

Отзыв

официального оппонента заведующего кафедрой химии
Государственного образовательного учреждения высшего образования
Московской области «Государственный гуманитарно-технологический
университет» Министерства образования Московской области, доктора
фармацевтических наук, профессора Ханиной Минисы Абдуллаевны

по диссертации Бомбела Татьяны Владимировны на тему:

**«Методологические основы фармакогностического изучения,
стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на
примере рода *Euphrasia*»**, представленной на соискание учёной степени
доктора фармацевтических наук по специальности
14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования

В настоящее время в России наблюдается повышенный интерес к использованию в медицинской практике, в быту лекарственных растений и фитопрепаратов на их основе. Наметившаяся тенденция будет все время расширяться, по мере улучшения благосостояния населения и повышения покупательского спроса. Сдерживающим фактором при изучении и введении в медицинскую практику лекарственных растений является – полиморфизм (морфологическое сходство, экологическая пластичность диагностических признаков, совместное произрастание). Сложность и многообразие процессов, приводящих к возникновению полиморфизма, а также его широкое распространение среди лекарственных растений требует разработки научно-методологических подходов к фармакогностическому изучению и стандартизации полиморфных видов.

Изучение в качестве примера представителей рода *Euphrasia* – Очанка сем. *Scrophulariaceae* – Норичниковые целесообразно по ряду причин. Во-первых, данный род, является наиболее сложным в систематическом отношении, это связано с большим количеством видов, полиморфизмом большинства из них, широким развитием процессов гибридизации, приводящих к возникновению многочисленных промежуточных форм. Во-вторых, в настоящее время отмечается повышенный интерес к практическому использованию данного рода. В России реализуется большое количество препаратов на основе травы Очанки зарегистрированных в качестве БАД, а так же как косметические и гомеопатические средства. Государственный Регистр лекарственных средств России включает более 20 наименований биологически активных добавок к пище отечественного и импортного производства.

В-третьих, учитывая необходимость изучения полиморфных видов на популяционном уровне с привлечением сравнительного материала из различных точек ареала вида. Особое значение приобретают данные по распространению рода. Флора Пермского края представлена 11 видами, которые встречаются во всех ботанико-географических районах края, что позволяет провести изучение растительного материала на нужном уровне.

Вышесказанное подчеркивает актуальность комплексного научного исследования, направленного на решение проблем таксономии, видоидентификации и стандартизации лекарственных растений,

характеризующихся полиморфизмом, на примере рода *Euphrasia* семейства *Scrophulariaceae*.

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Диссертантом разработан научно-методологический подход к фармакогностическому изучению лекарственных растений, характеризующихся полиморфным строением и научно обоснована возможность их использования в медицинской практике. Исследования, проведенные на примере рода *Euphrasia*, позволяют расширить ассортимент производящих растений ЛРС «*Herba Euphrasia*», за счет внедрения морфологически близких, долговегетирующих видов данного рода, произрастающих совместно.

Впервые изучены фармакологические свойства перспективных видов рода Очанка. Установлено, что исследованные виды обладают низкой токсичностью и одинаковым уровнем фармакологической активности, что показывает целесообразность медицинского применения различных видов.

Автором проведен макро- и микроскопический анализ растений рода Очанка. Установлен комплекс диагностических признаков морфолого-анатомического строения, позволяющий быстро и надежно устанавливать видовую принадлежность сырья. Представлены микрофотографии характеризующие анатомо-диагностические признаки полиморфных видов.

В сравнительном аспекте изучен компонентный состав и количественное содержание продуктов первичного обмена и элементного состава очанки лекарственной, о. татарской, о. прямой, о. Рейтера, о. Мурбека, о. коротковолосистой и о. мелкоцветной.

Выявлены особенности внутри- и межвидовой изменчивости компонентного состава и количественного содержания продуктов вторичного метаболизма в растениях рода Очанка. Обоснована необходимость выделения и использования константных, аналитически значимых компонентов и разработку на их основе методов стандартизации, для включения в нормативную документацию.

Разработаны методики качественного обнаружения флавоноидов, гидроксикоричных кислот в лекарственном растительном сырье очанки, отвечающие параметрам валидации. Впервые разработана методика спектрофотометрического определения гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, отвечающая параметрам валидации по показателям: диапазон использования, линейность, повторяемость, правильность, воспроизводимость. Обоснована возможность её использования для стандартизации перспективных видов рода *Euphrasia*.

Впервые предложено для морфологически близких, полиморфных видов, произрастающих совместно, при разработке числовых показателей учитывать результаты товароведческого анализа модельной смеси, составленной и проанализированной с использованием метода математического планирования.

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

Достоверность, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе, обусловлена грамотным планированием и последовательным решением поставленных задач с использованием современных методов исследования, большим объемом

экспериментальных данных, применением общепризнанных моделей фармакологических исследований, а так же статистической обработкой полученных результатов эксперимента, осуществленной в соответствии требованиями ГФ XIII издания

Следует отметить высокий профессионализм и трудолюбие, проявленное диссертантом при выполнении работы, так как для решения поставленных задач автором осуществлен большой объем работы, включающий блок ресурсоведческих, фармакологических, анатомо-морфологических, химических, аналитических и технологических исследований.

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

Результаты исследований Бомбела Т.В. имеют важное практическое значение, так как позволяют решить крупную проблему современной фармации по изучению и стандартизации лекарственного растительного сырья, характеризующегося полиморфизмом. Разработанный методологический подход может быть рекомендован для изучения полиморфных видов среди представителей различных семейств покрытосеменных растений, а также других таксонов органического мира.

Возможно внедрение результатов на фармацевтические предприятия, в частности, технологические параметры получения фитопрепаратов могут быть использованы при производстве лекарственных препаратов на основе травы очанки антикоагулянтного, антимикробного, противовоспалительного и гипотензивного действия.

Полученные результаты, методики качественного и количественного анализа сырья флавоноидов и гидроксикоричных кислот, могут быть использованы в практической фармации для включения в НД при стандартизации фитопрепаратов и лекарственного сырья.

Результаты ресурсоведческих исследований травы очанки могут использоваться при организации мероприятий по заготовке сырья на территории Пермского края.

Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедры фармакогнозии с курсом ботаники Пермской государственной фармацевтической академии, кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета, кафедры фармакогнозии и ботаники Новосибирского государственного медицинского университета, кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской государственной медицинской академии.

Результаты исследования использованы для написания монографии В.М. Петриченко, Т.В. Сухина «Очанки Западного Урала (фармакогностические и биологические аспекты)» и учебного пособия Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова «Микродиагностические признаки перспективных видов рода Очанка», утвержденные Ученым советом ПГФА и рекомендованные студентам, интернам,

аспирантам для учебного процесса, а так же биологам и провизорам для практической деятельности.

По результатам исследований разработаны фармакопейная статья «*Euphrasiae Herba*», «Инструкция по сбору и сушке травы очанки», проекты нормативных документов «Очанки настойка», «Очанки экстракт жидкий», «Очанки экстракт сухой. Субстанция». Проект ФС, обоснование спецификаций, таблицы аналитических данных, материалы сравнительного изучения с зарубежными аналогами, инструкция по применению направлены в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Проекты НД, обоснование спецификаций согласованы и апробированы на ООО «НПК «Апифитогруп».

Таки образом, результаты проведенных Т.В. Бомбела исследований имеют важное научно-практическое значение и могут быть использованы в научных исследованиях, учебном процессе, а так же на фармацевтических предприятиях.

Оценка содержания диссертации

Диссертация изложена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, объектов и методов, шести глав экспериментальных исследований, общих выводов, заключения, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 324 источника, из них 56 зарубежных. Работа иллюстрирована 93 таблицами и 69 рисунками.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, определены цели и задачи исследования, показана научная и практическая значимость работы, приведены методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту; приведены сведения о публикациях и апробации работы.

Далее представлен и обоснован сформулированный автором новый методологический подход к фармакогностическому изучению полиморфных видов лекарственных растений на примере рода очанка, включающий шесть научно-исследовательских компонентов.

В обзоре литературы (первая глава) отражено современное состояние данных по ботанико-фармакогностическому и химико-фармакологическому изучению и применению растений рода *Euphrasia*; обоснована перспективность данного рода, для внедрения в медицинскую практику.

Во второй главе приведены объекты и описаны методики ресурсоведческих, фармакологических и морфолого-анатомических исследований, а так же качественного и количественного анализа биологически активных веществ.

В третьей главе изложены результаты по распространению и экспедиционному обследованию запасов сырья очанки на территории Пермского края.

В четвертой главе отражены данные по исследованию эффективности и безопасности изученных видов рода *Euphrasia*.

В пятой главе описаны морфолого-анатомические исследования полиморфных видов рода *Euphrasia*, в также их результаты. В сравнительном аспекте изучено строение – зубчаткой обыкновенной и очанки весенней, как возможной примеси.

Шестая глава включает результаты по изучению химического состава углеводов, аминокислот, липофильных вещества, а так же элементного состава, флавоноидов, придоидов и фенолкарбоновых кислот и определение глубины его изменчивости.

В восьмой приведены данные по разработке технологии получения фитопрепаратов и их стандартизации на примере экспериментально изготовленных лабораторных серий.

В приложение вынесены информационные данные по сравнительному анализу морфолого-анатомических признаков видов рода *Euphrasia*; таблицы аналитических данных по стандартизации ЛРС; проекты нормативной документации, акты внедрения, патенты.

По теме диссертации опубликовано 65 работ, 20 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, оформлено 4 патента РФ на изобретение.

Проекты фармакопейной статьи «Очанки трава», а так же «Инструкция по сбору и сушке очанки травы» направлены в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России для проведения экспертизы и включения в ГФ XIII издания;

Результаты экспериментальных исследований Бомбела Т.В. внедрены и используются в практической работе ООО «НПК «Апифитогруп», учебном процессе различных вузов России.

Теоретические положения, сформулированные в диссертационном исследовании, целесообразно использовать научным учреждениям и организациям, занимающимся исследованием лекарственного растительного сырья и разработкой лекарственных препаратов на их основе.

Полученные автором практические результаты по технологии фитопрепаратов можно использовать при составлении регистрационного досье в разделе данные по доклиническому и клиническому исследованию с целью последующей регистрации препаратов и их внедрения в медицинскую практику.

Диссертационная работа Т.В. Бомбела выполнена на современном методическом уровне и характеризуется высокой теоретической и практической значимостью. Необходимо отметить логичность и последовательность проведенных исследований, а так же грамотный научный стиль изложения материала и описания полученных результатов эксперимента.

Являясь ценным научным трудом, работа Бомбела Т.В. однако не лишена недостатков. Считаю необходимым указать на некоторые из них.

Замечания:

1. Опечатки, орфографические ошибки, неудачные выражения, ошибки в пунктуации и др. (стр. 81, 85, 152, 196, 258, 265, 271, 300, 303).

2. При определении острой токсичности наблюдение за животными после введения препарата осуществляют в течение 2 недель.

3. Цвет продуктов взаимодействия флавоноидов и $AlCl_3$ раствора спиртового 1% может быть не только желтого цвета (гликозиды), но и коричневого (агликоны).

4. Методика определения количественного содержания гидроксикоричных кислот в сырье очанок приведена в главе 7. В главе 6 приводятся данные по количественному содержанию основных групп биологически активных веществ (флавоноидов, иридоидов и гидроксикоричных кислот). Данное обстоятельство вызывает ряд вопросов и неудобство в работе с диссертацией.

5. Озоление проводят при температуре $500^{\circ}C$.

6. Размерность в таблицах 26 и 27 – мкг/мл, в тексте (стр.196) – мкг/мг.

Вопросы:

1. В методах изучения состава липофильных веществ указано, что анализ проводился на газовом хроматографе Hewlett-Packard 5890/II (стр.80). О какой группе биологически активных веществ идет речь? В дальнейшем в работе нет информации по данной группе соединений.

2. При исследовании антимикробной активности было установлено, что суммарные извлечения из сырья очанок, полученные с использованием 70% спирта этилового в качестве экстрагента проявляют активность в отличие от суммарных извлечений, полученных с использованием 40% спирта этилового (стр. 119). В таблице 8, приведены данные по содержанию основных групп биологически активных веществ в спиртовых извлечениях из перспективных видов рода Очанка, полученных для исследования фармакологической активности. Спиртовые извлечения, полученные с использованием 70% и 40% спирта этилового, содержат одинаковые группы биологически активных веществ. Поясните с чем связано отсутствие антимикробной активности у спиртовых извлечений, полученных на 40% спирте этиловом.

3. Какой метод использовался для определения содержания жирного масла в семенах растений рода Очанка (стр. 202)?

4. При определении элементного состава в сырьевой части растений рода Очанка, было установлено, что он представлен 24 элементами в основном микро- и ультрамикрорезультатами (стр. 206). Известно, что основную массу золы составляют макроэлементы, такие как Na, K, Ca и т.д. Поясните с чем связано отсутствие макроэлементов в исследуемых объектах.

5. Окисляемые вещества растений включают флавоноиды, кумарины, гидроксикоричные и фенолкарбоновые кислоты, и полифенольные соединения. Перечисленные вещества обнаружены автором в исследуемых образцах. На рисунке 56 приведены данные по накоплению биологически активных веществ в траве перспективных видов рода Очанка. Если суммировать данные по содержанию флавоноидов и гидроксикоричных кислот, то полученная сумма будет превышать содержание окисляемых веществ, что противоречит логике. Поясните данный факт.

6. На стр. 272 приведен рисунок 62 График зависимости величины оптической плотности от суммы гидроксикоричных кислот в траве *E. brevipila*. Название рисунка не корректно, так как (стр. 266) в таблице 53 приводятся данные по содержанию гидроксикоричных кислот в траве очанки коротковолосистой – 8,76%.

7. Какие методики использовались для определения содержания суммы хлорофиллов, каротиноидов, феофитинов?

8. Автором разработаны не только состав, технология косметических средств на основе гидрофильных и липофильных комплексов биологически активных веществ перспективных видов рода Очанка, но и методики определения основных групп биологически активных веществ в них. Как проводилась пробоподготовка для исключения влияния основ, добавок на показатели содержания биологически активных веществ?

Выявленные замечания не снижают ценность и высокой общей оценки диссертационной работы, а некоторые являются дискуссионными и найдут объяснение в ходе защиты.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферат полностью соответствует и отражает основные положения и выводы диссертации, так же, как и диссертационная работа Бомбела Т.В. соответствует паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

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

Диссертационная работа Бомбела Татьяны Владимировны на тему: «Методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*», представленная на соискание учёной степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является самостоятельной научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной проблемы современной фармакогнозии и фармацевтической химии - изучение и стандартизации лекарственного растительного сырья, имеющего полиморфное строение, разработка на их основе новых растительных средств, а так же расширение сырьевой базы за счет морфологически близких, произрастающих совместно видов и внедрению их в научную медицину.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Бомбела Татьяны Владимировны соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (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

142611, Московская область, г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, 22

e-mail: khanina06@mail.ru

доктор фармацевтических наук, профессор,

15.00.02 - фармацевтическая химия,

фармакогнозия

Ханина Миниса Абдуллаевна

«12» октября 2017г.

Проректор по научной работе

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

кандидат филологических наук, доцент

Яковлева Элина Николаевна

