

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Проблема одержання рослинних лікарських препаратів із стабільним складом діючих компонентів стає дедалі актуальнішою у системі охорони здоров'я. На відміну від синтетичних хімічних препаратів, активним компонентом лікарських засобів рослинного походження є складна суміш декількох БАР, які потенціюють дію один одного (*Kumar, 2018*). Оскільки якість і ефективність препаратів рослинного походження значною мірою залежать від вмісту БАР, необхідно встановлювати найвищі вимоги до рослинної сировини. Доказова фармація спрямована на оптимізацію прийняття рішень за допомогою отриманих експериментальних даних добре спланованих і проведених досліджень. Процес прийняття рішення є складним і вимагає ретельної оцінки, а також інтерпретації отриманих даних. Таким чином, дотримання вимог доказової фармації є ключовим інструментом у сучасних дослідженнях.

Одним з критеріїв отримання якісної рослинної сировини є підбір належних умов вирощування рослин, які базуються на дослідженні впливу екологічних факторів навколишнього середовища на накопичення БАР видами рослин, визначення саме тих факторів, які у природних умовах мають позитивний вплив на біосинтез первинних та вторинних метаболітів рослин. Саме вміст та компонентний склад БАР визначає цінність лікарської сировини. Хімічний склад рослини, наявність і кількість діючих речовин схильні до значних коливань і залежать від багатьох факторів (*Ramakrishna & Ravishankar, 2011*). Одна і та ж рослина може містити різні хімічні сполуки в різних кліматичних і географічних зонах (*Liu et al., 2016*). Вміст БАР в рослинах схильний до змін в залежності від: виду, сорту і стадії вегетації рослин; виду ґрунту, її фізичних властивостей і хімічного стану; географічного розташування району зростання; кліматичних умов; технології обробки сировини; екологічних факторів антропогенної дії.

Порівняння хімічного складу сировини, вирощеної у різних кліматичних

умовах, сприяє оптимізації культивування ЛР для отримання якісної сировини. ВООЗ розробила керівні принципи «Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження» (GACP) (*Collection Practices, 2003; Association, 2010*), за умов дотримання рекомендацій GACP є можливість одержання якісних рослинних продуктів з однорідним та стабільним складом. Асоціація EUROPAM адаптувала рекомендації для забезпечення можливості простежуваності ЛРС та контролю її якості (*Association, 2016*).

Провідні країни світу (Японія, Китай, США, Німеччина, тощо) впроваджують дані рекомендації у виробничий процес (*Leung & Cheng, 2008*). В Україні Настанову «СТ-Н МОЗУ 42-4.5:2012 Лікарські засоби. Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження» було введено у 2013 р. (Наказ МОЗ України № 118 від 14.02.2013), але далеко не всі підприємства дотримуються її.

Для належного впровадження Практики в Україні та отримання стабільного складу БАР необхідно стандартизувати всі процеси виробничого процесу: від вибору посівного матеріалу, засобів боротьби зі шкідниками, добрив і регіону для вирощування рослин, технічних умов процесу їх розвитку, збору врожаю та його подальшої переробки, належного контролю якості від автентифікації до хімічних відбитків пальців, щоб переконатися у стабільності та простежуваності складу.

Рослини роду Крокус та роду Ірис, родини Ірисові є одними з найбільш поширених родів лікарських рослин в Україні. Завдяки лікувальним властивостям крокусу посівного (*Crocus sativus* L. або шафран) та видів ірисів комерційний попит на рослинну сировину постійно на підйомі як на європейському, так і на світовому ринку. Крокус посівний та рослини роду Ірис мають давню історію свого медичного застосування у багатьох країнах світу як протизапальні, протиракові, гепатопротекторні, гіполіпідемічні засоби, а також визнані багатими джерелами ізофлавоноїдів, флавоноїдів, тритерпеноїдів, ксантонів та простих фенольних сполук, апокаротиноїдів, амінокислот тощо. Крім того, для рослин властиве широке вирощування в Україні. Враховуючи

вищевикладене, комплексне дослідження рослин роду Крокус та Ірис, визначення оптимальних умов вирощування рослин, дослідження біохімічних процесів метаболізму біоактивних компонентів сировини з метою впровадження сировини у фармацевтичну, медичну та косметологічну галузь, є актуальним.

Основна увага при розробці стандартизованих рослинних субстанцій полягає у забезпеченні отримання високоякісної продукції в кінці економічно ефективного процесу. Концепція «якість шляхом розробки» (QbD), що заявлена в керівництві ICHQ8 «Фармацевтична розробка» (2017), зміщує фокус із забезпечення якості через тестування на контроль якості шляхом розуміння процесів, що призводить до надійних процесів із високоякісною продукцією. Методичний підхід, заснований на QbD, застосовується для розробки процесу одержання ефективних лікарських субстанцій на основі сировини крокусу посівного та ірису угорського із противірусною та протираковою активністю.

Оцінка контролю якості ЛРС, екстрактів і препаратів на основі активних маркерів є обов'язковою. Маркери якості – це «хімічно визначені складові або групи компонентів рослинної субстанції, рослинного препарату або рослинного лікарського засобу, які служать для цілей контролю якості, незалежно від того, чи мають вони будь-яку терапевтичну дію». Використання для відбору маркерів якості ЛРС та субстанцій Системи ранжування хімічних маркерів трав (HerbMars) є ґрунтовною та логічною. Цей підхід враховує біодоступність, зареєстровану біоактивність, кількісний вміст метаболіту та його фізіологічні ефекти, пов'язані з передбачуваним використанням сировини, а також комерційну доступність стандарту. Важливо, щоб можливість відстежувати Q-маркери була протягом усього процесу виробництва, від сировини, потім отриманих екстрактів до готової продукції. Для прогнозування вибору Q-маркерів української ЛРС, HerbMars підхід раніше не використовували.

Таким чином, дослідження впливу екологічних факторів (тип та склад ґрунту, кліматичні дані, географічне розповсюдження, тощо) на біосинтез основних БАР у сировини крокусу посівного та у видах ірисів, визначення основних факторів впливу на метаболізм основних компонентів є актуальним

завданням сучасної фармацевтичної галузі. Подібних досліджень в Україні раніше не проводили. Крім того, використання підходу «компонентний склад – активність» для пошуку взаємозв'язків між хімічною структурою виділених речовин, загальним профілем БАР та їх біологічною активністю, надають нові дані щодо закономірності фармакологічної дії ЛРЗ.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у відповідності до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної наукової роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946). Крім цього, фрагменти дисертаційного дослідження виконані в рамках гранту International Cooperation Add-on Project (MAGIC), 108WFDG310121 (01.06.2019 – 31.07.2020) між Вища школа природних продуктів / Університет Чанг Гун; Коледж екології людини (Таоуан 33302, Тайвань) + Факультет фармацевтичної біології / Німецький університет в Каїрі (Новий Каїр, Єгипет) + Факультет фармакогнозії / Карлів університет у Празі (Чехія) + кафедра фармацевтичної хімії / Національний фармацевтичний університет (Харків, Україна).

Мета роботи – комплексне фармакогностичне дослідження крокусу посівного та рослин роду Ірис, аналіз впливу екологічних чинників на якість вихідної сировини та імплементація принципів GACP для теоретичного та експериментального обґрунтування сучасної методології та підходів до одержання культивованої та дикорослої ЛРС та субстанцій із стабільним вмістом БАР; обґрунтування маркерів та одержання стандартних речовин для контролю якості; визначення перспектив комплексної переробки сировини за результатами фармакологічних досліджень.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі **завдання**:

- ✓ Провести аналіз законодавчої бази України та країн ЄС щодо виробництва ЛРЗ з застосуванням рекомендації ВООЗ GACP. Узагальнити дані про хімічні

складові та фармакологічні профілі рослин роду Крокус та Ірис із залученням баз даних: NCBI-PubMed, Web of Knowledge, Science direct, Wiley online library, тощо;

✓ Спланувати методологію дослідження з урахуванням досягнення сталого композиційного складу ЛРС та підходу QbD для одержання якісних рослинних субстанцій; виявити та систематизувати ризики якості за допомогою діаграми Ісікави та методом FMEA, запропонувати шляхи їх попередження та усунення; сформулювати стратегію досліджень із виявлення Q-маркерів сировини та екстрактів з використанням HerbMars підходу;

✓ Провести первинний скринінг сировини видів рослин роду Крокус та Ірис для вибору перспективних видів;

✓ Провести порівняльне дослідження хімічного складу приймочок крокусу посівного (шафран) з різних регіонів України та з різних країн світу з урахуванням впливу факторів навколишнього середовища на біосинтез БАР; запропонувати методи аналізу для запобігання фальсифікації сировини; одержати екстракти з приймочок, стандартизувати їх та дослідити їх фармакологічну активність; розробити структуру монографії для контролю якості шафрану для впровадження у ДФУ;

✓ Провести дослідження побічних продуктів виробництва шафрану – листя, оцвітини, неякісних бульбоцибулин крокусу посівного, вивчити їх хімічний склад, встановити основні параметри стандартизації; одержати рослинні екстракти та виділити індивідуальні речовини та провести фармакологічний скринінг для виявлення перспективності подальшого використання сировини;

✓ Провести дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР у кореневищах рослин роду Ірис з природних популяцій та інтродукованої сировини; оцінити вплив екологічних факторів на вміст основних метаболітів; обґрунтувати оптимальні терміни заготівлі сировини; одержати екстракти з кореневищ і. угорського, і. сибірського, і. строкатого, вдосконалити методику виділення речовини з кореневищ і. угорського, встановити їх будову, вивчити фармакологічну активність враховуючі залежність «структура – активність»;

✓ Провести дослідження листя видів ірисів з природних популяцій; провести

дослідження хімічного складу та фармакологічної дії листя найбільш перспективних видів ірисів;

✓ Розробити СОП вирощування крокусу посівного, ірису угорського та сортів ірисів в Україні відповідно до рекомендацій GACP BOOЗ для забезпечення якості та простежуваності сировини; апробувати екологічні методи передпосівної обробки (електромагнітне поле та холодна плазма) та підживлення (монокомпонентне мінеральне збагачення ґрунту) на біосинтез БАР у рослинах для імплементації у фармацевтичну галузь;

✓ Теоретично та експериментально обґрунтувати можливість створення нових ЛРЗ з вітчизняної ЛРС крокусу посівного та рослин роду Ірис для вирішення екологічних проблем, комплексного використання ЛРС та сприяння розвитку фітофармації.

Об'єкт дослідження. Комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення лікарської рослинної сировини крокусу посівного та рослин роду Ірис.

Предмет дослідження. Аналіз та імплементація настанови BOOЗ GACP для забезпечення якості та простежуваності вітчизняної сировини. Дизайн експерименту, виявлення, визначення вмісту БАР сировини рослин роду Крокус та Ірис, вибір речовин-маркерів із різних груп (апокаротиноїдів, флавоноїдів, ізофлавоноїдів, фенольних кислот, терпеноїдів) з крокусу посівного та ірису угорського; вивчення впливу кліматичних та едафічних факторів на накопичення БАР у сировині; дослідження впливу абіотичних стресів на продуктивність та компонентний склад сировини; параметри стандартизації перспективних видів ЛРС та субстанцій, технологічні параметри одержання лікарських рослинних засобів, їх хімічний склад, фармакологічна активність.

Методи дослідження. Використання підходу QbD для планування експерименту. Для ідентифікації ризиків застосовані методи мозкового штурму і побудови діаграми Ісікави, а для кількісної оцінки ризиків використане метод аналізу видів і наслідків відмов (FMEA). Якісний склад і кількісний вміст БАР та рослинних субстанцій визначали методами хроматографії (ПХ, ТШХ, ВЕТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ із діодно-матричним детектором (ДМД), ультрафіолетовим

детектором (УФ), УЕРХ з мас-детектором (МС)), абсорбційної спектрофотометрії в УФ- та видимій ділянках, титриметрії, атомно-абсорбційної спектроскопії, гравіметрії. Речовини виділяли методом колонкової хроматографії. Для встановлення їх будови використовували фізичні (визначення показника заломлення, оптичного обертання, температури плавлення), хімічні (проведення хімічних реакцій, реакцій дезметилування, метилування, лужного, кислотного, ферментативного гідролізу), фізико-хімічні (^1H - та ^{13}C -ЯМР- NOESY, HSQC і HMBC-спектроскопія, мас-спектрометрія, ІЧ-, УФ-спектроскопія, елементний аналіз, ПХ і ТШХ, препаративна, колонкова хроматографія на силікагелі) методи. Анатомічну будову сировини вивчали методом світлової мікроскопії. Технологічні методи включали підбір технології та екстрагенту. Прогнозування біологічної активності БАР проводили методами *in silico* (ChemGPS-NP; молекулярний докінг за допомогою програмного забезпечення SCIGRESS, ліцензія 742F6852C191), дослідження антиоксидантної активності – методом ВЕРХ-АВТS *in vitro*. Фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro*. Для обробки експериментальних даних були використанні ієрархічний аналіз, метод Спірмена та метод головних компонентів у програмному забезпеченні Past 4.03. Валідація розроблених методик, статистична обробка здійснювалася за вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ). Для обробки даних використовували стандартний пакет програм Microsoft Office.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено дослідження умов зростання/вирощування та систематичне фармакогностичне дослідження сировини Крокусу посівного та рослин роду Ірис; теоретично та практично обґрунтовано перспективні джерела ЛРС зі стабільним вмістом БАР для подальшого дослідження та створення вітчизняних ЛРЗ на їх основі. Сформульовані науково-методологічні підходи до контролю якості ЛРС при дотриманні концепції QbD.

✓ На прикладі контрольованого вирощування сортових карликових бородатих ірисів у НБС ім. М.М. Гришка НАН України, а крокусу посівного -

у ФГ Шафран Любимівський, вперше науково-обґрунтовано доцільність застосування принципів GACP для просування якісної вітчизняної продукції на міжнародний ринок сировини та фітопрепаратів (патент України на корисну модель № 135685 від 10.07.2019, Бюл. № 13).

- ✓ Вперше проведено системну оцінку ризиків для якості виробництва рослинних екстрактів, включаючи вирощування та обробку рослинних матеріалів, процес екстракції та вибір розчинників, на прикладі крокусу посівного, результати дозволили обґрунтувати критичні фактори процесу отримання готового продукту, запропонувати коригувальні дії.
- ✓ Вперше проведено порівняльний аналіз впливу факторів навколишнього середовища на накопичення БАР у 57 зразках приймочок к. посівного з 13 країн світу та 17 популяцій видів рослин роду Ірис флори України, Литви та Латвії.
- ✓ Вперше застосовано монокомпонентне живлення при культивуванні 6 сортів ірисів вітчизняної колекції для впливу на вторинні метаболіти. Відмічене збільшення вмісту фенольних сполук у листі та кореневищах ірисів. Вперше досліджено позитивний вплив передпосівної обробки (холодна плазма, вакуум, електромагнітне поле) бульбоцибулин крокусу посівного на вміст кроцінів у приймочках, та фенольних сполук у листі та оцвітині крокусу посівного.
- ✓ Вперше розроблено оригінальну методику одержання стандартних робочих зразків пікрокроцину, транс-4GG, транс-2G, транс-3Gg. Вперше проведено обґрунтування обрання сировини з 18 видів та сортів ірисів для одержання мангіферину. Прийнято участь у розробці нового методу одержання мангіферину з листя ірису угорського (патент № 125350 на винахід України від 23.02.2022, Бюл. № 8). Вперше обґрунтовано розробку СОП для використання мангіферину як стандарту;
- ✓ Вперше використано техніку подрібнення приймочок крокусу посівного та кореневищ видів ірисів у рідкому азоті для збільшення виходу речовин.
- ✓ Розроблено оригінальну методику ВЕРХ для виявлення колхіцину у рослинній сировині крокусу посівного.
- ✓ Запропоновано оригінальний експрес-метод ВЕТШХ для кількісного

визначення шафраналю, кроцину, пікрокроцину у приймочках крокусу посівного.

- ✓ З використанням методу колонкової хроматографії на силікагелі, вперше було виділено 16 речовин з оцвітини українського крокусу посівного та вдосконалено методику виділення речовин з кореневищ ірису угорського, в результаті чого, було виділено 30 речовин та встановлено їх структуру із використанням методів 1D та 2D NMR спектроскопії.
- ✓ Вперше створено оригінальну базу противірусних та протигрипозних клінічних препаратів для порівнянням з природними фенольними сполуками з метою прогнозування активності із використання *in silico* метода ChemGPS-NP;
- ✓ Вперше виявлено закономірності накопичення речовин-маркерів для досліджуваної сировини в залежності від вегетаційного періоду збору, умов культивування (інформ. листи № 376-2018) чи зростання у дикому вигляді.
- ✓ Вперше проведено стандартизацію українських приймочок крокусу посівного, показана відповідність їх якості вимогам ISO 3632, DAC та ЄФ, що дозволило визначити найбільш сприятливі регіони для вирощування рослини.
- ✓ На основі проведених досліджень сформовано рекомендації щодо порядку формування монографії на сировину приймочки крокусу посівного (шафран) для введення до національної частини ДФУ.
- ✓ Вперше проведено комплексну оцінку хімічного складу досліджуваної сировини, а саме визначено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенолів; ізофлавоноїдів, ксантонів), амінокислот, карбонових кислот, сполук терпенової природи, фенольних речовин, макро- і мікроелементів, для крокусу посівного – склад апокаротиноїдів;
- ✓ Запропоновано оригінальну технологію одержання полісахаридного комплексу з бульбоцибулин крокусу посівного (заявка на патент Європейського Союзу LT2021 527, 106245, від 03.06.2021); вперше запропоновано технології одержання рослинних екстрактів з листя, оцвітини крокусу посівного (патент № 124210 на винахід України від 04.08.2021, Бюл.

№ 31; патент № 146567 на корисну модель України від 03.03.2021, Бюл. № 9).

- ✓ Вперше проведено дослідження *in vitro* біологічної активності рослинних екстрактів крокусу посівного, ірису угорського, і. строкатого, і. сибірського, включаючи антивірусну (ентеровірус D68, вірус грипу (H1N1), коронавірус 229E), протизапальну, антиоксидантну, протиалергійну, експресію NRF2, крапельну активність ліпідів, цитотоксичну та антибактеріальну активність. Вперше досліджено хімічний склад отриманих екстрактів методом ВЕРХ.
- ✓ Вперше використано підхід Herb MaRS для обґрунтування вибору Q-маркерів для всієї досліджуваної сировини та екстрактів заданої дії.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів

- ✓ Запропоновано підхід «Якість шляхом розробки» для забезпечення оптимізації цілеспрямованого пошуку протипухлинних та противірусних рослинних компонентів з сировини крокусу посівного та ірису угорського. Імплементация підходу може бути використана при плануванні дослідження для будь-яких рослин.
- ✓ Для забезпечення якості, безпеки та ефективності кінцевого ЛРЗ, проведено визначення критичних атрибутів якості стабільності рослинних екстрактів віднесено: контроль якості первинної сировини, допоміжних матеріалів і процесу екстракції з урахуванням принципів «зеленої екстракції/хімії».
- ✓ Використання підходу Herb MaRS для обґрунтування вибору Q-маркерів для сировини та екстрактів, на прикладі крокусу посівного та ірису угорського є корисним інструментом при плануванні фармакологічних досліджень.
- ✓ Рекомендації щодо практичного дотримання GACP при вирощуванні крокусу посівного введено у промислове виробництво в Україні: Фармацевтична фабрика Vishpha (Житомир, Україна, від 11.08.2023); ТОВ «АГРО-ФОКУС» (Херсонська обл.; Акт впровадження від 15.01.2021); ФГ «Шафран Любимівський» (Херсонська обл., від 28.11.2020); «Крокус.про» (Волинська обл., від 19.05.2023); «Агроленд» (Волинська обл., від 19.05.2023) та в Нідерландах («Mts Schipper & Elberse», від 18.01.2021), а для рослин роду Ірис – у роботу науково-дослідного відділу квітково-декоративних рослин НБС

імені М.М. Гришка НАН України (акт №112/9-5 від 10.01.2022). Рекомендації можуть бути адаптовані під кожний регіон України, враховуючи кліматичні та біологічні особливості вирощування.

- ✓ Використання сучасних стресових методів для попередньої обробки посівного рослинного матеріалу, таких як електромагнітне поле для крокусу посівного та мінеральне живлення ґрунту для рослин роду Ірис, дає можливість одержання сталого та якісного врожаю продукції та не мати небажаних токсичних та мутаційних ефектів на подальших стадіях розвитку.
- ✓ Результати досліджень щодо оптимальних умов культивування крокусу посівного підтверджено інформаційним листом про нововведення у галузі охорони здоров'я (№ 376 – 2018), патентом України на корисну модель № 135685 та свідоцтвом про реєстрацію авторського права на твір № 88048: АПС/2816-19.
- ✓ Результати досліджень впливу факторів навколишнього середовища на біосинтез біологічно активних компонентів рослин, культивування лікарських рослин та контролю якості сировини впроваджено у практичну роботу ДУ “Миколаївська ДСДС” ІКОСГ НААН (Миколаївська обл., Україна), акт впровадження від 02.05.2023.
- ✓ Співпраця з українськими фермерствами щодо культивування крокусу посівного та стандартизації шафрану відповідно до міжнародного стандарту ISO 3632, з урахуванням рекомендацій дотримання GACP, дозволила покращити якість вихідної сировини. Визначено найкращі регіони для вирощування культури.
- ✓ Розроблено проект національної монографії «*Шафрану посівного приймочки* ^N» ДФУ 2.4 (2020), що підтверджено актами впровадження про участь в розробці проекту монографії № 111806-5 від 02.12.2019, № 111807-5 від 02.12.2019, № 111809-5 від 02.12.2019, № 111808-5 від 02.12.2019.
- ✓ Розроблено методики аналізу фенольних сполук, апокаротиноїдів методами ВЕРХ, амінокислот та органічних кислот методами ГХ-МС; експрес-метод аналізу колхіцину у рослинній сировині; ВЕТШХ метод оцінки фальсифікації шафрану;

- ✓ Розроблені методики одержання стандартних зразків пікрокроцину, транс-4GG, транс-2G, транс-3Gg для впровадження у роботу аналітичних лабораторій для контролю якості шафрану.
- ✓ У роботу фонду Гербарію (CWU) ХНУ ім. В.Н. Каразіна передано для користування гербарні матеріали сировини к. посівного (приймочки, листя, бульбоцибулини, оцвітина заготовки 2018 року) та рослин роду Ірис (14 видів з України) (акти про передачу від 08.05.2019).
- ✓ Результати проведених досліджень впроваджено в науково-дослідну роботу споріднених вищих навчальних закладів України та світу, що підтверджено актами впровадження: Миколаївського національного аграрного університету (від 20.06.2023); Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (від 24.05.2023); Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (від 24.05.2023); Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (від 20.06.2023); Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (від 31.05.2023); Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (від 28.05.2023); Chang Gung University, Тайвань (від 22.05.2023); Kaohsiung Medical University, Тайвань (від 22.05.2023); University of Vienna, Австрія (від 25.05.2023); два акти з UCL School of Pharmacy, Велика Британія (від 29.05.2023, від 22.05.2023); 3 акти з Lithuanian University of Health Sciences, Литва (від 29.05.2023); University of Life Sciences in Lublin, Польща (від 22.05.2023); Medical University of Lublin, Польща (від 31.05.2023); Kiel University, Німеччина (від 10.07.2023).

Особистий внесок здобувача. Особистий внесок автора в одержанні наукових результатів є визначальним на всіх етапах дослідження і полягає у формуванні наукового напрямку, цілей дослідження, виборі об'єктів дослідження, стратегії експерименту, а також аналізі, інтерпретації, узагальненні експериментальних даних, одержаних як особисто, так і у співавторстві з колегами.

Здобувачем особисто проведено аналіз сучасної наукової літератури, дослідження хімічного складу рослин відповідно до вимог та методик ДФУ, ДАС,

аналітичні дослідження зразків, встановлено параметри якості усіх зразків шафрану відповідно до ISO3632, аналіз впливу факторів навколишнього середовища, розроблено етапи належного культивування лікарських рослин, інтерпретовано спектральні характеристики ідентифікованих та виділених речовин, розробка стандартних операційних процедур щодо одержання стандартів кроцинів та пікрокроцину, проведено аналіз ризиків якості рослинних екстрактів, обґрунтовано вибір маркерів-якості сировини, проведено стандартизацію, розроблено технологію одержання екстрактів, аналіз та узагальнення експериментальних даних, обґрунтовано структуру монографії на приймочки крокусу, проведено аналіз фармакологічних, хімічних, екологічних даних, одержаних як самостійно, так і у співпраці зі співавторами публікацій. Автор висловлює вдячність за консультативну допомогу у проведенні фітохімічних та аналітичних досліджень: Prof. Ivanauskas (Литва), у тому числі під час проходження стажування «Chromatographic analysis for chemical substances and plant raw material», 2018, 2019, 2020, 2021), проф. Ковальову В.М. (Україна), к.фарм.н. Шинкаренко П.Є. (Україна), доц. Нікішину А.А. (Україна), проф. Лесик Р.Б. (Україна); стандартизації доц. Сіра Л.М. (Україна), д.фарм.н. Котову А.Г., к.фарм.н. Котовій Е.Е. (Україна); проведення фармакологічних досліджень: Prof. Hwang (Тайвань), Dr. Korinek (Тайвань), Prof. Chang (Тайвань), Prof. Horng (Тайвань), Prof. El-Shazly (Єгипет), Prof. Petrikaite (Литва), к.фарм.н. Литкіну Д.В. (Україна), к.біол.н. Осолодченко Т.П. (Україна); проведення біологічних досліджень: Dr. Gudzinskas (Литва), Prof. Mildažienė (Литва), с.н.с. Орлова Т.Г. (Україна), с.н.с. Буйдін Ю.В. та с.н.с. Четверня С.О. (Україна). Агрохімічні дослідження проведені під контролем ґрунтознавця Десенко В.Г. (України).

Співавторами наукових праць є науковий консультант та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Особистий внесок дисертанта зазначено у списку публікацій за темою дисертаційної роботи.

Під керівництвом автора, було захищено дисертацію Кречун А.В. на здобуття наукового ступеня доктор філософії на тему: «Вивчення біологічно

активних сполук півників угорських та розробка субстанцій на їх основі» (226 – Фармація) (затверджено Вченою радою НФаУ від 30.10.2019 р., протокол №9) (Наукові керівники – Михайленко О.О., Ковальов В.М.), яка є співавтором ряду робіт. Разом з Анастасією Кречун під час виконання її дисертаційного дослідження були проведені деякі дослідження ірису угорського та сортів. Було проведено визначення загального вмісту БАР у сировині ірисів, досліджено параметри стандартизації сировини та екстрактів, було виділено 18 фенольних сполук, визначені терміни заготівлі сировини для ірису угорського, розроблено технологічні параметри одержання екстрактів з ірисів, та проведені деякі фармакологічні дослідження *in vivo*. Однак, залишились відкритими питання впливу факторів навколишнього середовища на накопичення фенольних сполук та питання досягнення стабільного вмісту БАР у сировині рослин роду Ірис за рахунок належного культивування, порівняльна оцінка вмісту фенольних сполук ірису угорського з іншим видами ірисів. Хроматографічний аналіз показав наявність більше фенольних сполук у кореневищах ірису, ніж було виділено, що потребувало більш ефективної методики визначення та виділення речовин. Крім того не було проведено дослідження фармакологічного скринінгу екстрактів *in vitro*, щоб обрати екстракти-лідери для більш глибоких досліджень. Недосконалыми були методи кількісної оцінки ізофлавоноїдів ірисів, а також невизначеним був напрямок обґрунтування використання інших видів сировини рослин роду Ірис та розробка СОП для використання мангіферину як стандарту. Невизначеними залишились механізми фармакологічної дії екстракту ірису угорського, що потребувало досліджень *in vitro*. Результати досліджень ірису угорського, що виносились на захист в дисертаційній роботі Кречун А.В., в дисертації Михайленко О.О. використовуються тільки для порівняльного аналізу з одержаними особисто дисертантом даними досліджень 37 інших видів та 30 сортів ірисів, мають належні посилання і на захист не виносяться.

У кандидатській дисертації Михайленко О.О. проведено комплексне фармакогностичне дослідження листя та кореневища *Iris pseudacorus*. Результати дослідження, обговорення чи висновки, що виносились на захист кандидатської

дисертації, на захист представленої дисертаційної роботи не виносяться.

Усі наукові узагальнення, результати, висновки та рекомендації, наведені в дисертації, опрацьовано та виконано автором особисто.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень представлені у вигляді доповідей та постерів на наукових заходах:

✓ 71st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA), Dublin, Ireland, 2023; Synthesis and Analysis of Drugs (Faculty of Pharmacy, Masaryk University, Brno, Czech Republic, 2022); Natural Products in Drug Discovery and Development – Advances and Perspectives, організовано Phytochemical Society of Europe (University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iasi, Romania, 2022); “Sciences and Practice» та «Contemporary pharmacy: issues, challenges and expectations” (Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania, 2015, 2017-2023 pp.); 34th, 35th, 36th, 37th Symposium on the Natural Products, організовано the Society of Chinese Natural Medicine, Taiwan (Medical University of Graduate Institute of Pharmacognosy, Тайбей, Тайвань, 2019 – 2023); Proceedings of the MOL2NET'22, 8th Conference on Molecular, Biomedical & Computational Sciences and Engineering (Basel, Switzerland, 2022); 4th and 5th International Symposium on Phytochemicals in Medicine and Food, організовано Phytochemical Society of Europe and the Phytochemical Society of Asia (Xi'an, China, 2020, 2021); 20th Biennial Meeting of SFRR International, організовано Society for Free Radical Research International (Spain, 2021); Vanguard of Natural Product Research, організовано American Society of Pharmacognosy (USA, 2021); “EFMC-ISMC & EFMC-YMCS Virtual Poster Session” (Бельгія, 2020); “Achievements of Pharmaceutical Science and Practice”, Kaunas, Lithuania, 2020; XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (Shanghai, China, 2019);

✓ також викладено та обговорено на науково-практичних конференціях України: XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 2021); IV Всеукраїнській наук.-практ. конф. з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль,

2022); VIII науково-практичної конференції з міжнародною участю “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 2020); Міжнародна науково-практична конференція «PLANTA+. наука, практика та освіта» (Київ, 2021, 2022); XXII Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 2021); Міжнар. наук.-практ. Симпозіум, присвячений 100-річчю кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету «100 років успіху та якості» (Харків, 2021) та ще на 15 конференціях різного рівня.

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано усього 80 наукових робіт (статті, патенти, тези), серед них 36 статей та 2 патенти на винахід, з них 5 статей – у наукових фахових виданнях України, 31 – у наукових виданнях інших держав за профілем дисертаційної роботи, у тому числі у журналах, що входять до наукометричних баз даних Scopus та Web of Science – 29 (Q1 – 10, Q2 – 7, Q3 – 6, Q4 – 6 статей).

До додаткових публікацій віднесено 2 оглядових статті (в т.ч. 1 в журналі *Phytochemistry* – Q1, 1 – у фаховому виданні України), 1 стаття у фаховому виданні суміжних знань (рослинництво), 3 патенти України на корисну модель, 1 інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я, 1 авторське свідоцтво на науковий твір, методичні рекомендації щодо оптимізації вирощування та збору к. посівного, 32 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури за темою дисертаційного дослідження, розділу, в якому наведено дизайн та методологія дослідження, інформацію про об'єкти та методики дослідження, семи розділів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертація викладена на 340 сторінках основного тексту, проілюстрована 60 таблицями та 113 рисунками, 1 схема. Бібліографія включає 526 найменувань.