

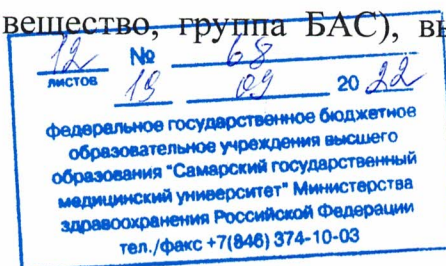
ОТЗЫВ

официального оппонента профессора института биохимической технологии и нанотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов», доктора фармацевтических наук, доцента **Мараховой Анны Игоревны** по диссертации Рязановой Татьяны Константиновны на тему: «Теоретическое и экспериментальное обоснование подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, содержащих биологически активные вещества ароматической и терпеноидной природы», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

1. *Актуальность выполненного исследования*

Лекарственное растительное сырье (ЛРС) и лекарственные растительные препараты (ЛРП) используются с давних времен и являются одними из первых лекарственных средств. Большинство биологически активных соединений (БАС) растительного происхождения отличаются от синтетических лекарственных средств разнообразием и широтой терапевтического действия, меньшим риском развития нежелательных лекарственных реакций и др. В то же время эффективность и безопасность ЛРС и ЛРП обеспечивается только при условии методологически верных подходов к их стандартизации и надлежащей организации процедуры контроля качества.

В настоящее время для контроля качества ЛРС и ЛРП используется комплекс физических, физико-химических, химических и биологических методов анализа, однако при этом актуальной проблемой остаётся выбор анализируемого вещества (индивидуальное вещество, группа БАС), выбор



метода анализа и вещества, в пересчете на которое рассчитывается содержание БАС.

Кроме этого, в фармакопейных статьях и монографиях российской и зарубежных фармакопей не всегда прослеживается соблюдение принципа «сквозной» стандартизации в ряду «лекарственное растительное сырье-растительная фармацевтическая субстанция-лекарственный растительный препарат». Для этих целей необходимо обеспечить унификацию методов анализа БАС в ЛРС и ЛРП на его основе.

Таким образом, актуальным является разработка концепции системного подхода к анализу ЛРС и ЛРП, учитывающая целевое назначение ЛРС, химические и физико-химические характеристики БАС, а также принцип «сквозной» стандартизации ЛРС и ЛРП.

2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Впервые разработана концепция системного подхода к анализу ЛРС и ЛРП, содержащих БАС ароматической и терпеноидной природы. Концепция включает алгоритм выбора метода анализа ЛРС с учетом его целевого назначения, алгоритм разработки методики количественного определения БАС с учетом их физико-химических характеристик, принципы системного подхода к анализу ЛРС и ЛРП. При этом в качестве стандартных образцов в методиках могут быть использованы диагностически значимые вещества, присутствующие в растении, или вещества того же класса БАС с близкими химическими и физико-химическими характеристиками. Необходимость применения и количество наименований стандартных образцов БАС, не присутствующих в растении, должно быть обосновано.

По результатам комплекса фармакогностических исследований ЛРС и ЛРП, содержащих БАС ароматической и терпеноидной природы, разработаны и валидированы новые методики количественного определения

глицирама и ликуразида в корнях солодки и препаратах на их основе, сирингина в ЛРС и ЛРП сирени обыкновенной и элеутерококка колючего, розавина и салидрозида в ЛРС и ЛРП родиолы розовой, арбутина в ЛРС и ЛРП толокнянки обыкновенной и брусники обыкновенной, алоэина в ЛРС и ЛРП алоэ древовидного, изосалипурпозид в ЛРС и ЛРП бессмертника песчаного. Впервые разработаны и валидированы спектрофотометрические методики количественного определения суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин в ЛРС и ЛРП алоэ древовидного, суммы биологически активных фенилпропаноидов в пересчете на элеутерозид В (сирингин) в ЛРС и ЛРП элеутерококка колючего и суммы сапонинов аралии (аралозидов) в пересчете на аралозид А в ЛРС и ЛРП аралии маньчжурской.

Впервые обоснованы методологические подходы к выделению веществ из изучаемых видов ЛРС (листья толокнянки обыкновенной, корни аралии маньчжурской, листья алоэ древовидного и др.). Показано, что одной из важнейших характеристик оценки подлинности и степени чистоты арбутина как стандартного образца являются результаты ^1H -ЯМР-спектроскопии.

Из листьев толокнянки обыкновенной впервые выделен этиловый эфир *n*-дигалловой кислоты, для которого выявлена антибактериальная активность в отношении тестовых культур грамположительных бактерий *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus*, грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Впервые выделенная из листьев толокнянки 1,3,6-тригаллоилглюкоза в дозе 10 мг/кг способствовала значительной стимуляции диуреза ($p = 0,014$) и натрийуреза ($p = 0,015$) в течение 4 ч эксперимента, дополнительно стимулирует калийурез ($p = 0,048$) и креатининурез ($p = 0,003$) в течение 24 ч опыта по сравнению с контрольной группой.

По результатам диссертационной работы получено 9 патентов РФ на изобретения: «Способ получения вещества, обладающего диуретической активностью», «Сироп из смеси аммонийных солей аралозидов», «Сироп из настойки аралии маньчжурской», «Способ получения вещества,

обладающего антибактериальной и противогрибковой активностью», «Сироп из плодов жостера слабительного», «Сироп из листьев сенны остролистной», «Сироп крушины ломкой», «Способ определения суммы сапонинов из корней аралии маньчжурской», «Антиоксидантное средство «Куркумы экстракт густой».

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

Степень достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертационной работе, подтверждается достаточным количеством повторностей экспериментов, применением современных методов исследования, статистической обработкой полученных данных, валидацией разработанных методик анализа, проведенных в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания.

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

Теоретическая значимость диссертационного исследования Рязановой Т.К. заключается в получении новых фундаментальных знаний о методологических подходах к анализу ЛРС и ЛРП, химическом составе некоторых из исследуемых растительных объектов.

Положения концепции и подходы к анализу БАС ароматической и терпеноидной природы могут использоваться при разработке проектов нормативной документации на другие виды ЛРС и препараты на их основе.

Практическая значимость подтверждается тем, что результаты диссертационной работы используются в практической деятельности ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», ЗАО «Самаралектравы», ООО «БЭГРИФ», а также в учебном процессе на

кафедрах фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, управления и экономики фармации, фармацевтической технологии с курсом биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, фармакогнозии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России.

Разработанные проекты фармакопейных статей на СО «Розавин-стандартный образец», «Кверцетин-стандартный образец», «Рутин-стандартный образец», «Дигидрокверцетин-стандартный образец», «Салидрозид-стандартный образец», «Сирингин-стандартный образец» и методики количественного анализа биологически активных соединений в исследуемых ЛРС и ЛРП («Алоэ древовидного листа свежие», «Солодки голой корни», «Родиолы розовой корневища и корни», «Сирени обыкновенной кора», «Толокнянки обыкновенной листья», «Брусники обыкновенной листья», «Аралии маньчжурской корни» и др.) могут быть рекомендованы для включения в следующую редакцию Государственной Фармакопеи Российской Федерации.

Таким образом, результаты проведенных Рязановой Татьяной Константиновной исследований имеют несомненное научно-практическое значение и могут быть использованы в научных исследованиях, учебном процессе и в фармацевтических организациях.

5. Оценка содержания диссертации

Диссертация изложена в традиционной форме и состоит из введения, обзора литературы, 6 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, включающего 98 отечественных и 224 зарубежных источников, а также 25 приложений. Работа содержит 68 таблиц и 76 рисунков.

Во введении содержится описание актуальности диссертационного исследования, представлены цель и задачи, научная новизна и практическая значимость работы, изложены основные положения, выносимые на защиту, приведены сведения о публикациях и апробации работы.

Глава 1 посвящена анализу данных научной литературы на предмет исследований ЛРС и ЛРП, содержащих БАС ароматической и терпеноидной природы. В главе изложены история и актуальные аспекты разработки ЛРС и ЛРП, содержащих БАС ароматической и терпеноидной природы, классификация природных БАС, современные представления о биологической активности и применении в медицине фармакопейных растений, содержащих различные группы БАС. Приведена информация о подходах к фармакопейному анализу сырья фармакопейных растений, содержащих БАС ароматической и терпеноидной природы.

Глава 2 дает характеристику объектов, материалов и методов исследования.

Глава 3 содержит результаты фитохимических исследований ЛРС фармакопейных растений с ведущей группой БАС «Тритерпеновые сапонины», а также приведены результаты исследований по разработке методик качественного и количественного анализа этой группы соединений.

В **главе 4** представлены результаты фитохимических исследований ЛРС фармакопейных растений, содержащих простые фенолы (листья толокнянки обыкновенной, листья брусники обыкновенной), а также исследований по разработке и валидации методик количественного определения арбутина.

В **главе 5** обоснованы методологические подходы к стандартизации и представлены методики анализа ЛРС, содержащего фенилпропаноиды (корневища и корни родиолы розовой, кора сирени, корневища и корни элеутерококка колючего).

В **главе 6** представлены результаты фармакогностических исследований ЛРС фармакопейных растений, содержащих флавоноиды и другие группы

фенольных соединений. Описаны технологические схемы получения нескольких СО (рутина, кверцетина, дигидрокверцетина), подходы к стандартизации цветков бессмертника песчаного, листьев алоэ древовидного.

В главе 7 изложены результаты исследований компонентного состава эфирных масел растительного сырья растений, произрастающих или культивируемых на территории Самарской области, методом хромато-масс-спектрометрии.

В главе 8 на основании представленных в предыдущих главах результатах экспериментальных исследований сформулирована концепция системного подхода к анализу ЛРС фармакопейных растений, содержащих БАС ароматической и терпеноидной природы. Представлены разработанные составы, технологии получения и методики анализа препаратов из изученных видов ЛРС. Описаны результаты изучения фармакологической активности препаратов, индивидуальных соединений или смеси соединений корней аралии маньчжурской, толокнянки обыкновенной, листьев сенны остролистной, коры крушины ломкой и плодов жостера слабительного.

В приложениях представлены в табличном виде в сравнительном аспекте данные о ЛРС, стандартных образцах, используемых при их анализе в Государственной Фармакопее РФ XIV издания и Европейской Фармакопее X издания, видах эфиромасличных ЛРС и фармакопейных требованиях к их качеству, патенты РФ на изобретение № 2671408 «Способ получения вещества, обладающего диуретической активностью», № 2660555 «Сироп из смеси аммонийных солей аралозидов», № 2665163 «Сироп из настойки аралии маньчжурской», № 2665167 «Способ получения вещества, обладающего антибактериальной и противогрибковой активностью», № 2582276 «Сироп из плодов жостера слабительного», № 2582982 «Сироп из листьев сенны остролистной», № 2557929 «Сироп крушины ломкой», № 2591081 «Способ получения суммы сапонинов из корней аралии маньчжурской», № 2650642 «Антиоксидантное средство «Куркумы

экстракт густой», проекты фармакопейных статей «Рутин-стандартный образец», «Кверцетин-стандартный образец», «Дигидрокверцетин-стандартный образец», «Сирингин-стандартный образец», «Розавин – стандартный образец», «Салидрозид – стандартный образец», акты внедрения.

По теме диссертационной работы опубликованы 59 научных работ, в том числе 20 статей в журналах, рецензируемых ВАК Минобрнауки России, из них 13 работ в журналах, индексируемых в международной наукометрической базе данных Scopus. Получено 9 патентов РФ на изобретение, в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV издания включены фармакопейные статьи, разработанные при участии автора: «Черники обыкновенной плоды», «Аронии черноплодной плоды свежие» (раздел «Количественное определение»), «Жостера слабительного плоды» (раздел «Количественное определение»).

Представленную работу отличает целостность проведенных исследований, последовательность и логичность изложенного материала. Диссертационная работа оформлена в соответствии с современными требованиями.

Несмотря на высокую положительную оценку, по диссертационной работе Рязановой Татьяны Константиновны имеется ряд вопросов и замечаний.

1. Почему при оценке нейротропной активности настойки аралии маньчжурской крысы контрольной группы получали эквивалентное количество воды очищенной, а не водно-спиртовой смеси?
2. Экспериментальная часть диссертации сопровождается сведениями теоретического и обзорного характера, которые следовало бы отметить в главе 1 диссертации – обзоре литературы.
3. В образцах сапарала, полученных в ходе исследований, определяли содержание суммы аралозидов в пересчете на аммонийную соль аралозидов А, В и С. В качестве стандарта использовали промышленный образец?

4. На рис. 6 на спектрах поглощения анализируемых образцов отчетливо не виден максимум поглощения при длине волны 510 нм, однако именно эта длина волны выбрана в качестве аналитической. Какое значение оптической плотности наблюдалось при этой длине волны для извлечения из корней аралии маньчжурской после взаимодействия с концентрированной серной кислотой?
5. Не совсем ясно, что значит выражение «с содержанием суммы аралозидов в пересчете на аммонийную соль аралозидов А, В и С с усредненной молекулярной массой более 80 %» (стр. 104). Какая масса была использована в расчетах при приготовлении серии растворов?
6. Почему в методике анализа суммы сапонинов в корнях аралии маньчжурской в качестве раствора сравнения используется только вода и водой проводится разбавление исходного спиртового извлечения? В то же время, в методике определения содержания сапонинов в настойке для разбавления используется спирт этиловый.
7. В методике определения БАС в корнях солодки применялись стандартные образцы ликуразида и глицирама. Являются ли они коммерчески доступными?
8. На стр. 113 указан стандартный образец глицирам, а далее на 114 стр. глицирризиновая кислота, на стр. 116 снова отмечен глицирам. Какое соединение применяли?
9. В корнях солодки предлагается определять, как содержание глицирризиновой кислоты, так и ликуразида. Однако одновременное определение этих 2-х БАС не представляется возможным из-за разницы в условиях анализа. Почему автор в таком случае отказывается от использования 70% спирта этилового для более полной экстракции ликуразида? Тем более, что по предложенной методике не всегда возможна «сквозная» стандартизация по

- ликуразиду. Возможно, следовало бы определять сумму флавоноидов в пересчете на ликуразид, а не индивидуальное соединение?
10. С чем связано повышение оптической плотности после фильтрования извлечения из листьев толокнянки через слой алюминия по сравнению с исходным извлечением (рис. 24)?
 11. Насколько оправдан метод ВЭЖХ для определения арбутина в листьях толокнянки по сравнению с более дешевым методом йодометрии, если содержание арбутина, определенное двумя методами, не сильно различается (11,16 и 10,59% соответственно). Как Вы считаете, почему количество арбутина, определенное методом ВЭЖХ для листьев брусники существенно ниже, чем при йодометрическом титровании?
 12. В промышленных образцах жидких экстрактов родиолы розовой корневищ и корней не обнаружен розавин. Исследовали ли промышленные образцы корневищ и корней родиолы розовой на наличие розавина?
 13. С чем связано то, что для методики количественного анализа элеутерозида В в корневищах и корнях элеутерококка колючего проводили только определение правильности и не рассматривали иные валидационные показатели?
 14. В чем именно заключалась разработка методики количественного определения алоэнина в сырье и препаратах алоэ древовидного, какие параметры подбирались?
 15. На рис. 68 в схеме отмечено, что можно проводить анализ экстрактивных веществ для экстракционных монопрепаратов и комбинированных препаратов. Однако современные тенденции по совершенствованию принципов анализа ЛРС предполагают определение индивидуальных соединений или группы БАС.

Поясните, в каких именно случаях есть необходимость определять экстрактивные вещества.

16. По какой причине в списке литературы диссертации представлены только две работы автора?

17. В диссертации встречаются опечатки, повторы, неудачные выражения.

Отмеченные вопросы и замечания не носят критического характера и не снижают научной ценности диссертационной работы.

6. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Диссертационная работа Рязановой Татьяны Константиновны соответствует паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Содержание автореферата и печатных работ соответствует материалам диссертации.

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

Таким образом, диссертационная работа Рязановой Татьяны Константиновны на тему: «Теоретическое и экспериментальное обоснование подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, содержащих биологически активные вещества ароматической и терпеноидной природы», представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение крупной научной проблемы современной фармакогнозии и фармацевтической химии по обоснованию подходов к стандартизации ЛРС и ЛРП, содержащих биологически активные вещества ароматической и терпеноидной природы.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Рязановой Татьяны Константиновны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Рязанова Татьяна Константиновна, заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Профессор института биохимической технологии и нанотехнологий федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, marakhova-ai@rudn.ru; +7 (499) 936-86-26 доп.: 2317 доктор фармацевтических наук, доцент (14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия)

Марахова Анна Игоревна

« 12 » 09 2022 г.

Подпись Мараховой Анны Игоревны
удостоверяю Ученый секретарь Ученого совета
РУДН, профессор



В.М. Савчин

С отзывом ознакомлена

19.09.2022г.