

ОТЗЫВ

официального оппонента *профессора кафедры физической химии и хроматографии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»*, доктора химических наук, профессора **Булановой Анджелы Владимировны** по диссертации *Афанасьевой Полины Валериевны* на тему: «Комплексное фармакогностическое исследование календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.)», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02–фармацевтическая химия, фармакогнозия

1. Актуальность выполненного исследования

Лекарственное растительное сырье (ЛРС) является источником важнейших биологически активных веществ (БАВ) и широко применяется в медицине; поэтому разработка методик качественного и количественного определения экстрактов лекарственных растений, в частности, календулы лекарственной, а также их стандартизация являются актуальными проблемами фармакологии. Актуальна проблема стандартизации химического состава лекарственных растений. Некоторые вопросы химической стандартизации растений в научной литературе решены не в полной мере; это касается и календулы лекарственной. В настоящее время в отечественной фармацевтической практике используются цветки календулы. Согласно действующей фармакопейной статье, относящейся к цветкам календулы, определение подлинности их химического состава проводится с помощью качественных реакций и метода ТСХ. При этом в качестве стандартных образцов используются вещества (рутин, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, β -каротин), которые не в полной мере являются диагностическими и специфичными для данного растения, так как распространены во множестве других растительных объектов. Количественные характеристики сырья (содержание флавоноидов в пересчете на рутин) предлагается определять с использованием спектрофотометрического метода. Однако в целях более объективной стандартизации следует учитывать высокое содержание каротиноидов в цветках календулы, их весомый вклад в суммарное терапевтическое действие растения, и соответственно, необходимость стандартизации данной группы веществ.

Кроме того, в анализе не находят применения современные методы стандартизации, такие как газо-жидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, позволяющие объективно и экспрессно определять качественный и количественный состав многокомпонентных систем, к которым относится лекарственное растительное сырье. Следует отметить, что методики, представленные в зарубежных фармакопеях, не в полной мере дают представление о содержании отдельных

групп БАС, а также используются стандартные вещества, не являющиеся специфичными для календулы лекарственной.

Таким образом, диссертационная работа Афанасьевой П.В. направлена на решение актуальных задач современной фармакогнозии, связанных с разработкой и модификацией подходов к стандартизации химического состава ЛРС с использованием современных методов анализа.

2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

В ходе проведенных фармакогностических исследований диссертантом выделено из цветков календулы лекарственной 5 индивидуальных соединений. Впервые из цветков календулы в индивидуальной форме был выделен 3-О-[(1→4)-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-β-D-глюкуронопиранозил] - β-D-глюкопиранозид олеаноловой кислоты (календулозид К), из лекарственного сорта «Кальта», культивируемого в Самарской области, - 3-О-β-D-глюкопиранозид изорамнетина, 3-О-α-L-рамнопиранозид изорамнетина и 3-О-и-кумароилхинная кислота. Кроме того, из цветков календулы был выделен диагностический и доминирующий флавоноид нарциссин.

Разработана методика количественного определения, доминирующего и диагностически значимого флавоноида нарциссина в цветках календулы лекарственной методом ВЭЖХ. Внесены уточнения в методики количественного определения суммы флавоноидов и каротиноидов в цветках ноготков лекарственных, заключающиеся в введении удельных показателей поглощения $E^{1\%}_{1\text{см}}$ для рутина и β-каротина, что упрощает проведение анализа. Показана возможность использования газожидкостной хроматографии для определения подлинности различных органов календулы лекарственной и лекарственных препаратов на основе данного сырья путем построения диаграмм-образов, основанных на индексах удерживания летучих компонентов. В рамках диссертационной работы Афанасьевой П.В. проведено морфолого-анатомическое исследование плодов и корневой системы календулы лекарственной как перспективного вида ЛРС. Предложен состав и способ получения лекарственного препарата «Календулы цветков сироп», а также методики контроля качества разработанных лекарственных препаратов по содержанию флавоноидов с использованием тонкослойной хроматографии и дифференциальной спектрофотометрии.

По результатам исследований Афанасьевой П.В. дополнен и подготовлен проект фармакопейной статьи (ФС) «Календулы цветки».

При выполнении диссертационной работы использовались хроматографические методы (тонкослойная, колоночная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, газожидкостная хроматография), спектральные методы: УФ-спектроскопия (спектрофотометры Specord 40, СФ-2000), ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектроскопия («Bruker AM 300» (300 МГц)), масс-спектрометрия (масс-спектрометр «Kratos MS-30»), химические и технологические методы, а также методы определения фармакологической и противомикробной активности.

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

Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIII издания.

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

Результаты проведенных исследований позволяют осуществлять стандартизацию нового вида ЛРС и препаратов на его основе с использованием современных методов анализа. Кроме того, разработанные методики позволяют с высокой точностью определять целевой вид сырья и степень его качества.

Разработанные методики качественного и количественного анализа цветков календулы лекарственной были включены в проект фармакопейной статьи «Календулы лекарственной цветки» для дополнения к Государственной Фармакопее Российской Федерации XIII издания. Обоснованы состав и способ получения сиропа на основе цветков календулы лекарственной, определены показатели качества и методы их оценки, отвечающие требованиям к анализу современных лекарственных препаратов.

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

Полученные результаты диссертационного исследования представляют интерес для совершенствования учебного процесса по курсам «Фармацевтическая химия», «Фармакогнозия» в рамках изучения и стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих фенилпропаноиды, флавоноиды и каротиноиды. Кроме того, результаты проведенных исследований могут использоваться в дальнейшем фармакогностическом изучении календулы лекарственной.

5. Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, итогов выполненного исследования, рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы и списка литературы, представленного 139 отечественными и

64 зарубежными источниками, а также приложений. Работа проиллюстрирована 40 рисунками и 25 таблицами.

Во введении приведено обоснование актуальности темы, поставлена цель и определены задачи исследования, описана новизна, теоретическая и практическая значимость проведенных исследований, перечислены положения, выносимые на защиту.

В главе 1 дан обзор имеющихся в литературе данных отечественных и зарубежных исследователей по изучаемому вопросу. В главе приводятся данные по химическому составу различных частей календулы лекарственной, по использованию сырья ноготков в официальной и народной медицине. Изложены аспекты стандартизации сырья календулы лекарственной, используемые в Российской Федерации и в других странах.

Глава 2 включает в себя описание объектов исследования (сырье, препараты) и методов исследования (микроскопические, химические, физико-химические и др.).

Глава 3 описывает микроскопические особенности плодов и корневой системы календулы лекарственной в цельном виде.

Глава 4 посвящена результатам фитохимического исследования надземной и подземной частей календулы лекарственной. В главе описывается процесс выделения, очистки и определения структуры индивидуальных биологически активных веществ. Приведены формулы и физико-химические характеристики соединений, выделенных в индивидуальной форме.

В главе 5 изложены результаты разработки методик качественного анализа сырья ноготков лекарственных, методик определения количественного содержания БАС в сырье календулы лекарственной, а также выявление динамики накопления БАС в листьях и стеблях календулы лекарственной.

Глава 6 включает в себя результаты исследований по разработке состава и методов стандартизации сиропа цветков календулы лекарственной, а также анализ оценки определенного фармакологического действия произведенных фитопрепаратов календулы.

В приложения вынесены микрофотоснимки плодов календулы лекарственной, акты внедрения, патент РФ на изобретение «Способ количественного определения нарциссина в цветках календулы лекарственной», патент РФ на изобретение «Способ определения соответствия хроматографических пиков одному и тому же компоненту и устройство для его осуществления», проект фармакопейной статьи «Календулы лекарственной цветки».

По теме диссертации опубликовано 30 работ, из них - 11 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, оформлено 2 патента РФ на изобретение.

Данные диссертации используются в практической работе ЗАО «Самаралектравы», ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», а также в учебном процессе на кафедрах фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, фармацевтической технологии,

управления и экономики фармации, химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России.

Полученные автором результаты можно использовать в работе профильных кафедр высших учебных заведений, в работе фармацевтических предприятий, деятельность которых предусматривает анализ качества различных вида ЛРС или создание лекарственных препаратов на растительной основе.

При общей положительной оценке диссертационной работы Афанасьевой П.В. возникли следующие вопросы и замечания:

1. Разделение водных и водно-спиртовых экстрактов на фракции проводили методами ТСХ и колоночной хроматографии. Было бы целесообразно подробнее описать пробоподготовку и привести хроматограммы, полученные методом колоночной хроматографии.

2. Было бы интересно полученные методом колоночной хроматографии фракции проанализировать на жидкостном хроматографе и сравнить с удерживанием стандартов.

3. В параграфе 4.5 диссертации автор пишет, что «В результате ВЭЖХ- исследований было установлено, что нарциссин (время удерживания 37 мин) в большей степени отделен от остального компонентного состава цветков, что позволяет данный метод рекомендовать и с целью идентификации цветков календулы, и с целью проведения стандартизации фитопрепаратов календулы», однако в разделе «методы исследований» не приведен ВЭЖХ- метод, не указана марка прибора, неподвижная фаза, элюент, не описаны условия хроматографирования. Это, на мой взгляд, необходимо было сделать, поскольку автор предлагает нарциссин в качестве стандартного соединения.

4. На стр. 91 приведены ВЭЖХ-хроматограммы водно-спиртового извлечения из цветков календулы лекарственной и стандартного спиртового раствора нарциссина. К сожалению, не приведены названия компонентов, которым соответствуют пронумерованные пики. Полагаю, что на рис. 17 пик №1 по времени удерживания соответствует нарциссину. Какому компоненту соответствует пик №2, который тоже отделен от других пиков, и мог бы тоже служить в качестве стандарта, или нет?

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 Афанасьевой Полины Валериевны, полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

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

Таким образом, диссертационная работа *Афанасьевой Полины Валериевны* на тему: «Комплексное фармакогностическое исследование календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.)», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершённой научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармацевтической химии и фармакогнозии по изучению и разработке подходов к стандартизации новых видов лекарственного растительного сырья, выделению биологически активных веществ, сравнительному анализу целевого и примесного сырья.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа *Афанасьевой Полины Валериевны* 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 заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

*Профессор кафедры физической химии и хроматографии
федерального государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Самарский национальный исследовательский
университет имени академика С.П. Королева»*

*443011, г. Самара, ул. Академика Павлова, 1,
(846) 334-54-47,*

e-mail: bulanova@ssau.ru

*доктор химических наук,
профессор,*

02.00.20 – хроматография *А. Буланц* **Буланова Анджела Владимировна**

Подпись Булановой А.В. заверяю
Ученый секретарь

Кузьмичев В.С.

