

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук, профессора Ханиной Минисы Абдуллаевны на диссертационную работу Мараховой Анны Игоревны на тему «Унификация физико-химических методов анализа лекарственного растительного сырья и комплексных препаратов на растительной основе», представленную на соискание ученой степени доктора 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

Лекарственное растительное сырье и лекарственные растительные препараты составляют около 40% номенклатуры лекарственных средств, обращающихся на отечественном фармацевтическом рынке. За рубежом лекарства на основе природных соединений также весьма популярны.

Как лекарственное растительное сырье (ЛРС), так и препараты на его основе, используемые в медицине, подлежат обязательному контролю качества. Расширение ассортимента лекарственных растительных препаратов (ЛРП) требует совершенствования методик стандартизации ЛРС с включением их в современную нормативную документацию (НД). Наиболее широко в анализе ЛРС и фитопрепаратов на их основе применяют спектрофотометрию – для количественного определения флавоноидов, антраценпроизводных, сапонинов и других групп биологически активных соединений (БАС) и титриметрию, используемую для определения гидрофильных БАС - дубильных веществ, органических кислот.

В большинстве случаев оценка качества ЛРС проводится без учета получаемых в дальнейшем из него препаратов. Особенностью растительных лекарственных средств является многокомпонентность БАС, в них содержатся группы БАС с различной физико-химической природой. В связи с этим, при стандартизации ЛРС и фитопрепаратов на их основе, следует учитывать взаимное влияние БАС.

Все вышеизложенное определяет актуальность исследований, проведенных диссертантом. Целью диссертационной работы являлось проведение системных теоретических и экспериментальных исследований по вопросам унификации физико-химических методов стандартизации ЛРС, содержащего фенольные соединения и органические кислоты, и получаемых из него препаратов на основе систематического анализа комплекса БАС различной химической природы.

Для достижения поставленной цели автором были поставлены и успешно решены следующие задачи:

1. Провести информационно-аналитические исследования по методам определения БАС в ЛРС и растительных препаратах в существующей НД и научной литературе.

2. Разработать методики потенциометрического титрования дубильных веществ и органических кислот в сырье и жидких лекарственных формах.

3. Изучить возможность использования титриметрии и потенциометрии в количественном определении минеральных веществ в ЛРС (на примере определения кальция и магния).

4. Исследовать особенности спектрофотометрического определения флавоноидов и антраценпроизводных в системе «сквозной» стандартизации ЛРС и препаратов на его основе с учетом различий в их химическом составе.

5. Составить общий алгоритм разработки методики спектрофотометрического определения фенольных соединений в ЛРС и препаратах.

6. Предложить общий алгоритм разработки методик определения БАС при стандартизации ЛРС с учетом получаемых препаратов и состава метаболома ЛР.

7. Изучить влияние некоторых факторов (ультразвук, постоянное и переменное электрическое напряжение, рН экстрагента) на эффективность экстракции флавоноидов и дубильных веществ из ЛРС.

Все поставленные задачи соответствуют заявленной цели, позволяют раскрыть основные вопросы, касающиеся темы диссертации и были в полной мере реализованы соискателем в ходе выполнения диссертации.

Диссертационная работа А.И. Мараховой выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России по научной проблеме «Разработка современных технологий подготовки специалистов с высшим медицинским и фармацевтическим образованием на основе достижений медико-биологических исследований» (номер государственной регистрации 01.2.006 06352). Тема включена в план научных исследований кафедры фармакогнозии «Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья, лекарственных сборов, лекарственных форм из сырья и разработка методов их стандартизации с учетом влияния антропогенных факторов, оценки качества и сертификации».

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

Новизна результатов исследований диссертанта заключается в получении новых данных о приоритетных возможностях метода потенциометрического титрования при определении дубильных веществ и органических кислот в 18 видах ЛРС, 2 сборах (витаминных № 1, 2) и 26 лекарственных препаратах по сравнению с индикаторными методиками титрования.

В ходе проведенных исследований диссертантом доказано, что потенциометрическое титрование дает сходимые результаты с индикаторным титрованием по методике ГФ РФ XIII изд. у всех изученных видов сырья. Потенциометрическое титрование позволяет определять суммарное содержание органических кислот (алифатических, фенолкарбоновых, гидроксикоричных и др.) и дубильных веществ (конденсированных, гидролизующихся) и выдвигать гипотезы о накоплении изучаемых групп БАС.

Впервые установлены условия для эффективной экстракции макроэлементов из ЛРС на примере кальция и магния в ионном виде (имеется патент на изобретение) и разработана универсальная титриметрическая методика их совместного и отдельного определения предложенным методом, достигнуто упрощение и ускорение анализа.

Разработан способ количественного потенциометрического определения элементного состава на примере кальция в жидких экстрактах из ЛРС (получен патент на изобретение), который возможно провести быстро и без предварительной пробоподготовки.

На основании собственных исследований, проведенных на 5 видах ЛРС и 5 ЛП, а также анализа литературы по определению суммы флавоноидов в ЛРС выявлены закономерности влияния рН извлечения на положение максимума поглощения комплекса флавоноидов с алюминия хлоридом и выбор стандартного образца.

Предложен алгоритм разработки методик стандартизации ЛРС и препаратов на его основе с учетом многообразия групп БАС.

При проведении системного изучения влияния электрического напряжения низких частот на экстракцию дубильных веществ и флавоноидов были получены результаты, позволившие разработать установку для холодной водной экстракции флавоноидов и дубильных веществ из лекарственного растительного сырья (автором получен патент на полезную модель) под действием постоянного и переменного напряжения.

Предложены оптимальные условия холодной водной экстракции флавоноидов из лекарственного растительного сырья в нативном виде (патент на изобретение), и разработан способ отдельного выделения дубильных веществ и флавоноидов (патент на изобретение), позволяющий выделять сумму дубильных веществ из растительного сырья при незначительной экстракции флавоноидов, а затем экстрагировать сумму флавоноидов, повысив их переход в воду.

Приоритет и новизна исследований подтверждена 5 патентами (4 патента РФ на изобретение и 1 патент на полезную модель).

Сформулированные автором выводы в полной мере обоснованы и отвечают цели и задачам исследования. Результаты исследований базируются на достаточном фактическом материале. Эксперименты выполнены с использованием комплекса современных методов физико-химических, спектральных и статистических. Рекомендации и заключения логично вытекают из результатов работы и в достаточной степени аргументированы.

Результаты диссертационного исследования обобщены и обсуждались на конференциях всероссийского и регионального уровня. По результатам работы опубликовано 55 научных работ, в том числе 24 статьи – в журналах, рекомендованных ВАК.

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

Диссертационная работа А.И. Мараховой вносит существенный вклад в решение такой важной для фармации проблемы как теоретическое и

экспериментальное обоснование подходов к разработке методик стандартизации ЛРС с учетом разнообразия БАС лекарственного растительного сырья, и принципа «сквозной» стандартизации ЛРС и препаратов на его основе. Автором также решена проблема совершенствования методик контроля качества сырья и препаратов с использованием потенциометрического и спектрофотометрического методов анализа и выявлено влияния различных факторов (рН среды, электрическое напряжение, ультразвук) на экстракцию фенольных соединений из ЛРС.

Результаты потенциометрического титрования, полученные автором, обобщены в виде математических моделей: «Определение растворимости оксалата кальция в растворах кислоты хлористоводородной и зависимость рН насыщенных растворов от аналитической концентрации кислоты хлористоводородной»; «Определение состава раствора, содержащего смесь органических кислот по результатам потенциометрического титрования»; «Окислительно-восстановительное титрование одним окислителем нескольких восстановителей в условиях термодинамического равновесия при $T, P = \text{Const}$ », на основании которых созданы компьютерные программы, облегчающие расчеты потенциометрического титрования и прямой потенциометрии в установлении количества ионов кальция.

По результатам диссертационного исследования получены 5 патентов: Патент РФ № 2466387 на изобретение «Способ количественного определения кальция и магния в лекарственном растительном сырье»; патент РФ № 142485 на полезную модель «Установка для холодной водной экстракции флавоноидов и дубильных веществ из лекарственного растительного сырья»; патент РФ № 2522227 на изобретение «Способ отдельного выделения дубильных веществ и флавоноидов из лекарственного растительного сырья»; патент РФ № 2466387 на изобретение «Способ количественного определения кальция в жидких экстрактах из лекарственного растительного сырья»; патент РФ № 2453322 на изобретение «Способ холодной водной экстракции флавоноидов из лекарственного растительного сырья».

Результаты диссертации внедрены в работу предприятия ЗАО «Здоровье» (Акт от 14.02.2014 г.), ООО «Центр контроля качества лекарственных средств «ЦЕНТР ЭКОФАРМ» (Акт от 02.04. 2013 г.), в учебных процессах на кафедрах фармакогнозии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М Сеченова Минздрава России, фармакогнозии с курсом ботаники ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, институте биохимических технологий и нанотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов», факультете непрерывного образования Московского филиала частного учреждения «Образовательная организация высшего образования «Медицинский университет «Реавиз», что подтверждено актами внедрения.

4. Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 313 страницах текста компьютерного набора, построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора

литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, включающего 222 отечественных и 103 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 101 таблицей и 93 рисунками.

Автором во введении раскрыта актуальность темы, определены цель и задачи исследования, сформулированы научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

В первой главе (обзор литературы) рассмотрены современные методы анализа БАС в ЛРС, особое внимание автор уделяет фенольным соединениям (флавоноидам, фенолкарбоновым кислотам, дубильным веществам и др.) и свободным органическим кислотам. Также приведено информационно-аналитическое исследование по способам повышения эффективности экстракции БАС из ЛРС, как традиционных, так и инновационных.

Вторая глава посвящена характеристике объектов исследования методов, использованных при выполнении экспериментальной части работы, а также статистической обработке результатов анализа.

В третьей главе автором изложены результаты исследований по разработке методик потенциометрического анализа дубильных веществ, органических кислот и макроэлементов на примере кальция в «сквозной» стандартизации ЛРС и препаратов на его основе. Показаны преимущества и возможность применения разработанных методик в анализе сырья, содержащего большие и малые количества анализируемых соединений.

В четвертой главе предложен алгоритм разработки фотометрических методик анализа и показана возможность его применения. Указано, что данный алгоритм был применен при разработке методик количественного определения суммы флавоноидов в цветках календулы и настойке календулы, цветках ромашки, траве пустырника, его настое и настойке, траве чабреца, настое, настойке и жидком экстракте чабреца, листьях крапивы, настое, настойке гомеопатической матричной и жидком экстракте.

В пятой главе представлена схема разработки и методология выбора методики анализа и соответствующего параметра стандартизации ЛРС с учетом соединений метаболома растения и принципов «сквозной» стандартизации.

В шестой главе приведены экспериментальные данные по исследованию влияния различных физических и химических факторов на эффективность экстракции БАС из ЛРС (ультразвук, переменное и постоянное электрическое напряжение, рН среды).

В приложение вынесены акты внедрения результатов работы.

Полученные А.И. Мараховой результаты оформлены в виде проектов общей фармакопейной статьи «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье» и фармакопейной статьи «Шиповника плоды» для ГФ РФ XIII изд., принятые ФГБУ «НЦ ЭСМП» к рассмотрению. Данные диссертации используются в практической работе предприятия ЗАО «Здоровье» и в

ООО «Центр контроля качества лекарственных средств «ЦЕНТР ЭКОФАРМ» при проведении серийных анализов ЛРС.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармакогнозии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России; Институте биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Полученные автором результаты можно использовать при разработке новых методик количественного анализа дубильных веществ, антраценпроизводных, флавоноидов и органических кислот в ЛРС и содержащих перечисленные группы БАС препаратах.

Предложенные математические модели и компьютерные программы на их основе могут способствовать прогнозированию результатов эксперимента при подборе оптимальных условий анализа содержания органических кислот, дубильных веществ и кальция в ЛРС.

Основные положения диссертации отражены в 55 печатных работах, из которых 2 монографии, 24 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, включая 22 статьи, написанные по результатам экспериментальных исследований и 2 обзорные статьи по теме диссертации. По результатам исследования получено 5 патентов (4 патента РФ на изобретение и 1 патент на полезную модель).

При положительной оценке диссертации Мараховой А.И. имеется ряд вопросов и замечаний.

Вопросы и замечания:

1. С целью аналитического определения флавоноидов в ЛРС и извлечения выбран спектрофотометрический метод с предварительным получением комплекса с алюминия хлоридом. Почему выбран именно этот реактив?

2. При анализе лекарственных растительных препаратов («Тонзилгон Н», «Стоматофит», «Допельгерц Невротоник», «Миртикам», настойка зверобоя травы, настойка пустырника травы) на содержание дубильных веществ титриметрическим и потенциометрическим методами не удалось определить содержание дубильных веществ в препарате «Миртикам», содержащем более 15% экстракта черники плодов. Черники плоды относятся к сырью, содержащему дубильные вещества и обладают мягким вяжущим действием. При титриметрическом методе сложно (практически невозможно) определить точку эквивалентности в связи с темной окраской раствора. Возникает вопрос почему не удалось определить содержание дубильных веществ потенциометрическим методом, возможно это связано с недостаточным объемом аликвоты, взятой для анализа?

3. Результаты анализа крапивы двудомной листьев на содержание макроэлементов – кальция и магния титриметрическими и потенциометрическими методами представлены в таблице 41 (стр.135). В таблице есть графа – «содержание кальция или магния, %» и приводятся данные. Поясните: к какому элементу относятся эти данные? Как соотносятся данные, по содержанию кальция, приведенные в работе, с данными, описанными в литературе?

4. В методике определения содержания кальция в жидком экстракте крапивы

потенциометрическим методом, цит. «жидкий экстракт подкисляют раствором кислоты хлористоводородной до $pH=5$, для перевода кальция в растворенное состояние». Вопрос – кальций в жидком экстракте в каком виде присутствует? При определении кальция в настое крапивы листьев аналогичным методом, этот этап методики отсутствует.

5. При разработке методики количественного определения флавоноидов в лекарственном растительном сырье, настоях и жидких экстрактах принимались во внимание основные правила спектрофотометрии; цит. «величина оптической плотности должна быть больше 0,2, но меньше 1,5» (стр. 178). На рисунке 52. Калибровочный графике комплекса рутина с алюминия хлоридом, приведенном на стр. 160, видно, что аналитический диапазон от 0,2 до 0,8. На рисунке 71. Схема алгоритма разработки методики спектрофотометрического определения БАС в ЛРС (стр. 218), приведен аналитический диапазон оптической плотности от 0,2 до 1,0. Вопрос- в каком диапазоне оптической плотности проведены исследования по анализу содержания флавоноидов в исследуемых объектах?

6. Чем Вы можете объяснить резкое повышение выхода флавоноидов в экстракт при частотах переменного напряжения 100 Гц, 3160 Гц и 0,03160 Гц?

7. В чем отличие механизмов экстракции БАС при воздействии ультразвука и электрического напряжения? Какой метод Вы считаете наиболее перспективным?

В диссертации присутствуют неудачные стилистические выражения и опечатки (стр. 11-12, 97, 100, 119, 178, 191, 200). Положения, выносимые на защиту продублированы; не вполне понятно в пересчете на какое вещество (рутин, кверцетин) проводился расчет суммы флавоноидов в настое и настойке зверобоя (стр.183-185); в ряде методик анализа дубильных веществ неверно указан рабочий электрод. На диаграмме на стр. 258 не указана подпись по оси ординат.

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

5. 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 Мараховой Анны Игоревны, полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

6. Заключение

Таким образом, диссертационная работа Мараховой Анны Игоревны на тему: «Унификация физико-химических методов анализа лекарственного растительного сырья и комплексных препаратов на растительной основе» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение крупной проблемы

современной фармации по унификации физико-химических методов в стандартизации лекарственного растительного сырья и комплексных препаратов на растительной основе.

Диссертационная работа Мараховой Анны Игоревны соответствует требованиям п. 9 – 14 «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 докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой химии государственного образовательного учреждения высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет» Министерства образования Московской области; Московская область, г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, д. 22. Корпус 3; тел. 8-(496)-425-78-75; e-mail: rektorat@ggtu.ru; доктор фармацевтических наук, профессор, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Ханина Миниса Абдуллаевна

21.12.2016г.

Подпись профессора Ханиной Минисы Абдуллаевны заверяю

Проректор по научной работе

Государственного образовательного
учреждения высшего образования Московской области
«Государственный гуманитарно-технологический университет»,

кандидат филологических наук, доцент



Яковлева Элина Николаевна