісний вміст ВПРС, ПР, ГцА та ГцБ; встановлено їх моносахаридний склад. Встановлено макро- і мікроелементний склад досліджуваної сировини та визначено кількісний вміст.

У четвертому розділі висвітлено матеріали щодо опрацьованих дисертантом технологічних параметрів одержання екстрактів з сировини

підлісника європейського та вивчення їх хімічного складу, безпечності та фармакологічної активності.

Дисертантом одержано 4 екстракти з сировини п. європейського (екстрагенти – вода очищена та 70% етанол). В одержаних екстрактах визначено втрату в масі при висушуванні, вміст суми поліфенолів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, тритерпенових сапонінів, полісахаридів.

На основі проведених досліджень запропоновано показники якості екстракту трави п. європейського, які включено до проєкт МКЯ «Підлісника європейського трави екстракт сухий».

Автором визначено гостру токсичність та вивчено фармакологічну активність одержаних субстанцій (ранозагоювальну, кровоспинну, протизапальну та антимікробну). Встановлено, що одержані екстракти малотоксичні (IV клас токсичності). Доведено, що виражену кровоспинну, ранозагоювальну, протизапальну та антимікробну активність проявляють екстракти трави п. європейського.

П'ятий розділ присвячений визначенню макро- і мікроскопічних ознак надземних та підземних органів підлісника європейського; визначенню біологічного запасу та урожайності п. європейського на виявлених місцях зростання в Івано-Франківській та Чернівецькій областях. Висвітлено умови культивування підлісника європейського.

Висновки зроблені дисертантом відповідають поставленим завданням та змісту роботи. Матеріал дисертаційної роботи якісно проілюстрований та грамотно описаний.

Особистий внесок здобувача. Дисертанту належить вирішальна роль у визначенні мети дослідження, шляхів її реалізації, плануванні та виконанні експерименту, його обробці, інтерпретації та узагальненні одержаних результатів, формуванні основних положень та висновків, що захищаються. Особисто автором проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи; виділено та ідентифіковано БАР, встановлено кількісний вміст основних груп БАР в траві та кореневищах з коренями п. європейського в залежності від місця зростання;

опрацьовано оптимальні технологічні параметри одержання екстрактів з трави та кореневищ з коренями п. європейського та проведено їх стандартизацію; досліджено фармакологічну активність та токсичність екстрактів п. європейського; встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки надземних та підземних органів п. європейського; виявлено масиви заростей п. європейського, встановлено урожайність, біологічний запас сировини; розроблено проекти МКЯ «Підлісника європейського трава», «Підлісника європейського трави екстракт сухий» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави підлісника європейського».

Поряд з позитивними характеристиками роботи необхідно відмітити деякі **зауваження та пропозиції:**

1. В огляді літератури на стор. 49 наведено структури деяких біологічно активних речовин рослин роду Підлісник, доречно було б вказати посилання в яких роботах вказано спосіб їх виділення та метод ідентифікації.

2. Незрозуміло, за яким типом бібліографічного стилю подано посилання на деякі позиції у списку використаних джерел, зокрема, наприклад 38, 40, 47, 49,74,76,122.

3. Є зауваження до наведеної схеми на стор.103, де представлені хімічні перетворення виділених гідроксикоричних кислот трави Підлісника європейського, а саме присутня помилка у наведеній структурі неохлорогенової кислоти. Також, одним із продуктів лужного гідролізу розмаринової кислоти є 3,4-дигідроксофеніл- α -пропіонова кислота, а не 3,4-диоксифеніл – α -масляна кислота.

4. Викликає сумнів утворення ванілінової кислоти при лужному гідролізі фелурової кислоти, оскільки такий процес може відбутися лише при окисненні фелурової кислоти, про що дисертант не вказує у роботі.

5. Коректною є інтерпретація хлорогенової кислоту як (3-О-кофеїл-D-хінної кислоти), а неохлорогенової кислоти як (5-О-кофеїл-D-хінної кислоти).

6. В тексті зустрічаються некоректні терміни, зокрема «ефіри» жирних кислот замість естери жирних кислот.

Проте, наведені зауваження не мають принципового характеру і не

зменшують наукової та практичної цінності дисертаційної роботи.

Висновки про відповідність дисертаційної роботи Положення.

Дисертаційна робота Легінь Надії Ігорівни на тему «Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.)» є закінченою науковою працею, у якій отримано нові дані, що в сукупності є суттєвими у вирішенні проблеми пошуку і дослідження лікарських рослин з метою створення нових фітопрепаратів. 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 «Порядок присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 27.07.2013 р. (зі змінами), а її автор Легінь Надія Ігорівна заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

в. о. завідувача кафедри технології

біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

Національного університету «Львівська політехніка»

доктор хімічних наук, професор

 В. І. Лубенець

Підпис професора Лубенець В. І. завідувач

Вчений секретар Національного університету

«Львівська політехніка»





Р. Б. Брилинський