

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук, доцента Браславского Валерия Борисовича на диссертационную работу Казеевой Алины Рамилевны на тему: «Фармакогностическое изучение кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L.) и перспективы ее использования в медицине», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в Диссертационный Совет Д 208.085.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

### **1. Актуальность выполненного исследования**

Одним из основных направлений фармакогнозии является разработка объективных методик контроля качества лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП). С выходом Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIII издания (ГФ РФ XIII) эта проблема стандартизации для многих видов ЛРС становится ещё более актуальной. Одним из путей расширения номенклатуры отечественных ЛРП является изучение химического состава ЛРС и фармакологического действия ЛРП из уже известных лекарственных растений, часто используемых по ограниченному спектру показаний, которые содержат различные биологически активные вещества (БАВ). В этом плане интересна для изучения кровохлебка лекарственная (*Sanguisorba officinalis* L.), ЛРП которой давно используются в качестве вяжущего, кровоостанавливающего и противовоспалительного средства при желудочно-кишечных заболеваниях. Существующая в России нормативная документация на корневища и корни кровохлебки устарела и требует существенной переработки. Изучение возможности использования не только данного ЛРС, но и травы, может способствовать решению проблемы комплексной переработки данного растения и рационального использования природных ресурсов. В связи с этим, проведение фармакологических и фармакогностических исследований, включающих ресурсоведческое, морфолого-анатомическое, фитохимическое изучение кровохлебки лекарственной, является актуальной задачей.

## ***2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность***

В рамках диссертационной работы Казеевой А.Р. впервые проведено ресурсоведческое, морфолого-анатомическое исследование травы кровохлебки лекарственной и уточнены анатомические признаки корневищ и корней кровохлебки. С учетом выявленных диагностически значимых признаков сырья кровохлебки разработаны показатели для определения подлинности нового вида ЛРС «Кровохлебки лекарственной трава» и новой стандартизации корневищ и корней кровохлебки.

С помощью современных методов исследования изучен качественный состав БАВ травы, корневищ и корней кровохлебки лекарственной и установлены следующие группы БАВ: полисахариды, аминокислоты, сапонины, флавоноиды, кумарины, дубильные вещества. Методом ВЭЖХ подтверждено присутствие веществ фенольной природы – флавоноидов, фенолкарбоновых и гидроксикоричных кислот, кумаринов. Флавоноиды лютеолин и лютеолин-7-глюкозид в ЛРС кровохлёбки обнаружены впервые. Методом препаративной хроматографии выделены индивидуальные вещества фенольной природы, структура которых подтверждена сравнением спектральных (УФ-, ИК-) и хроматографических (ТСХ, ВЭЖХ) характеристик со стандартными образцами. Методом хроматомасс-спектрометрии изучен компонентный состав жирорастворимого комплекса сырья кровохлебки и установлено наличие высших жирных кислот, их производных и соединений терпеновой природы.

Разработаны новые для данного ЛРС методики количественного определения спектрофотометрическим методом суммы флавоноидов и дубильных веществ в траве, корневищах и корнях кровохлебки, установлены нормы их содержания. Проведена валидация методик количественного определения флавоноидов и дубильных веществ по критериям правильность, прецизионность, линейность и специфичность. Определено количественное

содержание различных групп БАВ, установлена сезонная динамика по фазам накопления флавоноидов и дубильных веществ в ЛРС кровохлёбки.

Казеевой А.Р. проведена сравнительная оценка антиоксидантных, противовоспалительных, антибактериальных, психостимулирующих свойств препаратов из травы, корневищ и корней кровохлебки лекарственной.

Достоверность научных положений, полученных результатов и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке результатов с использованием стандартных методов вариационной статистики с применением в соответствии с требованиями ГФ.

### ***3. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации***

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации определяется достаточным объемом проведенных исследований, включающих ресурсоведческое, морфолого-анатомическое, фитохимическое и фармакологическое изучение кровохлебки лекарственной, применяемыми современными информативными методами исследования, статистической обработкой полученных результатов, использованием критериев доказательной медицины. Полнота и глубина собственного материала в достаточной мере обосновывает выводы и рекомендации, вытекающие из полученных автором диссертации результатов.

#### ***4. Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования***

Результаты проведенных фармакогностических и фармакологических исследований Казеевой А.Р. позволяют дополнить существующую фармакопейную статью на корневища и корни кровохлебки лекарственной и предложить ФС на новый вид ЛРС «Кровохлебки трава» с использованием современных и объективных методов оценки качества ЛРС, в результате чего разработаны проекты ФС «Кровохлебки корневища и корни» и «Кровохлебки трава», с целью включения в дополнения к ГФ РФ XIII.

Полученные автором экспериментальные данные показали целесообразность дальнейших исследований кровохлебки лекарственной с целью решения проблемы комплексной переработки данного вида растения и в плане рационального использования природных ресурсов.

Разработанные в результате диссертационного исследования методики качественного анализа, количественного определения содержания суммы флавоноидов, определения дубильных в траве, корневищах и корнях кровохлебки лекарственной, внедрены в учебный процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, ГБУЗ РБ «Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств», Испытательная лаборатория ГБУЗ «Центр лекарственного обеспечения Департамента здравоохранения города Москвы», что подтверждено актами внедрения.

Таким образом, результаты проведенных Казеевой А.Р. исследований по определению ресурсов, химического состава и биологической активности ЛРС кровохлебки лекарственной имеют несомненное научно-практическое значение и могут быть внедрены в учебный процесс, научно-исследовательскую работу на фармацевтических предприятиях, в

лабораториях, специализирующихся в области анализа и стандартизации лекарственных средств растительного происхождения, а также вузов РФ.

### ***5. Оценка содержания диссертации***

Диссертационная работа изложена на 204 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы описания объектов и методов исследования, трех экспериментальных глав, заключения с итогами и рекомендациями, списка литературы, приложений и списка сокращений. Работа хорошо и наглядно проиллюстрирована: 45 таблиц и 89 рисунков, не считая приложений. Список цитируемой литературы включает 167 библиографических источников, из которых 25 - на иностранных языках.

Во введении сформулированы актуальность темы исследования, степень разработанности темы, цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследований, положения, выносимые на защиту, степень достоверности, апробация результатов, внедрение результатов исследования, личный вклад автора, связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук, соответствие диссертации паспорту научной специальности, освещены публикации, и дана информация по объему и структуре диссертации.

Первая глава посвящена обзору отечественной и зарубежной литературы по исследованию кровохлебки лекарственной. Изложены данные по ботанической характеристике, ареалу обитания в Российской Федерации (РФ) и на территории Республики Башкортостан (РБ), химическому составу, стандартизации сырья кровохлебки лекарственной, обзору современного состояния изученности по применению в научной и народной медицине.

В главе 2 описаны использованные в работе объекты и методы исследования кровохлебки лекарственной.

Главы 3-5 экспериментальные и содержат результаты исследований, выполненных автором и их обсуждение.

В третьей главе приводятся результаты ресурсоведческих и морфолого-анатомических исследований кровохлебки лекарственной. Автором определены запасы сырья кровохлебки лекарственной на территории 18 районов РБ, установлены показатели подлинности ЛРС.

В четвертой главе представлены результаты сравнительного фитохимического изучения надземных и подземных органов кровохлебки лекарственной, разработки методик количественного определения содержания флавоноидов и дубильных веществ, изучения динамики накопления флавоноидов в траве и дубильных веществ в корневищах и корнях кровохлебки и стандартизации сырья кровохлебки лекарственной.

Пятая глава посвящена сравнительной оценке фармакологической активности водных и спиртовых извлечений из травы, корневищ и корней кровохлебки лекарственной.

Диссертация завершается заключением с общими выводами по итогам исследования, рекомендациями и списком литературы. В приложении представлены основные документы, подтверждающие внедрение результатов диссертационной работы и некоторые иллюстрационные материалы.

По теме диссертации опубликовано 27 работ, из них 7 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Данные диссертации используются в практической работе на фармацевтических предприятиях, в лабораториях, специализирующихся в области анализа и стандартизации ЛРП, в учебном процессе кафедр ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, что подтверждено актами внедрения.

Полученные автором результаты можно использовать в учебном процессе, внедрять в научно-исследовательскую работу вузов РФ, а также на фармацевтических предприятиях, в лабораториях, специализирующихся в области анализа и стандартизации ЛРС и ЛРП.

Несмотря на положительную оценку диссертационной работы Казеевой А.Р., при прочтении возникли некоторые вопросы и замечания:

1. Чем Вы руководствовались, и какое оборудование использовали для определения урожайности кровохлёбки? Почему определение проводилось в 18 районах РБ? Чем Вы объясните, что значительно отличаются между собой биологические запасы ЛРС надземных органов кровохлёбки от таковых – подземных в трёх районах (Дюртюлинский, Кармаскалинский, Уфимский районы) и почти не отличаются в Нефтекамском и Благоварском районах? В выводе 1 к главе 3, в табл. 1 и в Заключение правильное было бы подвести суммарный сводный итог по объёмам возможных ежегодных заготовок (ОВЕЗ) ЛРС по обследованным районам РБ, а не интервал.

2. Почему рекомендуемые Вами показатели (табл. 3, 35, 36 и выводы на С. 150, 173), характеризующие измельчённость ЛРС, завышены в 2 раза по сравнению с общепринятыми («не более 10%», а обычно - «не более 5%») для измельчённого ЛРС и порошка? Зачем в ЛРС регламентируется примесь «стеблей не более 50%» (табл. 3, С.72), но данный показатель не включен в табл. 35 и 36 (С. 145-147)? Почему для надземных и подземных органов рекомендован одинаковый показатель по содержанию минеральных и органических примесей (1%) (табл. 3, 35, 36 и выводы на С. 150, 173)?

3. С какой целью было использовано такое многообразие хроматографических систем для ТСХ, почему не использованы классические системы хлороформа со спиртом? Почему для обнаружения фенольных БАВ на ТСХ не использовали просмотр в УФ-свете и проявление диазореактивом?

4. На каком приборе были получены ИК-спектры? Почему рисунки спектров оформлены по-разному? Нет единообразия в формулах расчёта количественного содержания БАВ по обозначениям оптической плотности. Встречаются опечатки в формулах и пояснениях обозначений к формулам расчёта (С. 43-46, С. 125).

5. Почему фенольные соединения кровохлёбки изучали с применением метода ВЭЖХ при двух длинах волн: 254 и 360 нм? Каким методом

идентифицированы пики на ВЭЖХ? Что было использовано для идентификации веществ кроме сопоставления времён удерживания компонентов и растворов сравнения, что использовали в качестве последних?

6. Не ко всем перечисленным группам БАВ применим тезис о «преобладании» (вывод 3 к главе 4 и в итогах – вывод 4). Из 13 соединений в траве названы только 7 веществ (табл. 9, С. 94-95, С. 172), а из 15 соединений в корневищах и корнях – 9 веществ (табл. 10, С. 96), какие - не названы и почему? В работе не хватает иллюстраций структурных формул БАВ.

7. Почему ЛРП готовили в соответствии с ГФ разных изданий, на какой концентрации спирта этилового готовили извлечения? Определялись ли какие-либо виды токсичности ЛРП при проведении фармакологических исследований?

В диссертационной работе имеются отдельные опечатки и некоторые неудачные выражения и формулировки.

Все вышесказанные замечания и пожелания, не носят принципиального характера, не снижают ценность проделанной работы, не оказывают существенного влияния на представленные результаты исследований и общую положительную оценку данной диссертационной работы в целом.

#### ***6. 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 Казеевой Алины Рамилевны, соответствует пунктам 2, 3, 6 паспорта специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.



## 7. Заключение о соответствии диссертации требованиям «Положения о присуждении ученых степеней»

Таким образом, диссертационная работа *Казеевой Алины Рамилевны* на тему: «Фармакогностическое изучение кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L.) и перспективы ее использования в медицине», 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 проблемы современной фармакогнозии по изучению кровохлебки лекарственной и перспектив её использования.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Казеевой Алины Рамилевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор - Казеева Алина Рамилевна - заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 443099, Самарская область, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89.

Тел./факс: +7 (846) 332-16-34, Тел: (846) 260-33-59

e-mail: info@samsmu.ru

доктор фармацевтических наук, доцент,  
14.04.02 – фармацевтическая химия,  
фармакогнозия

«29» декабря 2016 г.

Валерий Борисович Браславский



Заместитель начальника  
отдела фармакогнозии

9 29 декабря 2016 г.