



ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
- ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

ОКПО 01962942 ИНН/КПП 3444048472/263243001 тел. (8793) 32-44-74, 32-92-66, факс 32-92-67

«06» 10 2017 г. № 1.1/1826

УТВЕРЖДАЮ

Директор Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор

В.Л. Аджиенко



«06» 10 2017 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности 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 проблемы

Современные тенденции развития фармацевтической науки направлены на расширение ассортимента лекарственных средств используемых для лечения и профилактики заболеваний человека. При этом важная роль отводится лекарственным растениям, преимущество которых заключается в малой токсичности и мягкости действия. Кроме того, они могут длительно применяться без каких либо существенных побочных воздействий на организм.

Изучение лекарственных растений и введение их в медицинскую практику сопровождается рядом трудностей. Особую проблему составляют лекарственные растения с богатым видовым составом, характеризующиеся полиморфизмом. Затруднения связаны с идентификацией видов при заготовке сырья, что приводит к сбору всех встречающихся растений без установления видовой принадлежности.

В рамках этого актуальным является разработка научно-методологического подхода к фармакогностическому изучению и стандартизации лекарственных растений отечественной флоры, характеризующихся полиморфизмом, при этом давно и эффективно используемых в народной медицине, а так же являющихся официальными за рубежом.

К числу таких растений относится род *Euphrasia* – очанка, сем. *Scrophulariaceae* – норичниковые. Сложность систематики видов данного рода связана с конвергентным сходством некоторых видов, относящихся к разным морфологическим рядам, их экологической пластичностью, наличием промежуточных форм. Среди представителей рода Очанка, произрастающих совместно, наблюдается межвидовая гибридизация, которая приводит к полиморфизму, появлению различных промежуточных форм, имеющих близкие морфологические признаки. Флора Пермского края насчитывает одиннадцать видов, произрастающих во всех ботанико-географических зонах края, что позволяет провести изучение растений на должном сравнительном уровне. Кроме того, трава очанки давно и эффективно используется народной и традиционной медициной для лечения заболеваний глаз, верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта. В государственный Регистр лекарственных средств России включено свыше 20 наименований биологически активных добавок к пище отечественного и импортного производства.

Все вышесказанное определяет необходимость и актуальность настоящего исследования.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 366 страницах машинописного текста и состоит из введения, методологии исследования, обзора литературы (глава 1), объекты и методы (глава 2), шести глав экспериментальной части (глава 3 – 8), общих выводов, заключения, списка литературы и приложения;

иллюстрирована 69 рисунками, 93 таблицами. Список литературы включает 324 источника, из них 56 на иностранных языках.

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

Раздел «методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*» содержит концептуальную схему с обоснованием представленной концепции.

Первая глава посвящена обзору литературы по современному состоянию и перспективам фармакогностического изучения растений рода *Euphrasia*, в котором обобщены и систематизированы сведения по ботанико-биологическим особенностям, химическому составу, фармакологическим свойствам и применению, исследуемого рода.

Вторая глава содержит характеристику объектов исследования, описание методов анализа, приборов и реактивов, использованных в работе, а так же статистической обработки результатов.

В последующих шести главах представлены экспериментальные данные и обсуждены результаты собственных исследований.

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

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

Пятая глава посвящена сравнительному исследованию анатомо-морфологического строения перспективных видов рода *Euphrasia*, а так же морфологического аналога зубчатки обыкновенной, как возможной примеси к траве очанки.

Шестая глава содержит экспериментальные данные по исследованию качественного состава и количественного содержания продуктов первичного и вторичного метаболизма, и элементного состава, а так же закономерностям 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 получения и условия стандартизации фитопрепаратов на основе растений рода *Euphrasia*.

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

Связь задач исследования с планом фармацевтических наук

Диссертация выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (государственная регистрация 01.9.50007426).

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

Характеризуя представленную работу по означенному критерию, следует отметить, что автором впервые проведен комплекс взаимосвязанных исследований долговегетирующих представителей рода Очанка, характеризующихся полиморфизмом, включающий оценку фармакологической эффективности и безопасности, изучение биохимических признаков на популяционном и межвидовом уровне, сравнительное морфолого-анатомическое исследование, а так же затрагивает ресурсоведческие, товароведческие и технологические аспекты изучения лекарственных растений.

Автором впервые сформулированы научно-методологические принципы фармакогностического исследования лекарственных растений, характеризующихся полиморфным строением, и обоснована возможность использования растений рода *Euphrasia* в медицинской практике.

Используя ботанический анализ флоры России, сопредельных государств, региональной флоры Пермского края выделены перспективные виды растений рода для углубленных исследований.

Диссертантом проведено изучение ресурсного потенциал растений рода *Euphrasia* на территории Пермского края. Составлена карта-схема распространения данного рода на территории края, для проведения мероприятий по заготовке сырья.

Впервые проведены фармакологические исследования полиморфных видов рода *Euphrasia*. Выявлено, что все изученные виды обладают низкой токсичностью и одинаковым уровнем биологической активности и являются перспективными для внедрения в медицинскую практику, в качестве источников сырья – очанки трава. Полученные результаты позволяют рекомендовать растения рода *Euphrasia* в качестве объектов для получения на их основе фитопрепаратов, обладающих противовоспалительным,

гипотензивным, антикоагулянтным, антирадикальным и антимикробным действием.

Диссертантом проведены сравнительные морфолого-анатомические исследования, с использованием методов цифровой макро- и микроскопии вегетативных органов рода *Euphrasia*, выявлены признаки, позволяющие проводить дифференциальную диагностику морфологически близких видов.

Впервые с помощью современных физико-химических методов (ВЭЖХ, ГХ, ГЖХ-МС и др.) проведено сравнительное фитохимическое изучение БАВ в перспективных видах рода *Euphrasia*. Данные исследования позволили установить значение продуктов первичного и вторичного обмена, элементного состава для таксономии и видоидентификации.

Впервые из травы очанки коротковолосистой выделены углеводные фракции и установлена структура углеводного комплекса: водорастворимые полисахариды (ВРПС) относятся к галактоарабанам; пектиновые вещества (ПВ) – галактоксиланам; Гемиллюлоза (ГЦ) А и В относятся к ксилоарабанам и ксиланам, соответственно.

Постоянными компонентами аминокислотного комплекса рода *Euphrasia* являются гистидин в свободном и связанном состоянии, треонин и аланин в связанном, а аргинин в свободном виде. По количественному содержанию доминирующим является аланин в свободном (2,42 – 2,93 мкг/мг) и связанном (6,10 – 10,93 мкг/мг) состоянии.

Впервые изучен липофильный комплекс семян у растений рода *Euphrasia*. Установлено, что в маслах семян доминируют непредельные кислоты С:18 – линоленовая, линолевая, олеиновая. Основу пула насыщенных жирных кислот составляют пальмитиновая и стеариновая кислоты. Среднее значение концентраций высших жирных кислот исследованных видов можно рассматривать в качестве жирнокислотного профиля масел семян рода *Euphrasia* и использовать в хемотаксономических целях.

Элементный состав исследуемых видов рода *Euphrasia* представлен 24 элементами, учитывая их содержание они отнесены к микро- и ультрамикрорелевантам. В траве изученных видов содержатся жизненно важные элементы – кобальт, медь, молибден, хром, цинк. Установлено, что исследуемые виды накапливают свинец, при этом его концентрация не превышает ПДК, принятые для биологически активных добавок. Повышенное содержание минеральных веществ отмечается в органах, осуществляющих активную фотосинтетическую деятельность (листья), а также принимающих участие в процессах размножения (цветки, плоды, семена).

Автором впервые проведено изучение, с использованием метода ВЭЖХ, фенольных соединений у перспективных видов рода *Euphrasia*. Установлено, что растения рода *Euphrasia* характеризуются незначительной вариабельностью флавоноидного и иридоидного пула. Идентифицированные вещества являются химическими маркерами рода *Euphrasia*, значение коэффициентов их распределения используются в аналитических целях.

Впервые проведена оценка межпопуляционной изменчивости основных групп БАВ в траве и органах изучаемых видов рода *Euphrasia*. Выявлено, что заготовку сырья можно вести по всему ареалу распространения данного рода.

Впервые проведены фармакологические скрининговые исследования рода *Euphrasia*, показана перспектива создания инновационных препаратов на их основе, обладающих антикоагулянтным, антирадикальным и антимикробным действием.

Впервые предложено для лекарственного растительного сырья, характеризующегося полиморфизмом, нормировать числовые показатели с учетом результатов товароведческого анализа производящих растений, модельных и природных образцов, содержащих смесь видов.

Приоритет проведенных исследований защищен 4 патентами РФ на изобретение: «Способ получения средства, обладающего противовоспалительной и гипотензивной активностью» (патент № 2220735), «Унифицированный способ количественного определения флавоноидов в траве и экстракционных препаратах очанки» (патент № 2266544), «Фармацевтическое средство для лечения заболеваний суставов и способ его получения» (патент № 2342946) и «Средство, обладающее антимикробным, противовоспалительным и анестезирующим действием, и способ его получения» (патент № 239671).

Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Диссертационная работа Т.В. Бомбела выполнена на высоком научном уровне. Автором целенаправленно и эффективно использованы современные физико-химические методы анализа: ВЭЖХ, ГЖХ-МС и др. Автор широко применяет статистические методы и математическое планирование эксперимента в оценке влияния факторов и достоверности определения результирующих параметров опытов.

Научные положения, выводы и рекомендации базируются на достаточном количестве экспериментальных исследований, подтверждаются большим табличным материалом, микрофотографиями и рисунками.

Каждая глава заканчивается выводами, которые четко и убедительно формулируют результаты экспериментов.

Результаты диссертационного исследования обсуждены на международных, Всероссийских и региональных конференциях и конгрессах.

По теме диссертации опубликовано 65 печатных работ (из них 20 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России), монография «Очанки Западного Урала (фармакогностические и биологические аспекты)» и учебное пособие «Микродиагностические признаки перспективных видов рода Очанка», получены 4 патента РФ на изобретение.

Содержание автореферата и печатных работ соответствует материалам диссертации.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Основная теоретическая значимость диссертации заключается в разработке современного методологического подхода к фармакогностическому изучению и стандартизации лекарственных растений, характеризующихся полиморфизмом на примере рода *Euphrasia* и научном обосновании возможности их использования в медицинской практике полиморфного вида.

Изложенная концепция может быть широко использована при фармакогностическом изучении полиморфных видов лекарственных растений из других родов и семейств, а так же дополнена и усовершенствована, с учетом биологических особенностей таксона и механизма возникновения полиморфизма.

Результаты фармакологических исследований являются основой для разработки на их основе растений рода Очанка инновационных препаратов антикоагулянтного, антирадикального, антимикробного действия.

Предложенные автором подходы к выделению диагностических признаков могут использоваться для исследования растений других родов и семейств, среди которых наблюдается полиморфизм.

Автором предложены методика стандартизации лекарственного растительного сырья по содержанию гидроксикоричных, которая может быть использованы для анализа сырья и фитопрепаратов.

Разработаны оптимальные технологические параметры получения настойки и экстрактов на основе травы очанки коротковолосистой, определены показатели качества и методы стандартизации.

Практическая значимость результатов научно-исследовательской работы, представленных в диссертации, подтверждается фактами разработки нормативной документации на лекарственное растительное сырье и апробации предложенного лекарственного средства на действующем предприятии ООО «НПК «Апифитогрупп», а так же их внедрением и использованием в учебном процессе.

На основании проведенных исследований разработаны: проект фармакопейной статьи «Очанки трава» для включения в ГФ XIII издания (направлен в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России); проект «Инструкция по сбору и сушке очанки травы» (направлен в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России), проекты нормативного документа «Очанки настойка», «Очанки экстракт жидкий», «Очанки экстракт сухой. Субстанция», согласованы и апробированы ООО «НПК «Апифитогрупп»,

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. Сухинина «Очанки Западного Урала (фармакогностические и биологические аспекты)» и учебного пособия Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова «Микрوديagnostические признаки перспективных видов рода Очанка», утвержденные Ученым советом ПГФА.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Разработанный методологический подход может быть использован для изучения полиморфных видов среди представителей различных семейств покрытосеменных растений, а также различных отделов и царств органического мира.

Результаты фармакологических исследований растений рода *Euphrasia* являются базой для разработки доступных и эффективных лекарственных препаратов антикоагулянтного, антирадикального, антимикробного, противовоспалительного и гипотензивного действия.

Материалы диссертации в части исследования острой токсичности и фармакологических свойств могут быть использованы для формирования регистрационного досье в рамках работ по доклиническому и клиническому исследованию с целью последующей регистрации препаратов и их внедрения в медицинскую практику.

Разработанные технологические параметры получения фитопрепаратов рекомендуется внедрять в практическую работу фармацевтических предприятий, при производстве лекарственных препаратов и биологически активных добавок.

Разработанные рекомендации по выделению диагностических признаков анатомо-морфологического строения, а также установлению таксономически значимых компонентов БАВ в аналитических целях могут использоваться для исследования растений других родов и семейств, среди которых наблюдается полиморфизм.

Разработанная и апробированная спектрофотометрическая методика количественного определения гидроксикоричных кислот рекомендована для включения в НД при стандартизации фитопрепаратов и лекарственного растительного сырья.

Результаты ресурсоведческих исследований травы очанки могут использоваться при организации мероприятий по заготовке сырья на территории Пермского края, а результаты этапа экспериментальной интродукции травы очанки – при разработке Агротехнических правил возделывания растений рода *Euphrasia* в условиях Уральского региона.

Теоретические положения, сформулированные в диссертационном исследовании целесообразно использовать в учебном процессе

фармацевтических вузов и факультетов, они могут быть включены в учебные пособия и курс лекций для студентов, интернов и аспирантов.

Однако наряду с достоинствами в работе имеются отдельные фрагменты, требующие дополнительного пояснения и уточнений:

1. Первой задачей исследования автор определяет необходимость проведения анализа литературных данных о современном состоянии систематических, биологических, фитохимических и фармакологических исследований рода Очанка и видит целесообразность теоретического обоснования необходимости и возможности применения видов этого рода в медицинской практике. И действительно, в выводах по обзору литературы автор реализует данную задачу. Однако в общих выводах по диссертационной работе эти теоретические исследования и анализ автора не находят своего приложения в результате чего, на наш взгляд, в общих выводах снижен методологический аспект проведённого автором теоретического и экспериментального исследования в целом.
2. В диссертации имеются опечатки и технические погрешности в опубликованном тексте работы (разрывы таблиц, формул и т.д.).

Кроме того, по ходу знакомства с содержанием диссертационной работы возникло несколько вопросов:

1. В обзоре литературы указывается, что вид *Euphrasia officinalis* характеризуется внутривидовой полиплоидией. Связывает ли автор факт сезонной изменчивости в содержании исследованных им групп БАС с явлением полиплоидии *E. officinalis* и других очанок?

2. Автором проведены ресурсоведческие исследования на территории Пермского края и установлен объем ежегодной заготовки сырья очанки. При этом важно знать, как автор оцениваете перспективность других регионов России для заготовки растительного сырья очанки?

3. В выводах по диссертационной работе автор констатирует, что на примере рода Очанка им показано, что для обоснования возможности использования в фармации лекарственных растений, характеризующихся полиморфизмом, необходимо исследовать закономерности накопления продуктов первичного и вторичного обмена, липофильных веществ. Однако в чём связь между всеми этими продуктами обмена (кроме общеизвестных данных) именно в случае полиморфных видов по ходу работы не указывает. Поэтому хотелось получить ответ на вопрос – В чём состоит закономерность накопления продуктов первичного и вторичного обмена, липофильных веществ на примере исследованных полиморфных видов рода Очанка?

Заключение

Диссертационная работа Бомбела Татьяны Владимировны «Методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на

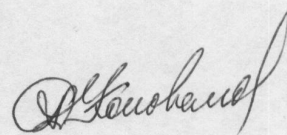
примере рода *Euphrasia*», представленная на соискание учёной степени доктора фармацевтических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровне, по актуальной проблеме, результаты которой имеют существенное значение для современной фармацевтической науки и практики.

В исследовании Бомбела Татьяны Владимировны решена крупная научно-практическая проблема внедрения и рационального использования лекарственных растений, характеризующихся полиморфизмом на примере растений рода *Euphrasia* в медицинскую практику и создания на их основе высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Бомбела Татьяны Владимировны соответствует требованиям пп. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения 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 её автор заслуживает присуждения учёной степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв на диссертацию обсуждён на заседании кафедры фармакогнозии и ботаники Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 6 от 28 сентября 2017 года).

Заведующий кафедрой фармакогнозии
Пятигорского медико-фармацевтического
института - филиала федерального
государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук, профессор,
14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия



Дмитрий Алексеевич Коновалов

Профессор кафедры фармакогнозии
Пятигорского медико-фармацевтического
института - филиала федерального
государственного бюджетного образовательного

учреждения высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук, профессор
14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Ольга Ивановна Попова

«__» _____ 2017 г.

Подписи профессор Д.А.Коновалова, О.И.Поповой заверяю
Начальник отдела кадров



Е.П. Руссель