

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации *Шамилова Арнольда Алексеевича* на тему: «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации некоторых видов родов *Arctostaphylos* Adans., *Vaccinium* L., *Prunella* L. как потенциальных источников фенольных соединений и перспективы их использования в фармации», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Важнейшей задачей современной фармацевтической отрасли является разработка и внедрение отечественных аналогов лекарственных растительных препаратов (ЛРП), а также поиск эффективных путей использования лекарственных растений (ЛР) и растительного сырья (ЛРС) в соответствии с принципами научной медицины. В связи с этим существуют реальные возможности успешного развития стратегии фармацевтической отрасли в Российской Федерации до 2030 года благодаря значительному прогрессу в области изучения химического состава лекарственных растений и их фармакологических свойств. В этой связи является актуальным внедрение в отечественную медицинскую практику новых видов ЛРС и продуктов их переработки, при этом расширение ассортимента фитопрепаратов требует совершенствования системы стандартизации и контроля их качества.

В ГФ РФ XIV издания для определения подлинности ЛРС активно используются хроматографические методы, а также различные методы макро- и микроскопии. При определении качества сырья в разделе «Испытания» введен сепарационный метод анализа – ВЭЖХ, который позволяет определить доминирующий компонент. Современные высокоселективные аналитические приборы позволяют ученым установить химический профиль лекарственных растений, обосновать новые подходы к стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих разные классы веществ, предложить новые современные методики анализа давно изученных объектов. Точное определение БАС растительных объектов позволяет адекватно выбирать методику стандартизации, основное по содержанию соединение как вещество для определения подлинности вида и зачастую рода. Полные данные о химическом составе ЛРС позволяют прогнозировать фармакологическую активность ЛРП и впоследствии учитывать это при разработке технологии возможной лекарственной формы. Речь идет о разных этапах - начиная от глубокого фитохимического анализа и завершая конечным продуктом – лекарственным препаратом.

Диссертационная работа Шамилова А.А. посвящена актуальной проблеме - разработке методологического подхода к стандартизации фармакопейных и нефармакопейных видов ЛРС (на примере видов родов *Arctostaphylos* Adans., *Vaccinium* L. и *Prunella* L.), содержащего преимущественно фенольные соединения (флавоноиды, фенилпропаноиды, простые фенолы), с последовательным применением современных

инструментальных возможностей, а также обосновать объективные показатели качества лекарственного сырья, содержащих данную группу БАС.

Автором на основании результатов, полученных при выполнении комплексного исследования, впервые предложен методологический подход (в виде алгоритма) к стандартизации ЛРС, содержащего в качестве основной группы БАС фенольные соединения. В основе методологии лежит научное обоснование критериев подлинности и качества ЛРС, а также сочетание современных методов исследования, используемых в фармацевтическом анализе, которые позволяют определить химический и спектральный профиль исследуемых видов сырья. Впервые с использованием разных видов микроскопического анализа (стерео-, люминесцентная микроскопия, микроскопия в проходящем свете) определены показатели подлинности ЛРС, заключающиеся в комплексе диагностических признаков: для родов *Arctostaphylos* Adans., и *Vaccinium* L. *Prunella* L. по наличию и характеру люминисценции на листовой пластинке трихом, млечников, сети жилок, черешка и кутикулы, а также анатомо-диагностических признаков дополнительно черешка листа для всех исследуемых видов ЛРС, для клюквы болотной – побегов и плодов и для видов черноголовки – стеблей, цветков и семян. Впервые для исследуемых видов предложен метод ТСХ для внесения в раздел ГФ РФ на ЛРС «Определение основных групп биологически активных веществ», предусматривающий в качестве СО диагностическое, доминирующее соединение.

Впервые для исследуемых видов автором предложен метод секвенирования генома как альтернативный и объективный метод, с помощью которого были выявлены внутривидовые участки ДНК. Впервые для исследуемых видов предложена схема выделения фенольных соединений и полисахаридного комплекса (водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ) с детальным установлением их компонентного состава. Впервые изучен белковый (в том числе аминокислотный) и элементный состав. Для всех образцов, заготовленных во флоре Северного Кавказа, фитохимический анализ проведен впервые.

Из листьев брусники обыкновенной выделены 27 соединений, 3 из которых являются новыми – 2',6'-ди-О-кофеил-арбутин (вакцинизид А), кверцетин-3-О-{2''-О-(3'''-гидрокси-3'''-метилглутароил)}- α -L-рамнопиранозид (вакцинизид В) и кверцетин-3-О-{2''-О-(3'''-гидрокси-3'''-метилглутароил)-4''-О-(3''''-гидрокси-3''''-метилглутароил)}- α -L-рамнопиранозид. Из побегов данного растения выделено 17 соединений, 3 из которых являются новыми: катехин-О-гликозидами, (-)-эпикатехин-3-О- α -L-рамнопиранозид (вакцинизид D), (+)-катехин-3-О-{4''-О-(3'''-гидрокси-3'''-метилглутароил)}- α -L-рамнопиранозид (вакцинизид E) и (+)-катехин-3-О-(2'',4''-ди-О-галлоил)- α -L-рамнопиранозид (вакцинизид F). Впервые из травы черноголовки обыкновенной, черноголовки крупноцветковой и черноголовки разрезной, заготовленной во флоре Северного Кавказа, было выделено 18 соединений, 1 из которых является новым - кверцетин-3-О-(4''-ксилозил-6''-рамнозил)-глюкозид.

Впервые для полисахаридного комплекса (ВРПС и ПВ), выделенного из исследуемых объектов, определены физико-химические константы (средняя молекулярная масса, изоэлектрическая точка, коэффициент распределения, поверхностная активность, сорбционная способность). Впервые для всех исследуемых видов ЛРС были разработаны, валидированы и предложены методики количественного определения суммы фенологликозидов, фенолокислот и флавоноидов (УФ- спектроскопия) и основного по содержанию компонента в сумме (метод КЭ). Впервые определены для исследуемых видов ЛРС (за исключением толокнянки обыкновенной листьев, брусники обыкновенной листьев) режимы сушки, показатели качества сырья и сроки годности. Впервые для внесения в ФС ГФ РФ XIV издания на толокнянку обыкновенной листья и брусники обыкновенной листья предложена спектрофотометрическая методика (взамен титриметрического метода) определения арбутина. Впервые разработаны проекты ФС на сырье «Черники листья», «Голубики обыкновенной листья», «Клюквы болотной побеги» и «Черноголовки трава». Впервые проведен первичный скрининг извлечений, полученных из исследуемых видов ЛРС с использованием различных экстрагентов, таких как вода очищенная, спирт этиловый 40%, спирт этиловый 70% и спирт этиловый 96%. Впервые в результате фармакологических исследований был сделан вывод, что извлечения из вышеперечисленных образцов обладают поливалентным профилем активности, зависящим, прежде всего, от выбора экстрагента и, соответственно, извлекаемой группы веществ.

Научная новизна исследования подтверждена патентом РФ на изобретение № 2794752 (от 24.04.2023) «Биологически активная добавка, обладающая актопротекторной активностью».

Проведенные исследования Шамиловым А.А. некоторых видов рода *Arctostaphylos* Adans., *Vaccinium* L. и *Prunella* L. перспективны для дальнейшего внедрения в медицинскую практику в качестве ЛРС источников, содержащих в качестве ведущей группы БАС - фенольные соединения. Данные исследования будут способствовать увеличению сырьевой базы за счет близкородственных видов растений, а также расширению номенклатуры эффективных отечественных лекарственных препаратов.

Получены новые сведения по химическому составу исследуемых объектов. В результате проведенных исследований разработано 6 проектов ФС: «Толокнянки обыкновенной листья», «Брусники обыкновенной листья», «Черники листья», «Голубики обыкновенной листья», «Клюквы болотной побеги» и «Черноголовки травы», предоставленные в компанию «Марьян Луг» ИП Повышева.

В ходе исследования автором были разработаны методики определения подлинности и качества ЛРС, а также обоснованы предельные значения показателей качества для изучаемых объектов «Толокнянки обыкновенной листья», «Брусники обыкновенной листья». Данные результаты вошли в проекты ФС, которые внесены в ГФ РФ XIV издания. Также установлены нормы показателей качества, которые вошли в проекты ФС на «Черники

листья», «Голубики обыкновенной листья», «Клюквы болотной побеги» и «Черноголовки травы» (компания «Марьин Луг» ИП Повышева). На все вышеперечисленные виды ЛРС разработаны инструкции по сбору и сушки, которые утверждены в Перкальском дендрологическом парке Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (БИН РАН).

Результаты диссертационного исследования находят применение в учебной работе, используются в учебном процессе на кафедре фармацевтической химии и фармацевтической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», а также для входного контроля качества ЛРС на фармацевтическом производстве ООО «КОМПАНИЯ «ДЕКО».

Предложенный автором методологический подход, включающий в себя ряд методов и методик, позволяющих избежать ошибки при заготовке и установлении подлинности производящего растения и его сырья, а также рационально, и обосновано подходить к выбору критериев методов качественного и количественного анализа при разработке стандартизации ЛРС, содержащего фенольные соединения. Методология, представленная в виде алгоритма, позволяет определять подлинность как близкородственных, так и гибридных форм растений с возможностью привлечения в качестве дополнительного метода ДНК-штрихкодирование. Результаты фитохимического исследования, определения основного состава и установления доминирующего компонента в смеси фенольных соединений позволяют совершенствовать существующие фармакопейные методики, а также разрабатывать новые методики для впервые введенных проектов ФС на новый вид сырья. При этом в одной пробоподготовке определять методом ТСХ фармакопейный показатель «Определение основных групп биологически активных веществ», «Количественное определение» по сумме веществ (УФ спектроскопия) и доминирующему компоненту с привлечением сепарационного метода анализа (ВЭЖХ и КЭ). Результаты научных исследований, направленных на изучение и определение химической структуры отдельных веществ, являются ключевыми основами для формирования методологии их получения. Это, в свою очередь, открывает эффективные перспективы для фармакологических исследований и расширения ассортимента отечественных стандартных образцов. Продемонстрирован поливалентный профиль активности ЛРС, зависящий, прежде всего, от выбора экстрагента и, соответственно, извлекаемой группы веществ. Учтено наличие в суммарном извлечении содержание других БАС – биополимеров и макро- и микроэлементов, что позволяет не только прогнозировать фармакологические виды активности, но и впоследствии рационально подходить к разработке лекарственной формы.

Один из перспективных аспектов представленного методологического подхода, описанного в данном диссертационном исследовании, заключается в установлении критериев и разработке алгоритмов выбора методов для определения подлинности, установления химического профиля и оценки

качества ЛРС, а также для прогнозирования фармакологической активности полученных извлечений на основе расшифрованного химического профиля, используя модель, описанную в аналитических алгоритмах.

Наиболее значимые результаты, полученные автором отражены в 21 опубликованной печатной работе, в том числе 21 статье - в журналах из списка ВАК, 8 статей в базе данных Scopus; в том числе 12 статей в журналах, которые включены в международные базы данных (МБД). Получен 1 патент на изобретение: «Биологически активная добавка, обладающая актопротекторной активностью».

Полученные результаты в ходе экспериментальной работы Шамилова А.А., сформулированные выводы и практические рекомендации базируются на достаточном объеме выполненных исследований, реализованных на оборудовании, которое имеет соответствующие сертификаты и свидетельства о поверке. Достоверность результатов подтверждена соответствующими графиками, таблицами и рисунками. Разработанные методики валидированы, полученные результаты статистически обработаны, согласно требованиям действующей нормативной документации с использованием программы «Microsoft Excel 2016». Проанализирован значительный объем литературных источников как отечественных, так и на иностранных языках, а также ФС из ГФ РФ и других стран. Работа написана хорошим научным языком, выводы логичны и соответствуют поставленным задачам.

В диссертации решена важнейшая научная проблема, заключающаяся в разработке подходов к стандартизации растений содержащих в качестве ведущей группы БАС – фенольные соединения. Полученные автором экспериментальные результаты вносят вклад в развитие фармацевтической науки и дают объяснения ряду теоретических вопросов, связанных со стандартизацией ЛРС содержащих фенольные соединения и перспективами их внедрения в отечественную фармацию.


Анализ автореферата показал, что диссертационная работа *Шамилова Арнольда Алексеевича* «Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации некоторых видов родов *Arctostaphylos* Adans., *Vaccinium* L., *Prunella* L. как потенциальных источников фенольных соединений и перспективы их использования в фармации» представляет собой самостоятельную законченную научно-квалификационную работу в которой содержится решение важной научной проблемы в области фармацевтической химии и фармакогнозии, полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. постановления Правительства РФ от 25.01.2024 г. № 62), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор – *Шамилов Арнольд Алексеевич* – заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Согласен 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.

Заведующий лабораторией судебно-химических
и химико-токсикологических исследований
федерального государственного бюджетного учреждения
«Российский центр судебно-медицинской экспертизы»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
доктор фармацевтических наук
(14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия)
Адрес: 125284, Российская Федерация,
г. Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13
Телефон: +7 (495) 945 21-69
e-mail: info@rc-sme.ru

 Калёкин Роман Анатольевич

Подпись Калёкина Романа Анатольевича заверяю
Начальник ОК ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России  Кухоль Т.Н.

«30» 08 2024 г.

