

Відгук

офіційного опонента на дисертаційну роботу Шанайди Марії Іванівни на тему «Фармакогностичне дослідження представників підродини *Nepetoideae* Burnett. родини *Lamiaceae* Martinov як джерела одержання лікарських засобів», представлену до спеціалізованої вченої ради Д 35.000.02 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Актуальність теми

Актуальною проблемою вітчизняної фармації є цілеспрямований пошук рослин з достатньою сировинною базою для створення ефективних фітозасобів з вираженою антибактеріальною, антигрибковою, антиоксидантною, протизапальною, знеболювальною та седативною дією.

Дисертаційна робота Шанайди Марії Іванівни присвячена комплексному фармакогностичному дослідженню перспективних видів родів Монарда, Лофант, Змієголовник, Гісоп, Чабер і Васильки підродини Котовникові родини Глухокропівові з метою стандартизації рослинної сировини та одержання ефективних лікарських засобів. Це лофант анісовий (фіолетоквіткової форми), монарда трубчаста, чабер садовий, васильки американські, змієголовник молдавський (фіолетоквіткової форми). Рослини застосовують у медицині багатьох країн світу для лікування застудних захворювань, дерматитів, порушень травлення та як седативні засоби. Враховуючи успішне культивування обраних видів в умовах України, що відкриває можливість отримати значну сировинну базу, та перспективний хімічний склад біологічно активних (БАР), є доцільним їх комплексне фітохімічне, морфолого-анатомічне і фармакологічне дослідження. При цьому слід зазначити відсутність сучасних методів контролю якості (МКЯ) на рослинну сировину цих видів, що суттєво обмежує їх застосування в сучасній медицині.

Тому поглиблене фармакогностичне дослідження обраних представників підродини *Nepetoideae* Burnett. родини *Lamiaceae* Martinov доцільне та обґрунтоване.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана у відповідності до плану роботи проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом науково-дослідних тем кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського «Фармакогностичний аналіз та вивчення фармакологічної дії біологічно активних речовин лікарських рослин в експерименті» (номер державної реєстрації 01108U001695); «Фармако-економічне обґрунтування

створення, отримання, розробки субстанцій лікарських речовин і лікарських засобів на основі продуктів хімічного синтезу й біологічно активних речовин рослинного походження, їх стандартизація та фармакологічне вивчення» (номер державної реєстрації 0111U003756); «Фармакогностичне вивчення культивованих і дикорослих лікарських рослин; фізико-хімічні дослідження продуктів перетворення 1,3-диметилксантину та стандартизація, фармакологічні і фармако-технологічні випробування лікарських засобів» (номер державної реєстрації 0115U003359); «Пошук нових видів лікарських рослин, фармакогностичне та фармакологічне обґрунтування ефективності їх біологічно активних речовин» (номер державної реєстрації 0118U004982).

Наукова новизна отриманих результатів

Дисертантом теоретично обґрунтована та практично вирішена проблема розробки та стандартизації вітчизняних фітозасобів на основі рослинної сировини перспективних видів під родини *Nepetoideae* Burnett. родини *Lamiaceae* Martinov, родів: Монарда, Лофант, Змієголовник, Гісоп, Чабер, Васильки. У дисертації наведені нові методологічні підходи до вивчення видів під родини Котовникові, в основу яких покладено результати аналізу літературних джерел, скринінгові фітохімічні дослідження, визначення накопичення основних груп БАР. Здійснено всебічний аналіз та теоретичне обґрунтування можливих взаємозв'язків між вмістом основних БАР у розроблених лікарських рослинних засобів (ЛРЗ) та їх біологічною активністю.

У досліджуваних об'єктах вперше ідентифіковано 239 сполук, які належать до різних класів БАР. Вперше у траві досліджуваних видів серед БАР первинного синтезу ідентифіковано та визначено компонентний вміст 21 карбонової кислоти, 25 жирних кислот та 22 амінокислот.

Вперше методами планарної хроматографії – ТШХ та ВЕТШХ – встановлено специфічне розташування на хроматограмах основних БАР вторинного синтезу у траві та ЛРЗ досліджуваних видів. Встановлено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук у сировині рослин. В аналізованих ефірних оліях визначено домінуючі та видоспецифічні сполуки, на основі чого виявлено їх хемотипові особливості. Вперше встановлено вміст 6 тритерпенових сполук.

Отримано нові дані щодо компонентного складу ефірних олій досліджуваних видів, ідентифіковано 134 сполуки.

Вперше з трави монарди трубчастої виділено та встановлено структуру 4 індивідуальних сполук – розмаринової кислоти, кофейної кислоти, рутину і β-ситостеролу. Доведено їх структуру за фізико-хімічними властивостями, даними УФ-спектрофотометрії, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії. Обґрунтовано визначення розмаринової кислоти як спільної домінуючої сполуки рослинної видів під родини *Nepetoideae*.

Встановлені загальні та відмінні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки, які використані для розробки проєктів МКЯ «Лофанту анісового

(фіолетовоквіткової форми) трава», «Монарди трубчастої трава», «Васильків американських трава», «Чаберу садового трава», «Змієголовника молдавського (фіолетовоквіткової форми) трава».

Вперше розроблено технологію одержання та проведено фармакологічний скринінг нових ЛРЗ: настоек з трави васильків американських та змієголовника молдавського; рідкого і густого екстрактів із трави чаберу садового; сухих екстрактів з трави лофанту анісового, монарди трубчастої та васильків американських.

Вперше встановлено антиоксидантну активність настоїв та ефірних олій із трави рослин на основі їх взаємодії з активним вільним радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилом. Визначено безпечність екстрактів з досліджуваної рослинної сировини. Встановлено протизапальну дію густого екстракту із трави чаберу садового, сухих екстрактів із трави лофанту анісового, монарди трубчастої та васильків американських; аналгетичну активність густого екстракту із трави чаберу садового та сухого екстракту із трави монарди трубчастої; гепатопротекторну дію рідкого екстракту із трави чаберу садового. Встановлено седативний ефект ефірних олій та настоек із трави васильків американських та змієголовника молдавського.

Наукову новизну проведених досліджень підтверджено двома патентами України на винахід та чотирма – на корисну модель.

Практичне значення отриманих результатів

Експериментально підтверджено перспективність створення ЛРЗ із трави п'яти досліджуваних видів підродини Котовникові. Отримані хроматографічні профілі фенольних сполук та терпеноїдів у сировині досліджуваних рослин і одержаних ЛРЗ можна використовувати для їх експрес-аналізу. Розроблено комплексний підхід до використання водного витягу та шроту сировини васильків американських і монарди трубчастої після вилучення ефірної олії, на основі чого отримано сухі екстракти. Які можна розглядати як потенційне джерело полі фенолів.

За результатами проведених досліджень здійснено теоретичне і експериментальне обґрунтування параметрів стандартизації та розроблено проекти МКЯ на нові ЛРЗ: «Змієголовника молдавського настояку», «Чаберу садового густий екстракт», «Лофанту анісового сухий екстракт», «Монарди трубчастої сухий екстракт», а також ефірні олії 5 видів.

Технологічну схему одержання та проект МКЯ сухого екстракту з трави васильків американських апробовано в умовах виробництва товариства з обмеженою відповідальністю «Тернофарм»; технологічну схему виробництва густого екстракту з трави чаберу садового під умовною назвою «Сатурин» впроваджено в промислових умовах хіміко-фармацевтичного заводу «Червона зірка». Запропонований проект МКЯ ефірної олії з трави чаберу садового апробовано в умовах виробництва товариства з обмеженою відповідальністю «Косметико-фармацевтичної компанія «Грін Фарм Косметик»».

Розроблено та впроваджено у галузь охорони здоров'я інформаційний лист № 179-2016 «Макро- та мікроскопічні ознаки трави васильків американських (*Ocimum americanum* L.)».

Результати досліджень впроваджено у навчальний процес та наукову роботу ряду кафедр закладів вищої освіти та науково-дослідних установ України, Литви та Польщі.

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійно проведеним експериментальним дослідженням автора. Співавторами були залучені науковці, які приймали участь у виконанні досліджень.

Особисто автором здійснено:

- пошук та аналіз даних літератури з метою визначення подальших напрямів експериментальних досліджень, обґрунтування оптимального алгоритму та вибору рослинних джерел представників підродини *Nepetoideae* Burnett. родини *Lamiaceae* Martinov для одержання ефективних лікарських засобів;
- вивчення хімічного складу, стандартизацію досліджуваної сировини та лікарських засобів на її основі;
- розроблені проекти МКЯ на нові ЛРЗ: «Змієголовника молдавського настоянку», «Чаберу садового густий екстракт», «Лофанту анісового сухий екстракт», «Минарди трубчастої сухий екстракт», «Васильків американських сухий екстракт», «Змієголовника молдавського ефірну олію», «Минарди трубчастої ефірну олію», «Васильків американських ефірну олію», «Лофанту анісового ефірну олію»;
- технологічну схему одержання та проект МКЯ сухого екстракту з трави васильків американських апробовано в умовах виробництва товариства з обмеженою відповідальністю «Тернофарм». Технологічну схему виробництва густого екстракту з трави чаберу садового «Сатурин» впроваджено в промислових умовах хіміко-фармацевтичного заводу «Червона зірка». Запропонований проект МКЯ ефірної олії з трави чаберу садового апробовано в умовах виробництва товариства з обмеженою відповідальністю косметико-фармацевтичної компанії «Грін Фарм Косметик».

Усі наукові положення, висновки та рекомендації, викладені у дисертації, виконані автором особисто. У наукових працях, опублікованих у співавторстві йому належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації, їх достовірність

Встановлені автором наукові положення, висновки і рекомендації, які наведені в дисертаційній роботі є обґрунтованими, мають теоретичне та практичне значення, статистично достовірні. Вони повністю забезпечені для обраних об'єктів застосуванням сучасних фізико-хімічних, фітохімічних,

морфолого–анатомічних, технологічних та фармакологічних методі досліджень.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах та авторефераті

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 65 наукових праць, у тому числі 18 одноосібних, 30 статей у фахових виданнях (22 у вітчизняних та 8 – у виданнях іноземних держав, з яких 5 індексуються в наукометричній базі *Scopus*), 1 інформаційний лист, 28 тез доповідей і матеріалів наукових конференцій, отримано 6 патентів України (з них 2 – на винахід). Автореферат дисертації повністю розкриває основний зміст роботи.

Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків

Дисертаційна робота викладена на 569 сторінках машинописного тексту та складається з анотації, вступу, 7 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел, 9 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 309 сторінок. Робота ілюстрована 91 таблицею та 173 рисунками. Список використаних джерел містить 402 найменування, з них 175 кирилицею та 227 латиною.

Дисертацію оформлено відповідно до чинних вимог за традиційною схемою наукових рукописів. Робота добре ілюстрована, усі положення сформульовані чітко та грамотно. Розпочинається вона з **анотації**, у якій стисло відображено основні положення дисертації. У **вступі** чітко обґрунтовано актуальність наукової проблеми, коректно сформульовано мету і завдання досліджень, висвітлено наукову новизну і практичну значимість роботи, наведено відомості про апробацію отриманих результатів.

У **розділі 1** наведені результати аналізу джерел наукової літератури щодо стану сучасних фармакогностичного вивчення представників родини Глухокропівові (*Lamiaceae*). Визначено, що для створення нових безпечних і ефективних ЛРЗ антимікробної, антиоксидантної, седативної, протизапальної, анальгетичної дії та розширення сировинної бази фармацевтичної промисловості актуальним є проведення комплексного фармакогностичного вивчення інтродукованих в Україні видів із родів Васильки, Змієголовник, Гісоп, Лофант, Монарда і Чабер підродини Котовникові цієї родини. Визначено, що хімічний склад та морфолого-анатомічні особливості обраних для досліджень об'єктів потребують детального вивчення через наявність значної кількості ботанічних і селекційних форм та хемотипів у межах видів.

Розділ 2 присвячений обґрунтуванню вибору об'єктів дослідження, матеріалів, методик та методів, які були використані у роботі. Рослину сировину заготовляли впродовж 2005-2019 рр. на початку масового цвітіння на території Тернопільської області. Автором при виборі об'єктів дослідження були враховані відомості стосовно застосування сировини у традиційній та

альтернативній медицині, можливість культивування відповідно до настанови GACP.

У розділі 3 наведено результати експериментальних досліджень амінокислот, карбонових кислот, вуглеводів та елементного складу сировини 10 досліджуваних видів під родини Котовникові. На основі використання сучасних фізико-хімічних методів досліджень вперше встановлено компонентний склад і кількісний вміст основних груп БАР первинного синтезу, ароматичних кислот, макро- та мікроелементів у траві рослин.

Розділ 4 присвячений дослідженню сполук вторинного синтезу у сировині обраних видів. Дисертантом за допомогою методів ГХ/МС, ТШХ, ВЕРХ, ВЕТШХ проведено ідентифікацію та кількісне визначення флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, фенольних сполук. Визначено особливості накопичення ефірних олій залежно від періоду вегетації та використаної морфологічної частини рослин. Серед досліджуваних 10 видів, у тому числі 4 форм рослин, виявлено кількісний вміст та компонентний склад ефірних олій. Для кожного об'єкта встановлено характерний хроматографічний профіль та відстежено домінуючі і видоспецифічні сполуки, на основі чого визначено його хемотипові особливості. Встановлено специфіку хроматографічних профілів фенольних сполук трави досліджуваних видів. Вперше розроблено та валідовано методику ВЕТШХ денситометричного аналізу вмісту розмаринової кислоти як основного аналітичного та біологічно активного маркера сировини цих видів з використанням високоефективної тонкошарової хроматографії. Визначено сумарний вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенолів, танінів, ефірних олій та тритерпеноїдів у сировині рослин. Із трави монарди трубчастої виділено 6 індивідуальних сполук, структуру 4 з яких доведено за їх фізико-хімічними властивостями – розмаринової та кофейної кислот, рутину і терпеноїду β -ситостеролу. Для подальших досліджень була обрана рослинна сировина п'яти найбільш перспективних видів: васильків американських, змієголовника молдавського (фіолетово квіткова форма), лофанту анісового (фіолетоквіткова форма), монарди трубчастої і чаберу садового.

Розділ 5 роботи містить результати стандартизації рослинної сировини досліджуваних видів та розробки відповідної нормативної документації. Наведено результати вивчення загальних та відмінних морфолого-анатомічних діагностичних ознак трави обраних видів. Отримані дані запропоновано використовувати при стандартизації сировини і внесено до проєктів МКЯ «Монарди трубчастої трава», «Васильків американських трава», «Чаберу садового трава», «Лофанту анісового (фіолетовоквіткової форми) трава» та «Змієголовника молдавського (фіолетовоквіткової форми) трава». Встановлено технологічні параметри сировини цих видів.

У розділі 6 наведено результати аналізу ефективності виділення основних груп БАР з досліджуваної рослинної сировини залежно від вибору різних параметрів екстрагування, на основі чого розроблено технології одержання нових ЛРЗ, визначено параметри їх стандартизації та

запропоновано відповідні проекти МКЯ: «Змієголовника молдавського настойки», «Чаберу садового екстракту густого», «Лофанту анісового екстракту сухого», «Монарди трубчастої екстракту сухого» та «Васильків американських екстракту сухого».

У розділі 7 роботи наведено результати фармакологічного скринінгу розроблених ЛРЗ. В умовах *in vitro* вивчено антибактеріальні та антигрибкові властивості ефірних олій досліджуваних видів. Встановлено, що антиоксидантна активність настоїв із трави рослин корелювала із вмістом у них суми поліфенолів. В експериментах *in vivo* встановлено безпечність ЛРЗ, отриманих на основі сировини досліджуваних видів. Експериментально доведено протизапальну активність екстрактів із трави васильків американських, лофанту анісового, чаберу садового і монарди трубчастої; аналгетичну активність густого екстракту з трави чаберу садового та сухого екстракту з трави монарди трубчастої; гепатопротекторну дію рідкого екстракту з трави чаберу садового. Наведено теоретичне обґрунтування можливих взаємозв'язків між вмістом основних БАР та фармакологічною активністю розроблених ЛРЗ.

У висновках дисертації, які відповідають поставленим меті і завданням, логічно узагальнено результати роботи. Список використаних джерел оформлено за чинними вимогами; переважна більшість використаних джерел – це публікації за останні 10 років, що підкреслює належну обізнаність дисертанта щодо сучасного стану наукової проблеми.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації, завершеність дисертації в цілому

Характеризуючи дисертаційну роботу Шанайди Марії Іванівни у цілому, слід зазначити, що вона безумовно містить всі необхідні ознаки актуальності, наукової новизни і практичної значущості. Відрізняється сучасними оригінальними підходами у виконанні запланованих експериментальних досліджень.

Текст дисертації та автореферату викладено українською мовою із дотриманням належного наукового стилю, тому суттєвих зауважень немає. Робота характеризується значним обсягом експериментального матеріалу. Результати проведених досліджень проілюстровано великою кількістю оригінальних кольорових фотографій хроматографічних профілів поліфенолів і ефірних олій досліджуваних видів (хроматографія у тонкому шарі сорбенту), а також діагностичних мікроскопічних ознак сировини рослин. Основні положення та висновки дисертації науково обґрунтовані, а отримані результати без сумніву достовірні.

Позитивно оцінюючи здобутки дисертанта та високий рівень дисертаційної роботи у цілому, вважаю за необхідне висловити деякі зауваження і пропозиції:

1. У розділі 1 автором при огляді літератури значна увага приділяється загальному розгляду родини Глухокропівові, але потім значна кількість видів

не була предметом досліджень. Тому цей матеріал слід було би навести більш стисло.

2. Таблиці 1.1 та 1.2 розділу 1 доцільно було би навести в додатках в зв'язку з тим, що вони мають в цілому загально-інформаційне значення.

3. На мою думку, не було необхідності у розділі 2 приводити деякі загальні розрахункові формули у відомих методиках досліджень (наприклад, аналіз елементного складу, компонентний вміст цукру методом газової хроматографії та ін.), а лише навести відповідні посилання на літературні джерела.

4. Деякі висновки до Розділу 4 (№3 та №6) дуже об'ємні та для кращого сприйняття повинні бути більш стислими.

5. При викладенні матеріалів Розділу 3, порядок їх представлення не зовсім відповідає назві цього розділу.

У порядку дискусії хотілось би отримати відповіді на такі запитання:

1. Які об'єми заготівлі трави досліджуваних видів потрібні для подальшого впровадження запропонованих лікарських засобів?

2. Які лікарські форми доцільно обрати для впровадження отриманих субстанцій у якості фітопрепаратів?

Відповідність дисертації вимогам п. 10

«Порядку присудження наукових ступенів»

Дисертаційна робота Шанайди Марії Іванівни на тему «Фармакогностичне дослідження представників підродини *Nepetoideae* Burnett. родини *Lamiaceae* Martinov як джерела одержання лікарських засобів» на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за своєю актуальністю, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю, рівнем та обсягом, достовірністю отриманих результатів, публікаціями у наукових виданнях повністю відповідає вимогам пункту 10 «Порядку присудження наукових ступенів» постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, а її автор, Шанайда Марія Іванівна, заслуговує на присвоєння наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

професор кафедри клінічної фармації,
фармакотерапії, фармакогнозії
та фармацевтичної хімії Запорізького
державного медичного університету,
доктор фармацевтичних наук, професор



О. В. Мазулін

Сноручний підпис _____
ПІДТВЕРДЖУЮ
зач. відділу кадрів Запорізького
державного медичного університету
_____ 20 ____ р. Підпис _____

В. Б. Солодученко