

Отзыв

официального оппонента доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Куркина Владимира Александровича 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

В настоящее время внимание потребителя все больше привлекают лекарственные средства растительного происхождения, что объяснимо их эффективностью, безопасностью использования, наличием минимального количества побочных и токсических эффектов. Для удовлетворения потребности населения в подобных препаратах перед фармацевтической промышленностью стоит проблема расширения ассортимента лекарственного растительного сырья для получения новых лекарственных растительных препаратов. Одним из путей решения этой проблемы является мобилизация видов растений, систематически близких к официальным. С этой точки зрения значительный интерес представляют растения рода горец *Persicaria* Mill. семейства гречишные *Polygonaceae* Juss. К фармакопейным видам относят горец почечуйный (*Polygonum persicaria* L. или *Persicaria maculosa* Gray.) и горец перечный (*Polygonum hydropiper* L. или *Persicaria hydropiper* Delarbre), а виды близкие к ним по систематическому положению и морфологическим признакам (горец малый, горец шероховатый, горец щавелелистный, горец войлочный, горец земноводный и др.) до сих пор не используются в медицинской практике.

В публикациях отечественных и зарубежных ученых, фрагментарно отражены результаты изучения биохимических аспектов систематики и

филогении в большей части представителей рода спорыш (*Polygonum L.*), и, частично, рода горец, основное внимание уделено при этом изучению фенольной фракции биологически активных веществ, однако, указанные исследования не дают целостного представления о составе комплекса фенольных соединений не фармакопейных видов горцев. Также следует отметить, что другие группы БАВ, входящие в состав низкомолекулярной части метаболома растений наряду с фенольными, и вносящие свой вклад в проявление фармакологической активности, практически не затрагивались для изучения.

В связи с вышеизложенным, исследования, выполненные Гудковой А.А., являются, несомненно, актуальными. В соответствии с поставленной целью диссертантом были сформулированы задачи исследования, которые были решены в ходе выполнения работы.

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

Диссертация Гудковой А.А. выполнена на современном научном уровне. Автором проделан большой объем экспериментальной работы, которая легла в основу научных положений и выводов, сформулированных в диссертационной работе. Проведенное исследование базируется на достаточно большом объеме источников научной литературы, проработанных автором. Работа была апробирована на конференциях различного уровня и результаты исследований опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных РИНЦ и Scopus. Таким образом, обоснованность научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации несомненна.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

Достоверность диссертационного исследования подтверждена большим объемом собственных экспериментальных исследований, проведенных с

применением современных физико–химических методов. В работе использовано сертифицированное оборудование. Применимость разработанных методик подтверждена валидационными исследованиями.

В результате проведения эксперимента, автором установлены морфологические различия видов горцев по характеру трихом на раструбах и листовых пластинках, наличию железок на листьях и околоцветнике. Впервые проведено сравнительное изучение анатомических особенностей 10 видов рода горец. Выявлены признаки, характерные для изучаемого рода, а также отличия для видов, относящихся к различным рядам, выделенным внутри рода. Автором показана возможность и перспективность использования люминесцентной и растровой электронной микроскопии для идентификации видов рода горец. В работе предложена оптимизация методики пробоподготовки сырья к микроскопическому анализу.

Получены новые научно – обоснованные данные о составе БАВ первичного и вторичного синтеза двух официальных и восьми примесных видов горцев и установлены маркерные компоненты и различия в химическом составе для каждого вида. Показано, что горец щавелелистный является перспективным источником флавоноидов. Установлены показатели качества, разработаны и валидированы методики количественного определения флавоноидов в изучаемых видах. Проведенные исследования позволили выявить закономерности в накоплении БАВ изучаемыми видами.

В 10 видах горцев установлено наличие более 50 макро- и микроэлементов. Различия в компонентном составе отсутствуют и связаны с удельным содержанием элементов. Автором разработана простая в исполнении и доступная для рутинного анализа методика определения кальция и магния в растительном сырье.

С помощью компьютерного моделирования выявлены основные направления фармакологического скрининга. Автором предложено получение жидких экстрактов (1:1) из травы горцев почечуйного и

щавелелистного и предложены показатели для оценки их качества. В результате доклинических исследований у экстрактов выявлен новый вид активности, который ранее не изучался – выраженное капилляропротекторное действие.

Научная новизна полученных результатов защищена 2 патентами Российской Федерации.

Значимость полученных результатов для науки и практики

В результате анатомо-морфологических исследований предложены параметры, позволяющие идентифицировать и объективно оценивать подлинность 10 изучаемых видов горцев. На основе предлагаемой в работе пробоподготовки свежего растительного сырья, сформулирован проект изменений к ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Проведенные фитохимические исследования послужили базой для разработки методик оценки качества травы горцев, которые включены в проекты нормативной документации.

Были разработаны: фармакопейная статья «Горца почечуйного трава», которая включена в ГФ РФ XIV издания, проекты фармакопейных статей: «Горца почечуйного трава свежая», «*Polygoni persicariae* L. herbae, *Persicaria* - Настойка гомеопатическая матричная», «Горца щавелелистного трава», «Горца почечуйного экстракт жидкий», «Горца щавелелистного экстракт жидкий» (проекты ФС направлены в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). Результаты диссертационной работы нашли отражение в монографии «Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.». Разработаны проекты «Инструкция по заготовке и сушке горца щавелелистного травы», «Инструкция по заготовке и сушке горца почечуйного травы». Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе ФГБОУ ВО ВГУ.

Содержание и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 450 страницах текста и проиллюстрирована 122 рисунками (в т.ч. микрофотографиями), содержит 65 таблиц. Работа структурирована и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, собственных экспериментальных исследований, которые изложены в 8 главах, общих выводов, списка литературы, включающего 288 источников (в т.ч. 80 на иностранном языке). Приложения представлены на 164 страницах.

Во **введении** автором раскрыта актуальность исследования, сформулированы цель и задачи работы, приведены данные о степени разработанности темы, изложены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту. Приведена информация об апробации работы на конференциях различного уровня и публикационной активности автора.

Первая глава диссертации посвящена обзору доступных литературных источников (как отечественных, так и зарубежных авторов) по вопросам современного состояния исследований растений рода горец. Автором проведен анализ информации по ботаническим особенностям представителей рода, их химическому составу и фармакологическим свойствам.

Во **второй главе** описаны объекты исследования, методы и методики, используемые в работе, представлен дизайн проведенного исследования.

В **третьей и четвертой главах** приведены результаты сравнительного изучения морфологических и анатомических характеристик 10 видов рода горец. С помощью методов микроскопического анализа (стереомикроскопии, люминесцентной микроскопии, классической микроскопии, петиолярной анатомии) выявлены и охарактеризованы маркерные признаки, которые могут быть использованы для идентификации растений в момент заготовки, а также определения показателя подлинности растительного сырья при проведении фармакогностического анализа. Полученные результаты могут

быть использованы для составления ключей – определителей видов рода горец как по внешним, так и анатомическим признакам.

В пятой главе автором описаны результаты сравнительного изучения соединений первичного синтеза в изучаемых 10 видах горцев, полученные с использованием тонкослойной хроматографии, капиллярного электрофореза и фармакопейных методик. Показано, что наибольшая сумма биологически активных соединений характерна для горцев ряда *Lapathiiformes*. Анализируя состав свободных сахаров, установлено преобладание фруктозы во всех объектах. В результате изучения водорастворимых витаминов, выявлено, что горец щавелелистный является перспективным источником холина. Автором установлены различия в качественном составе свободных аминокислот и количественном содержании их суммы в траве исследуемых горцев. Суммарное содержание аминокислот наиболее высокое в траве горца щавелелистного и горца почечуйного.

В шестой главе описаны исследования соединений вторичного синтеза в 10 видах горцев. Установлен качественный состав и количественное содержание органических кислот, гидроксикоричных кислот, дубильных веществ. Выявлены отличия в составе данных соединений в пределах исследуемых видов. Показано, что преобладающей в составе органических кислот являются щавелевая и муравьиная кислоты. Из гидроксикоричных кислот преобладает хлорогеновая кислота (на примере горца почечуйного травы).

Седьмая глава посвящена изучению главной группы соединений, присущей роду горец, флавоноидов. Автором проведено исследование флавоноидного состава и установлено наличие более 45 соединений флавоноидной природы. Показаны различия в составе данной группы соединений между представителями рода и для каждого вида выявлены маркерные соединения. Автором подобраны оптимальные условия количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в

траве горцев почечуйного и перечного. Проведены исследования по изучению химического свежезаготовленной травы на примере горца почечуйного. Изучено влияние факторов окружающей среды на состав флавоноидов, на примере горца почечуйного выявлен компонент с величиной $R_f 0,71 \pm 0,02$, присутствующий у растений, не зависимо от места произрастания. Результаты, приведенные в главе 7, легли в основу разработанных проектов фармакопейных статей. ФС «Горца почечуйного трава» вошла в состав ГФ РФ XIV издания.

Восьмая глава посвящена изучению минерального состава исследуемых растений, для чего автором использованы высокоточные современные методы анализа - метод хромато масс спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и растровая электронная микроскопия. Автором выявлены особенности накопления отдельных элементов изучаемыми видами. Подобраны оптимальные условия и разработана методика количественного определения содержания кальция и магния в растительных объектах с помощью комплексонометрического титрования после их озоления и прокаливания (патент РФ).

В **девятой главе** на примере травы горца почечуйного автором проведено изучение возможности накопления растением экотоксикантов (тяжелых металлов, радионуклидов, пестицидов), микотоксинов и исследование микробиологической чистоты. Установлено, что каждый из этих параметров не превышает нормы, приведенные в НД.

Десятая глава отражает результаты доклинических исследований полученных автором в лабораторных условиях жидких экстрактов травы горца почечуйного и горца щавелелистного. В работе выявлено, что при краткосрочном курсовом применении изучаемые экстракты проявляют капилляроукрепляющую активность, а жидкий экстракт горца почечуйного обладает кровоостанавливающей активностью слабой степени выраженности. Кроме того, автором проведено моделирование возможных

видов фармакологической активности с помощью электронного ресурса Pass-online.

В общих выводах отражены обобщенные результаты решения поставленных диссертантом задач исследования.

В приложениях приведены микрофотографии, полученные при изучении объектов исследования с помощью разных методов микроскопического анализа, изображения хроматограмм, электрофореграммы, сводные таблицы по составу минеральных соединений изучаемых горцев, изучению возможных видов фармакологических эффектов, полученных методом компьютерного моделирования, проекты разработанных нормативных документов, акты внедрения результатов исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

В целом, наряду с положительной оценкой диссертационной работы, считаю целесообразным высказать следующие замечания и вопросы:

1. Хотелось бы уточнить, сравнивались ли результаты количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в сырье видов рода горец, полученные с использованием ВЭЖХ, с результатами исследований другими методами, например, спектрофотометрией.
2. Интересно, какой из исследуемых видов рода горец наиболее близок по компонентному составу флавоноидов, фенилпропаноидов и дубильных веществ к фармакопейному виду - горцу почечуйному?
3. Диссертантом проведен большой объем работы по изучению первичных и вторичных метаболитов видов рода горец, среди которых наибольший интерес представляют флавоноиды. В этой связи хотелось бы уточнить, источником каких лекарственных препаратов позиционируется новый вид лекарственного растительного сырья «Горца щавелелистного трава»?
4. При изучении флавоноидного состава лекарственного растительного сырья «Горца почечуйного трава» (стр. 188-190) с использованием

метода ТСХ обнаружен маркерный флавоноид, характерный для травы данного растения и присутствующий в образцах сырья независимо от места произрастания растения. Удалось ли это вещество идентифицировать при последующем изучении компонентного состава методом ВЭЖХ?

5. В проектах фармакопейных статей «Горца почечуйному трава» (стр. 417) и «Горца почечуйного трава свежая» (стр. 424) в разделе «Подлинность» предусмотрено использование в методе ТСХ стандартного образца рутина, однако в проекте ФС «Горца щавелелистного трава» (раздел «Подлинность») использование данного стандарта не предусмотрено. Объясните, пожалуйста, чем это обусловлено?
6. Текст диссертации на некоторых страницах (стр. 174, 181, 190 и др.) содержит опечатки и стилистические погрешности.

Вышеперечисленные замечания, рекомендации и вопросы не носят принципиального характера, не снижают ценность проделанной работы и не влияют на положительную оценку диссертации.

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

