

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

заведующего кафедрой фармакогнозии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, доцента **Белоноговой Валентины Дмитриевны** по диссертации **Савельевой Анны Евгеньевны** на тему; « Фармакогностическое исследование бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.)», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

1. Актуальность выполненного исследования

В настоящее время интерес к созданию новых эффективных и безопасных лекарственных растительных препаратов с широким спектром действия, мягким терапевтическим эффектом и более низкой стоимостью, возрастает. Вместе с этим, изучение новых видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) и оценка их качества является актуальной задачей современной фармации.

Особый интерес в этом отношении представляют растения рода Бархатцы (*Tagetes* L.) семейства Астровые (*Asteraceae*), или Сложноцветные (*Compositae*).

Представленная на отзыв диссертационная работа Савельевой А.Е. посвящена фармакогностическому исследованию, стандартизации различных видов сырья бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.) и обоснованию использования их в качестве источника новых эффективных лекарственных растительных препаратов, целесообразности применения в фармацевтической и медицинской практике нового вида ЛРС « Бархатцев отклоненных цветки».

Тема диссертационной работы является, несомненно, актуальной, поскольку бархатцы отклоненные не являются в настоящее время

11	№ 19.30/02-23-27
листов	5 05 2023
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации	

фармакопейным видом. Лекарственных препаратов в России на основе сырья данного растения не зарегистрировано. В литературе для цветков бархатцев описаны такие фармакологические свойства, как антимикробное действие, ранозаживляющая и антиоксидантная активность. Известно, что растения рода Бархатцы являются источником таких биологически активных соединений, как: флавоноиды, простые фенолы, эфирное масло, витамины (каротиноиды). В этой связи, бархатцы отклоненные представляют интерес, как потенциальное лекарственное растение.

В диссертационном исследовании Савельевой А.Е., представлено решение одной из задач современной фармацевтической науки, как разработка методик анализа и сквозная стандартизация от лекарственного растительного сырья до препаратов на его основе, что позволит расширить ассортимент лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации.

2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

В ходе сравнительного морфолого-анатомического исследования определены основные морфолого-анатомические диагностические признаки соцветий бархатцев отклоненных методами световой и люминесцентной микроскопии.

В ходе изучения химического состава соцветий бархатцев отклоненных впервые выделены такие вещества, как β -амирин, 3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавонон (6-метоксикемпферол) и его гликозид – 7-O- β -D-глюкопиранозид 3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавонона.

Из травы бархатцев отклоненных впервые выделены 3-O- α -L-рамнопиранозид-7-O- α -L-рамнопиранозид 3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавонона, 3-O- β -D-ксилопиранозид-7-O- α -L-рамнопиранозид 3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавонона, 3-O- β -D-ксилопиранозид-7-O- α -L-рамнопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавонона, кемпферол (3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавонон), кверцитрин (3-O- α -L-рамнопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавонона),

изокверцитрин (3-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3¹,4¹-пентагидроксифлавона), а также 3-О-β-D-глюкопиранозид лупеола и 3-О-β-D-глюкопиранозид β-амирина. Для перечисленных веществ были описаны спектральные характеристики ¹H-ЯМР- и ¹³C-ЯМР-спектров, получены результаты масс-спектрометрического анализа.

Впервые разработаны методики проведения ТСХ-анализа соцветий бархатцев отклоненных, количественного анализа суммы флавоноидов в соцветиях бархатцев отклоненных в пересчете на патулитрин и абсолютно сухое сырье, определения содержания патулитрина в соцветиях бархатцев отклоненных методом ВЭЖХ.

Проведена стандартизация бархатцев отклоненных цветков, разработаны показатели качества, и оформлен проект фармакопейной статьи на новый вид ЛРС «Бархатцев отклоненных цветки».

Проведено исследование острой токсичности, нейротропной и диуретической активности густого экстракта из соцветий бархатцев отклоненных, а также выделенных из данного вида сырья индивидуальных веществ.

Научная новизна диссертационных исследований Савельевой А.Е. подтверждена патентом на изобретение – «Способ количественного определения суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных»

Достоверность полученных результатов базируется на применении современных методик анализа и статистической обработки материала в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ XIV издания; в использовании достаточного количества экспериментального материала, обеспечивающего репрезентативность выборок. Исследование проводили с использованием современных методов исследования, таких как цифровая и люминесцентная микроскопия, различные виды хроматографий (тонкослойная, колоночная, высокоэффективная жидкостная), УФ-спектрометрии, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии, фармакологического метода.

Математическую обработку полученных данных осуществляли с применением программного обеспечения в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации XIV издания.

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

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, базируется на достаточных по объему экспериментальных данных и количеству материала, современных методах исследования, корректностью обработки информации, использования актуальных и проверенных источников информации. Обработка результатов исследований проведена с использованием математических методов анализа данных.

Следует отметить, что автором проведен большой объем экспериментальной диссертационной работы.

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

По результатам диссертационного исследования разработан проект фармакопейной статьи «Бархатцев отклоненных цветки».

Полученные автором результаты представляют интерес для внедрения в учебный процесс по курсам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия» медицинских и фармацевтических вузов, а также в научных исследованиях лекарственного растительного сырья содержащего фенольные соединения.

Разработанные сквозные унифицированные методики качественного и количественного исследования бархатцев отклоненных цветков, густого экстракта могут использоваться фармацевтическими предприятиями и центрами по контролю качества лекарственных средств.

Результаты диссертационного исследования используются в научном и учебном процессе: кафедр Института фармации Самарского государственного

медицинского университета (акты внедрения от 02.03.2022, 14.09.2022 и 15.09.2022 гг.), разработанные методики анализа соцветий и травы *Tagetes patula* L. апробированы и используются в производственных процессах на предприятиях ООО «Лекарь» и ООО «Самарская фармацевтическая фабрика», ЗАО «Самаралектравы», ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» (акты внедрения от 27.09.2022, 22.02.2022 и 02.03.2022) (Приложение № 2).

5. Личный вклад автора.

Все результаты исследований, описанные в диссертационной работе, были получены автором. По результатам анатомо-гистологического анализа установлены диагностические признаки сырья бархатцев отклоненных. Проведено фитохимическое исследование соцветий и оставшейся после их сбора надземной части. Выделены и идентифицированы 17 индивидуальных веществ из изученных объектов.

Изучен компонентный состав соцветий и травы бархатцев отклоненных. Разработаны методики качественного и количественного анализа для данного вида сырья и реализовано сравнительное исследование содержания групп действующих веществ в различных сортах *Tagetes patula* L.

Изготовлен густой экстракт соцветий бархатцев отклоненных, который проверен на острую токсичность, и для которого проведены опыты по определению фармакологической активности. На наличие диуретического действия изучены выделенные из соцветий флавоноиды – патулетин и патулитрин, последний также исследован на наличие нейротропной активности.

Разработан проект фармакопейной статьи на новый вид ЛРС «Бархатцев отклоненных цветки».

6. Связь задач исследования с планами научно-исследовательских работ.

Выполнение диссертационной работы осуществилось с учетом плана научно-исследовательских работ Самарского государственного медицинского университета, а именно в рамках выполнения темы НИОКР: «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (регистрационный номер: АААА-А19-119051490148-7, Дата регистрации: 14.05.2019 г.).

7. Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Основные положения, описанные в диссертационном исследовании, соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) по следующим направлениям исследования:

– «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»;

– «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления»;

– «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».

8. Апробация работы.

Полученные в результате диссертационного исследования данные были представлены на симпозиумах, научных и научно-практических

конференциях различных уровней (областного, всероссийского и международного): X и XI международные симпозиумы «Фенольные соединения: свойства, активность, инновации» и «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (г. Москва, 2018 и 2022 гг.), Научно-практическая конференция с международным участием «Аспирантские чтения» (г. Самара, 2020, 2021 и 2022 гг.), Международные научные конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения», «90 лет - от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы» и «От биохимии растений к биохимии человека» (г. Москва «ВИЛАР», 2020, 2021 и 2022 гг.), Международная научно-практическая конференция «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (г. Томск, 2021 г.), Всероссийская научно-практическая онлайн-конференция с международным участием «Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы», посвященная 50-летию фармацевтического образования СамГМУ (г. Самара, 2021 г.), Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Природные соединения и здоровье человека» (г. Иркутск, 2022 г.).

9. Объем и структура работы.

Диссертационная работа построена по традиционному принципу. Составляет 160 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав собственного исследования, заключения, практических рекомендаций, списка литературы, состоящего из 120 источников, из которых 65 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 45 рисунками.

Во введении обоснована актуальность темы, приведены цель и задачи диссертационной работы, раскрыта новизна и практическая значимость экспериментальных исследований, обозначены положения, выносимые на защиту.

Глава 1 посвящена литературному обзору данных о современном состоянии исследований представителей рода Бархатцы, в которой структурирована и резюмирована информация о химическом составе изучаемых растений, фармакологическому действию, а также применению в народной медицине.

В главе 2 описаны объекты и используемые методы исследования, методики химического, физико-химического изучения лекарственного сырья и индивидуальных веществ.

В главе 3 представлены результаты морфолого-анатомического исследования цветков, обертки соцветий бархатцев отклоненных, с использованием цифровых микроскопов и люминесцентного микроскопа.

В главе 4 приведены результаты фитохимического исследования и идентификации биологически активных веществ соцветий и травы бархатцев отклоненных.

В главе 5 отражены результаты исследований по разработке унифицированных методик стандартизации различных видов сырья бархатцев отклоненных.

Глава 6 посвящена изучению фармакологической активности густого экстракта соцветий и индивидуальных веществ из них.

Основные положения диссертации отражены в 19 печатных работах, из них 1 статьи в журнале, индексируемом в Международной базе Scopus и 8 статей – в журналах, включенных ВАК в перечень рецензируемых научных изданий, в том числе 7 - в журналах, включенных в МБД. Получен патент РФ на изобретение (Приложение № 1).

Изучение диссертационной работы Савельевой Анны Евгеньевны с полным основанием позволяет заключить, что полученные автором научные результаты характеризуются внутренним единством и взаимосвязью, обеспеченны логикой планирования, а также способом его изложения. Проведенные исследования были направлены на достижение основной цели

разработке подходов к стандартизации различных видов сырья бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.) и обоснование использования их в качестве источника новых эффективных лекарственных растительных препаратов – Задачи для достижения поставленной цели определили закономерный ход и логику научных исследований автора.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с современными требованиями, материал хорошо и последовательно изложен.

Вместе с тем, несмотря на общую положительную оценку, по диссертационной работе Савельевой Анны Евгеньевны имеется ряд вопросов и замечаний.

1. При работе над темой диссертационного исследования Вами прорабатывались материалы литературных источников по исследованию бархатцев другими учеными, в том числе Подгорной Ж.В., Червонной Н.М., в чем Вы видите отличие и преимущества Ваших исследований?

2. Исследования БАВ для травы бархатцев проводилось после удаления соцветий, или вместе с соцветиями? Данный вопрос возник из актуальности, где Вы указываете, что оставшаяся после сбора соцветий, надземная часть является малоизученной.

3. Вами установлено, что флавоноидный состав извлечений из травы отличается от извлечений из соцветий бархатцев отклоненных, извлечение готовилось из травы без соцветий?

4. Изучался ли Вами состав БАВ по отдельным органам растения?

5. На рисунках 2, 3, 9, 10, 11 анатомического строения не указано увеличение микроскопа.

6. Имеются опечатки и несогласованность в предложениях на страницах 7, 12, 24, 26, 27, 64, 65, 80.

Однако, указанные замечания не принципиальны, вопросы носят уточняющий характер, и не снижают ценности и актуальности диссертационной работы по расширению ассортимента лекарственного

растительного сырья, его стандартизации, получению субстанций для препаратов растительного происхождения.

Диссертационная работа является законченным научным исследованием, написана литературным языком с использованием современных научных терминов, изложена последовательно и логично. Диссертация завершается заключением, в котором отражены основные результаты исследования, соответствующие поставленной цели и задачам.

10. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата Савельевой Анны Евгеньевны полностью соответствует основным положениям и выводам диссертации. Диссертационная работа Савельевой А.Е. соответствует паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

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

Таким образом, диссертационная работа Савельевой Анны Евгеньевны «Фармакогностическое исследование бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.)» представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармацевтической науки по изучению лекарственного сырья растений рода Бархатцы, выделению биологически активных соединений из травы и соцветий, разработке и обоснованию целесообразности применения сквозных унифицированных методик качественного и количественного определения изучаемого сырья и субстанций на его основе.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Савельевой

Анны Евгеньевны «Фармакогностическое исследование бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.)» соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ № 1690 от 26.09.2022), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Савельева Анна Евгеньевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 г.), необходимых для работы диссертационного совета 21.2.061.06.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой фармакогнозии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук (15.00.02 - Фармацевтическая химия и
фармакогнозия), доцент
614990, Российская Федерация, Пермский край,
г. Пермь, ул. Полевая, д. 2.
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России
Телефон: 8 (342) 238-43-38,
e-mail: belonogova@pfa.ru

Бел
Белогова Валентина Дмитриевна

« 26 » апреля 2023 г.

Подпись *Белогова В. Д.*
заверяю *А. В. Рудова*
(начальник отдела кадров)

26.04.2023



С отзывом ознакомлена 05.05.2023 А.