

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА,

главного научного сотрудника отдела химии природных соединений
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных
ароматических растений» Министерства науки и высшего образования
Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, профессора РАН
Зилфикарова Ифрата Назимовича на диссертационную работу Казаковой Марии
Александровны на тему: «Сравнительное фармакогностическое исследование
некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha L.*)», представленную в совет по
защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание
ученой степени доктора наук 21.2.061.06 на базе ФГБОУ ВО «Самарский
государственный медицинский университет» (СамГМУ) Минздрава России
на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук
по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования

Диссертационное исследование Казаковой Марии Александровны посвящено разработке новых подходов к стандартизации лекарственного сырья отдельных представителей рода *Mentha L.* (Мята). Основное внимание уделено разработке методик количественного определения суммы фенилпропаноидов и розмариновой кислоты в сырье мяты перечной. Для сравнительного анализа в исследование включены различные виды и сорта мяты. В ходе работы применялись современные аналитические методы, включая тонкослойную хроматографию, спектрофотометрический анализ, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и масс-спектрометрию, а также люминесцентную микроскопию.

Присутствие розмариновой кислоты в мяты перечной делает данное растение перспективным объектом для дальнейших исследований, направленных на оценку его терапевтического потенциала. С учётом современной тенденции на фармацевтическом рынке, акцентирующей внимание на поиске природных веществ с высокой биологической активностью, интеграция характеристик розмариновой кислоты в стандарты качества мяты перечной представляется чрезвычайно актуальной задачей.

Оптимизация и усовершенствование методов фармакопейного анализа сырья мяты перечной являются приоритетным направлением в обеспечении эффективности и безопасности лекарственных препаратов на её основе. В условиях роста требований к стандартам качества со стороны фармацевтического рынка ключевое значение приобретает использование

новейших достижений аналитической химии и технологий экстракции. Таким образом, интеграция научных разработок и активное взаимодействие между исследовательскими учреждениями и промышленными предприятиями послужат основой для создания высококачественных и надёжных растительных лекарственных средств.

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, номер государственной регистрации темы АААА-А19-119051490148-7 наименование НИОКР – «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (от 14.05.2019 г.).

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

В ходе проведённого исследования были выявлены основные морфолого-гистологические диагностические признаки петиолярной анатомии листа мяты перечной, а также исследованы особенности люминесценции клеток данного растения с применением методов световой и люминесцентной микроскопии. Автором предложены новые подходы к стандартизации листьев мяты перечной, представленные, в частности, новым методом качественного анализа, базирующимся на использовании тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. Разработанная методика количественного анализа направлена на определение суммы основных биологически активных соединений (БАС) фенилпропаноидной природы в водно-спиртовых экстрактах мяты перечной, с приведением результатов к содержанию розмариновой кислоты и абсолютно сухому сырью, подтвержденная с использованием метода прямой спектрофотометрии извлечений из листьев мяты перечной и сортовых форм мяты перечной. Обоснована необходимость стандартизации листьев по содержанию розмариновой кислоты, в связи с чем была разработана и запатентована методика её количественного анализа в ЛРС с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В процессе исследования химического состава листьев мяты перечной было выделено семь индивидуальных соединений. Впервые из этого рода ЛРС были выделены такие вещества, как 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавоны и 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавоны. Получены спектральные характеристики указанных соединений, а также получены и описаны ^1H -ЯМР- и ^{13}C -ЯМР-спектры, помимо результатов масс-спектрометрического анализа.

Были проведены предварительные исследования антимикробной активности водно-спиртовых экстрактов листьев мяты перечной, а также

изучена фармакологическая активность сухих экстрактов, полученных из листьев различных видов и сортов мяты, включая индивидуальное соединение – 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавонон. Разработанные методы оценки качества растительного сырья включены в проект дополнений к фармакопейной статье «Листья мяты перечной».

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

Основные результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, а также практические рекомендации, касающиеся оценки доброкачественности лекарственного растительного сырья внедрены в практическую деятельность региональных центров сертификации и контроля качества лекарственных средств. Данные рекомендации также могут быть полезны фармацевтическим предприятиям и научным организациям, занимающимся исследованиями в области фармакогнозии и химии природных соединений, в их работе по контролю качества лекарственного растительного сырья и препаратов, содержащих фенилпропаноиды.

Теоретические аспекты, изложенные в данной диссертации, являются основой для модернизации данных, используемых для образовательного процесса в медицинских и фармацевтических высших учебных заведениях Российской Федерации, в частности в дисциплинах «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия». Результаты исследований, выполненные Казаковой М.А. в рамках диссертационной работы, успешно интегрированы в учебный и научный процессы ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

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

Полученные автором результаты диссертационного исследования обладают значительным научно-практическим и теоретическим потенциалом для таких дисциплин, как «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия». Они могут быть применены для создания высокоэффективных методов анализа и для разработки современных подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС), содержащего фенилпропаноиды.

В результате глубокого изучения, включающего анатомо-гистологические, фитохимические, технологические и фармакологические аспекты, были предложены подходы для качественной и количественной оценки листьев мяты перечной. Данные о строении черешка листа мяты перечной, полученные автором и включенные в раздел «Микроскопические признаки» проекта

дополнений к ФС «Мяты перечной листья», позволят повысить уровень стандартизации лекарственного растительного сырья мяты перечной.

Диссертантом разработаны методики, позволяющие выполнять хроматографический анализ листьев мяты, а также количественный анализ суммы фенилпропаноидов с использованием метода прямой спектрофотометрии. В диссертационной работе описаны методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения содержания розмариновой кислоты и изучения компонентного состава листьев мяты перечной в ЛРС.

Результаты исследования биологической активности водно-спиртовых извлечений и сухих экстрактов из листьев мяты позволили сделать вывод о перспективности использования сырья сортовых форм мяты перечной и других видов мяты для разработки антимикробных, калий- и натрий-сберегающих препаратов, а также диуретических, седативных и антидепрессантных лекарственных растительных средств.

Полученные в ходе исследования результаты нашли применение в процессе разработки дополнений к фармакопейной статье на ЛРС «Мяты перечной листья».

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебно-образовательные и научно-исследовательские процессы, в частности, подразделений Института фармации Самарского государственного медицинского университета (г. Самара) и кафедры фармакогнозии Пермской государственной фармацевтической академии (г. Пермь), а также используются в практической работе ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» и ЗАО «Самаралектравы». Соответствующие акты внедрения приведены в приложении к диссертации.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на симпозиумах, научных и научно-практических конференциях различных уровней (областного, всероссийского и международного), таких как 12 научно-практической конференции молодых учёных и студентов ТГМУ им. Абу-али ибни Сино с международным участием, посвящённой «Году молодёжи» (Таджикистан, 2017 г.); 5 научно-практическая конференция «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (г. Москва, 2017 г.); 10 Международный симпозиум «Фенольные соединения: свойства, активность, инновации» (г. Москва, 2018 г.); 3 Межвузовская научно-практическая конференция с международным участием,

посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета «Современные проблемы фармакогнозии» (г. Самара, 2018 г.); 4 Межвузовская научно-практическая конференция, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета «Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы» (г. Самара, 2019 г.); 14 Всероссийская (88-я Итоговая) студенческая научная конференция СНО с международным участием, посвященная 90-летию Клиник СамГМУ «Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты» (г. Самара, 2020 г.); 3 Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики» (г. Кемерово, 2023 г.); 14 Всероссийская научная конференция с международным участием молодежного научного общества «Молодая фармация – потенциал будущего» (г. Санкт-Петербург, 2024 г.); Международная конференция «Достижения и перспективы создания новых лекарственных средств растительного происхождения» (г. Москва, 2024 г.); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Аспирантские чтения - 2023: Молодые ученые - медицине. Приоритетные направления науки в достижении технологического суверенитета», SIMS - 2023: Samara International Medical Science (г. Самара, 2023 г.); 3 Научно-практическая онлайн-конференция с международным участием, посвященная 105-летию Самарского государственного медицинского университета «Современные проблемы фармации» (г. Самара, 2024 г.); 25 Международный съезд ФИТОФАРМ 2024 (г. Санкт-Петербург, 2024 г.).

По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, в их числе 5 статей в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, утверждённый ВАК РФ, а также 3 статьи в журналах, входящих в международные базы данных. Получен 1 патент Российской Федерации на изобретение № 2833834 «Способ количественного определения розмариновой кислоты в листьях мяты перечной».

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа изложена на 174 страницах машинописного текста, построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, главы об объектах и методах исследования, 4 глав результатов экспериментальных исследований, выводов и заключения, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 33 таблицами и 26 рисунками. Список литературы состоит из 163 источников, из которых 27 – зарубежных.

Во *введении* обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, определены научная новизна и практическая значимость,

выделены основные положения, выдвигаемые на защиту, представлены сведения по апробации результатов, указан личный вклад автора.

Глава 1 (Обзор литературы) содержит описание видов и компонентного состава некоторых видов мяты, описаны фармакологические свойства и применение в медицине и других видах промышленности.

В *Главе 2* приведено описание изучаемых объектов и методов, использованных в диссертационной работе.

Глава 3 посвящена описанию результатов люминесцентной микроскопии черешка листа мяты перечной с идентификацией биологически активных веществ и их локализацией в тканях растения.

В *Главе 4* описаны разработанные методики выделения индивидуальных веществ в мяте перечной, результаты - ЯМР- и масс спектрометрии, а также характеристики индивидуальных веществ, входящих в состав извлечений из листьев мяты перечной. В данной главе приведены спектральные характеристики ранее не описанных веществ, впервые выделенных из листьев мяты перечной - 5,3'-дигидрокси-6,7,8,4'-тетраметоксифлавона и 5,4'-дигидрокси-6,7,3'-триметоксифлавона.

Глава 5 содержит результаты спектрофотометрического и хроматографических (ТСХ и ВЭЖХ) анализов извлечений из листьев некоторых видов и сортов рода Мята. Обоснован выбор фенилпропаноидов, как ведущей группы БАС.

В *Главе 6* приведены результаты изучения биологической активности некоторых видов и сортов листьев мяты. Полученные данные помогают сделать выводы о перспективности использования листьев мяты перечной и ее сортовых форм, как источника для создания антимикробных, диуретических и антидепрессантных препаратов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пунктам 2, 3, 5 и 6.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата соответствует требованиям и отражает основные положения диссертации. Актуальность темы, степень её разработанности, цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, материалы и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад

соискателя, соответствие диссертационного исследования паспорту научной специальности, связь исследования с проблемным планом фармацевтических наук, публикации, описание объема и структуры диссертации, общие выводы по работе, отраженные в диссертации и автореферате, совпадают.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Отмечая значительный объем выполненных исследований с применением различных аналитических методов, и оценивая в целом положительно диссертационную работу Казаковой М.А., хотелось бы задать ряд уточняющих вопросов и сделать замечания:

1. Почему экспериментальная часть в диссертационной работе посвящена изучению в основном мяты перечной, а исследование других видов мяты носит фрагментарный характер? В частности, разработанные Вами методики определения суммы фенилпропаноидов в пересчете на розмариновую кислоту можно было апробировать на всех исследуемых образцах ЛРС.

2. Одним из важных выводов, сделанных Вами в ходе анализа, является то, что розмариновая кислота является доминирующим веществом в составе фенилпропаноидов. Уточните, как именно давалась такая оценка?

3. Поясните, почему при определении количества розмариновой кислоты в листьях мяты перечной методом ВЭЖХ в формуле для расчета используется высота пика, а не его площадь? Применялись ли для количественной оценки другие конфигурации жидкостного хроматографа или Вы ограничились применением только варианта микроколоночной хроматографии?

4. Почему в проекте дополнений к фармакопейной статье были включены два способа количественного определения, что явно избыточно? Какой из предлагаемых Вами методов все же предпочтительней, при условии, что проект дополнений будет принят к рассмотрению в Минздраве?

В работе имеются стилистические, пунктуационные и орфографические погрешности, ошибки и опечатки, однако в целом их немного. Необходимо отметить, что сделанные замечания не являются критическими, носят рекомендательный и дискуссионный характер, и не влияют на положительную оценку, которую заслуживает выполненная работа.

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

Диссертационная работа Казаковой Марии Александровны на тему «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов и сортов рода Мята (*Mentha* L.)», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия,

фармакогнозия, является завершённой научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармации по изучению лекарственных растений и методов стандартизации лекарственного растительного сырья.

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 от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 16.10.2024 № 1382), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Казакова Мария Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по 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),
доктор фармацевтических наук
(3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия),
профессор РАН

И.Н. Зилфикаров

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР),
117216, Российская Федерация, г. Москва, ул. Грина 7, стр. 1,
тел.: раб. (495)388-55-09; моб. 8(903)004-53-92, 8(968)902-90-75,
Web-сайт: <https://vilarnii.ru/>, e-mail: vilarnii@mail.ru, dagfarm@mail.ru

«06» март 2025 г.

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

О.А. Семкина

*С отрывом от рукописи
19.05.2025*

