

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Доктора фармацевтических наук (15.00.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцента, профессора кафедры фармации и биотехнологии Института фармации и биотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Мараховой Анны Игоревны, на диссертационную работу Ермакова Алексея Романовича на тему «Сравнительное изучение и усовершенствование методов анализа плодов и побегов можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.)», 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

В диссертации Ермакова А.Р. представлены результаты исследования на актуальную тему, посвященную анализу биологически активных соединений (БАС) с целью внедрения в фармацевтическую практику новых видов растительного сырья. Значимость выбранной темы определяется устойчивой потребностью фармацевтической практики в расширении номенклатуры отечественного лекарственного растительного сырья, повышении качества его идентификации и разработке надежных, воспроизводимых методов анализа БАС природного происхождения.

В Государственной фармакопее РФ XV издания представлена частная статья «Можжевельника обыкновенного плоды», тогда как побеги и листья, содержащие комплекс эфирномасличных, фенольных, полисахаридных и иных биологически активных соединений, в официальной медицине не используется.

Актуальность исследования обусловлена также тем, что побеги и листья можжевельника обыкновенного могут рассматриваться как перспективный источник соединений с антимикробным, противовоспалительным, антиоксидантным и диуретическим действием. На фоне возрастающей резистентности микроорганизмов к антибиотикам и химико-фармацевтическим

препаратам, которая, по последним научным данным, не развивается в течение длительного времени при применении комплексных препаратов природного происхождения, разработка критериев и методик стандартизации плодов, побегов и листьев *Juniperus communis* L. имеет не только научное, но и прикладное значение. Таким образом тема диссертационного исследования является своевременной, научно обоснованной и соответствует приоритетным задачам фармацевтической науки.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Цель исследования заключается в фармакогностическом изучении и научном обосновании характеристик подлинности и показателей качества нового растительного сырья - листьев и побегов можжевельника обыкновенного, а также измельченных плодов можжевельника обыкновенного и получаемых из них водных и водно-спиртовых извлечений. Поставленные задачи логично раскрывают цель исследования и охватывают все необходимые этапы: анализ литературы и нормативной документации, морфолого-анатомическое исследование сырья, изучение состава биологически активных веществ, разработку показателей качества, оценку некоторых характеристик извлечений и определение антимикробного действия.

Следует отметить, что диссертантом выбран комплексный дизайн исследования, который обеспечивает переход от теоретического обоснования перспективности объекта к экспериментальному подтверждению его фармакогностической и аналитической значимости. В работе изучены плоды, листья и побеги можжевельника обыкновенного, заготовленные от дикорастущих и культивируемых растений Центрального региона Российской Федерации, что позволяет сопоставить данные для разных морфологических органов и источников сырья.

Обоснованность научных положений подтверждается широким набором использованных методов. В диссертации применены макро- и микроскопический анализ, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ-МС, газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием, УФ-спектрофотометрия, гравиметрические и титриметрические методы, рентгенофлуоресцентный анализ, а также метод диффузии в агар для оценки антимикробной активности.

Статистическая обработка результатов выполнена с учетом требований Государственной фармакопеи и обеспечивает корректную оценку воспроизводимости полученных данных.

Научные положения, выносимые на защиту, соответствуют содержанию диссертации. Выводы диссертации вытекают из фактического материала и вполне отражают полученные результаты.

Достоверность и научная новизна исследования

Достоверность результатов обеспечена достаточным объемом экспериментальной работы, использованием современных аналитических методов и статистической обработкой полученных данных. Автором проведено исследование цельного, измельченного сырья и порошка плодов, что особенно важно для целей фармакопейной диагностики. Полученные морфолого-анатомические данные имеют практическую значимость, поскольку позволяют дополнить описание признаков измельченных плодов и порошка, а также сформировать диагностические критерии для побегов и листьев можжевельника обыкновенного.

К числу значимых результатов следует отнести установление диагностических признаков листьев и побегов можжевельника: размеров и формы, характера поверхности, листорасположения, цвета, запаха и вкуса, а также микроскопических признаков - наличия гиподермы, смоляного канала, особенностей вторичного строения стебля, коры и древесины. Указанные результаты позволяют рассматривать выполненный раздел как важную основу для разработки нормативной документации на новые виды сырья.

Автором получены данные о содержании экстрактивных веществ, пигментного комплекса, эфирного масла, органических кислот, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, полисахаридов, макро- и микроэлементов в исследуемых объектах исследования. Установлено, что максимальный выход экстрактивных веществ для изученных объектов достигается при использовании 70% этанола, причем для побегов эффективнее экстракция при использовании этанола концентрацией 36,7%. Выявлены хлорофилл α , хлорофилл β , каротиноиды и другие компоненты пигментного комплекса; показано, что возраст сырья оказывает ограниченное влияние на суммарное

содержание пигментов, тогда как место заготовки может быть значимым фактором.

Существенный интерес представляют результаты определения эфирного масла. Автор показал снижение содержания эфирного масла при сушке, что свидетельствует о необходимости дальнейших исследований по оптимизации режима сушки.

Новизной обладают результаты хроматографического анализа фенолкарбоновых кислот. Методом ВЭЖХ-МС в образцах выявлены 6 гидроксibenзойных и 4 гидроксикоричные кислоты, показаны различия в их распределении между плодами, хвоей и побегами. Для большинства гидроксibenзойных кислот наиболее интенсивные пики обнаружены в образцах хвои, тогда как для большинства гидроксикоричных кислот - в молодых побегах. Идентификация производных фенолкарбоновых кислот, включая диметоксибензойную и дигидроксикоричную кислоты, расширяет представления о химическом составе сырья можжевельника обыкновенного.

Автором также оптимизирована методика количественного определения флавоноидов в пересчете на рутин в исследуемых объектах. Полученные данные убедительно демонстрируют, что побеги и хвоя можжевельника могут рассматриваться как сырье, содержащее значимые количества фенольных соединений.

Следует также отметить, что автор валидировал методику количественного определения полифенольных веществ методом УФ-спектрофотометрии с реактивом Фолина-Чокальтеуи показал ее пригодность для включения в проект нормативной документации.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Теоретическая значимость диссертации состоит в расширении научных представлений о фармакогностических признаках и химическом составе сырья можжевельника обыкновенного. Работа дополняет сведения о пигментном комплексе, фенолкарбоновых кислотах, флавоноидах, полисахаридах, эфирном масле и летучих органических соединениях плодов, листьев и побегов. Полученные данные имеют значение для дальнейших исследований сырья

Juniperus communis L. и могут быть использованы при разработке новых подходов к его стандартизации.

Практическая значимость работы выражается в подготовке проекта фармакопейной статьи на новый вид сырья - «Побеги можжевельника обыкновенного», а также в разработке предложений по дополнению действующей фармакопейной статьи «Плоды можжевельника обыкновенного» в части микроскопической характеристики измельченного сырья и порошка. Это особенно важно для практики контроля качества, поскольку в фармацевтическом обращении нередко используются не только цельные, но и измельченные виды лекарственного растительного сырья.

Предложенные автором нормы для побегов можжевельника обыкновенного включают показатели влажности, золы общей, золы, нерастворимой в кислоте хлористоводородной, измельченность, содержания примесей, эфирного масла, полифенольных соединений и экстрактивных веществ, извлекаемых 70 % этанолом.

Практически важным является и раздел, посвященный водным и водно-спиртовым извлечениям из побегов можжевельника. Показано, что извлечения сохраняют основные группы биологически активных веществ исходного сырья. Водное извлечение, настойка и более концентрированное водно-спиртовое извлечение имеют различающиеся показатели качества, что может быть использовано при дальнейшем выборе рациональной лекарственной формы.

Особого внимания заслуживает экспериментальная оценка антимикробной активности. Водно-спиртовое извлечение 70% этанолом в соотношении 1:5 проявляло более выраженное действие в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* по сравнению с контролем, что подтверждает перспективность дальнейшего исследования побегов можжевельника как источника средств антимикробной направленности.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно пунктам 2,3,5,6.

Полнота освещения результатов диссертации в печати и внедрение

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе данных Scopus, и 2 тезиса конференций. Объем публикаций соответствует характеру кандидатской диссертации и свидетельствует о достаточной апробации основных результатов.

Материалы исследования докладывались на научных мероприятиях, включая Международную научно-практическую конференцию молодых ученых «Фармация. Вызов времени», The 5th China-Russia International Symposium for Young Scholars и XXV Международный конгресс «Здоровье и образование в XXI веке». Апробация результатов состоялась на межкафедральной научной конференции кафедр Института фармации им. А.П. Нелюбина Сеченовского Университета.

Результаты работы внедрены в учебный процесс профильных кафедр Института фармации им. А.П. Нелюбина, а также использованы при подготовке проекта фармакопейной статьи на побег можжевельника обыкновенного и предложений по внесению изменений в действующую фармакопейную статью на плоды можжевельника. Отдельная методика идентификации и количественного определения суммарного содержания хлорофиллов в хвое внедрена в работу профильной организации, что дополнительно подтверждает прикладную ценность исследования.

Оценка структуры и содержания диссертации

Диссертация изложена на 172 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, пять глав собственных исследований, заключение, общие выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы и приложения. Работа содержит 33 таблицы и 49 рисунков. Список литературы включает 146 источников, в том числе 49 иностранных. Представленная структура является логичной и соответствует поставленной цели исследования.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи, определены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, методы исследования, степень достоверности, сведения об апробации, публикациях, внедрении, структуре и

объеме диссертации. Введение в целом полно отражает замысел исследования и показывает его связь с современными задачами фармацевтической науки.

Первая глава представляет обзор литературы, посвященный ботанической характеристике рода *Juniperus*, историческому опыту использования сырья можжевельника, сведениям о химическом составе, фармакологической активности и применении можжевельника в медицинской практике и иных отраслях. Автор убедительно показывает, что в настоящее время потенциал растения используется ограниченно, а нормативная документация на хвою и побеги отсутствует. Выводы к главе логично подводят к необходимости проведения собственного исследования.

Вторая глава описывает объекты и методы исследования. В качестве объектов представлены плоды, листья и побеги можжевельника обыкновенного, заготовленные в 2022-2023 гг. в естественных условиях произрастания Центрального региона Российской Федерации, а также образцы культивируемого сырья. Описаны методы анализа и статистической обработки.

Третья глава посвящена макроскопическому и микроскопическому исследованию сырья. Автором подробно описаны внешние и анатомо-диагностические признаки плодов, побегов и листьев можжевельника, включая цельное, измельченное сырье и порошок.

Четвертая глава представляет результаты оценки экстрактивных веществ, качественного и количественного определения пигментов, эфирного масла, свободных органических кислот, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, полисахаридов, минеральных веществ и летучих соединений.

Пятая глава посвящена разработке показателей качества сырья и извлечений. В ней представлены числовые показатели побегов можжевельника, данные валидации методики определения полифенольных веществ, характеристики водных и водно-спиртовых извлечений, а также результаты изучения антимикробной активности.

Заключение, общие выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы в целом соответствуют содержанию диссертации. Выводы сформулированы последовательно, отражают основные экспериментальные результаты и не выходят за пределы полученных данных.

Приложения содержат проект фармакопейной статьи «Побеги можжевельника обыкновенного - *Juniperus communis cormus*» и дополнения к статье «Можжевельника обыкновенного плоды», что подчеркивает прикладную направленность работы.

Достоинства и замечания по диссертационной работе

К основным достоинствам диссертационной работы следует отнести комплексный характер исследования, включающий как морфологический, фитохимический анализ, выполненный на достойном аналитическом уровне, так и установление биологической активности.

При общей положительной оценке, по диссертации возникли некоторые вопросы и замечания:

1. На стр. 43 указано «присутствие слабых органических кислот... способствует сдвигу pH в щелочную сторону». О чем конкретно идет речь?
2. Какую подвижную фазу и с каким градиентом применяли для ВЭЖХ-анализа органических кислот?
3. На рис. 9 указано, что содержание флавоноидов определяли методом УФ-спектрофотометрии, однако далее по тексту отмечено, что проводили реакцию с алюминия хлоридом, что предполагает анализ в видимой области. Поясните.
4. На стр. 50 написано, что количественный анализ гидроксикоричных кислот проводили методом спектрофотометрии и «заливали весь рассчитанный экстрагент». Какое количество экстрагента использовали. Поясните условия экстракции.
5. Что означает цифра 4 в формулах для расчета содержания хлорофилла и каротиноидов (стр. 55)?
6. В схеме определения каротиноидов опечатка, обозначен удельный показатель поглощения хлорофилла. Как рассчитывали содержание каротиноидов?
7. В ОФС 1.5. ГФ XV изд. отсутствует такое наименование ЛРС, как «хвоя». На наш взгляд, корректнее было использовать термин «листья».
8. Поясните, что обозначают шифры образцов в табл. 12?

9. С какой целью изучали состав гидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот в незрелых плодах можжевельника?
10. На рис. 41 образцы 3В и 4С обозначены как «хвоя можжевельника дикорастущего». На рис. 42 образцы 3В и 4В обозначены также.
11. При какой аналитической длине волны определяли суммарное содержание гидроксикоричных кислот методом УФ-спектрофотометрии?
12. В табл. 15 приведены времена удерживания флавоноидов. Для какого вида сырья приведены эти данные и с какой целью? Каково значение этих результатов для общей задачи исследования?
13. В таблице 17 и 18 приведены данные по содержанию полисахаридов в исследуемом сырье различными методами. Какой из методов по мнению автора является более предпочтительным?
14. На наш взгляд, утверждение (стр. 111) о возможности использования извлечений из сырья можжевельника для лечения дерматологических заболеваний за счет присутствия в объектах цинка в количестве примерно 0,008 мкг/г не является вполне правомерным. Какие еще закономерности обнаружены после проведения элементного анализа и что он конкретно показал?
15. В таблице 22 значатся ягоды можжевельника. Поясните, пожалуйста, какая морфологическая группа сырья?
16. С какой целью изучали летучие вещества в листьях и плодах можжевельника. Какое практическое значение имеет этот анализ?
17. В выводах к главе 4 автор указывает необходимость оптимизации режима сушки «хвой» для сохранения эфирных масел, но не предлагается ничего конкретно. В чем может заключаться оптимизация?
18. В выводе 7 в главе 4 отмечено отсутствие в образцах тяжелых металлов, однако в тексте нет никаких комментариев на этот счет.

Следует отметить, что указанные замечания и вопросы носят

уточняющий и рекомендательный характер, не затрагивают принципиальных результатов исследования и не снижают его научной и практической значимости.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Ермакова Алексея Романовича на тему «Сравнительное изучение и усовершенствование методов анализа плодов и побегов можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи изучения состава БАВ и стандартизации сырья можжевельника обыкновенного, имеющей существенное значение для фармацевтической химии и фармакогнозии, 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 (с изменениями, утвержденными: приказом № 1179/Р от 29.08.2023 г., приказом № 0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Ермаков Алексей Романович заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

доктор фармацевтических наук, профессор,
профессор кафедры фармации и биотехнологии
Института фармации и биотехнологии

Федерального государственного
автономного образовательного
учреждения высшего образования
«Российский университет дружбы
народов имени Патриса Лумумбы»



А.И. Марахова

Дата 13.05.2026 г.

Подпись А.И. Мараховой удостоверяю
Ученый секретарь Ученого Совета РУДН
доктор исторических наук



К. П. Курылев