

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА,

главного научного сотрудника отдела химии природных соединений
федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и
ароматических растений», доктора фармацевтических наук, профессора РАН
Зилфикарова Ифрата Назимовича, на диссертационную работу
Зименкиной Натальи Игоревны «Сравнительное фармакогностическое
исследование некоторых представителей рода Орех (*Juglans* L.)»,
представленную в диссертационный совет 21.2.061.06 при федеральном
государственном бюджетном образовательном учреждении высшего
образования «Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной
специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования

В современных условиях развития медицинского и фармацевтического знания вопросы лекарственного обеспечения приобретают одно из первостепенных значений. Следовательно, существует необходимость в создании лекарственных средств, обладающих эффективностью и безопасностью. Лекарственное растительное сырье (ЛРС) и препараты на его основе в данном контексте не потеряли своей актуальности и занимают прочные позиции при лечении широкого спектра заболеваний, особенно хронических. Указанные основания обуславливают необходимость углубленного фармакогностического и фармакологического изучения малоизвестных в фармацевтической практике растений, а также поиска новых источников природных биологически активных веществ (БАВ).

В этом отношении интерес представляют виды рода Орех (*Juglans* L.) сем. ореховые (*Juglandaceae*).

Сырье ореха грецкого (*Juglans regia* L.), ореха черного (*Juglans nigra* L.), ореха серого (*Juglans cinerea* L.) широко применяется в отечественной и зарубежной народной медицине. В то же время растения рода Орех не являются официальными, и их доброкачественность не регламентируется нормативной документацией. На данный момент только Фармакопея Китайской Народной Республики нормирует основные показатели качества плодов ореха грецкого, тогда как для других видов сырья разработка фармакопейных статей в настоящий момент еще ведется. Данный факт свидетельствует о востребованности научных исследований в области изучения химического состава и разработки подходов к стандартизации сырья представителей рода *Juglans* L. российскими и иностранными научными деятелями. Анализ научных данных относительно фармакогностического исследования указанного растительного сырья позволил диссертанту выявить ряд вопросов, требующих дальнейшего изучения для рассмотрения растительного сырья в качестве фармакопейного

Лист №	29
№	16
Дата	05.02.22
«Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации	
Тел./факс: 8 (846) 333-29-76	

вида. Необходимы более углубленные фитохимические исследования, исследования в области стандартизации и разработки отечественной нормативной документации, регламентирующей качество лекарственного растительного сырья с позиций требований к современному фармацевтическому анализу.

Весь вышеизложенный комплекс проблем определяет актуальность проведенного Н.И. Зименкиной исследования.

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Для решения поставленных задач диссертантом проведено сравнительное фитохимическое исследования коры, листьев и околоплодников трех видов, представителей рода Орех: ореха грецкого, ореха черного и ореха серого с целью дальнейшего исследования химического состава, прогноза биологической активности и разработки подходов к оценке доброкачественности перспективных видов ЛРС.

Диссертационная работа выполнена с использованием всех необходимых методов анализа: химических, физико-химических (хроматографических и спектральных), технологических и фармакологических. С использованием колоночной жидкостно-адсорбционной хроматографии на силикагеле и полиамиде из коры ореха черного диссертантом впервые получены следующие соединения: мирицитрин (3-О- α -L-рамнопиранозид 3,5,7,3',4',5'-гексагидроксифлавоны), его агликон мирицетин (3,5,7,3',4',5'-гексагидроксифлавоны), сакуранин (сакуранетин-5-О- β -D-глюкопиранозид; 5-О- β -D-глюкопиранозид 5,4'-дигидроски-7-метоксифлаванона) и его агликон сакуранетин (5,4'-дигидроски-7-метоксифлаванон). Кроме того, выделен юглон (5-гидрокси-1,4-нафтохинон), уже описанный для коры ореха черного. Из листьев ореха черного также выделены и идентифицированы кверцитрин и его агликон кверцетин, мирицитрин и мирицетин, этоксиюглон. Необходимо отметить, что соискателем впервые выделены и идентифицированы пять компонентов из представленных соединений. Для всех выделенных веществ с использованием современных спектральных методов анализа установлены химические структуры и изучены физико-химические характеристики. Экспериментально обосновано использование мирицитрина в качественной и количественной оценке коры и листьев ореха черного.

Автором предложены методики качественного и количественного анализа коры и листьев ореха черного, основанные на определении действующих веществ (флавоноидов) методами тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра (прямой и дифференциальный вариант анализа), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для листьев ореха черного установлено оптимальное время заготовки сырья с учетом максимального накопления БАВ. Новизна полученных диссертантом результатов подтверждается патентами Российской Федерации № 2747417 «Способ количественного

определения суммы флавоноидов в коре ореха черного» и № 2747482 «Способ количественного определения суммы флавоноидов в листьях ореха грецкого».

Зименкиной Н.И. проведено морфолого-анатомическое исследование коры и листьев ореха черного, в том числе с применением метода люминесцентной микроскопии, что позволило выявить взаимосвязь характера свечения тканей с содержанием основных вторичных метаболитов.

На основании проведенных фитохимических исследований автором предложены новые суммарные экстракционные препараты из исследуемого ЛРС – «Ореха черного коры настойка» и «Ореха черного листьев настойка». Разработаны методики оценки качества разработанных препаратов по содержанию флавоноидов с использованием методов тонкослойной хроматографии (ТСХ), спектрофотометрии и ВЭЖХ.

По результатам диссертационного исследования Зименкиной Н.И. подготовлены проекты фармакопейных статей (ФС) на ЛРС – ФС «Ореха черного кора» и ФС «Ореха черного листья».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения соответствуют паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: 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 научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Положения и выводы в диссертационной работе Зименкиной Н.И. основываются на достаточном объеме экспериментальных данных, достоверность полученных результатов обеспечивается соответствующим выбором современных методов исследования и статистической обработкой аналитических результатов работы в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания с помощью программ STATISTICA 10.0 (Statsoft Inc., USA) и ChemMetr 1.0.

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

Полученные автором результаты комплексного фармакогностического исследования, в частности методики качественного и количественного анализа коры и листьев ореха черного и препаратов на их основе, могут быть использованы в практической фармации. Разработанные методики стандартизации указанных видов ЛРС включены в проекты ФС «Ореха черного кора» и «Ореха черного листья».

На сегодняшний день результаты диссертационного исследования Зименкиной Н.И. имеют несомненное научно-практическое значение в области фармакогнозии и фармацевтической химии, что позволило внедрить их в учебный процесс и научно-исследовательскую работу профильных

кафедр Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, а также в работу ряда фармацевтических предприятий ЗАО «Самаралектравы», ООО «Самарская фармацевтическая фабрика», ООО «Лекарь», ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области».

Результаты диссертационной работы также могут быть использованы в работе других фармацевтических предприятий и центров контроля качества лекарственных средств для целей стандартизации ЛРС и лекарственных растительных препаратов, содержащих флавоноиды.

Личный вклад автора

Вклад Зименкиной Н.И. является определяющим и заключается в личном участии в формулировке цели исследования и постановке задач, сборе и анализе литературных данных, планировании экспериментальной работы, выполнении экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов. Личный вклад автора составил не менее 90 %.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 231 странице печатного текста и состоит из введения, обзора литературных данных, описания объектов и методов исследования, пяти экспериментальных глав с выводами, общего заключения, практических рекомендаций, списка литературы; некоторые материалы вынесены в приложения. Работа содержит 39 рисунков и 57 таблиц. Список цитируемой литературы включает 184 библиографических источника, из которых 75 – зарубежных авторов.

В разделе «Введение» обоснованы актуальность темы исследования, степень ее разработанности, цель и задачи работы, основные положения, выносимые на защиту, отмечена научная новизна, теоретическая и практическая значимость проведенного исследования и их внедрение, приведены сведения о количестве публикаций и местах апробации работы.

Глава 1 посвящена обзору литературных данных по изучаемой проблематике. Глава содержит таксономическую и ботаническую характеристику видов рода Орех (*Juglans* L.), данные по химическому составу различных видов растительного сырья, фармакологическим эффектам и особенностям применения в медицине, материалы по основным подходам к стандартизации трех обсуждаемых видов растений.

В *главе 2* описаны объекты исследования (сырье, препараты) и методы исследования (микроскопические, химические, физико-химические, технологические, фармакологические).

Глава 3 посвящена результатам фитохимического исследования различных органов ореха грецкого, ореха черного и ореха серого. Кроме того, описывается процесс выделения, очистки и определения структуры индивидуальных биологически активных веществ коры и листьев ореха черного. Глава содержит результаты исследования химического состава коры и листьев ореха черного методом ВЭЖХ.

В *главе 4* приведены результаты исследований по разработке методик стандартизации коры и листьев ореха черного, а также выявлению динамики

накопления БАС в листьях ореха черного и определению оптимального времени сбора. В главе обсуждаются числовые показатели, рекомендуемые для коры и листьев ореха черного.

В главе 5 определены основные морфолого-анатомические особенности коры и листьев ореха черного.

Глава 6 содержит результаты исследований по разработке настоек коры и листьев ореха черного. Разработанные методики контроля качества растительного сырья адаптированы для указанных растительных препаратов.

Глава 7 посвящена определению фармакологической активности индивидуальных доминирующих соединений коры и листьев ореха черного.

Каждая глава диссертации завершается выводами, которые полностью отражают содержание главы.

Приложения содержат ЯМР- и масс-спектры индивидуальных соединений, акты внедрения результатов диссертационной работы, патент РФ на изобретение «Способ количественного определения суммы флавоноидов в коре ореха черного», патент РФ на изобретение «Способ количественного определения суммы флавоноидов в листьях ореха грецкого», проекты фармакопейной статьи на новые виды лекарственного растительного сырья.

Полученные автором результаты диссертационного исследования могут быть использованы в учебном процессе профильных кафедр медицинских и фармацевтических вузов, а также в рабочем процессе ряда фармацевтических предприятий.

Основные результаты исследования представлены в 30 научных работах, из которых 6 статей опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и 4 статьи в журналах, входящих в международные базы цитирования SCOPUS. Диссертантом разработано 2 патента РФ на изобретение.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует диссертации, отражает ее основные положения и выводы, соответствует заявленной научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Зименкиной Н.И. выполнена на современном научном уровне, характеризуется теоретической и практической значимостью.

При общей положительной оценке диссертационной работы Зименкиной Н.И. необходимо отметить некоторые замечания и задать возникшие вопросы:

1. При изложении материала автором недостаточно внимания уделено расчету удельного показателя поглощения мирицитрина, по которому определяется количественное содержание суммы флавоноидов. В частности,

необходимо было отразить данные статистической обработки полученных значений. Был ли данный показатель установлен в тех же условиях методики, что и определение флавоноидов в ЛРС, а именно в присутствии комплексообразователя алюминия хлорида?

2. В ходе количественного определения флавоноидов, как в суммарном выражении методом дифференциальной спектрофотометрии, так и индивидуальных веществ методом ВЭЖХ, ошибка, согласно представленным в таблицах данным, составляет в среднем более 8%. Чем можно объяснить такие высокие значения стандартных отклонений?

3. Какова, ориентировочно, сырьевая база коры и листьев ореха черного, выбранных в качестве основных объектов исследования, в целом по России и в Самарской области?

4. Известно, что некоторые виды сырья представителей рода Орех применяются в качестве противопаразитарных средств. Можно ли предположить наличие данного свойства у разработанных настоек из коры и листьев ореха черного? Что известно о нейротропных свойствах суммарных препаратов из ЛРС представителей данного рода, обнаруженных для доминирующего флавоноидного гликозида мирицитрина?

5. Изучение проектов ФС на кору и листья ореха черного, представленных в приложении, выявило несогласованность формулировки раздела «Подлинность» (УФ-спектроскопия) и методики, изложенной в разделе «Количественное определение». Возник также вопрос, для чего потребовалось включать в проект ФС два метода количественного определения?

В тексте диссертации обнаружены опечатки, стилистические неточности и не вполне удачные формулировки, которых, впрочем, немного, и они не снижают ценности работы и общей положительной оценки результатов диссертационного исследования.

Необходимо отметить при этом, что сделанные замечания носят в основном рекомендательный характер, не влияют на положительную оценку, которую заслуживает выполненная работа, а возникшие вопросы могут быть разрешены в ходе дальнейших исследований.

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

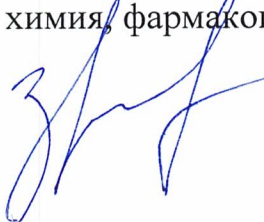
Диссертационная работа Зименкиной Натальи Игоревны на тему: «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых представителей рода Орех (*Juglans* L.)», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи в области фармацевтической химии и фармакогнозии по обоснованию использования некоторых видов рода *Juglans* L. в качестве лекарственного растительного сырья. В работе проведены результаты

сравнительного фармакогностического исследования указанного сырья, обоснованы параметры его доброкачественности.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановления Правительства РФ № 426 от 20.03.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Зименкина Наталья Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Главный научный сотрудник отдела химии природных соединений федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР, 117216, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1, тел.: 8(495)3885509, e-mail: vilarnii@mail.ru; dagfarm@mail.ru), доктор фармацевтических наук (специальность 15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор РАН

 Зилфикаров Ифрат Назимович

«11» мая 2022 г.

Подпись И.Н. Зилфикарова заверяю.
Ученый секретарь ФГБНУ ВИЛАР,
кандидат фармацевтических наук

 О.А. Семкина



С отзывом ознакомлена 16.05.2022 