

## ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертаційну роботу Акрітїду Христини на тему: «Фармакогностичне дослідження люпину багатолїстого», представленої на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук зі спеціальності 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті**

### **Актуальність теми дисертації.**

Актуальною проблемою сучасної фармації є пошук нових перспективних джерел рослинної сировини з вираженою фармакологічною активністю, її стандартизація та створення ефективних лікарських засобів з актопротекторною, анаболічною та антимікробною дією.

Люпин багатолїстий (*Lupinus polyphyllus* Lindl.) це перспективний вид роду *Lupinus* L. родини Бобові (*Fabaceae*), якій нараховує в світовій флорі до 200 видів однорічних та багаторічних трав'янистих рослин.

Лікарські засоби з суцвіть, трави та насіння рослини в формі дієтичних добавок застосовують в якості потогінного, відхаркувального і легкого заспокійливого засобу, для лікування хвороб серця, онкологічних, запобігання катаракти, цукрового діабету та ожиріння.

На наш час обмежені дані щодо хімічного складу біологічно активних речовин рослини й морфолого-анатомічних діагностичних ознак рослинної сировини, що необхідно для її стандартизації та впровадження в медичну практику нових вітчизняних лікарських засобів. Тема дисертаційної роботи є безперечно актуальною для сучасної фармації та медицини.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана відповідно до плану проблемної комісії «Фармація» МОЗ України і є фрагментом НДР Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне вивчення біологічно

активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (номер державної реєстрації 0103U000476) та «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

### **Наукова новизна одержаних результатів.**

Проведено комплексне фітохімічне дослідження БАР (трави, насіння і коренів) люпину багатolistого (вуглеводів, амінокислот, гідроксикоричних і органічних кислот, хінолізидинових алкалоїдів, дубильних речовин, флавоноїдів, ізофлавоноїдів і кумаринів).

Методом ВЕРХ у коренях люпину багатolistого встановлено присутність 10 речовин фенольної природи: хлорогенова, галова, елагова кислота, кумарин, апігенін, катехін, епікатехін, катехінгалат, епікатехінгалат та епігалокатехін. З коренів люпину багатolistого виділені 6 фенольних сполук і встановлена їх структура: ферулова, хлорогенова кислота, кумарин, апігенін, апігенін-7-О-Д-глюкозид, геністеїн.

Вперше в траві рослини ідентифіковано та встановлено вміст 16 жирних кислот, в насінні і коренях – 15. З котрих переважали: лінолева, ліноленова, олеїнова і пальмітинова. Визначено склад та вміст 15 амінокислот з рослинної сировини люпину багатolistого, 8 з яких є незамінними. Методом ХМС встановлено присутність та вміст 36 органічних кислот (10 карбонових, 7 ароматичних і 19 жирних).

Вперше ідентифіковані леткі компоненти з рослинної сировини люпину багатolistого. Виявлено 57 сполук: у траві 31 сполука (з котрих 16 є специфічними); у насінні 28 (13 є специфічними); у коренях 20 (10 є специфічними).

Методом амперометричного титрування встановлено вміст суми хінолізидинових алкалоїдів люпину багатolistого (у траві – 0,28%, у насінні – 0,56% і в коренях – 0,24%). Новизна методики визначення суми алкалоїдів підтверджена патентами України на корисну модель № 101056 «Спосіб кількісного визначення пахікарпіну» та № 101061 «Спосіб кількісного

визначення суми хінолізидинових алкалоїдів люпину багатolistого».

В досліджуваній рослинній сировині люпину багатolistого ідентифіковано 15 макро- та мікроелементів та визначено їх вміст. Встановлено, що серед макроелементів у неї переважали: Ca, K, Si, Mg, P і Na, а серед мікроелементів – Zn, Sr, Cu і Mn.

Вперше отримано сухий екстракт коренів люпину багатolistого, для якого було визначено гостру токсичність та встановлено анаболічну та актопротекторну активність. Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 93789 «Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з анаболічною та актопротекторною дією».

Розроблено технологію одержання сухого екстракту насіння люпину багатolistого, для якого визначено гостру токсичність та встановлено антимікробну активність.

#### **Практичне значення одержаних результатів.**

Розроблено технологію одержання сухого екстракту коренів люпину багатolistого з вираженою актопротекторною, анаболічною активністю і сухого екстракту насіння рослини з антимікробною активністю.

Розроблено проекти МКЯ на «Люпину багатolistого корені» і «Люпину багатolistого коренів екстракт сухий».

Результати фітохімічного дослідження рослинної сировини люпину багатolistого впроваджено в навчальний процес ряду профільних кафедр медичних ВУЗів України IV рівня акредитації.

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

Результати проведених наукових досліджень опубліковані в 18 наукових працях, у тому числі 9 статей (4 з яких у фахових виданнях зарубіжних країн), 6 тез доповідей. Отримано 3 патенти України на корисну модель.

Вони присвячені фармакогностичному та фітохімічному дослідженню рослинної сировини люпину багатolistого та отриманню сухих екстрактів з

неї, які виявляють виражену актопротекторну, анаболічну та антимікробну активність.

Зміст автореферату повністю відповідає змісту дисертаційної роботи і досить повно її відображає. Робота успішно пройшла апробацію на міжнародних, республіканських та міжрегіональних конференціях.

**Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків.**

Дисертаційна робота Акрітиду Христини викладена на 174 сторінках машинописного тексту. Складається зі вступу, огляду літератури (розділ I), експериментальної частини власних досліджень (розділи 2-4), загальних висновків, списку використаних джерел літератури, додатків. Обсяг основного тексту становить 141 сторінку. Робота ілюстрована 31 рисунками, 34 таблицями та 3 схемами. Список використаних джерел включає 183 найменування, з них 147 кирилицею та 36 латиною.

У вступі обґрунтовано актуальність теми досліджень, сформульовано мету і завдання, визначено об'єкти та предмет досліджень, наведено основні наукові результати, їх новизна та практична значимість, відомості про впровадження та апробацію результатів роботи, а також її структуру.

**В першому розділі** (огляді літератури) викладено ботанічна характеристика, відомості про поширення, хімічний склад і застосування видів роду *Lupinus L.* в медицині та народному господарстві. Пелюстки квіток рослин офіційно в 12 країнах. Їх застосовують як потогінний, відхаркувальний і легкий заспокійливий засіб.

Рослинна сировина широко використовується в народній та науковій медицині для отримання лікарських засобів, які знижують рівень холестерину і цукру в крові, нормалізують артеріальний тиск, підвищують імунітет, знижують ризик онкологічних захворювань і запобігають появі катаракти.

**В другому розділі** наведено відомості про об'єкти дослідження, прилади, методи дослідження, системи розчинників і реактиви, методики

виділення і встановлення структури індивідуальних речовин, встановлення якісного складу, визначення кількісного вмісту БАР і технологічних параметрів отримання сухих екстрактів, вивчення гострої токсичності та фармакологічної активності сухих екстрактів коренів і насіння люпину багатolistого. Методом ААС встановлено присутність 15 неорганічних елементів. Корені люпину багатolistого є найбільш збалансованими за елементним складом, дещо менше їх накопичення у траві, а насіння значно поступається за цим показником.

Дослідження складу ефірної олії проведено методом ХМС. Встановлено присутність та вміст 57 летких сполук. Трава містить максимальну кількість летких компонентів (31 сполука), з них 16 компонентів є специфічними; у насінні виявлено 28 сполук (13 специфічних); корені містять 20 летких сполук (10 специфічних). Дослідженням амінокислотного складу встановлено присутність 15 амінокислот, 8 з яких є незамінними. Встановлено значний вміст амінокислот не тільки в насінні і траві, але й у коренях досліджуваної рослини.

Методом ХМС ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 36 органічних кислот, серед яких: 10 – карбонових, 7 – ароматичних та 19 – жирних кислот.

Специфічними кислотами для трави (мг/кг) є гентизинова кислота (38,15), для насіння – хенейкозанова кислота (24,66), для коренів – гептил-2,4-дієнова (5619,5), 11-октадеценева (80,4), нонанова (66,5) та ізолимонна (34,1) кислоти. Накопичення суми хінолізидинових алкалоїдів в траві, насінні і коренях досліджуваної рослини визначено методом амперометричного титрування. Вміст речовин складав від  $0,24 \pm 0,01\%$  (корені) до  $0,28 \pm 0,01\%$  (трава) та  $0,55 \pm 0,01\%$  (насіння).

**В третьому розділі** наведено результати морфолого-анатомічного та фітохімічного дослідження коренів люпину багатolistого. Встановлено зовнішні морфологічні ознаки рослинної сировини та його анатомічна будова. За загально прийнятими методиками визначені основні числові

показники для розробки проекту МКЯ (втрата в масі при висушуванні, зола загальна, дубильні речовини, ізофлавоноїди, алкалоїди).

Результати морфолого-анатомічного дослідження та визначення числових показників використані для розробки проекту МКЯ на рослинну сировину “Люпину багатolistого корені”.

Методом ВЕРХ в коренях люпину багатolistого виявлено 10 речовин фенольної природи: гідроксикорична кислота (хлорогенова), кумарин (кумарин), 3 речовини флавоноїдної природи (апигенін, катехін, епікатехін) та 5 дубильних речовин (галова й елагова кислоти, катехінгалат, епікатехінгалат, епігалокатехін). Було виділено та встановлено структуру 6 речовин, з яких гідроксикоричні кислоти: ферулова та хлорогенова; кумарини: кумарин; речовини флавоноїдної природи: апигенін, апигенін-7-О-Д-глюкозид та ізофлавоноїд: генистеїн.

У четвертому розділі наведено технологію одержання БАР з коренів і насіння люпину багатolistого, їх дослідження та стандартизація. Розроблено технологічні схеми одержання сухих екстрактів з коренів та насіння досліджуваної рослини. Встановлено вміст основних сполук в отриманих екстрактах для впровадження проекту МКЯ. Для коренів: дубильних речовин до  $9,6 \pm 0,02\%$ , ізофлавоноїдів ( $5,8 \pm 0,02\%$ ), алкалоїдів ( $2,4 \pm 0,01\%$ ); насіння: алкалоїдів до  $5,8 \pm 0,01\%$ .

Результати фармакологічних досліджень свідчать про те, що сухі екстракти з насіння і коренів люпину багатolistого відносяться до класу практично нешкідливих речовин ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг). При цьому сухий екстракт з коренів рослини виявляє актопротекторну та анаболічну дію, перевершуючи препарат порівняння калію оротат (100 мг/кг).

Дослідженням антимікробної активності сухого екстракту насіння люпину багатolistого встановлено, що спостерігається пригнічення росту й висока антимікробна активність по відношенню до ряду грамнегативних бактерій (*Escherichia coli* 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Proteus vulgaris* 4636).

**Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які сформульовані в дисертації та авторефераті.** Всі проведені автором фітохімічні, фармакогностичні та фармакологічні дослідження виконані на високому науковому рівні. Обґрунтуванням наукових положень можна вважати успішне впровадження результатів досліджень у проекти МКЯ, а також в науково – педагогічний процес ряду профільних кафедр університетів IV рівня акредитації. Дисертант застосував статистичну обробку отриманих цифрових даних з використанням загальноприйнятих методів згідно існуючих вимог ДФУ. Достовірність результатів експериментальних досліджень, висновків і рекомендацій, які отримані автором та сформульовані в дисертації й авторефераті, не викликає сумнівів. Відмічаючи несумнівну актуальність, наукову та практичну значимість дисертаційної роботи слід висловити деякі зауваження та побажання:

1. Дещо збільшений об'єм огляду літератури, який можливо було б скоротити в частині об'єднання розд. 1.1, 1.2, 1.3.

2. Методики аналізу ВЕРХ рослинних поліфенолів, флавоноїдів та гідроксикорічних кислот (розд. 2.2.5.1, 2.2.5.2, 2.2.5.3) ідентичні, тому доцільно навести їх сумісно у одному розділі.

3. Експериментальні дані, наведені автором в табл. 3.9, 3.10 та 3.11 повторюються, тому доцільно їх навести однією таблицею.

4. В тексті роботи зустрічаються деякі незначні технічні помилки в хімічних назвах речовин.

5. Деякі літературні джерела з інформацією загального характеру (11, 16, 18, 24, 32, 75, 77) були опубліковані більш ніж 15 років тому.

Але, вказані зауваження не впливають на загальну високу оцінку виконаної роботи і не зменшують її наукової та практичної цінності.

#### **Рекомендації щодо використання результатів дисертації.**

Результати дисертаційної роботи Акрітиду Христини можуть бути використані при стандартизації рослинної сировини люпину багатолістого,

впровадженні відповідних МКЯ, створенні нових лікарських засобів на її основі; в навчальному й науковому процесі профільних кафедр вищих медичних та фармацевтичних закладів.

**Висновок про відповідність дисертаційної роботи встановленим вимогам.** Проте, наведені зауваження не є принциповими і не впливають на значимість та оцінку дисертаційної роботи. Все вищенаведене дозволяє вважати, що дисертація Акрітїду Христини за темою «Фармакогностичне дослідження люпину багатolistого» являє собою закінчену наукову працю, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, обґрунтовуючи можливості застосування коренів, насіння та екстрактів на їх основі в якості засобів з актопротекторною, анаболічною та антимікробною активністю.

За актуальністю обраної теми, новизною отриманих результатів, практичним значенням, обсягом проведених досліджень, рівнем їх виконання, обґрунтованістю наукових положень і рекомендацій, повнотою викладу результатів роботи у фахових виданнях, дисертація відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів», а її автор Акрітїду Христина заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент

Завідувач кафедри фармакогнозії,  
фармацевтичної хімії та технології ліків  
факультету післядипломної освіти,  
Запорізького державного медичного  
університету, доктор фармацевтичних наук,  
професор

