

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора химических наук, декана факультета пищевых производств
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Самарский государственный технический университет»
Бахарева Владимира Валентиновича на диссертационную работу Борисова
Михаила Юрьевича на тему: «Фармакогностическое исследование корневищ
куркумы длинной (*Curcuma longa* L.)», представленную на соискание ученой
степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 –
фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертационная работа Борисова Михаила Юрьевича посвящена фармакогностическому изучению корневищ куркумы длинной (*Curcuma longa* L.), осуществлению морфолого-анатомического исследования и определению диагностически значимых признаков сырья, фитохимического исследования корневищ куркумы длинной и препаративного выделения соединений куркуминоидной природы, установлению их структуры и физико-химических характеристик, получении отечественного стандартного образца для использования в методиках качественного и количественного анализа по содержанию куркуминоидов в сырье и соответствующих препаратах куркумы, разработке проекта фармакопейной статьи «Куркума длинная корневища» для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации, разработке способа получения лекарственного растительного препарата «Куркумы экстракта густого» и обосновании его использования в виде лекарственной формы «суппозитории» для клинического применения.

Актуальность выполненного исследования.

В настоящее время в современной медицинской практике фитотерапия занимает прочные позиции при лечении широкого спектра заболеваний, особенно хронических. Само понятие «фитотерапия» существенно изменилось, поскольку лекарственные растения являются не только сырьем для получения лекарственных препаратов, но и представляют собой источники биологически активных веществ, необходимых организму человека для нормального функционирования. Особенно актуально применение пищевых растений в качестве источников целого комплекса биологически активных веществ. Перспективным сырьевым источником таковых является куркума длинная, корневища которой традиционно используются во многих культурах мира в качестве пряности, а также служат исходным сырьем для получения целого ряда комбинированных лекарственных препаратов (растение включено в ряд фармакопей зарубежных стран).

Анализ литературных источников позволил соискателю выявить ряд «узких» мест, ограничивающих использование куркумы длинной в качестве официального вида сырья. С целью дальнейшего рассмотрения корневищ куркумы в качестве фармакопейного вида лекарственного растительного сырья (ЛРС) необходимы углубленные морфолого-анатомическое и фитохимическое исследования, создание отечественного стандартного образца куркумина, разработка отечественной нормативной документации, регламентирующей качество лекарственного растительного сырья «Куркумы длинной корневища» с позиций требований к современному фармацевтическому анализу. Результаты этих исследований должны явиться основой для получения нативного, стабильного куркуминоидного комплекса с высокой антиоксидантной активностью и обеспечением биодоступности путем выбора лекарственной формы, пути введения, дозировки и других параметров.

Все вышеизложенное указывает на несомненную актуальность проведенного соискателем исследования.

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность.

Соискателем впервые проведено фармакогностическое изучение образцов сырья культивируемой куркумы длинной на территории Российской Федерации (заготовленные на территории Северного Кавказа в 2007-2014 гг.) в сравнении с импортируемым сырьем из природных ареалов произрастания (Индия, Вьетнам, Китай).

В результате проведения комплекса морфолого-анатомических исследований корневищ куркумы по выявлению характерных, диагностически значимых признаков для цельного, измельченного и порошкованного сырья, фитохимических исследований, позволивших с помощью комбинации экстракционных методов и колоночной адсорбционной хроматографии выделить три основных куркуминоида – куркумин, дезметоксикуркумин и бисдезметоксикуркумин, физико-химических исследований по установлению химических структур и обоснованию использования куркумина (доминирующее соединение) в качестве отечественного стандартного образца были разработаны объективные показатели качества сырья.

С использованием индивидуальных образцов куркуминоидов подобраны оптимальные условия их хроматографического разделения, проведено их количественное определение, оценено суммарное содержание для культивируемых образцов. Соискателем показано, что отечественное сырье не уступает по параметрам качества импортируемому сырью и доказана равноценная возможность использования в качестве ЛРС отечественной куркумы длинной (наряду с импортируемым сырьем).

Усовершенствован и дополнен ранее предложенный пятигорскими исследователями метод качественного (ТСХ-анализ), количественного анализа

(дифференциальная спектрофотометрия) и стандартизации сырья и экстракционных препаратов куркумы, в частности обосновано и предложено дополнительно оценивать характер электронного спектра спиртового извлечения при длине волны $425 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$. Разработанные показатели качества и методы их оценки нашли отражение в проекте фармакопейной статьи «Куркумы длинной корневища».

Соискателем разработана оригинальная технологии получения «Куркумы экстракта густого» методом циркуляционной экстракции с использованием подкисленного 95% спирта этилового, что обеспечивает содержание суммы куркуминоидов в готовом продукте - не менее 45 %. Учитывая низкую стабильность куркуминоидов в желудочно-кишечном тракте и очень малую биодоступность, для дальнейшего использования спиртового экстракта в медицинской практике (ориентир – лечение колоректального рака) в качестве лекарственной формы обоснован выбор ректальных суппозиториев.

Достоверность полученных результатов базируется на использовании комплекса современных физико-химических методов анализа и применении современных аналитических приборов: изучение микродиагностических признаков и получение микрофотографий проведено с помощью цифрового микроскопа «Motic DM111» (Корея) и цифрового стереоскопического микроскопа «Motic DM-39C-N9GO-A» (Корея); структурные исследования выделенных веществ осуществляли с использованием ^1H -ЯМР- и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии (ЯМР-спектрометр «Bruker AM 300», 300 МГц), масс-спектрометрии (Kratos MS-30 (UK) 70 eV T=2000C), ИК-спектроскопии (ИК-Фурье-спектрометр «Nikolet iS10» фирмы «Thermo Spectronic Company»); изучение химического состава и стандартизация проводилось с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии («Biotronic»), газовой хроматографии с масс-селективным детектированием («МАЭСТРО 7820» с масс-спектрометром модели Agilent 5975), спектрометрии (спектрофотометр «Specord 40» фирмы «Analytik Jena»); изучение *in vitro* антиоксидантной активности по влиянию на Fe^{2+} – индуцированную хемилюминесценцию использован отечественный аппаратно-программный комплекс «ХЛМ-003» и две тест-системы, инициирующие свободно-радикальное окисление – образование активных форм кислорода и перекисного окисления липидов.

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

Использование современных физико-химических, химических и медико-биологических методов исследований, статистическая обработка полученных данных в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ XIII изд. с применением программ «Excel 7.0» (MS Office), «Statistica 6.0» (StatSoft), валидация методики количественного определения куркуминоидов позволяют

говорить о достаточно высокой степени достоверности результатов, полученных в ходе исследований.

Полнота и глубина анализа большого объема собственного материала в достаточной мере обосновывает выводы и рекомендации, вытекающие из полученных автором диссертации результатов.

Основные результаты диссертационного исследования в достаточной степени прошли апробацию и обсуждение на научных и научно-практических конференциях различного уровня.

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

В результате проведения морфолого-анатомических исследований корневищ куркумы были выявлены характерные диагностические признаки для цельного, измельченного и порошкового сырья.

Соискателем выделены и в достаточной степени охарактеризованы три основных куркуминоида – куркумин, дезметоксикуркумин и бисдезметоксикуркумин.

Выявлена способность экстракта из корневищ куркумы активно подавлять генерацию активных форм кислорода и перекисное окисление липидов в модельных системах, что указывает на высокий уровень антиоксидантной активности и доказывает перспективность дальнейших исследований разработанного средства для профилактики и лечения заболеваний, связанных с ослаблением или нарушением антиоксидантной системы защиты организма.

Проведенные соискателем комплексные исследования корневищ куркумы длинной показывают целесообразность их использования в качестве лекарственного растительного сырья в отечественной научной фармации и создают реальные предпосылки для расширения номенклатуры отечественных, эффективных и безопасных, лекарственных средств и продуктов функционального питания на основе данного лекарственного сырья.

Представленные в диссертационной работе результаты исследований имеют несомненное научно-практическое значение, что позволило внедрить их в учебный процесс и научно-исследовательскую работу кафедр фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (г. Самара), кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России (г. Уфа), а также в работу предприятия ЗАО "Самаралектравы" (Самарская обл., с. Антоновка) и Института ботаники Академии наук Абхазии (г. Сухуми). Результаты проведенных исследований также могут представлять интерес для предприятий фармацевтической и пищевой промышленности.

Оценка содержания диссертации.

Диссертационная работа Борисова М.Ю. изложена на 140 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, четырех глав собственных экспериментальных исследований, общих выводов, списка литературы и приложений. Работа хорошо и наглядно проиллюстрирована: содержит 14 таблиц, 37 рисунков. Список цитируемой литературы включает 150 библиографических источников, 112 из которых - на иностранных языках (что отражает сложившееся доминирование в мировом публикационном потоке работ зарубежных авторов).

Во введении сформулированы актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость работы, положения, выдвигаемые на защиту.

Первая глава (обзор литературы) состоит из двух разделов. В первом разделе описано современное состояние исследований по куркуме длинной, второй раздел посвящен описанию куркуминоидов, как самостоятельной группы биологически активных соединений.

Во второй главе описаны объекты и методы исследований, используемые в диссертационной работе.

В третьей главе приведены результаты морфолого-анатомического и гистологического изучения корневищ куркумы длинной. Соискателем обсуждаются выявленные диагностически значимые внешние и микроскопические признаки, характерные для цельного, измельченного и порошкованного сырья. Обосновывается заключение о том, что эти признаки не зависят от регионов произрастания и культивирования, но отчасти зависят от особенностей первичной переработки сырья.

В четвертой главе представлены результаты фитохимических исследований корневищ куркумы длинной. Методами тонкослойной, высокоэффективной жидкостной и газожидкостной с масс-селективным детектированием хроматографии изучен химический состав экстрактов корневищ куркумы длинной. Подобраны условия, проведено препаративное выделение и идентификация компонентов экстрактов. Структура выделенных компонентов подтверждена данными ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии. На основании сравнительного анализа химического состава корневищ, заготовленных от отечественных образцов растений и заготовленных в местах природного местообитания, соискателем сделан вывод об идентичности состава и соотношения компонентов куркуминоидной природы. Отработан способ выделения и определены физико-химические характеристики куркумина, который предложен соискателем в качестве отечественного стандартного образца.

Глава пятая посвящена вопросам стандартизации сырья куркумы длинной.

С использованием стандартного образца куркумина усовершенствованы методики качественного и количественного анализа сырья, в частности, дифференциального спектрофотометрического анализа. В качестве дополнительного подтверждения подлинности сырья предложено оценивать характер спектра поглощения раствора, приготовленного для количественного определения (наличие основного максимума при длине волны 425 нм). На основе данных по количественному определению куркуминоидов предложены нормы качества для культивируемого сырья: не менее 2% (вне зависимости от степени измельчения); установлены сроки годности для сырья – не менее 3-х лет. По результатам исследований приведенных в данной главе соискателем разработан проект ФС «Куркумы длинной корневища» (распространяется на сырье культивируемых растений).

В главе шестой приведены результаты разработки технологии получения экстракта куркумы густого и ректальных суппозиторий на его основе. Для получения экстракта куркумы густого соискателем предложен метод циркуляционной экстракции, позволяющий использовать малополярный экстрагент – 95 % спирт этиловый, подкисленный хлористоводородной кислотой с целью придания стабильности куркуминоидам на этапе получения. Приведены данные по исследованию антиоксидантных свойств полученного экстракта и показано, что компоненты экстракта способны активно подавлять генерацию активных форм кислорода и перекисного окисления липидов в модельных системах. Предложена лекарственная форма – суппозитории ректальные с экстрактом куркумы длинной. Проведен анализ возможности введения экстракта куркумы длинной в липофильную и гидрофильную суппозиторные основы. На основе определения параметров высвобождения куркуминоидов из различных суппозиторных основ установлено, что гидрофильная основа является наиболее оптимальной и обеспечивает высокую скорость и степень высвобождения действующих веществ.

Каждая глава диссертации завершается выводами, которые полностью отражают содержание главы. Заключение соответствует основным результатам проведенных автором исследований и раскрывает поставленные в диссертационном исследовании задачи и цель.

Приложения содержат акты внедрения результатов диссертационной работы, а также проект ФС «Куркумы длинной корневища», принятый в ФГБУ "НЦЭСМП" Минздрава России и приоритетную справку на патент РФ на изобретение "Антиоксидантное средство "Куркумы экстракт густой".

Основные результаты исследования представлены в 12 печатных работах, из которых 3 работ опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России. Автореферат и опубликованные работы отражают основное содержание диссертации. В целом диссертационная

работа выполнена на высоком научном уровне, представленный материал изложен последовательно, логично и грамотно.

В процессе ознакомления с работой возникли некоторые замечания и требующие пояснения вопросы:

1. Почему в диссертационное исследование не были включены хотя бы для сравнительного анализа другие виды куркумы, например, куркума ароматная (*Curcuma aromatic*), куркума цедоария (*Curcuma zedoaria*), куркума круглая (*Curcuma leucorrhizae*)?

2. В главе 2 приведен состав нескольких хроматографических систем для ТСХ анализа. На каком основании сделан вывод о наиболее полном разделении куркуминоидов в системе растворителей: хлороформ - спирт этиловый (19:1)?

3. Глава 6 посвящена обсуждению перспектив использования лекарственного растительного сырья «Куркумы длинной корневища» для получения лекарственных средств на основе куркуминоидов, где подробному рассмотрению подвергнуты предложенные экстракт куркумы густой и свечи ректальные на его основе, тогда как о других перспективах в отечественных разработках есть только упоминание. В этой связи с учетом физико-химических свойств куркуминоидов и их низкой биодоступности какие дальнейшие подходы в их использовании Вы рекомендуете?

4. Непонятно, почему в работе не приведены ИК спектры и ¹³C-ЯМР спектры дезметоксикуркумина и бисдезметоксикуркумина на стр. 82 диссертации.

5. Каковы, по Вашему мнению, перспективы использования экстрактов куркумы в других областях, кроме фармацевтической и пищевой промышленности?

6. В работе имеются отдельные опечатки и стилистические погрешности. На стр. 37 допущены ошибки в структурных формулах (рис. 3) в написании метоксигруппы. Руброкуркумин, структурная формула которого приведена на стр. 86 диссертации, является комплексом куркумина с борной и щавелевой кислотой, а не с бором, как написано на стр. 85.

При этом указанные замечания и вопросы не снижают ценности большой наукоемкой работы, выполненной на актуальную тему.

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 Борисова Михаила Юрьевича, соответствует заявленной специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия (паспорт специальности: пп. 2, 3, 6 и 7).

Заключение о соответствии диссертации требованиям «Положения о присуждении ученых степеней».

Диссертационная работа Борисова Михаила Юрьевича на тему: «Фармакогностическое исследование корневищ куркумы длинной (*Curcuma longa* L.)», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной задачи современной фармацевтической химии и фармакогнозии – экспериментальное обоснование использования корневищ куркумы длинной в качестве лекарственного сырья в отечественной научной фармации.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Борисова Михаила Юрьевича соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Борисов Михаил Юрьевич - заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук, декан факультета пищевых производств
федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Самарский государственный
технический университет»

443100, Россия, Самарская обл.,

г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244

Телефон: (846) 332-20-69

E-mail: knilsstu@gmail.com



Бахарев Владимир Валентинович

«12» сентября 2017 г.

Подпись Бахарева В.В. удостоверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «СамГТУ»,

профессор



Ю.А. Малиновская