

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

главного научного сотрудника отдела фитохимии

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», доктора фармацевтических наук (15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия), профессора РАН Зилфикарова ИФРАТА НАЗИМОВИЧА на диссертационную работу САННИКОВОЙ ЕВГЕНИИ ГЕННАДИЕВНЫ «Фармакогностическое изучение ивы трехтычинковой (*Salix triandra* L.), произрастающей на Северном Кавказе», представленную в диссертационный совет Д 208.068.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выбранной темы

Возрастающая потребность в лекарственных препаратах растительного происхождения, обусловленная их относительной безопасностью и высокой эффективностью, требует расширения отечественной сырьевой базы за счет развития региональных растительных ресурсов и их комплексного использования. Проведение такого рода исследований необходимо также для эффективного поиска путей решения задач, сформулированных в «Стратегии национальной безопасности Российской Федерации до 2020 г.», утвержденной Указом Президента РФ №573 от 12.05.2009 г., в которой отмечена необходимость формирования условий для преодоления сырьевой зависимости фармацевтической отрасли от зарубежных поставщиков.

Известно, что современные нестероидные противовоспалительные средства обладают высокой эффективностью, однако при длительном применении способны спровоцировать ряд нежелательных эффектов, в первую очередь, со стороны желудочно-кишечного тракта. В связи с этим, поиск эффективных и нетоксичных природных растительных противовоспалительных лекарственных средств, не

подавляющих иммунитет и не проявляющих побочное действие даже при длительном применении, является актуальной задачей.

Одним из источников получения природных растительных противовоспалительных средств являются растения рода Ива, которые широко используются в народной и научной медицине. Для получения лекарственных средств чаще всего используется кора ивы, реже листья и соцветия. Различные виды ивы произрастают во всех регионах России и могут быть доступным источником для получения лекарственных средств.

Диссертант выбирает в качестве объекта исследования иву трехтычинковую, которая широко распространена на Северном Кавказе. Она имеет богатую сырьевую базу, повышенную регенеративную способность и может быть легко введена в культуру. Выполненная работа является логическим продолжением ряда исследований, посвященных обоснованию внедрения в медицинскую практику фитопрепаратов, полученных из ивы белой, ивы пурпурной, ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой, произрастающих в Северо-Кавказском регионе.

Основной целью проведенного исследования является фармакогностическое исследование и внедрение в медицинскую практику однолетних побегов ивы трехтычинковой, составляющих большую фитомассу, в качестве нового и перспективного лекарственного растительного сырья (ЛРС).

Реализация поставленной цели предполагала решение следующих задач:

- определить состав биологически активных веществ (БАВ), характерных для ивы трехтычинковой, растущей на Северном Кавказе, используя современные методы анализа;
- изучить динамику накопления БАВ в сырье в зависимости от времени сбора и места произрастания (побеги без листьев, побеги, листья), установить оптимальные сроки заготовки;
- провести исследования по стандартизации и разработать проект фармакопейной статьи (ФС) на сырье «Ивы трехтычинковой побеги» и инструкции по сбору и сушке побегов ивы трехтычинковой;
- определить фармакологическую активность порошка однолетних побегов ивы трехтычинковой;

- изучить возможность деконтаминации порошка побегов ивы трехтычинковой и его технологические характеристики.

Научная новизна и теоретическая значимость

В ходе выполнения работы автором проведены комплексные морфолого-анатомические и фитохимические исследования растительного сырья ивы трехтычинковой, дикорастущей на некоторых территориях Северного Кавказа, а именно по берегам рек Подкумок (окрестности г. Пятигорска), Кубань (окрестности села Кочубеевское Ставропольского края) и реки Малка (Кабардино-Балкарская Республика). С использованием современных химических и физико-химических методов анализа изучены фенольные соединения, идентифицированы флавоноиды (рутин, лютеолин, нарингенин), фенологликозиды (триандрин, салидрозид), фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества. Впервые проведена идентификация флавоноидов и определено их количественное содержание методом дифференциальной спектрофотометрии и методом ВЭЖХ. С помощью метода капиллярного электрофореза и планарной хроматографии определено количественное содержание рутина. Установлено количественное содержание фенолкарбоновых кислот, фенологликозидов (триандрина и салидрозида), дубильных веществ, органических кислот и полисахаридов. Определен аминокислотный и микроэлементный состав побегов ивы трехтычинковой. Проведенные фармакологические исследования в опытах на крысах на модели хронического пролиферативного воспаления показали, что порошок побегов ивы трехтычинковой обладает достоверной антиэкссудативной активностью, сопоставимой ацетилсалициловой кислотой. Исследована динамика накопления в ЛРС основных групп БАВ, определены сроки заготовки сырья. Приоритет проведенных исследований подтвержден патентом на изобретение «Способ получения противовоспалительного средства».

Теоретическая значимость

В диссертационной работе Санниковой Е.Г. теоретическая значимость заключается в расширении представлений о химическом составе, фармакологической активности малоизученного растительного сырья –

однолетних побегов ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе. Совокупность материалов, представленных в диссертационной работе может служить теоретической базой для разработки, стандартизации и внедрения лекарственных препаратов на основе ЛРС «Ивы трехтычинковой побеги».

Практическая значимость работы

Предложено использование однолетних побегов ивы трехтычинковой (*Salix triandra* L.) с целью расширения сырьевой базы ЛРС и снижения ущерба, наносимого зарослям ив при заготовке коры. Результаты исследований использованы при разработке проектов ФС на новый вид ЛРС «Ивы трехтычинковой побеги» и «Инструкции по заготовке и сушке побегов ивы трехтычинковой». Разработанный проект ФС апробирован на кафедре фармации ФГБОУ ВО СОГМА МЗ РФ, «Инструкция по сбору и сушке побегов ивы трехтычинковой» прошла экспертную оценку и апробацию в ООО «Витаукт-пром» (Республика Адыгея).

Методики идентификации фенологликозидов и количественного определения рутина внедрены в учебный процесс аспирантов Пятигорского медико-фармацевтического института (ПМФИ) – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России и фармацевтического факультета Кубанского ГМУ.

Степень обоснованности, достоверности научных результатов, положений и выводов диссертации

Диссертант аргументировал выбор предмета исследования, проанализировал значительный объем информационной базы по изучаемой теме. Для изучения объекта исследования соискатель применил ряд физических, физико-химических и фармакологических методов. Диссертация выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных химических и физико-химических методов, таких как: УФ –спектрофотометрия, капиллярный зонный электрофорез, атомно-эмиссионная спектрометрия, методы ТСХ, ВЭЖХ и МЭЖХ. Полученные результаты достоверны, благодаря наличию большого объема экспериментальных исследований и их статистической обработки, что позволило получить воспроизводимые результаты. Помимо этого, автором широко

применены классические химические методы анализа природных биологически активных соединений и техника микроскопического исследования.

Апробация результатов исследования

Фрагменты диссертационной работы были доложены на научно-практических конференциях «От растения к препарату: традиции и современность» (23-24 апреля 2014 г, Москва), «Молодые ученые и фармация XXI века» (11-12 декабря 2014 г, Москва), «Изучение лекарственных растений» (март 2015 г, Пятигорск), «Современная фармация: проблемы и перспективы развития» (29-30 мая 2015 г, Владикавказ), «Беликовские чтения» (1-2 декабря 2015 г, Пятигорск / 6-7 декабря 2016 г), «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (24-25 мая 2016 г, Пятигорск), «Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине» (23-25 июня 2016 г, Москва), «Фармацевтическое образование, наука и практика: горизонты развития» (20-21 октября 2016 г, Курск), Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 95-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, доктора фармацевтических наук, профессора Д.А. Муравьевой (22 марта 2017 г, Пятигорск).

По теме диссертации опубликована 21 работа, из них в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК – 9. Получен один патент.

Связь темы с основным планом научных работ

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ кафедры фармакогнозии и ботаники ПМФИ, номер государственной регистрации – 01201354514 «Фармакогностическое исследование дикорастущих и культивируемых растений с целью расширения сырьевой базы и внедрения в медицинскую практику».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: пункту 5 – изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного

сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье и пункту 6 – изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа изложена на 214 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, списка литературы, состоящего из 195 источников, в том числе 32 иностранных, содержит 52 таблиц, 42 рисунка и 6 приложений.

В *первой главе* «Обзор литературы», автором обобщены сведения по ботанической характеристике ивы трехтычинковой, описано распространение, особенности произрастания и культивирования ивы трехтычинковой на территории Российской Федерации. Автором также приводятся сведения о химической изученности и используемых методах анализа БАВ, применении в народной и официальной медицине некоторых видов ивы. В главе четко прослеживается обоснование необходимости изучения именно вида ивы трехтычинковой, как наиболее легко поддающегося вегетативному размножению и обеспечивающего быстрый и высокий прирост фитомассы.

Экспериментальная часть представлена в четырех главах. Во *второй главе* описаны исследуемые объекты, приборы и оборудование, а также все методы анализа и формулы расчета, используемые в последующих главах.

Глава третья включает химические исследования всех биологически активных веществ, обнаруженных в побегах ивы трехтычинковой. Приводятся результаты качественного анализа и количественного определения содержания преобладающих БАВ, таких как фенольные соединения (фенологликозиды, дубильные вещества, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты). Определение содержания флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в побегах, листьях и побегах без листьев ивы трехтычинковой проведено с использованием современных методов анализа, таких как ВЭЖХ, дифференциальной спектофотометрии,

планарной хроматографии, капиллярного электрофореза автором проведено впервые. Представлены таблицы, графики, формулы расчета, подтверждающие достоверность проведенных исследований. Используемые методики валидированы по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность. Кроме того, представлены результаты определения некоторых групп БАВ, таких как органические кислоты, аминокислоты, полисахариды, пигменты, приведены результаты исследования элементного состава.

В *главе четвертой* представлено обоснование норм качества лекарственного растительного сырья «Ивы трехтычинковой побеги». Определены основные морфологические характеристики побегов ивы трехтычинковой, необходимые для составления раздела проекта нормативного документа на сырье «Внешние признаки» (цельное сырье, измельченное сырье и порошок). При микроскопическом исследовании установлена совокупность признаков, необходимых для идентификации сырья. Обоснованы разделы по идентификации сырья с помощью химических реакций, методов ТСХ и капиллярного электрофореза.

Для нормирования содержания БАВ сырья ивы трехтычинковой побегов обоснован выбор флавоноидов и дубильных веществ. Предложено включить в проект ФС метод определения рутина методом капиллярного зонного электрофореза в качестве альтернативного, так как рутин является основным флавоноидом исследуемого сырья и его предварительная норма содержания в сырье не менее 1,8%.

В *главе 5* приведены результаты фармакологического и технологического исследования порошка побегов ивы трехтычинковой. Изложены результаты изучения фармакологической активности, обоснованы методы деконтаминации порошка побегов ивы трехтычинковой. В главе приводятся результаты технологических исследований порошка побегов ивы трехтычинковой по фракционному составу, однородности, сыпучести, насыпной плотности.

В «*Заключении*» диссертационного исследования полностью отражены результаты, соответствующие цели и задачам, сформулированные автором. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

В *приложении* представлены следующие материалы: «Валидационная оценка методик анализа», «Исходные материалы методик анализа», «Проект фармакопейная статьи «Ивы трехтычинковой побегов»», «Инструкция по сбору и сушке побегов ивы трехтычинковой», «Нормы показателя «Микробиологическая чистота»», Акты внедрений и апробаций.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с современными требованиями, материал изложен логично и последовательно. Автореферат отражает содержание диссертации и также оформлен в соответствии с требованиями.

Вместе с тем, несмотря на общую положительную оценку, при оценке диссертационной работы возник ряд вопросов и замечаний:

1. Почему в анализе фракции фенологликозидов предлагается только метод капиллярного электрофореза, пока еще недостаточно распространенный и имеющий ряд ограничений? Предпринималась ли попытка применить для обнаружения маркерных веществ метод ВЭЖХ, позволяющий при определенных условиях разделять широкий спектр фенольных соединений?

2. Почему для количественного определения фенолкарбоновых кислот был выбран экстракционно-фотометрический метод, учитывая, что этилацетат способен экстрагировать флавоноиды, особенно моногликозиды? Как согласуются результаты, полученные с использованием выбранного метода, с данными научной литературы?

3. Чем обусловлен выбор порошка из побегов ивы трехтычинковой в качестве объекта сравнительных исследований противовоспалительной активности? Оценивалась ли возможность селективного извлечения БАВ, в частности, суммы фенольных соединений, водно-спиртовыми смесями с целью получения жидкого или сухого экстракта?

4. В разделе 5.3., посвященном выбору метода деконтаминации, отмечено, что «наиболее существенным недостатком использования порошка ЛРС в капсулах является его несоответствие требованиям по нормам показателя качества «Микробиологическая чистота». Вместе с тем, неясно, почему для побегов ивы трехтычинковой актуальна такая проблема - в работе не приведено достаточное количество результатов исследования микробиологической чистоты нового вида ЛРС.

5. Почему в проекте ФС «Ивы трехтычинковой побего» предложено нормирование золы общей на уровне «не более 7%» и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – на уровне «не более 2%»? Если исходить из данных табл. 4.1., где отражены результаты испытаний сырья ивы трехтычинковой, требования к нему по данным показателям могут быть более жесткими. В качестве замечания необходимо отметить, что в материалах, предваряющих нормирование числовых и товароведческих показателей ЛРС, не приведены статистические данные. В проекте ФС отсутствует раздел «Спецификация», где в соответствии с требованиями к оформлению НД отражаются ссылки на ГФ и Общие фармакопейные статьи.

Необходимо отметить при этом, что сделанные замечания носят в основном рекомендательный характер, не влияют на положительную оценку, которую заслуживает выполненная работа, и могут быть устранены в ходе дальнейших исследований.

Рекомендации по использованию материалов диссертационного исследования

Результаты диссертационной работы Санниковой Е.Г. могут быть использованы при проведении дальнейших технологических, фитохимических и фармакологических исследований с целью увеличения ассортимента фитопрепаратов на основе отечественного растительного сырья, а также в учебном процессе фармацевтических вузов и факультетов.

Заключение

Диссертационная работа Санниковой Евгении Геннадиевны на тему «Фармакогностическое изучение ивы трехтычинковой (*Salix triandra* L.), произрастающей на Северном Кавказе», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 — фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармацевтической науки по изучению отечественного лекарственного растительного сырья «Ивы трехтычинковой побего» и обоснованию возможности создания на их основе новых лекарственных

препаратов противовоспалительного действия. Диссертационная работа САННИКОВОЙ ЕВГЕНИИ ГЕННАДИЕВНЫ соответствует требованиям п. 9 - 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 01 октября 2018 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, САННИКОВА ЕВГЕНИЯ ГЕННАДИЕВНА, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Главный научный сотрудник отдела фитохимии
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский
институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР),
доктор фармацевтических наук (специальность: 15.00.02 –
фармацевтическая химия и фармакогнозия),
профессор РАН

Зилфикаров Ифрат Назимович

«24» апреля 2019 г.

117216, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

8(495)388-55-09, e-mail: vilarnii@mail.ru, dagfarm@mail.ru

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 г.), необходимых для работы диссертационного совета Д 208.068.02.

Подпись И.Н. Зилфикарова заверяю.

Ученый секретарь ФГБНУ ВИЛАР,

кандидат фармацевтических наук



О.А. СЕМКИНА