

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук,
професора Ільїної Т. В. на дисертаційну роботу Посацької Наталії
Миколаївни на тему: «Фармакогностичне дослідження видів роду
Вербена», представлену 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.

Пошук нових сировинних джерел біологічно активних речовин (БАР) різної фармакологічної дії серед рослин вітчизняної флори, створення на їх основі ефективних лікарських засобів є актуальним завданням фармацевтичної науки.

Рід Вербена (*Verbena* L.) родини Вербенові (*Verbenaceae* J. St.-Hil.) у флорі України представлений трьома видами: вербеною лікарською (*Verbena officinalis* L.), вербеною лежачою (*Verbena supina* L.) та вербеною гібридною (*Verbena hybrida* Hort.), з яких вербена лікарська є фармакопейним видом. У монографії ДФУ розділи «ідентифікація А» та «ідентифікація В» наведені для трави вербени лікарської, «ідентифікацію С» пропонується виконувати так, як зазначено для *Aloysia citrodora* Paláu, або вербени лимонної, яка відноситься роду Алоїзія родини Вербенові. Дослідження хімічного складу і стандартизація українських зразків сировини видів роду Вербена раніше не проводились.

Широке використання рослин роду в народній медицині в якості антимікробних, протизапальних, гепатопротекторних засобів та епізодичність досліджень хімічного складу створюють підґрунтя для їх фітохімічного дослідження та отримання субстанцій з встановленою фармакологічною дією.

Тому комплексне фармакогностичне дослідження трьох видів роду Вербена флори України, розробка технології одержання лікарських засобів

на основі БАР та встановлення їх фармакологічної активності є актуальним завданням.

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

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) і «Дослідження культивованих і дикорослих лікарських рослин західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (номер державної реєстрації 0118U003809).

Ступінь обґрунтованості наукових положень дисертації, висновків, сформульованих у дисертаційній роботі та їх достовірність.

Дисертація Посацької Н. М. виконана на достатньо високому науковому рівні. Докладний аналіз наукової літератури підтвердив доцільність та актуальність проведення досліджень за напрямками, представленими в дисертації.

При виконанні експерименту автором використані як традиційні, так і сучасні методи дослідження: макроскопічні (ідентифікація рослин та сировини), скануючої електронної мікроскопії (для встановлення ультраструктури сировини), фізичні (втрата в масі при висушуванні, загальна зола, розчинність та ін.), хімічні (реакції ідентифікації), фізико-хімічні (тонкошарова хроматографія, хромато-мас-спектрометрія, високоефективна рідинна хроматографія, спектроскопія в УФ- та видимій ділянках спектру, атомно-абсорбційна спектрометрія), ресурсознавчі, фармакологічні *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 фармакологічної активності.

Дисертаційна робота базується на достатньому фактичному матеріалі і за результатами експериментів повністю вирішує поставлену мету дослідження.

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 Посацької Н. М., не викликає сумнівів. Дисертаційна робота добре оформлена та має логічну структуру.

Наукова новизна отриманих результатів.

Дисертантом вперше було проведено фітохімічні, фармакологічні та ресурсознавчі дослідження сировини видів роду Вербена, заготовлених на території України. Опрацьовано оптимальні умови одержання екстрактів, методики аналізу якісного та кількісного вмісту діючих речовин.

У траві вербени лікарської, траві вербени гібридної та листі вербени лежачої визначено кількісний вміст окиснюваних фенолів, суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, полісахаридів, органічних кислот, в тому числі кислоти аскорбінової, токоферолів, встановлено амінокислотний, жирнокислотний та мінеральний склад. Досліджено вміст основних груп БАР у зразках сировини, заготовлених на території Івано-Франківської, Тернопільської та Одеської областей.

Методом ВЕРХ у вербени лікарської траві встановлено наявність та визначено кількісний вміст 16 індивідуальних сполук фенольної природи, у тому числі 7 прекурсорів танінів, 6 флавоноїдів, 1 кумарину та 2 гідроксикоричних кислот. Визначено, що серед фенольних сполук домінуючими є епігалокатехін, розмаринова кислота, галокатехін, катехін, та елагова кислота.

Вперше методом ГХ-МС у траві вербени лікарської ідентифіковано та встановлено вміст 8 компонентів летких сполук та 4 фітостеролів. Домінуючими сполуками є гексагідрофарнезилацетон, бензофенон та γ -ситостерол.

Вперше в сировині 3 видів роду Вербена ідентифіковано та кількісно визначено вміст 16 амінокислот. Встановлено, що домінуючими є глютамінова і аспарагінова кислоти та аргінін.

Вперше у сировині видів роду Вербена ідентифіковано та встановлено вміст 14 жирних кислот. Визначено, що у жирнокислотному складі за вмістом переважають ненасичені кислоти. Домінуючими є ліноленова, лінолева, олеїнова та лігноцерінова кислоти.

Вперше досліджено мінеральний склад сировини видів роду Вербена. Встановлено закономірності накопичення елементів в видах роду Вербена. За результатами порівняльного аналізу мінерального складу сировини та ґрунтів із місць заготівлі встановлено, що елементами сильного накопичення у видах роду Вербена є Mg, B та Co, елементами слабого накопичення – Mn, Zn, Fe, Ba, Cu, Cr та Cd.

Визначено технологічні параметри сировини та встановлено оптимальні умови одержання екстрактів. Встановлено їх фармакологічну активність.

Проведено порівняльне дослідження морфологічних ознак 3 видів роду Вербена. Встановлено ультраструктуру трави вербени лікарської з використанням скануючої електронної мікроскопії.

Встановлено місця зростання видів вербени, вивчено запаси вербени лікарської та доведено можливість культивування вербени лікарської в умовах Прикарпаття.

Практичне значення одержаних результатів.

Отримано 2 екстракти вербени лікарської трави. Встановлено, що екстракти нетоксичні та проявляють гепатопротекторну, гіполіпідемічну, протизапальну та антимікробну активність.

За результатами досліджень розроблено проекти МКЯ «Вербени лікарської екстракт сухий» та «Інструкції з заготівлі та сушіння трави вербени лікарської».

За матеріалами дисертаційної роботи видано монографію «Природа лікує... Перспективи використання рослин роду Вербена у медицині та фармації», яку разом з іншими результатами досліджень впроваджено у навчальний процес та наукову роботу ряду кафедр вищих навчальних закладів України та практичну роботу випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія».

Особистий внесок здобувача. Наукові дослідження за темою дисертаційної роботи виконано у співавторстві з науковим керівником – д. фарм. н., проф. Грициком А. Р. Безпосередньо автором здійснено інформаційно-патентний пошук, проаналізовано та ідентифіковано індивідуальні речовини, встановлено кількісний вміст основних груп БАР у трьох видах роду Вербена, порівняльне дослідження морфологічних ознак трьох видів, визначено ультраструктуру трави вербени лікарської. Розроблено параметри одержання екстрактів із трави вербени лікарської 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, проекту МКЯ, фотознімків. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, особистий внесок здобувача відображено в списку публікацій.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 25 наукових праць, у тому числі 8 статей (із них 6 у фахових наукових виданнях України та 2 у іноземних виданнях), 1 патент України на корисну модель, 1 монографію, 14 тез доповідей. Основні положення дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на конференціях різного рівня. Опубліковані роботи та автореферат повністю відповідають дисертації та основним положенням, які виносяться на захист.

Аналіз дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота викладена на 244 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту – 152 сторінки) і складається із анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу з описом об'єктів та методів дослідження та трьох розділів з результатами експериментальних досліджень, загальних висновків, додатків і списку використаних літературних джерел. Дисертація ілюстрована 64 таблицями та 25 рисунками. Список використаних джерел містить 260 найменувань, з яких 155 кирилицею та 105 латиною.

У вступі обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, визначено предмет та об'єкти дослідження, його мету і завдання, розкрито наукову новизну, підкреслено теоретичне та практичне значення роботи, зазначено особистий внесок дисертантки та дані про апробацію одержаних результатів.

У першому розділі наведено ботанічну характеристику, дані щодо ареалу, хімічного складу та застосування видів роду Вербена в медицині та народному господарстві. Автор робить обґрунтовані висновки про недостатність вивчення хімічного складу рослини, що створює передумови для проведення ресурсознавчих, фітохімічних та фармакологічних досліджень з метою створення нових лікарських засобів.

У другому розділі обґрунтовано загальну концепцію експериментальних досліджень, наведено характеристику об'єктів, методів і методик досліджень. Дисертантом запропоновано послідовний алгоритм виконання фармакогностичних, ресурсознавчих та фармакологічних досліджень видів роду Вербена. Наведено інформацію про місяця заготівлі сировини.

Третій розділ присвячено фітохімічному дослідженню сировини видів роду Вербена та визначенню вмісту основних груп БАР у досліджуваній сировині. Автором встановлено, що сировина видів роду Вербена містить фенольні сполуки: гідроксикоричні кислоти, кумарини, флавоноїди, таніни; терпеноїди: іридоїди, тритерпенові сапоніни; карбонові кислоти; вільні моноцукри, ВРПС; амінокислоти; сліди алкалоїдів.

Методом ВЕРХ у траві вербени лікарської ідентифіковано та встановлено вміст флавоноїдів – апігеніну, лютеоліну, кверцетину, гіперозиду, рутину, кемпферолу; кумарину умбеліферону; гідроксикоричних кислот – розмаринової та хлорогенової; метаболітів танінів – галової та елагової кислот, катехіну, епікатехіну, епікатехіну галату, галокатехіну, епігалокатехіну. Методом ГХ-МС ідентифіковано та встановлено вміст 8 компонентів летких сполук та 4 фітостеролів.

У сировині видів роду Вербена ідентифіковано та визначено вміст 16 амінокислот, 14 жирних кислот, 3 токоферолів. Виділено та визначено кількісний вміст ВРПС, ПР, ГцА та ГцБ; встановлено їх моносхаридний склад, який представлено глюкозою, арабінозою, ксилозою, рамнозою, фруктозою та галактуроновою кислотами. Встановлено закономірності накопичення елементів. За результатами порівняльного дослідження мінерального складу сировини та ґрунтів з місць її заготівлі, послідуєчих розрахунків коефіцієнтів біологічного накопичення, дисертанткою визначено елементи сильного та слабого накопичення для вербени лікарської.

Автором наведено результати визначення вмісту основних груп БАР у зразках сировини, заготовлених на території Івано-Франківської, Тернопільської та Одеської областей. Як перспективну сировину обрано траву вербени лікарської.

У четвертому розділі представлено результати дослідження технологічних параметрів сировини, оптимальних параметрів екстрагування БАР, розробки технологічних схем та отримання екстрактів, вивчення їх хімічного складу, гострої токсичності, антимікробної, протизапальної, гепатопротекторної та гіполіпідемічної активності.

У отриманих екстрактах дисертанткою визначено окремі параметри та вміст основних груп БАР: флавоноїдів, танінів та суми поліфенолів.

Як більш перспективний обрано екстракт ВЛТ-7. Дисертанткою запропоновано показники доброякісності сухого екстракту трави вербени лікарської, які включено до проекту МКЯ «Вербени лікарської екстракт сухий». Проведено дослідження 3 серій цього екстракту на відповідність розробленим параметрам стандартизації.

У п'ятому розділі наведено результати порівняльного дослідження морфологічних ознак трьох видів роду Вербена, які було враховано при розробці проекту «Інструкції із заготівлі та сушіння вербени лікарської трави». Автором встановлено ультраструктуру трави вербени лікарської, представлено результати дослідження її сировинних ресурсів та визначення умов культивування в умовах Прикарпаття.

Проаналізувавши роботу, необхідно відмітити, що всі експериментальні дослідження виконані на сучасному науковому рівні, достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів, підтверджується достатньою кількістю дослідів та їх статистичною обробкою. Тематика роботи актуальна для сучасної фармації. Загальні висновки дисертаційної роботи відповідають завданням дослідження та узагальнюють отримані результати.

Відмічаючи актуальність, наукову і практичну значимість дисертаційної роботи Посацької Н. М., слід висловити окремі побажання і зауваження:

1. У п. п. 2.3.4 не вистачає посилань на методики одержання пектинових речовин, геміцелюлози А та геміцелюлози Б.

2. При визначенні метрологічних характеристик результатів кількісного визначення основних груп БАР у сировині логічно наводити їх для усіх зразків сировини (табл. 3.15, 3.17, 3.19, 3.21, 3.23 та 3.25).

3. Оскільки висновок про перспективність екстракту робиться не лише на основі результатів дослідження його хімічного складу, а й з урахуванням фармакологічної активності, доцільно було б розроблений проект МКЯ і дослідження із його стандартизації розмістити після дослідження фармакологічної активності.

4. У розділі 5 логічно було б навести проект розробленої інструкції із заготівлі та сушіння трави вербени лікарської.

При рецензуванні представленої роботи виникли такі запитання:

1. Чому як сировина досліджувалась листя вербени лежачої, тоді як для вербени лікарської та вербени гідридної досліджувалась трава?

2. У сировині видів роду Вербена визначено 22 елементи, а у ґрунтах з місць заготівлі сировині – 10. Чим можна пояснити різну кількість ідентифікованих елементів у сировині та ґрунтах?

3. Чому вміст фенольних сполук у траві вербени лікарської визначався для зразків сировини, заготовлених у 4 різних районах, а вміст токоферолів, амінокислот та полісахаридів – у одному зразку?

Проте, виявлені недоліки не мають принципового характеру, не впливають на позитивне враження від роботи і не знижують її наукової та практичної значущості.

Відповідність дисертації вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів». На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Посацької Наталії Миколаївни на тему «Фармакогностичне дослідження видів роду Вербена» є завершеним науковим дослідженням, в якому отримано нові, науково обґрунтовані, теоретичні і експериментальні результати. 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), а її автор заслуговує 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