

## ОТЗЫВ

официального оппонента профессора кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, профессора **Пупыкиной Киры Александровны** по диссертационной работе 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

**1. Актуальность выполненного исследования.** В настоящее время практическое здравоохранение остро нуждается в эффективных, безопасных и доступных широким слоям населения лекарственных средствах. Одним из важнейших путей решения проблемы лекарственного обеспечения населения является разработка лекарственных препаратов на основе растительного сырья отечественной флоры. Критериями перспективности растительных объектов для изучения и внедрения в медицинскую практику являются опыт народной медицины, официальность объекта в зарубежных странах и повышенный интерес к практическому использованию в России.

Учитывая вышесказанное, перспективным объектом являются растения рода *Euphrasia* (Очанка) сем. *Scrophulariaceae* (Норичниковые), являющиеся источником высокоактивных природных соединений и издавна используемые в народной медицине для лечения заболеваний глаз, верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта. Трава очанки давно и эффективно применяется в научной медицине стран Западной Европы и является фармакопейным лекарственным средством в Англии, Польше и Германии. Государственным Регистром лекарственных средств России разрешены к использованию более 20 наименований биологически активных добавок к пище отечественного и импортного производства. Несмотря на повышенный интерес к растениям рода Очанки, до настоящего времени ни один вид не имеет официального статуса в России. Причины обусловлены большим количеством видов (72 вида), входящих в род Очанка, полиморфизмом большинства из них, широким развитием процессов гибридизации, приводящих к возникновению многочисленных промежуточных форм.

Известно, что при изучении лекарственных растений полиморфизм создает целый ряд проблем. Особые затруднения связаны при идентификации сырья. Для растений, вводимых из народной медицины, эта

проблема стоит значительно острее. Во многих традиционных прописях указываются только родовое название, однако, количество видов произрастающих на данной территории может быть значительно больше. Например, во флоре Пермского края род Очанка представлен 11 видами, которые распространены во всех ботанико-географических районах края. Сложность и многообразие процессов, приводящих к возникновению полиморфизма, а также его широкое распространение среди лекарственных растений требует разработки научно-методологических подходов фармакогностического изучения полиморфных видов, при этом использование рода *Euphrasia* в качестве примера является полностью обоснованным.

Все вышесказанное определяет необходимость и актуальность настоящего исследования.

**2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность.** Сравнительное исследование представителей рода Очанка, произрастающих на территории Пермского края, позволило сформулировать научно-методологические принципы фармакогностического исследования лекарственных растений, характеризующихся полиморфным строением, и обосновать возможность их использования в медицинской практике.

На основании ботанического анализа флоры России, сопредельных государств, региональной выделены перспективные виды растений рода Очанка для углубленных исследований.

Изучен ресурсный потенциал растений рода Очанка на территории Пермского края. Составлена карта-схема распространения данного рода на территории края, для проведения рациональных мероприятий по заготовке сырья.

Проведен фармакологический скрининг перспективных видов рода Очанка, установлено противовоспалительное, гипотензивное, антикоагулянтное, антирадикальное и антимикробное действие, сочетающееся с низкой токсичностью.

С использованием методов цифровой макро - и микроскопии вегетативных органов рода Очанка, выявлены признаки, характеризующие исследуемый род, позволяющие проводить дифференциальную диагностику морфологически близких видов. Получены объективные иллюстрации анатомо-диагностических признаков в виде оригинальных микрофотографий.

Впервые изучен компонентный состав и количественное содержание продуктов первичного обмена в растениях рода Очанка. Показано, что все исследуемые виды могут быть использованы в качестве источников углеводов, аминокислот, жирных кислот и ряда элементов.

Впервые методом ВЭЖХ проведено сравнительное фитохимическое исследование продуктов вторичного метаболизма перспективных видов очанки. Выявлены особенности внутри- и межвидовой изменчивости компонентного состава и количественного содержания основных групп БАВ. Показана необходимость выделения и использования константных, аналитически значимых компонентов при разработке нормативной документации.

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 у перспективных видов рода *Euphrasia*.

Впервые предложено для морфологически близких видов, произрастающих совместно, при разработке числовых показателей учитывать результаты товароведческого анализа модельной смеси.

**3. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Степень обоснованности и достоверности научных результатов, выводов и заключений соискателя подтверждаются использованием современных методов планирования эксперимента, математического моделирования, анатомо-морфологического, физико-химического, фармакологического, фармакогностического анализа, а также апробацией и подтвержденным внедрением результатов в практику.

Следует отметить большой массив проработанного экспериментального материала и тщательно выполненную статистическую оценку аналитических данных в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIII издания, корректную трактовку результатов исследования.

**4. Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования.** Теоретические положения, сформулированные в диссертационном исследовании, целесообразно использовать организациям и подразделениям, занимающимся научными исследованиями (академическая, отраслевая и вузовская наука) по проблеме лекарственного обеспечения населения эффективными, безопасными и доступными лекарственными препаратами на основе растительного сырья.

Доказана целесообразность использования морфологически близких, полиморфных видов, произрастающих совместно (о. коротковолосистая, о. Рейтера, о. мелкоцветная о. лекарственная, о. татарская, о. Мурбека, о. прямая) в качестве производящих растений. Перспективные виды включены в нормативный документ ФС «Очанки трава». Проект ФС, обоснование спецификаций, таблицы аналитических данных, материалы сравнительного изучения с зарубежными аналогами, инструкция по применению направлены в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

Материалы диссертационного исследования по теме «Морфолого-анатомическое строение растений рода Очанка, произрастающих в Пермском крае» использованы при разработке иллюстрированного методического пособия, которое рекомендовано студентам, интернам, аспирантам для учебного процесса, а так же биологам и провизорам для практической деятельности.

Научно обоснована целесообразность использования растений рода Очанка для получения препаратов, оказывающих антикоагулянтное, антимикробное, противовоспалительное и гипотензивное действие.

Основные результаты диссертации, сформулированные выводы и положения рекомендуются для внедрения в учебный процесс медицинских и фармацевтических вузов по дисциплине «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия».

В настоящее время, данные диссертации используются в практической работе научно производственной компанией «Апифито групп», а также в учебном процессе на кафедрах фармакогнозии с курсом ботаники Пермской государственной фармацевтической академии; фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета; фармакогнозии и ботаники Новосибирского государственного медицинского университета; фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской государственной медицинской академии.

Материалы диссертации можно рекомендовать использовать в других фармацевтических и медицинских вузах при обучении студентов и аспирантов, а также в работе разработчиков и производителей лекарственных препаратов растительного происхождения.

**5. Оценка содержания диссертации.** Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, методологии исследования, шести глав собственных исследований, общих выводов, заключения, библиографического указателя, включающего 324 отечественных и 56 зарубежных источников и приложения. Работа иллюстрирована 93 таблицами и 69 рисунками.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, определены цели и задачи исследования, показана научная новизна и практическая значимость работы, изложены методологические аспекты выполненных исследований, приведено теоретическое обоснование результатов и намечены перспективы их практического использования.

В раздел «методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*» включена концептуальная схема с обоснованием представленного методологического подхода.

Первая глава посвящена обзору литературы по современному состоянию и перспективам фармакогностического изучения растений рода *Euphrasia*, систематизированы сведения по систематическому положению, биологическим особенностям рода (полиморфизм, гемипаразитизм), химическому составу, фармакологическим свойствам и применению, исследуемого рода.

Во второй главе приведены характеристика объектов исследования, краткое описание методов анализа, приборов и реактивов, использованных в работе, а также статистической обработки результатов.

В третьей главе представлены результаты по распространению, встречаемости, а также ресурсоведческих исследований очанки коротковолосистой на территории Пермского края.

Четвертая глава отражает результаты исследования острой токсичности и фармакологической активности изученных видов рода *Euphrasia*.

Пятая глава содержит результаты сравнительного анатомо-морфологического исследования перспективных видов рода *Euphrasia*, а также морфологического аналога зубчатки обыкновенной, как возможной примеси к траве очанки. Кроме того, приведены данные по проявлению анатомо-диагностических признаков измельченного лекарственного растительного сырья.

Шестая глава посвящена исследованию качественного состава и количественного содержания продуктов первичного и вторичного метаболизма, и элементного состава, а также закономерностей их накопления.

В главе семь представлены результаты по разработке методик качественного и количественного определения основных групп БАВ. Изучена возможность стандартизации растений рода *Euphrasia* по содержанию суммы гидроксикоричных кислот, проведена валидация методик количественного определения БАВ, определяющих фармакологическую активность. Приведены результаты определения товароведческих

показателей ЛРС, характеризующегося полиморфизмом с учетом вариантов гипотетически возможных в природе.

Восьмая глава посвящена разработке оптимальных технологических параметров и стандартизации фитопрепаратов на основе растений рода Очанка.

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 научных работ, из них 20 статей в журналах, включенных ВАК Минобрнауки РФ в перечень рецензируемых научных изданий, монография «Очанки Западного Урала (фармакогностические и биологические аспекты)» и учебное пособие «Микродиагностические признаки перспективных видов рода Очанка». Получены 4 патента РФ на изобретение.

Диссертационная работа Т.В. Бомбела выполнена на высоком методическом уровне и характеризуется высокой теоретической и практической значимостью проведенных исследований.

Следует отметить рациональное, логическое планирование и выполнение работы, продуманность постановки эксперимента в соответствии с поставленными задачами исследования. Диссертационная работа оформлена в соответствии с современными требованиями, материал хорошо иллюстрирован и последовательно изложен.

В ходе ознакомления с работой возникли некоторые замечания и вопросы уточняющего характера:

1. При отражении современного состояния ботанико-фармакогностической характеристики, систематического положения и распространения, данных о химическом составе основных групп биологически активных веществ растений рода Очанка, приводятся литературные источники, время публикации которых имеет давность более 30 лет.

2. В работе подробно изучено морфолого-анатомическое строение вегетативных органов различных видов рода Очанка, однако почему отсутствуют данные по анатомическому строению генеративных органов? Было бы целесообразно в выводах к этой главе более подробно выделить признаки отличия видов.

3. Как следует из диссертации, объектами исследования служила надземная часть с корнями дикорастущих, однолетних, травянистых растений семи видов рода *Euphrasia*, но при этом автор не указывает, почему был выбран именно этот период в онтогенезе растений?

4. Автором проведено исследование первичных и вторичных метаболитов в отдельных органах растений, однако требуется уточнить, если в качестве сырья заготавливалась надземная часть и корни в фазу цветения – начало плодоношения, то каким образом получены данные по плодам?

5. Объектами фармакологических исследований являлись водные и спиртовые извлечения полиморфных видов рода Очанка. Объясните, почему острая токсичность и антимикробная активность изучена лишь для спиртовых извлечений, а противовоспалительная и антирадикальная только для водных извлечений, в то же время гипотензивная и антикоагулянтная активность описана как для водных, так и для спиртовых извлечений?

6. На стр. 315 приводятся спектральные характеристики настоек и показаны спектры с добавлением алюминия хлорида  $\lambda=328\pm 2$  нм (гипохромный эффект) и с добавлением натрия ацетата (смещение), думаю, было бы более наглядно привести сравнение со спектром вещества-стандарта.

7. Необходимо уточнить, насколько принципиально включение в проект фармакопейной статьи «Очанка трава» числового показателя «содержание экстрактивных веществ», если в данной нормативной документации имеется раздел «количественное определение», предусматривающий определение суммы флавоноидов – биологически активных соединений, имеющих еще и диагностическое значение.

8. В диссертации встречаются некорректные выражения, отдельные опечатки и стилистические погрешности, однако они не портят хорошего впечатления от работы.

Указанные замечания не принципиальны, а вопросы носят уточняющий характер и не снижают ценности и актуальности представленной работы.

**6. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации.** Диссертация Бомбела Татьяны Владимировны соответствует паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, а содержание автореферата полностью соответствует основным положениям и выводам диссертационной работы.

**7. Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней».** Таким образом, диссертационная работа Бомбела Татьяны Владимировны на тему: «Методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*», является самостоятельным законченным научно-

квалификационным исследованием, в котором содержится решение крупной проблемы современной фармацевтической науки и практики по рациональному использованию и внедрению лекарственных растений имеющих полиморфное строение в научную медицину, а также производству на их основе доступных лекарственных фитопрепаратов.

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., предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Официальный оппонент**

*Профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, 3 8-(347) 2721160, e-mail: rectorat@bashgmu.ru доктор фармацевтических наук, профессор, 15.00.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия*

**Пупыкина Кира Александровна**

Дата:

«10» октября 2017 г.

