

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ)

ул. Ленина, 3, г. Уфа, Республика Башкортостан,
Российская Федерация, 450008
тел. (347) 272-41-73, факс 272-37-51
[http:// www.bashgmu.ru](http://www.bashgmu.ru), E-mail: rectorat@bashgmu.ru

ОКПО 01963597 ОГРН 1020202561136
ИНН 0274023088 КПП 027401001

04.05.2021 № 3451-68

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Башкирский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор медицинских наук,
профессор Рахматуллина И.Р.



«04» мая 2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Имачуевой Джавгарат Руслановны на тему: «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода копеечник (*Hedisarum* L.), произрастающих на территории Северного Кавказа», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в диссертационный совет Д 208.085.06 при ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Актуальность темы

В настоящее время для развития отечественной фармации актуальными являются исследования, посвященные изучению природных соединений. В первую очередь, это связано с широким спектром их биологической активности и разнообразием структур. Особенно остро стоит проблема получения и изучения противовирусных и антибактериальных средств растительного происхождения. В этом плане перспективными для изучения являются растения рода копеечник (*Hedisarum* L.) семейства *Fabaceae*, которые являются источниками мангиферина, относящегося к группе собственно ксантонов, представителя С-гликозидов и обладающего

10	Вкл. №	53
Листов	19	05 2021.
«Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации		

противовирусными и противобактериальными свойствами. На основе сырья *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum flavescens* Rgl. et Sohmh. отечественными учеными разработан противовирусный препарат «Алпизарин», который обладает активностью в отношении ДНК-содержащих вирусов (*Herpes simplex*, *Varicella zoster*, *Cytomegalovirus*), иммуностимулирующими свойствами, оказывает бактериостатическое действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Поэтому, актуальной задачей современной фармации является расширение сырьевой базы отечественных противовирусных препаратов широкого спектра действия за счет исследования новых представителей рода *Hedysarum* L. (*H. caucasicum* M.Bieb., *H. grandiflorum* Pall., *H. daghestanicum* Rupr. ex Boiss.), произрастающих на территории Северного Кавказа.

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

Впервые определены морфолого-анатомические диагностические признаки исследуемых видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.), необходимые для стандартизации ЛРС. Внедрены показатели каулифолиарной микроморфологии для проведения диагностики растительных объектов на примере рода *Hedysarum* L.

Впервые проведены молекулярно-генетические исследования и определены морфометрические показатели, позволяющие устанавливать корреляции между морфологическими, молекулярно-генетическими и фитохимическими показателями видов, отнесенных к определенным секциям рода, а также осуществить прогноз накопления ксантонов в ранее не исследуемых видах.

Проведены интродукционные исследования *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН (станция Цудахар), в том числе определены основные фазы развития, составлены фенологические спектры.

В рамках фитохимического скрининга в исследуемых нами объектах обнаружены такие биологически активные вещества (БАВ), как флавоноиды, лейкоантоцианы, дубильные вещества, полисахариды, сапонины (тритерпеновые соединения). Впервые в траве трех видов рода *Hedysarum* L. обнаружено присутствие аминокислот, основная часть которых относится к группе незаменимых аминокислот, наличие пролина и фенилаланина доказывает присутствие ксантонов. Полученные результаты исследования необходимы при составлении комплексной метаболомной оценки ЛРС видов рода *Hedysarum* L.

Проведено комплексное изучение качественного анализа и количественного содержания суммы ксантонов и, собственно, мангиферина методами тонкослойной и бумажной хроматографии, УФ-спектрофотометрии, капиллярного зонного электрофореза, а также высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В рамках комплексных фармакогностических исследований трех видов *Hedysarum* L. нами разработана методика определения количественного содержания суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии. Методика учитывает основные физико-химические свойства ксантонов, характеризуются воспроизводимостью, высокой точностью, простотой исполнения, позволяют проводить как скрининговую оценку различных сырьевых объектов, содержащих производные мангиферина, так и стандартизацию заготовленного ЛРС копеечника.

Разработанные методики апробированы на траве видов рода *Hedysarum* L., собранных и высушенных с учетом, правил и требований заготовки ЛРС. В результате установлено, что наибольшим количественным содержанием суммы ксантонов в пересчете на мангиферин отличается трава *Hedysarum caucasicum* M.Vieb ($0,62 \pm 0,021\%$). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования травы *Hedysarum caucasicum* M.Vieb, как дополнительного сырьевого источника мангиферина. Проведена валидация методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве *Hedysarum caucasicum* M.Vieb.; на основании полученных данных установлено, что предложенная методика является высокочувствительной, воспроизводимой и пригодной для использования.

Разработаны основные критерии идентификации и оценки качества изучаемого сырья. На основе проведенных исследований разработана методика определения количественного содержания суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в условиях производства, а также методика стандартизации, ставшая основанием для разработки проекта ФС «Копеечника кавказского трава».

Значимость полученных результатов для науки и практики, рекомендации по использованию результатов и выводов

Диссертационная работа Имачуевой Джавгарат Руслановны вносит существенный вклад в решение важной задачи в области фармацевтической химии и фармакогнозии по исследованию перспективных видов лекарственных растений. Теоретическая значимость исследования заключается в накоплении объема знаний в области корреляции между морфологическими, молекулярно-генетическими и фитохимическими показателями видов, выявленными диагностическими морфолого-анатомическими признаками, в том числе и каулифолиарной зоны, об условиях интродукции и фенологических наблюдениях за указанными видами рода *Hedysarum L.*

На основе проведенных исследований Имачуевой Джавгарат Руслановны разработаны и предложены: проект ФС «Копеечника кавказского трава», методики идентификации и количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, «Инструкция по сбору и сушке копеечника кавказского травы».

Результаты диссертационного исследования Имачуевой Д.Р. по обоснованию возможности интродукции видов рода *Hedysarum L.*, а именно *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. в условиях ботанических садов для обеспечения сырьевой базой для производственных целей получения мангиферина, комплексному изучению морфометрических, эколого-ценотических показателей *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., а также проведенным интродукционным исследованиям и фенологическим наблюдениям, разработки методик идентификации и количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин внедрены в учебный процесс аспирантов кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института (ПМФИ) – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, а также студентов, обучающихся на кафедре фармации ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет».

Таким образом, результаты данной диссертационной работы имеют научно-практическое значение, могут быть использованы в научных исследованиях, учебном процессе вузов, на фармацевтических предприятиях и вносят существенный вклад в научное исследование растений рода *Hedysarum L.*, способствуют усовершенствованию подходов к стандартизации ЛРС, содержащих ксантоны.

Соответствие содержания диссертации заявленной научной специальности

Основные положения диссертации Имачуевой Джавгарат Руслановны, выносимые на защиту и выводы по диссертации, соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Область исследования и полученные результаты соответствуют: пункту 5 – изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье и пункту 6 – изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Сформулированные автором выводы в полной мере обоснованы и отвечают цели и задачам исследования. Структура и последовательность изложения материала в диссертации и автореферате совпадают и отражают данные, полученные автором.

Результаты исследований базируются на достаточном фактическом материале. Эксперименты выполнены с использованием комплекса современных фармакогностических, физико-химических, фитохимических и статистических методов исследований.

Достоверность результатов исследований Имачуевой Джавгарат Руслановны подтверждена статистической обработкой полученных результатов, доказана валидность предложенной методики количественного определения суммы ксантонов на мангиферин в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

Заключения и выводы логично вытекают из работы и аргументированы.

Основные положения исследования доложены на международных, всероссийских и региональных конференциях, в них отражены основные положения и выводы диссертации. По материалам диссертации опубликовано 15 научных публикациях, из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ и 3 статьи в журналах, входящие в международную базу данных Scopus и 1 научная монография.

Содержание автореферата и опубликованных работ соответствуют материалам диссертации.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, выводов и заключений

Структура, последовательность изложения работы и содержание глав отвечают цели и задачам диссертационного исследования.

Диссертационная работа изложена на 203 страницах машинописного текста и состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы, приложений. Работа иллюстрирована 45 рисунками и содержит 31 таблицу. Список цитируемой литературы включает 218 источников, из них 83 – на иностранных языках.

Во введении автором обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследования.

В главе «Обзор литературы» соискатель приводит сведения о ботанической характеристике растений рода *Hedysarum* L. Обобщены сведения по химическому составу указанных растений, характеристики класса ксантонов, выделению и идентификации мангиферина из растений, применению видов рода *Hedysarum* L. в медицине и потенциала практического использования мангиферина в медицине. Проведенный анализ литературных сведений о химическом составе *H. grandiflorum* Pall., *H. caucasicum* M.Bieb. и *H. daghestanicum* Rupr. ex Boiss. свидетельствует о том, что данные либо фрагментарны, либо полностью отсутствуют. Для копеечника кавказского указаны только сумма ксантонов в пересчете на мангиферин, химический состав копеечника дагестанского и копеечника крупноцветкового не изучен.

Во второй главе соискателем представлены сведения об объектах исследований, приводится обоснование методов и приборов, а также другие данные методического характера.

Глава 3 посвящена морфолого-анатомическому и молекулярно-генетическому исследованию видов рода *Hedysarum* L. Описано морфолого-анатомическое исследование каулифолиарной системы трех видов рода *Hedysarum* L.: *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. и отмечено, что впервые установлены диагностические признаки, к которым относятся трихомы в виде простых одноклеточных и двуклеточных волосков с бородавчатой кутикулой, устьичные аппараты аномоцитного и анизоцитного типа, седловидная форма черешка на поперечном сечении, наличие идиобластов в паренхимной обкладке коллатеральных проводящих пучков. Приводятся данные молекулярно-генетического исследования *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall., секвенирован маркерный участок ITS1-5.8S ITS2 гена рРНК, по Сэнгеру методом СТАВ, отмечено, что впервые выявленная корреляция накопления вторичных метаболитов ксантонового ряда и эколого-фитоценотической

характеристики позволяет предположить перспективность видов секции *Obscura* для поиска дополнительных сырьевых источников мангиферина и его производных, обладающих выраженной противовирусной активностью.

В четвертой главе диссертант приводит результаты фитохимического анализа травы видов рода *Hedysarum* L. Описано хроматографическое исследование трех видов *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss. и установлено во всех объектах присутствие ксантонового гликозида мангиферина методом ТСХ. Методом УФ-спектрофотометрии установлено количественное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в исследуемых видах, отмечено, что наибольшим содержанием отличается трава *Hedysarum caucasicum* M.Bieb (0,62%). Описано, что содержание мангиферина методом капиллярного электрофореза трех видов рода *Hedysarum* L. составило: *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. – $0,25 \pm 0,006\%$; *Hedysarum grandiflorum* Pall. – $0,14 \pm 0,006\%$; *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss. – $0,045 \pm 0,001\%$. Установлено содержание мангиферина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., которое составило $0,15 \pm 0,003\%$. Отмечено, что полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования надземной части копеечника кавказского, что позволяет рассматривать данный вид в качестве дополнительного сырьевого источника мангиферина. Приведены сведения по разработке методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. методом дифференциальной УФ-спектрофотометрии, приведена валидация методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., описан аминокислотный состав в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Отмечено, что данные исследования представляют интерес в связи с тем, что фенилаланин и пролин являются компонентами биосинтеза ксантонов, что может быть использовано в дальнейшем при составлении комплексной метаболомной характеристики растительного сырья видов рода *Hedysarum* L.

Пятая глава посвящена разработке методик стандартизации и норм качества травы копеечника кавказского. Установлены числовые показатели качества травы *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., такие как влажность, общая зола, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Определено содержание экстрактивных веществ, определены показатели подлинности, методики качественного обнаружения присутствия мангиферина в траве копеечника кавказского методом тонкослойной хроматографии, методики

количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин по сравнению со стандартным образцом мангиферина, приведен анализ элементного состава сырья, который показал, что в траве копеечника кавказского присутствуют макроэлементы: калий, натрий, фосфор, магний, железо, кальций, кремний, а также микроэлементы, такие как цинк, марганец, медь, молибден.

В шестой главе приведены интродукционные исследования видов рода *Hedysarum* L., включающие определение наиболее эффективных способов размножения видов рода *Hedysarum* L, изучение биологических особенностей изучаемых видов как в природных популяциях, так и в условиях интродукции на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН (участок Цудахар, участок Гуниб). Кроме того, проведено изучение ритма сезонного развития видов рода копеечника, составлены феноспектры данных видов.

Диссертация завершена общими выводами и списком литературы. Достоверность выводов подтверждена достаточным объемом представленного материала, анализом полученных данных, результатами статистической обработки.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования. Диссертант непосредственно участвовал в планировании, выполнении экспериментальных исследований, анализе и обобщении полученных результатов, их статистической обработке. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии и выполнении всех этапов исследования: от постановки задач и их реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и их внедрения в практику.

При общей положительной оценке работы Имачуевой Л.Р. возникли некоторые вопросы и замечания:

1. Поясните, почему в литературном обзоре даете подробную характеристику 17 видов копеечника, а для исследования выбрали только три вида: копеечник кавказский, крупноцветковый и дагестанский?

2. На стр. 89-90 в таблице 12 приведены значения суммы ксантонов, но не приведены отклонения или эти опыты Вы делали однократно?

3. В экспериментальной части диссертационной работы (стр.73) даете сравнительную характеристику морфологических признаков исследуемых видов копеечника, аналогичные сведения приведены у Вас и в литературном обзоре, думаю было бы целесообразно исследуемые виды оставить только в экспериментальной части.

4. На стр. 98-99, утверждение о том, что максимальное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин отмечается в траве копеечника кавказского является неоднозначным, так как по результатам данных, приведенных в таблице 18, содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в копеечнике кавказском и копеечнике крупноцветковом с учетом приведенных отклонений одинаково.

5. С чем связано то, что при определении количественного содержания биологически активных веществ в исследуемых видах копеечника какие-то группы БАВ Вы определяли только в копеечнике кавказском (определение мангиферина методом ВЭЖХ, дубильных веществ, макро- и микроэлементов), а, например, содержание аминокислот приводите для трех исследуемых видов копеечника?

6. Почему для разработки методов стандартизации сырья, определения подлинности и норм качества Вами выбран только копеечник кавказский из трех исследуемых видов?

7. В заключении на стр.139 в пункте 3 написано «...Методом дифференциальной УФ-спектрофотометрии проводили с использованием величины оптической плотности стандартного образца мангиферина и величины удельного показателя поглощения мангиферина, установленной нами экспериментально....» непонятно, проводили что?

Необходимо отметить, что указанные замечания носят в основном рекомендательный характер и не влияют на положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Имачуевой Джавгарат Руслановны «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода копеечник (*Hedisarum* L.), произрастающих на территории Северного Кавказа», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием по актуальной теме, в которой содержится решение важной задачи в области фармацевтической химии и фармакогнозии по исследованию перспективных видов лекарственных растений.

По актуальности, объему, научно-методическому уровню, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов данная диссертационная работа соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (в ред. постановления Правительства РФ от 01.10.2018 № 1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее

автор – Имачуева Джавгарат Руслановна – заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв на диссертационную работу Имачуевой Джавгарат Руслановны на тему «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода копеечник (*Hedisarum* L.), произрастающих на территории Северного Кавказа», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, обсужден на заседании кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 9 от «22» апреля 2021г.).

Профессор кафедры фармакогнозии
с курсом ботаники и основ фитотерапии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Башкирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук
(15.00.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия),
профессор

Пупыкина Кира Александровна

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Башкирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
450008, г. Уфа, ул. Ленина д. 3, +7 (347) 272 41 73, rectorat@bashgmu.ru,
<http://bashgmu.ru>

«29» апреля 2021 г.

С отзывом
ознакомлена
19.05.2021г. Усуп

