

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Карпюк Вікторії Русланівни на тему «Фармакогностичне дослідження рослин родини *Ranunculaceae* та розробка субстанцій різної спрямованості дії на їх основі», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними і галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки та техніки.

Пошук нових джерел для створення на їх основі високоефективних, безпечних і доступних лікарських засобів є важливим завданням фармацевтичної науки. До них належить лікарська рослинна сировина, яка була і є об'єктом численних наукових досліджень як в Україні, так і за кордоном. Це зумовлено як багатим складом біологічно активних речовин рослин і широким спектром їх біологічної дії, так і безпечністю їх застосування.

Рослини родини *Ranunculaceae* (Жовтецеві) такі як *Caltha palustris* L. (калюжниця болотна), *Ficaria verna* Huds. (пшінка весняна) і *Ranunculus acris* L. (жовтець їдкий) використовуються як у традиційній так і доказовій медицині. На фармацевтичному ринку України зареєстровані лікарські засоби на основі рослин даної родини, в основному, з протизапальною, імуномодулюючою і седативною діями. Але склад біологічно активних речовин даних рослин робить їх перспективною сировиною для створення на їх основі фітосубстанцій і лікарських засобів з антимікробною, фунгіцидною, антиоксидантною активністю, які можуть застосовуватися в якості альтернативи класичним антимікробним лікарським препаратам.

Актуальність даної роботи полягає у тому, що фармакогностичне дослідження трави *Caltha palustris* L. (калюжниця болотна), *Ficaria verna* Huds. (пшінка весняна) і *Ranunculus acris* L. (жовтець їдкий), а також розробка складу і технології отримання складних екстрактів на їх основі, проведення їх стандартизації і фармакологічних досліджень дозволить розширити асортимент і збільшити доступність ефективних і безпечних лікарських засобів природного походження з антимікробною, протигрибковою, антиоксидантною і гепатопротекторною активністю.

Дисертаційна робота виконана в межах науково-дослідної роботи кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» (№ держ. реєстрації 0119U101965) на тему: «Біотехнологічні та фітохімічні аспекти дослідження процесу одержання біологічно активних сполук з лікарських рослин».

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі. Достовірність та обґрунтованість викладених наукових положень не викликає сумніву. У роботі використані сучасні методи аналізу, які широко використовуються у фармацевтичному аналізі і при контролі якості лікарських засобів.

Матеріали дисертації викладено послідовно, сформульовані загальні висновки і висновки за розділами дисертації логічно витікають із матеріалів розділів, викладені змістовно і лаконічно. Поставлені завдання дисертаційної роботи для досягнення мети виконані повною мірою.

У роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертантом проведено фармакогностичне дослідження рослин родини *Ranunculaceae*, сучасними методами ідентифіковано і кількісно встановлено вміст фенольних сполук, флавоноїдів, дубильних речовин, алкалоїдів, кумаринів і сапонінів. Найвищий вміст фенольних сполук і флавоноїдів було визначено у екстрактах отриманих за допомогою 70 % водно-спиртового розчину. Дисертантом було вперше досліджено вміст ліпофільних речовин, а також вивчено склад хлороформних фракцій досліджуваних рослин. Також було виявлено і встановлено кількісний вміст 26-ти летких сполук у екстракті трави *Caltha palustris* L., 28 сполук у екстракті трави *Ficaria verna* Huds. і 33 – у екстракті трави *Ranunculus acris* L. Серед них: естери жирних кислот, вищі жирні кислоти, насичені вуглеводні (алкани), моноциклічні і біциклічні монотерпеноїди тощо.

Уперше розроблено склад і технологію складного екстракту з композиції рослинної сировини і екстракту з композиції індивідуальних екстрактів з окремо взятої рослинної сировини, було підібрано оптимальні умови екстрагування: концентрація екстрагенту, час екстрагування, співвідношення між сухою рослинною сировиною і екстрагентом.

Проведено дослідження гострої токсичності, біологічної активності і фармакологічної дії отриманого складного екстракту на основі композиції індивідуальних екстрактів з окремо взятої рослинної сировини. Розроблено проєкт методів контролю якості на «Складний екстракт трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.».

Розроблено спосіб отримання екстракту з *Caltha palustris* трави з антиоксидантною дією, який захищено патентом України на корисну модель №149454.

Теоретичне і практичне значення одержаних результатів. Автором вперше розроблено алгоритм розробки і обґрунтовано спосіб отримання складного екстракту з композиції рослинної сировини і екстракту з композиції індивідуальних екстрактів з окремо взятої рослинної сировини на основі *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. і *Ranunculus acris* L. трави зі значним вмістом фенольних сполук і флавоноїдів, які мають підтверджену антимікробну, фунгіцидну, протизапальну, антиоксидантну, антиксудативну і гепатопротекторну активність, що робить їх перспективним фітосубстанціями для створення нових, ефективних і безпечних лікарських засобів на їх основі.

На складний екстракт *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. і *Ranunculus acris* L. трави розроблено проєкт методів контролю якості.

Результати дослідження впроваджено в наукову роботу і навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка», кафедри органічної хімії та фармації Волинського національного університету імені Лесі Українки, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського і кафедри

мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. За матеріалами дисертації опубліковано 24 наукові роботи, у тому числі 9 статей, з них 6 у фахових виданнях України, 1 стаття у виданнях, що індексуються у базі Scopus та Web of Science, 2 статті у наукових періодичних виданнях іншої держави, 14 тез доповідей, 1 патент України на корисну модель, а також 1 розділ колективної монографії. Публікації повною мірою відображають результати дисертаційного дослідження.

Зміст та оформлення дисертації, завершеність роботи в цілому. Дисертаційна робота викладена на 146-ти сторінках, складається зі вступу, огляду літературних джерел за темою роботи, розділу, що містить відомості про об'єкти, матеріали, методи і реактиви, 3-х розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел і додатків. Робота ілюстрована 51 таблицею і 50 рисунками. Список використаних джерел містить 182 найменування, з них 88 кирилицею і 94 латиницею.

Робота Вікторії Карпюк добре ілюстрована, що полегшує сприйняття викладеного матеріалу.

Перший розділ дисертації «Сучасний стан дослідження рослин родини *Ranunculaceae* (Літературний огляд)» присвячений аналізу літературних першоджерел щодо ботанічної характеристики, поширення, способу заготівлі, дослідження хімічного складу, фармакологічної дії і застосування *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. і *Ranunculus acris* L. у традиційній і доказовій медицині, а також щодо технології рослинних екстрактів. Автором проведено маркетингові дослідження сучасного ринку лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини рослин роду *Ranunculaceae* і зроблено висновок про доцільність розробки субстанцій на основі *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. і *Ranunculus acris* L. Розглянуто і узагальнено загальний алгоритм створення лікарських засобів рослинного походження.

У другому розділі «Обґрунтування загальної концепції та методів дослідження» наведено основні етапи і алгоритм досліджень спрямованих на пошук і створення нових лікарських засобів на основі відомих і маловідомих лікарських рослин, а також розробки складу і технології складних екстрактів, відомості про об'єкти і методи дослідження, матеріали, які використовувались при проведенні досліджень з визначення хімічного складу і технологічних властивостей лікарської рослинної сировини.

У третьому розділі «Розробка технології та вибір умов екстракції для одержання рослинного екстракту» наведено результати досліджень із встановлення умов екстрагування при отриманні екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. і *Ranunculus acris* L. Оптимальним ступенем подрібнення для сировини *Caltha palustris* L. є 1-3 мм, для *Ficaria verna* Huds. – 0,5-2 мм, а для *Ranunculus acris* L. – 0,5-3 мм. Найвищий вихід біологічно активних речовин з досліджуваної сировини *Caltha palustris* L. і *Ficaria verna* Huds. отримали при використанні водно-спиртових розчинів у концентраціях 70 і 90 %, а для сировини *Ranunculus acris* L. кращими концентраціями були 40 і 70 %. Також встановлено, що оптимальним співвідношенням між сировиною і екстрагентом для сировини *Caltha palustris* L. і *Ficaria verna* Huds. є 1:10, а для

Ranunculus acris L. – 1:10 при використанні 70 % водно-спиртового розчину і 1:5 при використанні 40 % розчину. Визначено, що оптимальний час екстрагування *Caltha palustris* L. і *Ranunculus acris* L. трави є 72 год, а для трави *Ficaria verna* Huds. – 48 год. В даному розділі подано специфікації до проектів МКЯ на екстракти усіх 3-х досліджуваних рослин. Також тут наведено результати дослідження здатності екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. і *Ranunculus acris* L. трави відновлювати метал у процесі «зеленого синтезу» наночастинок срібла.

У **четвертому розділі** «Якісний фітохімічний аналіз та кількісне визначення вмісту біологічно активних речовин у *Caltha Palustris* L., *Ficaria Verna* Huds. і *Ranunculus Acris* L.» наведено методики і результати досліджень з ідентифікації і кількісного визначення фенольних сполук, флавоноїдів, дубильних речовин, алкалоїдів, кумаринів, сапонінів у досліджуваних об'єктах. Було виявлено хлорогенову кислоту, лютеолін, кавову, ферулову кислоти, кверцетин і хризин методом тонкошарової хроматографії; методом ВЕРХ ідентифіковано і встановлено кількісний вміст 8-ми сполук фенольного характеру у екстракті *Ficaria verna* Huds трави. Найвищий був вміст кавової кислоти (2,49 %), п-кумарової (1,35 %) і хлорагенової (0,92 %). У екстракті *Caltha palustris* L. трави було встановлено кількісний вміст 6-ти сполук: найбільший був вміст кавової кислоти (2,05 %) і хлорагенової (0,82 %). У екстракті *Ranunculus acris* L. трави було визначено кількісний вміст 6-ти сполук в незначній кількості. Спектрофотометрично визначено, що найвищий вміст фенольних сполук міститься у екстрактах отриманих за допомогою 70 % водно-спиртового розчину. У екстракті *Caltha palustris* L. трави вміст фенолів становив 50,51 мг/г, у екстракті *Ficaria verna* Huds. – 20,35 мг/г і у екстракті *Ranunculus acris* L. – 18,69 мг/г. Кількісний вміст флавоноїдів у екстрактах досліджуваної рослинної сировини визначали модифікованим спектрофотометричним методом у перерахунку на кверцетин.

У даному розділі також наведено загальну методологію і результати дослідження складу хлороформних фракцій досліджуваних рослин. Було виявлено кількісний вміст 26-ти летких сполук у екстракті *Caltha palustris* L. трави, 28 сполук у екстракті *Ficaria verna* Huds. трави і 33 – у екстракті *Ranunculus acris* L. трави. Серед них: естери жирних кислот, вищі жирні кислоти, насичені вуглеводні (алкани), моноциклічні і біциклічні монотерпеноїди.

П'ятий розділ «Розробка складу складного екстракту на основі рослин родини *Ranunculaceae*» присвячений розробці методології отримання складного екстракту. Автором наведено схему технологічних підходів для одержання складного екстракту на основі рослинної сировини *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. і *Ranunculus acris* L. і обґрунтовано склад і технологію складного екстракту отриманого із композиції екстрактів окремої рослинної сировини (співвідношення екстрактів – 2:2:1), який мав вищий загальний вміст фенольних сполук і флавоноїдів ($61,689 \pm 0,12$ мг/г і $29,985 \pm 0,14$ мг/г, відповідно), ніж екстракт, отриманий із композиції суміші рослинної сировини. У даному розділі наведено проект МКЯ на отриманні складні екстракти.

У **шостому розділі** «Дослідження біологічної активності, фармакологічної дії та використання екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna*

Huds. i Ranunculus acris L.» наведено результати вивчення гострої токсичності досліджуваних екстрактів, їх антимікробної, протигрибкової, антиоксидантної і антиексудативної активності, а також гепатопротекторних властивостей. Встановлено, що вони відносяться до IV класу токсичності, LD₅₀ >6000 мг/кг.

Вважаю, що завдання, поставлені у дисертаційній роботі Карпюк В.Р., реалізовані повною мірою і на належному рівні.

Загальна оцінка роботи є **позитивною**.

Проте, незважаючи на високий рівень дисертаційної роботи Карпюк В.Р., вважаю за необхідне висловити **ряд зауважень і побажань**:

1. Вважаю доцільним подати оновлену інформацію щодо маркетингового дослідження ринку лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини рослин роду *Ranunculaceae* станом на 2023 рік.

2. Методики ідентифікації і кількісного визначення фенольних сполук, флавоноїдів, дубильних речовин, алкалоїдів, кумаринів, сапонінів у досліджуваних об'єктах варто було б подати у другому розділі.

3. В тексті дисертації зустрічаються поодинокі орфографічні помилки, невдалі вислови і неточності.

У порядку проведення наукової дискусії вважаю доцільним, щоб дисертант відповів на такі питання:

1. Чому Ви зупинилися на методі мацерації для отримання екстрактів досліджуваних рослин?

2. Яке практичне значення мають результати дослідження здатності екстрактів *Caltha palustris L.*, *Ficaria verna Huds. i Ranunculus acris L.* трави відновлювати метал у процесі «зеленого синтезу» наночастинок срібла? Чи плануєте Ви продовжувати працювати у даному напрямку?

Проте наведені зауваження не є суттєвими для загальної позитивної оцінки рецензованої роботи, її наукового значення та практичної цінності. Вважаю, що опубліковані результати достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи. Дисертація оформлена згідно чинних вимог.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження у практиці. Теоретичні і практичні результати дисертації можуть бути використані при розробці нових лікарських засобів з антимікробною і протигрибковою активністю, а також антиоксидантною і гепатопротекторною властивостями.

Висновок. Зазначені зауваження не знижують загальної позитивної оцінки рецензованої роботи, тому слід зробити висновок, що за всіма зазначеними параметрами дисертаційна робота Карпюк Вікторії Русланівни на тему «Фармакогностичне дослідження рослин родини *Ranunculaceae* та розробка субстанцій різної спрямованості дії на їх основі» є завершеною науковою працею і за актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, обсягом виконаних досліджень, достовірністю отриманих результатів, повнотою публікацій повністю відповідає наказу МОН України № 40 від 12.01.2017р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а її автор, Карпюк Вікторія

Русланівна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Офіційний опонент,
завідувачка кафедри управління
та економіки фармації з технологією ліків
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,
кандидат фармацевтичних наук, доцентка

Наталія БЕЛЕЙ

Підпис к.фарм.наук, доц. Наталії БЕЛЕЙ засвідчую:

Провідний фахівець відділу кадрів Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

Леся ОГІНСЬКА



Особистий підпис

завіряю

заступник ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету