

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук (3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессора, заведующего кафедрой фармацевтической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Сливкина Алексея Ивановича, 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

В диссертации Нестерова Г.В. рассматривается значимая тема анализа биологически активных веществ и стандартизации нового растительного сырья — листьев ольхи видов серая и черная, широко произрастающих в РФ. Это направление является актуальным, поскольку в России основным лекарственным сырьем служат соплодия ольхи серой и черной, заготовка которых осуществляется вручную в ограниченный период времени. Растения рода *Alnus* традиционно использовались в лечении инфекционных ран и кровотечений в различных медицинских системах. В народной медицине Европы и Канады отвары из листьев ольхи применялись как средства против онкологических заболеваний. В литературе имеются сведения о возможности использования водного извлечения из листьев ольхи для лечения язвенной болезни желудка. Листья ольхи вошли в Государственную Фармакопею Республики Беларусь и используются как противовоспалительные и антиоксидантные средства. При этом в Российской Федерации листья черной и серой ольхи не имеют официального признания и не включены в фармакопею, что может быть обусловлено отсутствием комплексных исследований данного

перспективного растительного сырья, направленных на изучение качественного и количественного состава биологически активных веществ, с последующей разработкой методов стандартизации сырья и обеспечении системы контроля качества листьев ольхи. Комплексное исследование листьев ольхи и их экстрактов может подтвердить их полезные свойства в качестве сырья, что представляет собой важную задачу для современной фармации. Для достижения поставленных цели и задач Нестеровым Г.В. был осуществлен комплекс научно-исследовательских работ, который включает изучение внешних и микродиагностических признаков сырья в цельном, измельченном и порошокванном состояниях, анализ состава биологически активных веществ как в свежесобранном сырье, так и в высушенных и замороженных листьях, а также разработка эффективных методов контроля качества листьев ольхи серой и черной.

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

Диссертационное исследование выполнено с использованием высокотехнологического оборудования для осуществления физико-химических и фармакогностических подходов к анализу нового вида растительного сырья, что позволяет сделать вывод о том, что работа Нестерова Г.В. выполнена на высоком научном и методическом уровне. Автором изучен существенный объем отечественной и зарубежной научной литературы и нормативной документации, позволивший разработать дизайн собственного исследования. На всех этапах выполнения работы автором применялись оптимальные методологические подходы, исходя из поставленных цели и задач. Все полученные результаты обработаны методами статистического анализа. Представленные в диссертации результаты проведенных анализов, научные положения и рекомендации автора являются обоснованными и достоверными, логически следуют из представленных статистически обработанных данных.

Положения и выводы в диссертации Нестерова Г. В. базируются на достаточном объеме экспериментальных данных. Основные результаты

диссертационного исследования достаточно полно обсуждены на научно-практических конференциях различного уровня.

Достоверность и научная новизна исследования полученных результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием поверенного современного высокотехнологичного оборудования для проведения фармакогностического анализа исследуемого сырья, а также документирована фотографиями микропрепаратов, спектров, результатов хроматографического анализа, статистической обработкой и соответствующей интерпретацией полученных экспериментальных данных. Все экспериментальные исследования выполнены автором лично на сертифицированном оборудовании с действующими свидетельствами о проверке, их результаты статистически обработаны, методики количественного определения валидированы.

Нестеровым Г.В. впервые были получены новые сведения в результате анализа внешнего вида и микроскопических свойств листьев ольхи серой и черной. Выявлены ключевые диагностические признаки, которые планируется включить в соответствующие разделы разрабатываемой нормативной документации.

Автором были использованы современные инструментальные методы физико-химического анализа, таких как ВЭЖХ-УФ, ГХМС, спектрофотометрия и ТСХ, с применением которых было исследован состав и содержание различных биологически активных веществ (БАВ) в исследуемом сырье, включая флавоноиды, органические и гидроксикоричные кислоты, аминокислоты, полисахариды, дубильные вещества и тритерпеновые сапонины. Анализ аминокислотного комплекса, состава сахаров и тритерпеновых сапонинов проведен для данного сырья впервые. Выяснилось, что качественный состав БАВ остается неизменным для свежих, замороженных, высушенных листьев ольхи. Впервые была оценена экстракция БАВ с использованием экстрагентов различной полярности, впервые в сырье листья ольхи серой и черной обнаружены такие характерные вещества как хумулан-1,6-диен-3-ол, β -амирин, γ -ситостерол, транс-

лонгипинокарвеол, эвгенол, в листьях ольхи черной обнаружен лупеол, в листьях ольхи серой- лупеон, что может дать возможность использовать их как характерные компоненты для определения подлинности, как исходного сырья листьев черной и серой ольхи, так и получаемых на их основе лекарственных препаратов. Количественный анализ продемонстрировал определенные закономерности в изменении содержания БАВ в зависимости от метода консервации: при сушке с использованием тепла наблюдается значительное 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. Изучение антимикробной активности выявило, что исследуемые извлечения обладают антимикробным действием в отношении восьми штаммов микроорганизмов.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты проведенной экспериментальной работы позволяют эффективно и рационально использовать в научной медицине и фармации новое растительное сырье – листья двух видов ольхи.

Научные исследования, проведенные Нестеровым Г.В., и полученные экспериментальные результаты позволяют значительно расширить современные представления о составе и количественном содержании биологически активных веществ, таких групп как флавоноиды, органические и фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, полисахариды, аминокислоты, тритерпеновые сапонины, содержащихся в листьях ольхи, заготовленных в Московской и Тверской областях, конкретизировать характеристики внешних и анатомо-диагностических признаков, особенности проявления сырьем адсорбционной и антимикробной активности. В работе приводятся результаты оценки ряда показателей подлинности и качества водных и сводно-спиртовых извлечений из листьев ольхи. Разработаны и валидированы методики для качественного и количественного анализа основных БАВ в новом растительном сырье и в

получаемых на его основе извлечениях, которые будут включены в проекты нормативной документации. Основные положения диссертационной работы 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 выполненного автором исследования 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

По теме диссертационной работы опубликовано 13 работ, в том числе: 4 статьи 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 Нестерова Н.В. состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части -- главы 2–6, заключения, списка

литературы и приложений. Диссертация изложена на 165 страницах машинописного текста и включает в себя 42 таблицы и 47 рисунков. Библиографический список представлен 182 источниками.

Во **введении** четко изложены актуальность темы, уровень ее разработки, а также сформулированы цель и задачи исследования. Также представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования. Указаны положения, выносимые на защиту, степень достоверности полученных результатов и их апробация, а также личный вклад автора.

Первая глава – **«Обзор литературы»** основана на обзоре отечественной и зарубежной литературы, в которой рассматриваются аспекты фармакологического действия изучаемого сырья, а также особенности медицинского применения листьев ольхи черной и серой. Обсуждаются существующие данные о составе биологически активных веществ, присущих этому сырью, а также представлена краткая информация о российском рынке лекарств растительного происхождения с антимикробной активностью и обоснована необходимость его расширения, что обусловлено существующей проблемой прогрессирующей антибиотикорезистентности у микроорганизмов.

Вторая глава – **«Объекты и методы исследования»** включает информацию, описывающую объекты исследования, методы анализа, применяемые в ходе работы, а также аппаратное оборудование, использовавшееся для выполнения исследований. Дополнительно представлены методические данные.

Третья глава – **«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 и анатомических характеристик листьев ольхи черной и серой в цельном, измельченном и порошковом состояниях. В ходе этого исследования выявлено отсутствие существенного влияния способа консервации сырья на встречаемость анатомо-диагностических признаков

листьев ольхи серой и черной, а также были предложены диагностические признаки, которые позволяют проводить идентификацию сырья.

Четвертая глава – **«Изучение состава и количественного содержания биологически-активных веществ листьев ольхи»** содержит результаты экспериментальных анализов, посвященных изучению состава и количественной оценки таких групп биологически активных веществ (БАВ), как флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, органические кислоты, дубильные вещества, полисахариды, аминокислоты, тритерпеновые сапонины в листьях ольхи черной и серой, а также в их видовой смеси. В ней представлены результаты определения зависимости содержания БАВ от методов консервации сырья. При проведении анализа фракции органических кислот выявлено наличие яблочной, лимонной, щавелевой, янтарной и аскорбиновой кислот. Проведение анализа фракции, содержащей фенольные производные продемонстрировало наличие в сырье хлорогеновой, неохлорогеновой, кофейной, галловой, эллаговой кислот, рутина, гиперозида, кверцетина, катехина, лютеолина. Автором установлено наличие в исследуемом сырье эвгенола, ранее описанного в данном семействе только для растения *Alnus pendula*. Автор приводит информацию об оценке экстрактивных веществ, полученных с использованием различных экстрагентов, а также результаты качественного и количественного анализа содержания хлорофилла, каротиноидов, полифенолов, флавоноидов, органических и аминокислот, тритерпеновых сапонинов в листьях ольхи, подвергнутых разным методам консервации. Методики количественного определения валидированы.

Пятая глава - **«Товароведческий анализ и изучение технологических характеристик листьев ольхи»** включает результаты товароведческого анализа и изучения отдельных технологических характеристик листьев ольхи, на основании которых предложены числовые показатели и определены нормы, рекомендованные к включению в разрабатываемую нормативную документацию, а также данные об оценке адсорбционной способности и антимикробной активности исследуемого сырья.

В шестой главе – «Обоснование выбора экстракционных препаратов из листьев ольхи» изложены данные, подтверждающие выбор условий получения извлечений из листьев ольхи, а также результаты исследования влияния различных факторов на качество водных и водно-спиртовых экстрактов, полученных из листьев ольхи серой и черной, а также результаты оценки некоторых показателей качества.

В заключении отражены основные результаты диссертационного исследования, соответствующие поставленным задачам.

В приложении содержится проект фармакопейной статьи на листья ольхи.

Оценивая диссертационную работу Нестерова Г.В. 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 полностью соответствует и отражает основные положения и общие выводы диссертации.

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, построена логично, общие выводы соответствуют результатам проведенного исследования и несомненно заслуживает положительной оценки.

Однако при общей положительной оценке работы, необходимо отметить следующие возникшие вопросы:

1. Какую оценку можно дать растительным ресурсам листьев ольхи черной и серой, и как на Ваш взгляд будет влиять заготовка, особенно промышленная, на природные ресурсы данных растений?

2. Возможно ли использование листьев ольхи в составе сборов ЛРС и какое основное фармакологическое свойство листьев, способное определить перспективы медицинского использования.?

3. Чем обусловлен выбор элюента при проведении ВЭЖХ анализа сырья на наличие фенолкарбоновых кислот?

4. В РФ фармакопейным сырьем являются соплодия ольхи, планируется ли использовать изучаемые в ходе Вашего исследования листья, как дополнение к данному сырью или это будет сырье индивидуального направления?

5. Вами разработана методика количественного определения тритерпеновых сапонинов, изучалась ли данная группа БАВ в сырье ольхи ранее, каким методом, и если да, то в чем преимущества выбранной Вами методики?

Также имеется ряд замечаний:

1. На наш взгляд, обзор литературы перегружен избыточной исторической информацией, а также данными, характеризующими виды ольхи, не используемой в фармацевтической практике и даже не произрастающей в РФ. Данную информацию целесообразно вынести в приложения.

2. Диссертантом проведена большая работа по изучению компонентного состава листьев ольхи, однако результаты данных исследований не включены в проект ФС.

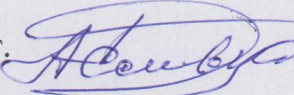
В работе встречаются отдельные стилистические неточности и опечатки. Указанные замечания и вопросы носят рекомендательный характер и не уменьшают научную значимость диссертационного исследования.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Нестерова Георгия Викторовича на тему: «Изучение показателей качества листьев ольхи видов *Alnus incana* (L.) Moench; *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn», на соискание ученой степени кандидата

фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является научно-квалификационной работой, в которой решена важная задача стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья, позволяющего расширить сырьевую базу, 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 ее автор Нестеров Георгий Викторович заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент: Доктор фармацевтических наук, профессор Заведующий кафедрой фармацевтической технологии, федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации проф.

« 19 » сентября 2025 г.  Сливкин Алексей Иванович

Подпись Сливкина Алексея Ивановича заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

« 19 » сентября 2025 г.  Лопаева Мария Артуровна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет»

Адрес: 394018, г. Воронеж, Университетская площадь, 1

Тел.: +7 (473) 220-75-21

Адрес электронной почты : slivkin@pharm.vsu.ru