

ОТЗЫВ

официального оппонента заведующей кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия», доктора фармацевтических наук, профессора **Белоноговой Валентины Дмитриевны** 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

Одним из наиболее приоритетных направлений фармакогнозии является вопрос рационального и комплексного использования лекарственных растений. Несмотря на то, что календула лекарственная широко культивируется на территории Российской Федерации, ресурсы данного растения используются не в полной мере. В качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) в России используются только цветки ноготков. Плоды, трава и корни календулы, представляющие до 90% фитомассы растения, в отечественной медицинской практике не находят применения и просто утилизируются. В зарубежной практике применяется лишь трава ноготков. Ряд отечественных и иностранных ученых отмечает в своих работах перспективность использования корней календулы, в связи с содержащимися в них тритерпеновыми сапонинами. В научной литературе отмечена возможность использования шрота, как отхода производства лекарственных средств из ноготков (Бурцева И.В. и др., 2004), однако до сих пор задача сбережения ресурсов календулы не решена в полном объеме.

В Фармакопеях различных стран описаны подходы к стандартизации сырья календулы лекарственной, но представленные методики не всегда направлены на определение специфических биологически активных соединений сырья. Такие биологически активные соединения, как рутин, хлорогеновая и кофейная кислоты содержатся во многих растениях, поэтому они не подходят для более точного анализа цветков календулы лекарственной.

Согласно литературным данным, доминирующим и диагностически значимым флавоноидом календулы цветков является нарциссин (3-О-рутинозид изорафметина). Также к важнейшей группе веществ сырья в следует отнести каротиноиды, учитывая их высокое содержание, и весомый вклад в суммарное терапевтическое действие.

Таким образом, диссертационная работа Афанасьевой П.В. направлена на решение актуальных задач современной фармакогнозии, связанных с использованием ресурсосберегающих технологий, в рамках комплексного

безотходного использования растительного сырья, обоснованием целесообразности создания отечественных лекарственных препаратов на основе ЛРС, а также с решением вопросов стандартизации ЛРС и препаратов на его основе с учетом современных требований.

2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Для решения поставленных задач диссертантом изучен химический состав различных органов календулы лекарственной, таких как плоды, цветки, листья, стебли и корни. Впервые было проведено детальное морфолого-анатомическое исследование плодов и корней ноготков, позволившее выявить диагностические признаки, характерные для данных органов. Для листьев и стеблей установлено оптимальное время заготовки сырья с учетом максимального накопления флавоноидов.

При выполнении диссертационной работы диссертантом использованы разнообразные методы анализа: химические, технологические, определения фармакологической активности, хроматографические (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»).

Из цветков календулы автором получено 5 индивидуальных соединений: впервые из цветков календулы в индивидуальной форме был выделен 3-О-[(1→4)-β-D-глюкопиранозид-(1→6)-β-D-глюкуронопиранозид] - 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-п-кумароилхинная кислота. Кроме того, из цветков календулы был выделен диагностический и доминирующий флавоноид нарциссин.

В целях оптимизации проведения фармацевтического анализа, автор предложил, содержание суммы флавоноидов и каротиноидов в цветках календулы лекарственной, определять с учетом удельных показателей поглощения $E_{1\%}^{1\text{см}}$ для рутина и β-каротина.

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

Разработана методика количественного определения, доминирующего и диагностически значимого флавоноида нарциссина в цветках календулы лекарственной, с использованием современного метода ВЭЖХ - анализа.

Экспериментально определены газохроматографические характеристики летучих компонентов равновесной паровой фазы цветков, листьев, стеблей,

корней и фитопрепаратов календулы лекарственной, а также выявлена совокупность маркеров или «отпечатки пальцев» растения, которые позволяют экспрессно и эффективно провести оценку подлинности ЛРС.

Обоснован состав и способ получения лекарственного препарата «Календулы цветков сироп», разработаны методики оценки качества данного препарата по содержанию флавоноидов, с использованием тонкослойной хроматографии и дифференциальной спектрофотометрии.

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

Достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций подтверждается адекватностью выбора методов исследования, большим массивом проработанного экспериментального материала, статистической обработкой аналитических данных, корректной трактовкой результатов исследований.

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

Полученные диссертантом результаты комплексного фармакогностического исследования имеют несомненное научно-практическое значение в области фармакогнозии и фармацевтической химии.

Результаты проведенных исследований позволяют усовершенствовать стандартизацию ЛРС и препаратов на его основе с использованием современных методов анализа.

Разработанные методики качественного и количественного анализа цветков календулы лекарственной 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 современным требованиям анализа 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 кафедр: фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии; химии фармацевтического факультета; фармацевтической технологии; управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (акты внедрения приложены к диссертации).

Теоретические положения, сформулированные в диссертационном исследовании, целесообразно использовать в учебном процессе по курсам «Фармацевтическая химия», «Фармакогнозия», при изучении разделов

стандартизация ЛРС и фитопрепаратов, содержащих фенилпропаноиды, флавоноиды и каротиноиды.

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 обоснована актуальность темы, поставлены цель и задачи, отмечена новизна, теоретическая и практическая значимость проведенных исследований, перечислены положения, выносимые на защиту.

Глава 1 посвящена обзору литературных данных по изучаемому вопросу. В главе систематизированы данные по химическому составу различных частей календулы лекарственной, по фармакологическим эффектам растения.

В главе 2 описаны объекты исследования (сырье, препараты) и методы исследования (микроскопические, химические, физико-химические и др.).

Глава 3 посвящена описанию морфолого-анатомических особенностей плодов и подземной части календулы лекарственной.

В главе 4 отображены результаты фитохимического исследования различных органов календулы лекарственной. Кроме того, описывается процесс выделения, очистки и определения структуры индивидуальных биологически активных веществ календулы лекарственной цветков.

Глава 5 посвящена вопросам разработки методик качественного анализа сырья календулы лекарственной, методик определения количественного содержания БАС в сырье, а также выявлению динамики накопления БАС в листьях и стеблях календулы лекарственной и определению оптимального времени сбора сырья.

В главе 6 приведены результаты исследований по разработке состава сиропа календулы лекарственной цветков, модифицированные методики анализа сырья адаптированы для данного лекарственного препарата. Приведены результаты определения специфической фармакологической активности препаратов.

В приложении приведены 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.

Результаты диссертационных исследований 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 могут использоваться в работе профильных кафедр высших учебных заведений, а также в работе фармацевтических предприятий.

При общей положительной оценке диссертационной работы Афанасьевой П.В. необходимо отметить некоторые замечания и задать возникшие вопросы:

1. При формулировке задач исследования необходимо было конкретизировать лекарственное растительное сырье, а не просто указывать «календула лекарственная» в частности фармакологического действия фитопрепаратов, сиропов и т.д.

2. На стр.41, в таблице 2 «лекарственные средства, содержащие календулу лекарственную», правильнее было указать, что конкретно входит в состав комплексного препарата, экстракт, сухой, жидкий, настойка и т.д.

3. Имеются опечатки и неудачные выражения на стр. 40, 41, 45, 61,63,67,68,94,134,159.однако они не снижают ценности работы и общей положительной оценки результатов диссертационного исследования.

4. В списке литературы под номером 76 и 77 указан один и тот же источник.

5. Проводилась ли валидация методик анализа календулы цветков и сиропа?

6. Многие авторы до Вас занимались вопросами стандартизации сырья календулы(Шарова О.В.,Кащенко Н.Г.), в чем заключается новизна и отличительная значимость Ваших исследований?

Данные замечания и вопросы носят только уточняющий характер и не снижают ценности выполненного диссертационного исследования.

6. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует, и отражает основные положения и выводы диссертации и, так же, 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 самостоятельной завершенной научно-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

Заведующая кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники
федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования

«Пермская государственная фармацевтическая академия»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2,

8-(342) 238-43-38,

e-mail: belonogova@pfa.ru

доктор фармацевтических наук,

профессор,

15.00.02 – фармацевтическая химия

и фармакогнозия



Белоногова Валентина Дмитриевна

Подпись Белоноговой В.Д. заверяю
Проректор по менеджменту качества
и организационным вопросам:

Коробейников Николай Павлович

27 апреля 2017г.

