

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Доктора фармацевтических наук (3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцента, профессора кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования РФ Успенской Елены Валерьевны, на диссертационную работу Нестерова Георгия Викторовича на тему «Изучение показателей качества листьев ольхи видов *Alnus incana* (L.) Moench; *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

### **Актуальность темы исследования**

Важной и актуальной задачей исследований в области фармации является поиск новых перспективных источников растительного сырья, обоснование и разработка методов стандартизации. На решение данной проблемы направлены результаты, полученные при выполнении диссертационной работы Нестерова Г.В., в которой представлены результаты анализа комплекса биологически активных веществ и стандартизации нового растительного сырья — листьев ольхи, заготавливаемых от растений *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.; *A. incana* (L.) Moench семейства. Betulaceae. Это направление является актуальным, поскольку, учитывая использование соплодий ольхи черной и серой в качестве официального сырья в РФ, появляется возможность использования частей тех же растений, которые в настоящее время не являются лекарственным сырьем, но содержанию ряда биологически активных веществ и проявляемой фармакологической активности не уступают официальным источникам. Введение в фармакопейную практику дополнительного вида сырья может расширить ассортимент используемых видов и снизить эксплуатационную нагрузку на природные ресурсы, подлежащие заготовке.

Следует отметить, что листья растений рода *Alnus* традиционно использовались в качестве кровоостанавливающего и противолихорадочного средства в народной медицине различных регионов. Исследования о применении листьев ольхи для лечения желудочных заболеваний, а также данные о действии эллаготанинов легли в основу разработки нового препарата для лечения язв. Анализ научной литературы показывает интерес исследователей к использованию извлечений из листьев ольхи серой и черной для повышения эффективности химиотерапии онкологических заболеваний. Листья ольхи включены в фармакопею Республики Беларусь. Однако в России листья черной и серой ольхи не включены в Государственную Фармакопею, что, вероятно, связано с недостатком систематических исследований их активных компонентов и методов контроля качества. Изучение состава биологически активных веществ и разработка методов стандартизации сырья листьев ольхи и извлечений на их основе может послужить базисом создания и внедрения в фармацевтическую практику современной нормативной документации, решающей вопрос не только контроля качества листьев ольхи, но и позволяющей вести дальнейший научный поиск, направленный на создание эффективных инновационных препаратов российского производства. Для достижения поставленных цели и задач Нестеровым Г.В. был разработан комплекс научно-исследовательских фармакогностических работ, который включает изучение морфологических и анатомо-диагностических характеристик сырья в цельном, измельченном и порошкованном состояниях, анализ состава биологически активных веществ для сырья в свежем, замороженном и высушенном виде, а также обоснование методов стандартизации листьев ольхи серой и черной.

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

Рассмотрев материалы диссертационной работы, можно сделать вывод о том, что диссертация Нестерова Г.В. выполнена на высоком научном и методическом уровне. Обоснованность и достоверность научных положений,

результатов и выводов работы обеспечивается высоким уровнем научно-методической реализации с использованием современных инструментальных физико-химических методов анализа. В процессе исследования автор проанализировал значительный объем отечественной и зарубежной научной литературы и нормативной документации, а также применил оптимальные методологические подходы, исходя из поставленных цели и задач. Результаты исследований, а также научные положения и рекомендации автора являются убедительными, обоснованными и достоверными, логически следуют из представленных статистически обработанных экспериментальных данных, полученных на основе достаточного объема исследований, и соответствуют заявленным целям и задачам.

#### **Достоверность и научная новизна исследования, полученных результатов**

Достоверность результатов подтверждается представленными материалами, включая фотографии микропрепаратов, формулы, статистический анализ и качественную интерпретацию данных. Все эксперименты были проведены автором на сертифицированном оборудовании с действующими сертификатами проверки, результаты подверглись статистической обработке, а методики количественного определения прошли валидацию.

Нестеровым Г.В. впервые были получены новые данные, документированные фотографиями микропрепаратов, характеризующие внешние и анатомо-диагностические признаки листьев ольхи серой и черной для цельного, измельченного и порошкованного сырья. Обнаружены наиболее важные диагностически значимые признаки, которые будут включены в разделы «Внешние признаки» и «Микроскопия».

С применением современных инструментальных методов физико-химического анализа, таких как ВЭЖХ-УФ, ГХМС, спектрофотометрия и ТСХ, был изучен качественный состав и проведена оценка содержания различных биологически активных веществ (БАВ) в образцах, включая флавоноиды, органические и гидроксикоричные кислоты, аминокислоты, полисахариды,

дубильные вещества и тритерпеновые сапонины. Обнаружено, что качественный состав БАВ остается неизменным для свежих, замороженных, высушенных листьев ольхи. Автором была проведена оценка выхода экстрактивных веществ из сырья с использованием различных экстрагентов, на основании которой предложены экстрагенты для определения основных групп БАВ. Впервые была оценена возможность экстракция БАВ с использованием ацетонитрила для аналитических целей, что может дать возможность использовать выявленные в ацетонитриловом извлечении характерные компоненты для идентификации сырья. Количественный анализ продемонстрировал определенные закономерности в изменении содержания БАВ в зависимости от метода консервации: при сушке с использованием тепла наблюдается частичное снижение, тогда как при замораживании этот эффект менее выражен. Также была подтверждена возможность получения экстракционных препаратов из свежих, замороженных и высушенных листьев ольхи, с проведением сравнительной оценки их содержания в отношении сапонинов, органических кислот, флавоноидов, полисахаридов и дубильных веществ. Исследования антимикробного действия показали, что экстракты обладают антимикробными свойствами против восьми различных штаммов микроорганизмов.

#### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Полученные автором результаты экспериментальных исследований открывают возможности для эффективного и рационального применения нового лекарственного растительного сырья – листьев ольхи видов *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.; *A. incana* (L.) Moench. – в научной медицине и фармацевтической практике.

Научные исследования, проведенные автором, и полученные экспериментальные результаты значительно углубляют понимание химического состава биологически активных веществ (БАВ), анатомо-морфологических характеристик и биологической активности нового растительного сырья — листьев ольхи серой и черной. В работе обоснованы параметры подлинности и

качества фармацевтических субстанций растительного происхождения, извлекаемых из листьев ольхи. Также предложены методики для качественного и количественного анализа основных БАВ в новом растительном сырье и в экстрактах, которые будут включены в проекты нормативной документации.

Полученные диссертантом результаты представляют интерес для внедрения как в учебный процесс в медицинских и фармацевтических ВУЗах, так и в практику фармацевтических предприятий, осуществляющих переработку лекарственного растительного сырья.

Следует отметить, что основные результаты диссертационной работы Нестерова Г.В. внедрены в учебный процесс кафедры фармации Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (акт внедрения от 22.03.2022), кафедры фармакогнозии Ташкентского фармацевтического института (акт внедрения от 15.03.2022), подготовлен проект ФС на новый вид сырья листа ольхи. Предложенная автором методика идентификации и количественного определения суммарного содержания тритерпеновых сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту в листьях ольхи внедрена для оценки качества фитопрепаратов ОКК ООО «ФАРМАПАРК» (акт внедрения 17.01.2022), а методика идентификации и количественного определения веществ флавоноидной природы апробирована и внедрена ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России (акт внедрения 17.01.2022).

#### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Результаты диссертационного исследования соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты выполненной автором диссертационной работы полностью соответствуют направлению научных изысканий специальности, в том числе пунктам 2,3 паспорта специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

#### **Полнота освещения результатов диссертации в печати**

Основные научные результаты отражены в 13 работах, в том числе 4 статьях в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных исследований, 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе данных (Scopus). Научные результаты диссертационного исследования Нестерова Г.В. представлены, обсуждены и получили положительную оценку на пяти научно-практических конференциях с международным участием разного уровня.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть – главы 2–6, заключение, список литературы и приложения. Диссертация изложена на 165 страницах машинописного текста и включает в себя 42 таблицы и 47 рисунков. Библиографический список содержит 182 источника.

Во **введении** автор излагает актуальность темы, степень ее проработанности на современном этапе, формулирует цель и задачи исследования. Введение также содержит обоснование научной новизны, теоретической и практической значимости работы, методологии и методов исследования, на основании которых предложен дизайн исследования. Приведены положения, выносимые на защиту, степень достоверности полученных автором результатов и их апробация, а также личный вклад автора.

Глава 1 **«Обзор литературы»** представляет собой обзор отечественной и зарубежной литературы, проведенный автором с использованием баз данных PubMed, Cyberleninca, Elibrary и др. Представленный в главе 1 анализ информационных источников продемонстрировал наличие серьезных запасов ольхи серой и ольхи черной, представленных промысловыми массивами в Российской Федерации, в том числе на территории Московской области, а также, подтвержденный современными экспериментальными исследованиями, широкий спектр возможного фармакологического действия, связанного с наличием в сырье разнообразных БАВ, представленных гидроксикоричными

кислотами, флавоноидами, дубильными веществами, титерпеновыми сапонинами, полисахаридами, органическими кислотами. Обзор также включает информацию о современном состоянии и перспективах совершенствования российского рынка лекарств растительного происхождения с антимикробной активностью. Обобщая результаты имеющихся в современной научной литературе данных, а также международный опыт применения листьев ольхи как самостоятельного лекарственного средства, так и субстанции для производства фитопрепаратов, автор делает вывод о целесообразности проведения фармакогностического анализа сырья листьев *Alnus glutinosa* (L.) Gaerth. и *A. incana* (L.) Moench.

Глава 2 «**Объекты и методы исследования**» включает информацию, характеризующую объекты исследования, включая особенности заготовки, консервирования (сушка, замораживание), хранения сырья, квалификацию используемых реактивов, методы анализа, применяемые в ходе работы, а также аппаратное оборудование, использовавшееся для выполнения исследований. Дополнительно представлены данные методического характера.

Глава 3 «**Результаты анализа морфологических и анатомо-диагностических признаков лекарственного растительного сырья листьев ольхи *Alnus incana* (L.) Moench и *Alnus glutinosa* (L.) Gaerth**» включает результаты исследования внешних признаков листьев ольхи серой и черной с установлением характерных макродиагностических признаков и линейных размеров, а также анатомических характеристик листьев в цельном, измельченном и порошковом состояниях с выявлением диагностически значимых признаков, позволяющих проводить идентификацию сырья. В ходе исследования выявлено, что способ консервации не оказывает влияние на встречаемость анатомо-диагностических признаков листьев ольхи серой и черной, которые присутствуют во всех исследованных образцах и могут быть включены в соответствующие разделы разрабатываемой нормативной документации.

Глава 4 «Изучение состава и количественного содержания биологически-активных веществ листьев ольхи» содержит результаты экспериментальных анализов, направленных на изучение состава и количественной оценки основных групп биологически активных веществ (БАВ) в листьях ольхи черной и серой, а также в их видовой смеси. В ней представлены данные о зависимости содержания БАВ от методов консервации сырья. Впервые для исследуемого сырья был установлен состав свободных органических кислот, который включает яблочную, лимонную, щавелевую, малоновую, фумаровую и янтарную кислоты. Анализ фракции, содержащей фенольные соединения из листьев ольхи позволил идентифицировать по сравнению со стандартными образцами флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты, в составе которых: хлорогеновая, неохлорогеновая, кофейная, галловая и эллаговая кислоты, а также рутин, гиперозид, лютеолин, катехин и кверцетин. Впервые установлен состав свободных сахаров листьев ольхи серой и черной, представленный глюкозой, галактозой и фруктозой. Методом аминокислотного анализа идентифицированы 17 аминокислот до и после гидролиза, доминирующими до гидролиза являются глутаминовая кислота и фенилаланин, после гидролиза – аспарагиновая, глутаминовая кислоты и лейцин, в следовых количествах для всех видов сырья наблюдается триптофан, изолейцин, гистидин, причем содержание изолейцина и гистидина возрастает после проведения гидролиза, что свидетельствует о присутствии данных аминокислот в основном в связанном виде низкомолекулярных пептидов виде. В составе сырья впервые идентифицированы редкие соединения хумулан-1,6-диен-3-ол, лупеол (ольха черная), лупеон (ольха серая),  $\beta$ -амирин,  $\gamma$ -ситостерол, транс-лонгипинокарвеол, идентификация которых может использоваться в качестве критерия подлинности. Впервые в извлечении из листьев ольхи серой и черной установлено наличие 4-аллил-2-метоксифенола (эвгенола). Автор приводит информацию об оценке экстрактивных веществ, полученных с использованием различных экстрагентов, а также результаты количественного анализа

содержания хлорофилла, каротиноидов, полифенолов, флавоноидов, органических и аминокислот, а также тритерпеновых сапонинов в листьях ольхи, подвергнутых разным методам консервации.

Глава 5 «**Товароведческий анализ и изучение технологических характеристик листьев ольхи**» включает результаты товароведческого анализа и изучения отдельных технологических характеристик листьев ольхи, а также данные об оценке адсорбционной способности и антимикробной активности исследуемого сырья на следующих штаммах: *Staphylococcus aureus* (209); *Staphylococcus aureus* (Tupe) ; *Staphylococcus epidermidis* Wood – 46; *Escherichia coli* 675; *Salmonella typhimurium* ; *Shigella sonnei* 3d ; *Bacillus subtilis* L2; *Pseudomonas aeruginosa*; *Candida albicans*. В ходе проведенных исследований было установлено, что все изученные экстракты из листьев ольхи серой и черной проявляют значительное антимикробное действие против *Staphylococcus aureus* (209), *Staphylococcus aureus* (Tupe), *Staphylococcus epidermidis* Wood – 46, а также умеренную активность по отношению к *Escherichia coli* 675, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei* 3d, *Bacillus subtilis* L2, *Bacillus anthracoides* – 1 и *Pseudomonas aeruginosa*.

В главе 6 «**Обоснование выбора экстракционных препаратов из листьев ольхи**» изложены данные, характеризующие влияние степени измельчения и условий извлечения БАВ листьев ольхи на качество получаемых водных и водно-спиртовых извлечений, что позволило выявить оптимальный показатель измельченности сырья, экстракционные режимы позволяющие оптимизировать качество, получаемых извлечений, а так же проведена оценка их доброкачественности.

В заключении автором приводятся основные результаты диссертационного исследования, соответствующие поставленным задачам.

В приложении приведен проект фармакопейных статей на новые виды сырья.

Оценивая диссертационную работу в целом, можно отметить, что она представляет собой завершённое научное исследование, в котором автор проявил системный подход и способность использовать широкий спектр современных методов анализа, а также грамотно интерпретировать полученные результаты.

Выводы, сформулированные в работе, являются достоверными и не вызывают сомнений, полностью подтверждаясь экспериментальными данными. Цель и задачи, поставленные в работе, были успешно достигнуты.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации**

Содержание автореферата включает все основные положения и выводы, полученные в ходе проведения исследования, и полностью отражает содержание диссертационной работы.

### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

Диссертационная работа Нестерова Георгия Викторовича на тему «Изучение показателей качества листьев ольхи видов *Alnus incana* (L.) Moench; *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn» выполнена на высоком научно-методическом уровне, изложена грамотным и понятным языком, имеет логически выстроенную структуру и в целом заслуживает положительной оценки.

Однако при общей положительной оценке работы, необходимо отметить следующие замечания с вопросами к содержанию и оформлению:

1. Задача 1 заключается в анализе литературных данных по проблеме изучения объекта исследования - растительного сырья (РС) листьев ольхи чёрной (*Alnus incana* (L.) Moench) и серая (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn). В отсутствие монографии в текущем издании ГФ РФ на изучаемый объект исследования какие данные демонстрирует международная база стандартов, например, Американская фармакопея трав (АНР)? Проводился ли поиск данного объекта РС в иных международных фармакопеях?

2. Изучение анатомо-морфологических признаков листьев ольхи видов серая (*Alnus incana* (L.) Moench) и черная (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn) проводилось без последующего сравнения со стандартом (в отсутствие такового). Можно ли считать результаты проведенного макроскопического и микроскопического анализа, с учетом повторений и разнообразия применяемых методик, надлежащими для идентификации листьев ольхи видов серая и черная?
3. Справедливо ли утверждение о наличии эффективности и безопасности исследуемого сырья листьев ольхи видов серая и черная, учитывая результаты проведенного фитохимического анализа - из 21 соединения при наличии имеющихся стандартов были идентифицированы только 10 веществ методом ВЭЖХ. Какова природа и предполагаемые свойства половины неидентифицированных веществ?
4. В работе встречаются отдельные стилистические неточности и опечатки. Указанные замечания и вопросы носят рекомендательный характер и не уменьшают научную значимость диссертационного исследования.


### **Заключение**

Согласно представленным утверждениям, диссертация Нестерова Г.В. «Изучение показателей качества листьев ольхи видов *Alnus incana* (L.) Moench; *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является научно-квалификационным трудом, в котором содержится решение научной задачи расширения ассортимента лекарственного растительного сырья, что соответствует требованиям, п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации

(Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а его автор, Пестеров Георгий Викторович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, доктор фармацевтических наук (14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцент

  
Е.В. Успенская  
«18» сентября 2025 г.

Почтовый адрес: 117198, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6  
Тел.: +7 (495) 434-53-00  
Адрес электронной почты:  
[uspenskaya\\_ev@rudn.ru](mailto:uspenskaya_ev@rudn.ru)

Наименование организации:  
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»  
Министерства науки и высшего образования  
Российской Федерации

Подпись д.фарм.н., доцента Успенской Е.В. заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета  
Медицинского института РУДН



  
Максимова Татьяна Владимировна