

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Коляджина Тараса Івановича

«Фармакогностичне дослідження астранції великої (*Astrantia major* L.)»,
представлену до офіційного захисту до спеціалізованої вченої ради
Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті на
здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за
спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Актуальність теми.

Всебічне дослідження лікарської рослинної сировини, створення на її основі ефективних лікарських засобів є актуальним завданням фармацевтичної науки.

Особливої уваги заслуговують лікарські рослини, які здавна використовуються в народній медицині. До таких рослин належать види роду Астранція родини Селерові (*Apiaceae*), у флорі України представлені лише одним видом – астранцією великою (*Astrantia major* L.), трава якої використовується в народній медицині як кровоспинний, сечогінний та потогінний засоби, для зняття набряків різного походження, при жовтяниці у новонароджених, ревматичних болях у суглобах. В той же час лікарські препарати на основі трави астранції великої на вітчизняному фармацевтичному ринку відсутні.

Отже, комплексне фармакогностичне та ресурсознавче дослідження астранції великої, встановлення умов її інтродукції, стандартизація сировини, розробка технології отримання лікарських засобів із протизапальною, кровоспинною та ранозагоювальною активністю є актуальним завданням.

Метою дисертаційної роботи Коляджина Тараса Івановича стало фармакогностичне дослідження астранції великої, розробка методик стандартизації трави астранції великої, проведення фармакологічного скринінгу для обґрунтування можливості використання у медицині.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота 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 Коляджина Т. І. виконана на високому науковому рівні. Докладний аналіз наукової літератури підтвердив доцільність та актуальність проведення досліджень за напрямками, представленими в дисертації.

Представлена дисертаційна робота виконана з використанням як традиційних, так і сучасних методів аналізу: паперової хроматографії (ПХ), тонкошарової хроматографії (ТШХ), газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС), високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), абсорбційної спектрофотометрії в УФ- та видимій областях спектра, атомно-абсорбційної спектрометрії (ААС) з використанням сучасного обладнання; макро- та мікроскопічних; ресурсознавчих; фармакологічних досліджень *in vitro* та *in vivo*.

Дисертант послідовно і логічно викладає отримані результати, підтверджує їх рисунками хроматограм, даними кількісного визначення вмісту біологічно активних речовин, даними по отриманню екстрактів, їх стандартизації та підтвердженню їх фармакологічної активності.

Дисертаційна робота базується на достатньому фактичному матеріалі і за результатами експериментів повністю підтверджує поставлену мету дослідження. Ілюстративний матеріал свідчить і підтверджує достовірність і значущість проведених експериментів.

Наукові положення аргументовані та мають належний рівень наукової новизни. Кількість наведених результатів досліджень, глибина їх аналізу, проведеного з застосуванням методів математичної статистики згідно з вимогами ДФУ, є науково достовірними та достатніми для одержання обґрунтованих висновків. Робота не містить плагіату.

Отже, високий ступінь обґрунтованості та достовірності отриманих результатів, рекомендацій і висновків, представлених у дисертації

Коляджина Т. І., не викликає сумнівів. Дисертаційна робота добре оформлена та має логічну структуру.

Наукова новизна отриманих результатів.

Дисертантом вперше було проведено фітохімічні, фармакологічні та ресурсознавчі дослідження астранції великої. Вивчено вміст БАР в листках, квітках, траві, стеблі астранції великої. Опрацьовано оптимальні умови одержання екстрактів, методики аналізу якісного та кількісного вмісту діючих речовин.

Вперше в результаті фітохімічного дослідження трави астранції великої встановлено наявність основних груп БАР. Визначено кількісний вміст окиснюваних поліфенолів, суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних та органічних кислот, в тому числі кислоти аскорбінової.

Дисертантом уперше у траві астранції великої ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 індивідуальних сполук фенольної природи, у тому числі 8 метаболітів танінів, 5 флавоноїдів та 4 гідроксикоричних кислот; 8 жирних кислот; 19 компонентів летких сполук, 3 фітостеролів та 17 амінокислот. Вперше досліджено елементний склад сировини.

Вперше кількісно визначено вміст фракцій полісахаридів в траві астранції великої: водорозчинних полісахаридів (ВРПС), пектинових речовин (ПР), геміцелюлози А (ГцА), геміцелюлози Б (ГцБ). Встановлено їх мономерний склад.

Вперше визначено параметри екстракції БАР із трави астранції великої та встановлено оптимальні параметри отримання сухих екстрактів: ступінь подрібнення сировини, екстрагент, співвідношення сировина-екстрагент, час та кратність екстракції.

Вперше встановлено, що екстракти є нетоксичними та проявляють антимікробну, протизапальну, кровоспинну та ранозагоювальну активність.

Визначено макро- та мікроскопічні ознаки цільної та подрібненої сировини, числові показники доброякісності, їх зміни в процесі зберігання та встановлено термін придатності. Встановлено місця зростання астранції великої на Прикарпатті. Здійснено вивчення виявлених фітоценозів та встановлено запаси сировини. Проведено фенологічні спостереження за розвитком астранції великої на дослідних ділянках. Вперше розроблено

параметри інтродукції рослини в умовах Прикарпаття з урахуванням рекомендацій Належної практики культивування і заготівлі рослинної сировини (GACP).

Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 130764 «Спосіб одержання екстракту трави астранції великої із кровозупинною дією» від 11.06.2018 р.

Практичне значення отриманих результатів.

Незаперечне практичне значення мають розроблені автором параметри інтродукції астранції великої з метою забезпечення кількості та якості сировини відповідно до рекомендацій належної виробничої практики (GMP).

В результаті проведеного фармакогностичного дослідження автором розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) на траву та екстракт астранції великої, інструкцію із заготівлі та сушіння трави астранції великої.

Доведено можливість створення лікарських засобів протизапальної, кровоспинної та ранозагоювальної дії на основі БАР з трави астранції великої.

За матеріалами роботи видано монографію «Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації», яку разом з іншими матеріалами досліджень впроваджено у практичну роботу випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія», ТОВ «Фітолік» та науково-дослідну роботу ряду споріднених кафедр ВНЗів України, що підтверджується відповідними актами впровадження.

Особистий внесок здобувача.

Наукові дослідження за темою дисертаційної роботи виконано у співавторстві з науковим керівником – д. фарм. н., проф. Грициком А. Р. 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, встановлено основні групи БАР в траві астранції великої в залежності від фази вегетації, проведено морфолого-анатомічне дослідження, встановлено діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки досліджуваної сировини, що

використано при її стандартизації. Розроблено параметри одержання екстрактів із трави астранції великої 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, проєктів МКЯ, фотознімків. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, особистий внесок здобувача відображено в списку публікацій.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробації.

За темою дисертації опубліковано 17 наукових праць, у тому числі 7 статей (із них 5 – у фахових наукових виданнях України, 2 – у іноземних виданнях), 1 монографію, 1 патент України на корисну модель, 8 тез доповідей. Опубліковані роботи повністю відповідають основним результатам досліджень.

Матеріали досліджень доповідались на 10 конференціях, з них 1 закордонна.

Аналіз рукопису роботи та автореферату дає підстави стверджувати про ідентичність викладення основних положень, що виносяться на захист.

Загальна оцінка дисертації, автореферату, їх структури, мови та стилю викладення.

Представлена до захисту дисертаційна робота виконана на сучасному рівні і сучасному обладнанні. Оформлення дисертаційної роботи і автореферату акуратне; рисунки чіткі, підписи під ними докладні; таблиці точні.

Дисертаційна робота викладена на 215 сторінках (обсяг основного тексту 137 сторінок) і складається із анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, експериментальної частини, яка містить розділ з описом об'єктів і методів дослідження та три розділи з результатами експериментів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертант підтверджує результати експериментальних досліджень значним ілюстративним матеріалом – 49 таблицями та 29 рисунками. Список використаних джерел містить 156 найменувань, з яких 131 кирилицею та 25 латиною.

Перший розділ присвячено аналізу даних щодо систематики, ботанічної характеристики та ареалу астранції великої, ступеню вивчення її хімічного

складу, фармакотерапевтичної активності та шляхів застосування в медицині. Автор робить обґрунтовані висновки про недостатність вивчення хімічного складу рослини, що створює передумови для проведення ресурсознавчих, фітохімічних та фармакологічних досліджень з метою створення нових лікувальних засобів.

Другий розділ містить інформацію про загальну методологію та об'єкти дослідження, прилади, матеріали, методи та реактиви, які використовувались при проведенні фармакогностичних, технологічних, фармакологічних та ресурсознавчих досліджень. Наведено райони заготівлі сировини астранції великої.

У **третьому розділі** представлено результати вивчення складу БАР астранції великої за допомогою реакцій ідентифікації, ПХ, ВЕРХ, ГХ-МС та інших методів. Автором встановлено, що трава астранції великої містить фенольні сполуки: гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, таніни; тритерпенові сапоніни; алкалоїди; карбонові кислоти; вільні моноцукри, ВРПС; амінокислоти; досліджено елементний склад сировини.

Отримано фракції полісахаридів – ВРПС, ПР, ГцА та ГцБ. Встановлено їх мономерний склад та вміст окремих моноцукрів.

Наведено результати визначення у стеблах, квітках, листках та траві астранції великої аскорбінової кислоти, органічних кислот, вітаміну К, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та поліфенольних сполук.

Четвертий розділ містить результати дослідження оптимальних параметрів екстракції БАР із трави астранції великої, розробки технології отримання екстрактів з досліджуваної сировини з використанням води очищеної та 70 % етанолу як розчинників. Наведено вихід екстрактів, результати визначення в них втрати в масі при висушуванні, вмісту флавоноїдів та суми поліфенолів.

Приведено дані щодо визначення гострої токсичності, антимікробної, протизапальної, кровоспинної та ранозагоювальної активності одержаних за розробленою технологією екстрактів.

Як більш перспективний визначено екстракт АВС. Для нього розроблено проект МКЯ та наведено результати дослідження 5 серій екстракту на відповідність параметрам стандартизації.

П'ятий розділ присвячено ресурсо-біологічним дослідженням та розробці проекту методів контролю якості на траву астранції великої. Встановлено основні морфолого-анатомічні ознаки цілої та подрібненої сировини, які разом із числовими показниками доброякісності внесено до розробленого проекту МКЯ «Астранції трава». З метою стандартизації проведено дослідження 5 серій трави астранції великої. Створено інструкцію із заготівлі і сушіння трави астранції. Наведено результати дослідження зміни числових показників доброякісності трави астранції під час зберігання сировини, що дозволило встановити термін її зберігання.

Встановлено місця зростання астранції великої на Прикарпатті та приведено результати дослідження сировинних запасів рослини. Висвітлено умови інтродукції астранції великої.

Загальні висновки відповідають завданням дослідження.

Відмічаючи актуальність, наукову і практичну значимість дисертаційної роботи Коляджина Т. І., слід висловити окремі побажання і зауваження:

1. На мою думку, бажано було б до п.п. 2.2 «Об'єкти дослідження» внести не лише досліджувану сировину, а й отримані з неї екстракти.

2. За результатами наведених у дисертації досліджень летких сполук трава астранції великої відрізняється від більшості представників родини Селерові наявністю сесквітерпеноїдів, вміст яких у складі ефірної олії сягає 76,13 %. Визначення методом ГХ-МС каларену як домінуючого компоненту (22 %) ефірної олії можна внести як розділ до проекту МКЯ на дану сировину.

3. У майбутньому бажано провести порівняльне дослідження БАР дикорослої сировини астранції великої і культивованої.

4. Деякі використані літературні джерела є застарілими (№ 2, 4-7, 13, 20, 26 та ін.).

У процесі рецензування роботи виникли такі запитання:

1. За результатами фармакологічних досліджень отримані з трави астранції великої екстракти проявляють суттєво виражену кровоспинну дію. У роботі наведено результати визначення вмісту вітаміну К у сировині. Чому стандартизація отриманих екстрактів пропонується за вмістом суми поліфенольних сполук, а не за вмістом вітаміну К?

2. Як можна пояснити менший вміст суми поліфенольних сполук у сировині, ніж сумарний вміст гідроксикоричних кислот і флавоноїдів?

Проте, викладені вище зауваження не носять принципового характеру, не зменшують наукову та практичну цінність дисертаційної роботи і не впливають на загальну високу позитивну оцінку виконаних досліджень.

Відповідність дисертації вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів». Резюмуючи вищезазначене, вважаю, що дисертаційна робота Коляджина Тараса Івановича «Фармакогностичне дослідження астранції великої (*Astrantia major* L.)» на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук носить самостійний характер, є завершеним науковим дослідженням, в якому отримано нові науково обґрунтовані теоретичні і практичні результати, що мають певне значення для розвитку фармацевтичної науки і практики в Україні. За своєю актуальністю, новизною, науковим рівнем, обсягом і повнотою досліджень, достовірністю результатів, практичною значимістю дисертаційна робота відповідає вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. зі змінами, що пред'являються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук, а її автор – Коляджин Тарас Іванович – заслуговує на присудження 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

Т. В. Ільїна

Підпис професора Ільїної Т. В. засвідчую
Провідний фахівець з питань кадрової роботи
відділу кадрів НФаУ



О. В. Купіна