

официального оппонента профессора кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, профессора **Пупыкиной Киры Александровны** по диссертации *Хусаиновой Алии Ильясовны* на тему: «Фармакогностическое исследование цветков пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.)», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования

Одним из основных направлений фармакогнозии является разработка объективных методов стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, получаемых на его основе. Однако в отношении многих лекарственных растений до сих пор сохраняет свою актуальность проблема разработки объективных методик контроля качества сырья и фитопрепаратов. Это в полной мере относится к такому растению, как пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.). На сегодняшний день официальным сырьем признаны цветки пижмы обыкновенной, определяющие желчегонные свойства препаратов на их основе. В фармакопейной статье «Цветки пижмы» (Государственная фармакопея СССР XI издания) приведена методика количественного определения суммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, методом прямой спектрофотометрии в пересчете на лютеолин, при аналитической длине волны 310 нм. Обозначенный подход является достаточно длительным и трудоемким, в анализе используется токсический растворитель дихлорэтан. Следует отметить, что согласно представленной методике, не удастся определить количественное содержание флавоноидов – биологически активных соединений, которые определяют основное фармакологическое свойство цветков пижмы обыкновенной, а именно желчегонный эффект. В обсуждаемой статье не приводится методика качественного анализа сырья. В представленном микроскопическом описании приводятся не все морфолого-анатомические признаки, имеющие диагностическое значение при идентификации цветков пижмы обыкновенной, отсутствует описание порошка сырья и иллюстрации. В отношении препаратов на основе цветков пижмы обыкновенной вопросы стандартизации также решены не в полной мере. Так, для лекарственного

препарата «Желчегонный сбор № 3» регламентируется содержание эфирного масла, в то время как наряду с этим показателем, целесообразным является количественное определение содержания суммы флавоноидов, определяющих желчегонные свойства указанного сбора. Согласно положениям, изложенным в отраслевом стандарте 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения», обозначенные описания не соответствует современным требованиям, предъявляемым к стандартизации лекарственного растительного сырья. Также в рамках расширения ассортимента отечественных лекарственных препаратов, актуальной задачей современной фармации является выявление новых фармакологических свойств лекарственных растений и разработка новых лекарственных средств.

Таким образом, диссертационная работа Хусаиновой А.И. направлена на решение актуальных задач, связанных с совершенствованием стандартизации лекарственного растительного сырья, с обоснованием целесообразности создания новых лекарственных препаратов и разработкой методов контроля качества фитопрепаратов, отвечающих принципам унификации, предъявляемым к современному фармацевтическому анализу.

**Новизна исследования и полученных результатов, степень
обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций,
сформулированных в диссертации**

В рамках диссертационной работы диссертантом проведено морфолого-анатомическое исследование порошка цветков пижмы обыкновенной, определены основные диагностические признаки порошка. На основе результатов сравнительного морфолого-анатомического анализа порошка цветков пижмы обыкновенной и порошка цветков бессмертника песчаного выявлены значимые диагностические признаки, позволяющие определять подлинность указанных компонентов в желчегонных сборах № 2 и № 3.

В результате фитохимического исследования из цветков пижмы обыкновенной выделены и идентифицированы хлорогеновая кислота, тилианин, космосиин, акацетин, апигенин, причем тилианин является доминирующим флавоноидом в цветках пижмы обыкновенной. Важно отметить, что космосиин и тилианин впервые выделены из цветков пижмы обыкновенной, произрастающей на территории Самарской области.

Разработаны методические и методологические подходы к стандартизации цветков пижмы обыкновенной, согласно которым количественное определение суммы флавоноидов проводят методом

дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 400 нм в пересчете на цинарозид. Качественный анализ цветков пижмы обыкновенной осуществляют методом тонкослойной хроматографии, определяя ведущий флавоноид – тилианин, а также методом спектрофотометрии, анализируя водно-спиртовое извлечение из цветков данного растения. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в лекарственном сборе «Желчегонный сбор № 3» методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на цинарозид при аналитической длине волны 400 нм.

Автором проведены исследования равновесной паровой фазы цветков и препаратов пижмы обыкновенной методом газожидкостной хроматографии. На основании полученных данных построены диаграммы-образы летучих компонентов изучаемых объектов для их идентификации и оценки подлинности.

Проведено исследование по обоснованию состава и технологии получения новых лекарственных препаратов «Пижмы настойка» и «Пижмы цветков сироп» с использованием подходов гармонизации, применяемых с учетом современных требований стандартизации.

Разработанные методики включены в проекты нормативных документов ФС «Пижмы цветки» и ФСП «Пижмы настойка». Предложены методики контроля качества разработанных лекарственных препаратов по содержанию флавоноидов с использованием тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. Впервые проведено изучение диуретической активности препаратов из цветков пижмы на белых беспородных крысах.

Диссертационная работа выполнена с использованием фармакогностических, химических, технологических, хроматографических методов (колоночная, тонкослойная, газожидкостная хроматография), спектральных методов (УФ-, ^1H -ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия), а также методов исследований специфической фармакологической активности. Установление строения выделенных веществ осуществлено с помощью УФ-спектроскопии (спектрофотометр «Specord 40»), ЯМР-спектроскопии (спектрометр «Bruker AM 300» (300 МГц), масс-спектрометрии (масс-спектрометр «Kratos MS-30»), различных химических превращений, ТСХ и непосредственным сравнением с достоверно известными образцами веществ.

Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных. Статистическая обработка экспериментальных данных исследований ($P=95\%$) проведена с помощью программ Microsoft Excel с вычислением

граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением ошибки единичного определения в соответствии с требованиями ГФ СССР XI издания.

Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования

Результаты проведенных исследований Хусаиновой А.И. позволяют дополнить существующую фармакопейную статью на воздушно-сухие цветки пижмы обыкновенной, в результате чего разработан проект фармакопейных статей «Пижмы цветки», направленный в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» для включения в Государственную Фармакопею РФ XII издания. По результатам диссертационной работы также разработан проект нормативной документации - ФСП «Пижмы настойка».

На основе результатов исследования разработаны методики качественного и количественного анализа флавоноидов в цветках пижмы обыкновенной и количественного определения суммы флавоноидов в лекарственном препарате «Желчегонный сбор № 3». Предложены состав, способ получения лекарственных препаратов на основе пижмы обыкновенной: «Пижмы настойка», «Пижмы цветков сироп», определены показатели качества и методы их оценки, отвечающие принципам унификации, предъявляемым к современному фармацевтическому анализу.

Результаты диссертационных исследований используются в учебных процессах на кафедрах: фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии; химии фармацевтического факультета; фармацевтической технологии; экономики и управления фармации ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России; ЗАО «Самаралектравы»; ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области».

Полученные результаты диссертационного исследования представляют интерес для совершенствования учебного процесса по курсу «Фармакогнозия», а также применимы для проведения научных исследований по видам ЛРС, содержащих флавоноиды. Разработки Хусаиновой А.И. могут быть использованы центрами сертификации и контроля качества лекарственных средств.

Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя,

включающего 155 отечественных и 72 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 31 таблицей и 40 рисунками.

Во введении обоснована актуальность темы, поставлены цель и задачи исследования, отмечена новизна и практическая значимость полученных результатов, а также изложены положения, выносимые на защиту. Глава 1 посвящена обзору современного состояния исследований пижмы обыкновенной, в котором обобщены и систематизированы сведения по изучению химического состава, фармакологических свойств, применению в медицине, стандартизации сырья и препаратов на основе данного растения. В главе 2 приведена характеристика объектов и методов исследования (методов исследования морфолого-анатомического анализа сырья, физических, химических, физико-химических и др.) В главе 3 обсуждаются результаты морфолого-анатомического исследования порошка цветков пижмы обыкновенной и результаты исследования по сравнительному морфолого-анатомическому анализу указанного порошка с порошком цветков бессмертника песчаного, в результате которого определены основные диагностические признаки, позволяющие селективно определять данные растительные компоненты в желчегонных сборах. В главе 4 приведены данные изучения химического состава цветков пижмы обыкновенной (выделение, очистка и установление структуры индивидуальных веществ) и отображены основные характеристики выделенных индивидуальных соединений, представлены результаты газожидкостной хроматографии цветков и препаратов пижмы обыкновенной. В главе 5 отображены разработка методик стандартизации цветков пижмы обыкновенной (качественное и количественное определение суммы флавоноидов), а также методика количественного определения суммы флавоноидов в «Желчегонном сборе № 3». В главе 6 представлены разработанные способы получения лекарственных препаратов «Пижмы настойка», «Пижмы цветков сироп», методики их стандартизации, обсуждаются фармакологические исследования (диуретическое действие) разработанного препарата «Пижмы цветков сироп». В Приложения вынесены акты внедрения, проекты нормативной документации (ФС «Пижмы цветки» и ФСП «Пижмы настойка»).

По теме диссертации опубликовано 25 работ, в том числе 8 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Данные диссертации используются в практической работе ЗАО «Самаралектравы»; ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», а также в учебном процессе на кафедрах: химии фармацевтического факультета, фармакогнозии с ботаникой и основами

фитотерапии; фармацевтической технологии, экономики и управления фармации ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России.

Полученные автором результаты можно использовать в рамках работы профильных кафедр в высших профессиональных учреждениях и в фармацевтических организациях с производственным процессом получения лекарственных растительных препаратов.

В целом, положительно оценивая диссертационную работу Хусаиновой А.И., имеются некоторые вопросы и замечания:

1. Хотелось бы уточнить, с использованием каких методов была определена структура хлорогеновой кислоты?

2. При разработке методик количественного определения флавоноидов в цветках пижмы обыкновенной, «Желчегонном сборе № 3», настойке и сиропе Вами изучались оптимальные условия: концентрация экстрагента, соотношение сырье-экстрагент, время экстракции, а чем обоснован выбор в качестве комплексообразователя именно 3% спиртового раствора алюминия хлорида?

3. Проводилась ли валидация методик количественного определения флавоноидов в сырье пижмы обыкновенной и препаратах на их основе?

4. В диссертационной работе Вы обосновываете, что для количественного определения флавоноидов в сырье и препаратах цветков пижмы обыкновенной выбран метод дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на цинарозид, тогда почему в главе 6.4.2. Вы определяете сумму флавоноидов и фенолкарбоновых кислот методом прямой спектрофотометрии в пересчете на лютеолин?

5. Почему при определении токсичности эксперименты проводились только с использованием 40 % настойки пижмы обыкновенной и было ли проведено подобное исследование с 70 % настойкой, а также почему Вы пишете в работе о диуретических свойствах препаратов цветков пижмы, а сведения приведены только для сиропов на фруктозе и сорбите, тогда для каких целей использовать настойки?

6. В диссертационной работе имеются отдельные опечатки и стилистические погрешности, однако они не носят принципиального характера и не снижают ценности работы.

Указанные замечания не принципиальны, а вопросы носят только уточняющий характер и не снижают ценности большой и актуальной работы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует и отражает основные положения и выводы диссертации и, также как и диссертационная работа *Хусаиновой Алии Ильясовны*, полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заключение о соответствии диссертации требованиям настоящего Положения

Таким образом, диссертационная работа *Хусаиновой Алии Ильясовны* на тему: Фармакогностическое исследование цветков пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.), 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 задачи современной фармацевтической химии и фармакогнозии по изучению лекарственного растительного сырья, выделению биологически активных веществ, стандартизации и разработке нормативной документации на ЛРС.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа

Хусаиновой Алии Ильясовны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Хусаинова Алия Ильясовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Профессор кафедры фармакогнозии с курсом
ботаники и основ фитотерапии государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего профессионального образования
«Башкирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3,
тел. (8347) 272-11-60,
e-mail: rectorat@bashgmu.ru
доктор фармацевтических наук,
профессор

Пупыкина Кира Александровна

«21» апреля 2015г.