

Отзыв

официального оппонента доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой химии Государственного образовательного учреждения высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», Ханиной Минисы Абдуллаевны на диссертацию Гудковой Алевтины Алексеевны на тему «Фармакогностическое изучение представителей рода горец (*Persicaria* Mill.) как перспективного источника получения лекарственных препаратов», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполняемого исследования

Одним из возможных путей увеличения доли лекарственных растительных препаратов на фармацевтическом рынке является поиск новых источников их получения среди дикорастущих представителей отечественной флоры и изучение возможности использования в научной медицине близкородственных видов, второй путь может быть направлен на расширение спектра действия фармакопейных лекарственных растений. С этой точки зрения большой интерес представляют растения рода горец (*Persicaria* Mill.) семейства гречишные (*Polygonaceae* Juss.). Растения рода горец имеют достаточную сырьевую базу.

В настоящее время в медицинской практике используются лишь два вида: горец перечный и горец почечуйный, они широко применяются в народной медицине в качестве кровоостанавливающих средств.

Фундаментальные исследования семейства гречишных относятся к середине XX века, в них в основном отражены результаты изучения биохимических аспектов систематики и филогении рода спорыш (*Polygonum* L.), и частично, рода горец (*Persicaria* Mill.), и основное внимание уделяется изучению фенольной фракции биологически активных веществ. Но, не смотря на это, целостное представление как о составе комплекса фенольных соединений видов рода горец, так и других групп БАВ (органической и минеральной природы), вносящих свой вклад в проявление фармакологической активности, отсутствует. Также на настоящий момент не выявлены научно - обоснованные экспериментальные данные по наличию гемостатической активности фармакопейных видов.

Все вышперечисленное указывает на актуальность и перспективность изучения близкородственных видов горцев.

В качестве объектов исследования автором были выбраны 10 видов рода горец: горец почечуйный, горец перечный, горец шероховатый, горец щавелелистный, горец войлочный, горец Бриттингера, горец узловатый, горец малый, наземная и водная формы горца земноводного.

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

Степень обоснованности и достоверности научных результатов, выводов и заключений соискателя подтверждаются использованием современных методов проведения эксперимента, микроскопического, физико-химического, фармакологического, фармакогностического анализа, а также апробацией и подтвержденным внедрением результатов в практику. Следует отметить большой массив проработанного экспериментального материала и тщательно выполненную статистическую оценку аналитических данных в соответствии с требованиями действующей нормативной документации.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

Достоверность результатов исследования подтверждена многократной повторностью эксперимента, анализом полученных данных и выявлением ряда закономерностей, статистической обработкой полученных результатов и их сопоставлением с литературными данными. В работе использовано сертифицированное оборудование, на которое выданы действующие свидетельства о поверке.

Научная новизна результатов исследования диссертанта заключается в получении новых данных, касающихся состава метаболома десяти видов рода горец, с помощью современных физико-химических методов анализа (ТСХ, спектрофотометрия, ВЭЖХ, хромато масс спектроскопия, капиллярный электрофорез). В ходе проведенных исследований диссертантом установлены закономерности по накоплению в близкородственных видах горцев отдельных групп БАВ (углеводов, аминокислот, витаминов, органических кислот, фенольных соединений, минеральных веществ). Уточнены и дополнены сведения о компонентных профилях фармакопейных видов (горца перечного и горца почечуйного) и получены новые экспериментально – обоснованные данные для неофициальных видов (горцев шероховатого, щавелелистного, малого и других). Выявлено, что трава горца щавелелистного является перспективным лекарственным растительным сырьем. Впервые на основании сравнительного анализа для травы каждого изученного горца выявлены хемотаксономические маркеры, относящиеся к флавоноидам, аминокислотам и другим группам БАВ.

Сравнительный анализ минерального состава изучаемых видов позволил выявить основные элементы, концентрируемые изучаемыми видами (кальций, калий, магний, фосфор и др.). Приоритетность научных исследований по определению содержания минеральных компонентов метаболома в траве горца почечуйного защищена патентом [RUS 2605855](#).

В результате морфолого – анатомического анализа 10 видов горцев выявлены и визуализированы признаки, являющиеся уникальными идентификаторами видов. Определены оптимальные условия пробоподготовки микроскопического анализа. Впервые для определения подлинности видов рода горец применена петриоларная

анатомия, люминесцентная микроскопия и растровая электронная микроскопия.

С помощью метода *in silico* установлены приоритетные направления фармакологического скрининга 10 изучаемых видов горцев в зависимости от состава фенольного комплекса БАВ (антигеморрагические средства, антиоксиданты, вазопротекторы, гепатопротекторы и др.).

Автором в лабораторных условиях получены жидкие экстракты травы горцев почечуйного и шавелелистного, для которых, в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV изд., даны характеристики и определены показатели качества.

В эксперименте *in vivo* у предлагаемых экстрактов установлено гемостатическое действие слабой степени выраженности и наличие выраженной капилляропротекторной активности.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Результаты диссертационной работы Гудковой А.А. позволили расширить фармакогностические сведения о 10 видах горцев.

Автором уточнены и детализированы микроскопические характеристики 10 видов горцев, предложены критерии, позволяющие с высокой точностью отличать близкородственные виды горцев.

Результаты, полученные диссертантом в ходе фитохимического исследования изучаемых видов, позволили установить перспективность внедрения в медицинскую практику горца шавелелистного травы, что является основой для дальнейших исследований и последующего включения нового вида лекарственного растительного сырья «Горца шавелелистного трава» в Государственную Фармакопею.

Полученные Гудковой А.А. результаты, использованы при составлении проектов Инструкций по заготовке и сушке горца почечуйного и горца шавелелистного травы, проектов фармакопейных статей: «Горца почечуйного трава свежая», «*Polygoni persicariae L. herbae, Persicaria* - Настойка гомеопатическая матричная», «Горца шавелелистного трава», «Горца почечуйного экстракт жидкий», «Горца шавелелистного экстракт жидкий», включающие современные требования по стандартизации и безопасности в соответствии с ГФ XIV. Полученные в ходе исследования, данные отражены в монографии «Экспериментально-теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.». Проект фармакопейной статьи «Горца почечуйного трава» включен в ГФ РФ XIV. Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе ФГБОУ ВО ВГУ.

Содержание и структура диссертации

Диссертация имеет традиционную структуру, изложена на 450 страницах печатного текста, содержит 65 таблиц и 122 рисунка. Работа состоит из введения, обзора литературы, 8 экспериментальных глав, выводов, списка литературы, включающего 288 наименований, из которых 80 на иностранных языках, интернет – ресурсов. Приложения представлены на 164 страницах.

Во введении диссертации сформулированы актуальность и степень разработанности темы исследования, научная новизна, цель и задачи работы, теоретическая и практическая значимость результатов исследования. Приведены положения, выносимые на защиту, а также объем и структура диссертации, отмечен личный вклад автора. Представлена информация о публикациях и апробации работы.

Первая глава содержит обзор литературы, включающий общую характеристику семейства гречишные и рода горец. Автором проанализировано современное состояние ботанических, фитохимических и доклинических исследований видов рода горец.

Во второй главе представлены объекты исследования и методы анализа, использованные в работе.

Третья глава посвящена сравнительному изучению внешних особенностей объектов исследования с использованием фармакопейных методов - стереомикроскопии и люминесцентной микроскопии. Автором получены микрофотографии, визуализирующие отличительные признаки видов горцев.

Четвертая глава отражает результаты исследования микроскопических особенностей десяти видов горцев. Автором проведено сравнение нескольких способов пробоподготовки растительного сырья к микроскопированию и подобраны оптимальные условия. В 4 главе содержатся данные о целесообразности использования петиолярной анатомии для идентификации и анализа подлинности видов горцев. Изучена возможность применения для вышеописанных целей метода растровой электронной микроскопии. Все выявленные анатомические особенности визуализированы.

Пятая, шестая и седьмая главы в совокупности содержат информацию о составе органической части комплекса биологически активных соединений изучаемых видов горцев. В данном блоке автором с помощью современных физико – химических методов (ТСХ, спектрофотометрия, капиллярный электрофорез, ВЭЖХ) проводится сравнительное изучение состава углеводной части, водорастворимых витаминов, аминокислот, органических кислот, фенольных соединений (дубильных веществ, флавоноидов). Даны их количественные характеристики. Автором показана перспективность дальнейшего изучения горца щавелелистного с целью внедрения в медицинскую практику.

Исследование минеральной части изучаемых видов методами хромато масс спектроскопии и микрорентгенструктурным анализом освещено **в восьмой главе**, где, также, представлены результаты разработки методик количественного определения кальция и магния в растительном сырье, защищенных патентом РФ.

Оценка загрязненности растительного сырья на примере горца почечуйного травы представлена **в девятой главе**. Автором показано соответствие изучаемого объекта требованиям действующей нормативной документации.

Автором были получены жидкие экстракты из горца почечуйного и горца щавелелистного травы с целью сравнительного доклинического изучения как *in silico*, так и *in vivo*, что нашло отражение **в десятой главе**.

Каждая глава имеет собственные выводы, отражающие содержание главы, и

дополнительный материал (микрофотографии, иллюстрации, таблицы), вынесенный в приложения.

Общие выводы полностью отражают содержание работы и отвечают на поставленные диссертантом цели и задачи.

Акты внедрения, патенты, разработанные проекты фармакопейных статей и инструкций вынесены в приложения.

Диссертационная работа А.А. Гудковой выполнена на современном методическом уровне и характеризуется высокой теоретической и практической значимостью. Необходимо отметить логичность и последовательность проведенных исследований, а так же грамотный научный стиль изложения материала и описания полученных результатов эксперимента.

Являясь ценным научным трудом, работа Гудковой А.А., однако не лишена недостатков. Считаю необходимым указать на некоторые из них.

Замечания:

1. Опечатки, орфографические ошибки, неудачные выражения, ошибки в пунктуации и др. (стр. 17, 24, 38, 57, 88, 115, 238).

2. Отсутствие шкал на большинстве фотографий микропрепаратов затрудняет проведение сравнительного визуального анализа. В подписях к рисункам указано, при каком увеличении сделаны фотографии, но это не решает указанной выше проблемы, поскольку при форматировании текста диссертации рисунки увеличиваются или уменьшаются (рис. 31, 32, 33 и т.д.).

3. На стр. 85 автор, описывая стенки клеток эпидермиса стебля, указывает, цит.: «с четкими утолщениями стенок..» возможно, это «четковидными утолщениями стенок клеток».

4. При описании анатомического строения стебля на поперечном срезе (стр.111-112, рис. 56, 57) автором приводится описание микропрепарата, среди прочих микропризнаков указывается наличие склеренхимы. Присутствие склерехимы (вторичная механическая ткань), указывает на вторичное строение стебля.

5. В таблице 8 (стр. 123) при описании морфологического органа – стебля приводится описание листа.

Вопросы:

1. Объектами исследования диссертанта является надземная часть 10 видов горца, собранная в фазе массового цветения (стр. 44). Почему выбрана именно эта фаза вегетации? Проводились ли исследование динамики содержания БАВ в надземной части исследуемых видов горца по фазам вегетации?

2. Автором проведена апробация метода РЭМ при исследовании высушенной надземной части отдельных видов горца. Возможно ли применение данного метода для исследования свежесобранной травы?

3. При разработке методики количественного определения содержания флавоноидов в горце щавелелистном определяли оптимальные параметры экстракции

целевой группы из сырья. Одним из параметров является соотношение «сырье-экстрагент». Экспериментально было установлено, что оптимальным соотношением является 1:50 (рис. 98), т.е. при увеличении объема экстрагента выход флавоноидов увеличивался и достигал максимума при 50 мл. При дальнейшем увеличении объема экстрагента выход флавоноидов снижался. Понятно, что с увеличением объема экстрагента увеличивается разведение, и концентрация целевой группы в извлечении снижается. При расчетах используется одна и та же формула, в которой переменными будут показатель поглощения и объем извлечения. В связи с этим возникает вопрос – почему содержание флавоноидов в сырье снижается при увеличении объема экстрагента?

4. При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в горца шавелелистного траве, были выявлены оптимальные условия его проведения, среди которых было установлено соотношение «сырье – экстрагент» - 1:50. Но при описании методики (стр. 182) объем экстрагента был разделен на 3 части и сырье экстрагировалось 3 раза. Данных по исследованию влияния кратности экстрагирования в работе не приведено.

5. Автором исследовалась и отмечалась вариабельность компонентного состава и количественного содержания флавоноидов в образцах горца почечуйного, собранных в разных районах Воронежской, Липецкой, Тамбовской областей, Крыму, Ставропольском и Краснодарском краях. Возможно, это связано с тем, что образцы были собраны в разные фазы вегетации (в разделе «Объекты исследования» таблица 3, данные образцы исследования не приведены)?

6. В методике количественного определения суммы флавоноидов в горца почечуйного экстракт жидкий (стр. 432) к раствору А приливают алюминия хлорида спиртового раствор и раствор уксусной кислоты и получают испытуемый раствор. В соответствии с принципом сквозной стандартизации, такая же методика должна использоваться для определения содержания флавоноидов в горца почечуйного траве. На стр. 419 приведена методика количественного определения флавоноидов, она отличается тем, что к раствору А приливают алюминия хлорида спиртового раствор, а раствор уксусной кислоты не добавляют. Поясните данный факт.

Указанные замечания не принципиальны, а вопросы носят уточняющий и дискуссионный характер и не снижают ценности диссертационной работы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует и отражает основные положения диссертации и, также как диссертационная работа Гудковой А.А., полностью соответствует паспорту 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Гудковой Алевтины Алексеевны на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук на тему «Фармакогностическое изучение представителей рода горец (*Persicaria* Mill.) как перспективного источника получения лекарственных препаратов», является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальной проблемы современной фармакогнозии, заключающееся в поиске и комплексном изучении химического состава новых растительных источников лекарственных растительных препаратов. По актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полностью соответствует требованиям пункта 9. Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением правительства Российской Федерации от 24.03.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, от 01.10.2018 г. №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Гудкова Алевтина Алексеевна, заслуживает присуждения степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заведующий кафедрой химии
Государственного образовательного
учреждения высшего образования
Московской области «Государственный
гуманитарно-технологический университет»,
доктор фармацевтических наук
(14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия)
профессор

Ханина Миниса Абдуллаевна

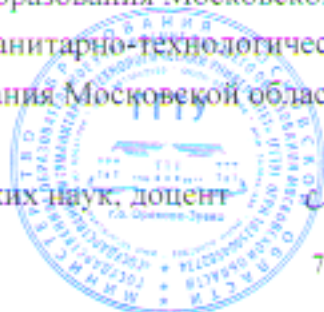
Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области
«Государственный гуманитарно-технологический университет»
142611, Московская область, г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, 22
e-mail: rektorat@ggtu.ru
тел. служеб. 8-499-955-25-20

28.04.2020 г.

Подпись д-ра фармацевт. наук, профессора Ханиной М.А. заверяю

Проректор по научной работе государственного образовательного
учреждения высшего образования Московской области
«Государственный гуманитарно-технологический университет»
Министерства образования Московской области

кандидат филологических наук, доцент



Яковлева Элина Николаевна