

ВІДГУК
офіційного опонента, доктора хімічних наук,
професора Лубенець В.І. на дисертаційну роботу
Зарічанської Олени Василівни
на тему «Фармакогностичне дослідження рослин роду лілійник
(*Heimerocallis L.*)» на здобуття наукового ступеня кандидата
фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та
фармакогнозія

Актуальність теми дисертації та її зв'язок з державними чи галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки. Підвищення якості та ефективності лікарського забезпечення населення є актуальним завданням фармації. Протягом останніх десятиліть у сучасній медичній практиці велику увагу приділяють лікарським засобам рослинного походження та їх раціональному використанню. Збільшення асортименту фітопрепаратів та пошук додаткових джерел сировинної бази лікарських рослин є однією з важливих проблем сучасної медицини та фармації України.

Дисертаційна робота Зарічанської Олени Василівни присвячена, фітохімічним, морфолого-анатомічним, технологічним, ресурсознавчим та фармакологічним дослідженням квіток, листків і кореневих бульб рослин роду Лілійник (*Heimerocallis L.*) – лілійника буро-жовтого (*Heimerocallis fulva L.*) та лілійника гібридного (*Heimerocallis hybrida var. "Stella De Oro"*).

Відомо, що кореневі бульби, квітки і листки лілійників застосовують в східній традиційній медицині як протизапальний, антисептичний, седативний, антидепресивний, гепатопротекторний, знеболюючий засіб. Результати дослідження БАР квіток, листків і підземних органів лілійника буро-жовтого (*Heimerocallis fulva L.*) та лілійника жовтого (*Heimerocallis flava L.*) частково висвітлені в світовій науковій літературі, зокрема – в працях науковців Японії, Китаю, Індії, США, але види цього роду досліджені недостатньо. Тому фармакогностичне вивчення та пошук шляхів застосування субстанцій лілійника буро-жовтого та лілійника жовтого в медичній практиці є актуальним.

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою фармацевтичного факультету ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» «Фармакогностичний аналіз та вивчення фармакологічної дії біологічно активних речовин лікарських рослин в експерименті» (номер Державної реєстрації 0108U001695) та «Фармако-економічне обґрунтування створення, отримання, розробки субстанцій лікарських речовин і лікарських засобів на основі продуктів хімічного синтезу й біологічно активних речовин

рослинного походження і їх стандартизація та фармакологічне вивчення» (номер Державної реєстрації 0111U003756).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Проведено комплексне фармакогностичне дослідження та вивчення фармакологічної активності екстракту густого з квіток і екстракту сухого з кореневих бульб лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту "*Stella De Oro*". Зокрема, було виділено, визначено якісний склад, кількісний вміст та встановлено структуру біологічно активних речовин; проведено макро- та мікроскопічний аналіз досліджуваної сировини, розроблено технологію одержання субстанцій, проведено їх стандартизацію та досліджено деякі види фармакологічної дії. Доведено седативну і антидепресивну (для лілійника гібридного сорту "*Stella De Oro*" квіток екстракту густого) і гіпоглікемічну (для лілійника буро-жовтого кореневих бульб екстракту сухого) дії.

Дослідження виконане з використанням сучасних методів та прийомів фармакогностичного аналізу, а саме хроматографічного аналізу (тонкошарова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія, газорідинна хроматографія і хроматографія на папері), хімічних реакцій (кольорові, осадові, комплексоутворення), спектрального аналізу, фармакологічного та біофармацевтичного скринінгу,

Достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів, підтверджується достатньою кількістю дослідів та їх статистичною обробкою. Наукові положення та висновки, що сформульовані автором, одержано на основі теоретичних і експериментальних досліджень. Висновки за окремими розділами та загальні висновки є науково обґрунтованими. Вважаю, що поставлене у роботі завдання виконано в повному обсязі на належному професійному рівні.

Наукова новизна одержаних результатів. Автором проведено вперше комплексне фармакогностичне дослідження квіток, листків і кореневих бульб рослин роду Лілійник (*Hermerocallis* L.) флори України – лілійника буро-жовтого (*Hermerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hermerocallis hybrida* var. "*Stella De Oro*").

Встановлено кількісний вміст аскорбінової та вільних органічних кислот у квітках, листках і коренебульбах двох видів лілійника. В усіх досліджуваних зразках з органічних кислот домінувала левулінова (γ -кетовалеріанова), з жирних кислот переважаючим є вміст ненасичених кислот, окрім витяжок з листків лілійника буро-жовтого, де домінували насичені жирні кислоти. Лінолева та ліноленова кислоти є переважаючими серед ненасичених жирних кислот. У листках лілійника буро-жовтого і лілійника гібридного ідентифіковано стерини.

Водні екстракти з квіток, листків і коренебульб обох видів лілійника проаналізовано на вміст водорозчинних полісахаридних комплексів та встановлено кількісний вміст в них полісахаридів, пектинових речовин, а також якісний та кількісний вміст моно- та дисахаридів. Встановлено, що найвищий вміст інуліну присутній в кореневих бульбах лілійника буро-жовтого. Досліджено амінокислотний склад різних морфологічних частин лілійників і виявлено, що домінуючими є глутамінова та аспарагінова кислоти.

Серед фенольних сполук виявлено та досліджено: суми фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, окиснюваних фенолів та дубильних речовин. Найбільший вміст цих речовин спостерігається в квітках цих рослин, зокрема флавоноїдів у лілійника гібридного, а у лілійника буро-жовтого встановлено високий вміст суми фенолів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, окиснюваних фенолів та дубильних речовин. В кореневих бульбах обох видів лілійників відсутні флавоноїди.

Серед індивідуальних речовин виявлено кислоти (галову, елагову, хлорогенову, розмаринову, кофейну, ферулову, *n*-кумарову), а також епігалокатехін, галокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін-галат, гіперозид, рутин, ізокверцитрин, лютеолін, апігенін.

Досліджено вміст летких сполук як у повітряно-сухій так і в свіжій сировині і встановлено, що їх найбільший вміст спостерігається у свіжих кореневих бульбах обох видів. Визначено якісний та кількісний вміст летких речовин у різних частинах лілійників.

В одержаних ліпофільних фракціях визначено кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів.

Серед макроелементів в усіх досліджуваних зразках виявлено значний вміст Калію, а з мікроелементів – Цинку, Феруму та Селену.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертанткою визначено основні діагностичні ознаки морфологічної та анатомічної будови досліджуваної сировини, що можуть бути використані для ідентифікації та стандартизації цих видів рослинної сировини. На основі цього було розроблено проекти МКЯ: «Лілійника буро-жовтого кореневі бульби» та «Лілійника гібридного квітки».

Розроблено технологію одержання густого екстракту з квіток, сухого екстракту з кореневих бульб лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту «*Stella De Oro*». У отриманих екстрактах визначено кількісний вміст основних БАР та визначено їх гостру токсичність. Досліджувані екстракти віднесено до класу практично нетоксичних речовин (V клас за класифікацією *Hodge and Sterner*, $LD_{50} > 5000$ мг/кг). Визначено ефективну дозу сухого екстракту кореневих бульб лілійника буро-жовтого (150 мг/кг) та встановлено його гіпоглікемічну активність на моделі дексаметазонової гіперглікемії. Встановлено нейротропну активність густих екстрактів з квіток лілійника буро-

жовтого та лілійника гібридного; виявлено дозозалежну седативну і антидепресивну активність густого екстракту з квіток лілійника гібридного та стимулюючу дію густого екстракту квіток лілійника буро-жовтого. По одержаних результатах розроблено проекти МКЯ: «Лілійника буро-жовтого кореневих бульб екстракт сухий» і «Лілійника гібридного квіток екстракт густий».

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах. За матеріалами роботи опубліковано 26 наукових робіт, у тому числі 8 статей у фахових наукових виданнях України та 1 стаття у фаховому закордонному виданні, 1 методичні рекомендації, 1 патент України на корисну модель, 15 тез доповідей.

Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним результатам досліджень.

Аналіз дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота складається із вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел і 5 додатків. Робота викладена на 234 сторінках, ілюстрована 75 рисунками і 48 таблицями. Список використаних джерел включає 189 найменувань, з яких 120 кирилицею та 69 латиною.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертації, визначено предмет та об'єкт дослідження, його мету і завдання, розкрито наукову новизну, підкреслено теоретичне та практичне значення роботи, особистий внесок здобувача, зазначено ступінь апробації одержаних результатів та вказано кількість наукових робіт по темі дисертації.

У **першому розділі** дисертант наводить ботанічну характеристику, хімічний склад та фармакотерапевтичні властивості рослин роду лілійник. В розділі проаналізовані та узагальнені дані українських та світових першоджерел з ботанічної характеристики, сучасного стану вивчення хімічного складу, використання в науковій та народній медицині гомеопатії та різних галузях народного господарства.

Автор робить висновок про недостатність вивченості хімічного складу рослин роду лілійник. Це має суттєве значення для пошуку нових перспективних видів для введення у офіційну номенклатуру. Досвід використання у народній медицині, недостатня інформація про хімічний склад у джерелах наукової літератури створюють передумови для проведення фармакогностичних та фармакологічних досліджень видів лілійник з метою створення нових лікарських засобів.

У **другому розділі** наведено короткі відомості про об'єкти дослідження, прилади, методи та реактиви, які використовувалися для якісного виявлення та кількісного визначення біологічно активних речовин, таких як: органічні кислоти, фенольні сполуки, флавоноїди, пігменти, дубильні речовини, леткі

сполуки, моно- та полісахариди, а також макро- та мікроелементного складу різних морфологічних частин лілійників буро-жовтого та гібридного сорту «*Stella De Oro*». Наведено методики вивчення гострої токсичності та фармакологічної активності густих екстрактів квіток обох видів лілійників та сухого екстракту кореневих бульб лілійника буро-жовтого.

Третій розділ присвячено комплексному фітохімічному дослідженню двох видів рослин роду Лілійник, визначенню якісного складу і кількісного вмісту БАР квіток, листків і кореневих бульб досліджуваних видів лілійників. Методом титрометрії проведено кількісне визначення аскорбінової, суми вільних органічних кислот у перерахунку на кислоту левулінову, зроблено метрологічну обробку одержаних результатів. Методом газової хромато-мас спектрометрії ідентифіковано 23 органічні кислоти в тому числі жирні. Гравіметричним методом встановлено кількісний вміст водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин. Встановлення якісного та кількісного складу моно- та дисахаридів проводили газо-рідинною хромато-мас спектроскопією. Аналогічно визначено якісний склад та кількісний вміст компонентів летких сполук, виділених з досліджуваної сировини методом перегонки з водяною парою. Досліджено ліпофільні витяжки із сировини лілійників та визначено в них кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів. Вміст речовин фенольної природи визначали спектрофотометричним, перманганатометричним (вміст окислювальних фенолів), комплексометричним (дубильних речовин) методами. Ідентифікацію та кількісний вміст окремих фенольних сполук проводили методом ВЕРХ. Амінокислотний склад сировини лілійників досліджували методом хромато-мас спектроскопії. Методом атомно-абсорбційної спектроскопії встановлено значний вміст макро- та мікроелементів у всіх досліджуваних зразках лілійників.

В **четвертому розділі** розглядаються результати дослідження морфолого-анатомічних ознак квіток, листків, кореневищ, кореневих бульб і коренів лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту «*Stella De Oro*». Одержані результати використано при розробці проекту методик контролю якості (МКЯ) на нову лікарську рослинну сировину. В цьому ж розділі дисертантом визначено основні числові показники трави видів рослин роду Лілійник: втрату в масі при висушуванні, вміст загальної золи, вміст золи, нерозчинної в 10 % кислоті хлористоводневій. Встановлені числові показники, які використані для розробки нормативної документації (методики контролю якості) на досліджувані види повітряно-сухої сировини (квітки і листки, кореневі бульби).

П'ятий розділ присвячено отриманню біологічно активних субстанцій з квіток і кореневих бульб лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту «*Stella De Oro*» і вивченню їх хімічного складу, безпечності та фармакологічної активності.

Дисертантом розроблено технологію одержання густих екстрактів з квіток обох видів лілійника з використанням спирту етилового 55 % як екстрагенту, що забезпечує максимальне вилучення різних груп БАР. Досліджено нейротропну активність густих екстрактів квіток лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” в експерименті на мишах та встановлено концентрації, в яких ці екстракти проявляють стимулюючу та седативну дію. За результатами іммобілізаційного тесту поведінкового відчаю встановлена доза, в якій густий екстракт квіток лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” має виразні антидепресивні властивості.

Розроблено технологію одержання сухих екстрактів з кореневих бульб лілійників. Встановлено їх хімічний склад та аргументовано подальше фармакологічне вивчення сухого екстракту лілійника буро-жовтого, що характеризується більшим кількісним вмістом БАР у порівнянні з сухим екстрактом лілійника гібридного. Проведено дослідження із встановлення ефективної гіпоглікемічної дози сухого екстракту кореневих бульб лілійника буро-жовтого в експериментах на щурах із «глюкозним навантаженням» та дослідженням впливу на вуглеводний обмін у тесті на моделі дексаметазонової гіперглікемії у щурів. Вперше досліджено гостру токсичність нових рослинних субстанцій – кореневих бульб лілійника буро-жовтого екстракту сухого, квіток лілійника гібридного екстракту густого.

Зауваження і пропозиції. Загальна оцінка роботи є позитивною, проте слід зазначити, що в роботі зустрічаються окремі недоліки

- В літературному огляді дуже поверхнево подані результати досліджень хімічного складу рослин роду Лілійник.

- На сторінці 39 не вказано, який саме екстракт використано для визначення кількісного вмісту аскорбінової кислоти, а також доцільно було б невести спосіб її ідентифікації.

- Автором на стор. 47 не вказано якими методами визначали якісний склад та кількісний вміст стеринів в листках обох видів лілійника.

- На стор. 48 згадується про внесок індуських вчених у вивчення фармакологічної активності гама-ситостеролу, хоча публікації зокрема, 112 та 174, на які посилається автор присвячуються іншим дослідженням та належать російським і мексиканським дослідникам.

- В таблицях 3.10-3.15 результатів хроматографічних досліджень летких сполук недоцільно вважати ідентифікованими сполуки з низьким відсотком співпадіння, а також є неточності у хімічній номенклатурі речовин, зокрема – не вказані, які естери виявлено.

- Дисертантом на сторінці 145 не вказана температура екстрагування водою шроту, одержаного після спиртової екстракції, на водяній бані. Також автором не вказана методика проведення екстракції методом перколяції при кімнатній температурі.

- У другому висновку подано відповідні значення вмісту аскорбінової кислоти та вільних органічних кислот, хоча більш логічним було б вказати результат Вашого аналізу цих величин.

Відповідність дисертації вимогам «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Зарічанської Олени Василівни на тему «Фармакогностичне дослідження рослин роду Лілійник (*Heimerocallis* L.)» є завершеним науковим дослідженням, в якому отримано нові науково обґрунтовані теоретичні і експериментальні результати, які за своєю новизною, об'ємом проведених досліджень, рівнем виконання і впровадження відповідають сучасним вимогам до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:
професор кафедри технології
біологічно активних сполук,
фармації та біотехнології
інституту хімії та хімічних
технологій національного університету
«Львівська політехніка», професор

 В. І. Лубенець

Підпис професора Лубенець В. І. засвідчую
Вчений секретар Національного університету «Львівська політехніка»





Р.Б. Брилинський