

«УТВЕРЖДАЮ»  
Проректор по научной работе и  
инновационному развитию  
ФГБОУ ВО «Курский государственный  
медицинский университет» Минздрава России  
доктор медицинских наук, доцент



Гаврилюк В.П.  
20 22 г.

### ОТЗЫВ

Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России о научно-практической значимости диссертации Гудковой Алевтины Алексеевны «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 темы диссертации

Расширение сырьевой базы для получения лекарственных растительных препаратов является актуальной задачей современной фармацевтической науки. Одним из путей решения этой проблемы является изучение дополнительных растительных источников, представленных в том числе и близкородственными к официальным растениям видами. С этой точки зрения несомненный интерес представляют растения рода горец (*Persicaria* Mill.) семейства гречишные (*Polygonaceae* Juss.). Род насчитывает около 66 видов, являющихся преимущественно сорняками и имеющих широкий ареал произрастания. В настоящее время в Государственную Фармакопею РФ XIV издания включены и разрешены к медицинскому использованию два вида рода горец – горец перечный и горец почечуйный, остальные виды (горец малый, горец щавелелистный, горец войлочный, горец Бриттингера и др.) считаются примесными и не допускаются к заготовке. Вместе с тем, в литературе достаточно полно освещены данные,

касающиеся изучения состава фенольной фракции фармакопейных видов горцев, информация о составе низкомолекулярной части метаболома, а также сведения о химическом составе неофицинальных видов горцев довольно ограничена. Также не выявлены научно обоснованные экспериментальные данные по наличию гемостатической активности изучаемых видов. Все вышеперечисленное указывает на актуальность и перспективность изучения близкородственных видов горцев.

### **Связь работы с планом соответствующей отрасли науки**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по научной проблеме «Стандартизация и оценка качества некоторых представителей рода *Polygonum L.*, а также лекарственных растительных препаратов на их основе» (номер государственной регистрации СП-2086.2018.4).

### **Новизна исследования и полученных результатов**

Диссертационная работа Гудковой А.А. является самостоятельным исследованием, научные положения, выводы, результаты логичны и аргументированы, что позволяет считать их значимыми для науки и практики. Достоверность обусловлена использованием 288 источников литературы, включающих как отечественные, так и зарубежные источники и нормативные документы. Разработанные методики валидированы, полученные результаты статистически обработаны, согласно требованиям действующей нормативной документации.

Научная новизна полученных результатов подтверждается использованием современных методов анализа (несколько разновидностей микроскопического анализа, в т.ч. люминесцентная и растровая электронная микроскопия, физико-химические методы анализа БАВ – капиллярный электрофорез, ВЭЖХ, хромато-масспектрометрия и др.).

Впервые проведен системный анализ морфолого-анатомических признаков 10 видов рода горец. Автором предложены оптимальные условия пробоподготовки растительного сырья к микроскопическому анализу. В результате микроскопического анализа, получены новые сведения, позволяющие установить идентификационные признаки видов.

В работе впервые предложено и дано научное обоснование применению петиолярной анатомии для установления видовой принадлежности растений. Показана возможность использования люминесцентной и растровой микроскопии в морфолого-анатомическом исследовании горцев.

Автором впервые в рамках научного исследования углублена и расширена информация о составе биологически активных соединений органического и минерального происхождения для фармакопейных видов (травы горца почечуйного и горца перечного). Для неофициальных видов получены новые научно-обоснованные данные о составе их метаболома, что позволило выявить отличия в составе и содержании отдельных групп БАВ для изучаемых видов горцев, для чего были разработаны и валидированы методики количественного определения, адаптированные к изучаемым видам. В результате сравнительного фитохимического анализа автором выявлены закономерности по накоплению отдельных групп БАВ в составе близкородственных видах горцев, а также установлены отдельные маркерные БАВ.

В работе впервые изучен минеральный состав травы 10 видов рода горец, произрастающих в Воронежской обл., который представленный 56 элементами. Установлены особенности накопления элементов в растениях. Выявлена зависимость между количественным содержанием кальция в объектах исследования, частотой встречаемости и размером друз оксалата кальция. Приоритетность научных исследований по определению содержания минеральных компонентов метаболома в траве горца почечуйного защищена патентом RUS 2605855.

Полученные результаты позволили рекомендовать траву горца щавелелистного в качестве наиболее перспективного источника лекарственного растительного сырья.

Впервые для изучаемых видов методом компьютерного моделирования *in silico* установлены приоритетные направления фармакологического скрининга 10 изучаемых видов горцев в зависимости от состава фенольного комплекса БАВ.

Для проведения доклинических исследований гемостатической и капилляропротекторной активности, в лабораторных условиях получены жидкие экстракты травы горцев почечуйного и щавелелистного, даны характеристики и определены показатели их качества в соответствии с действующей нормативной документацией. Впервые *in vivo* установлено наличие у жидкого экстракта горца щавелелистного травы гемостатической активности и выраженной капилляропротекторной активности.

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

На основании проведенного эксперимента с помощью методов микроскопического анализа установлены морфологические и анатомические признаки, которые в дальнейшем рекомендованы для идентификации и установления подлинности 10 изучаемых видов рода горец.

В результате усовершенствования пробоподготовки свежего растительного сырья к микроскопированию, автором предложен проект изменений к ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Результаты проведенного фитохимического анализа расширят сведения о химическом составе фармакопейных и примесных растений рода горец. Разработанная и валидированная спектрофотометрическая методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в изучаемых объектах легла в основу разработки фармакопейных статей на траву горца почечуйного и горца щавелелистного.

Получены новые сведения по составу метаболома 10 видов горцев. На основе проведенных исследований, разработаны пять проектов фармакопейных статей, предоставленные в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России.

Сформулированные рекомендации по идентификации изучаемых видов по морфолого-анатомическим признакам, изложены в монографии Гудковой А.А.,



Чистяковой А.С., Сорокиной А.А. «Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.».

#### **Личный вклад автора**

Автором проведен выбор научного направления, выполнена основная часть экспериментальных исследований, обоснованы и обобщены полученные экспериментальные данные. Результаты научных исследований опубликованы, ведущая роль в подготовке и написании научных трудов с соавторами принадлежит автору. Внедрение результатов диссертационного исследования осуществлено автором.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Полученные Гудковой А.А. в ходе выполнения диссертационной работы данные могут быть использованы как в практической фармации, так и фармацевтической науке. Результаты диссертационного исследования использованы автором при разработке нормативной документации на горца почечуйного траву, вошедшую в ГФ РФ XIV изд. Проекты НД на другие виды сырья и лекарственные растительные препараты необходимы для регистрации неофицинальных видов растительного сырья и фитопрепаратов, а также организации процессов заготовки сырья.

Перспективами дальнейшей разработки темы можно выделить разработку ключей-определителей, используемых для экспресс-идентификации растительного сырья; как при заготовке, чтобы максимально исключить ошибки при сборе, так и при разработке современной НД для стандартизации и оценки качества растительного сырья видов рода горец, что может быть совершено на основе результатов морфолого – анатомического исследования. Изученные в работе виды горцев перспективны к внедрению в качестве лекарственного растительного сырья и лекарственной растительной субстанции для получения фитопрепаратов наряду с горца почечуйного и горца перечного травой.

### Характеристика публикаций по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 62 печатных работы: 21 статья в научных журналах (из них 19 статей в журналах, входящих в список ВАК, в том числе 2 из которых входят в базу Scopus), 25 статей в сборниках научных трудов и материалах конференций, 13 тезисов, 2 патента РФ на изобретения, 1 монография: «Экспериментально-теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.» (Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2020).

### Содержание диссертации и ее завершенность

Диссертационная работа включает 10 глав, изложенных на 450 страницах печатного текста, проиллюстрирована 122 рисунками (в т.ч. микрофотографиями), содержит 65 таблиц и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, использованных в работе, 8 глав собственных экспериментальных исследований, общих выводов, списка литературы, представленного 288 источниками (в т.ч. 80 на иностранном языке), и приложений (164 стр.).

Во введении диссертации обоснована актуальность темы исследования, сформулированы научная новизна, цель и задачи работы, теоретическая и практическая значимость результатов исследования, положения, выносимые на защиту, представлены результаты апробации и внедрения.

*Первая глава* содержит обзор литературы, включающий характеристику семейства гречишных и растений рода горец, их ареал произрастания, данные о химическом составе, а также особенности медицинского применения и проявляемые фармакологические эффекты.

Автором выявлено, что работы, касающиеся отдельных аспектов изучения метаболома представителей рода горец *Persicaria* Mill единичны и не систематизированы. Установлено отсутствие системного методического подхода к идентификации представителей рода горец по морфологическим и анатомическим характеристикам. Выявлена необходимость совершенствования нормативной документации, регламентирующей как заготовительный процесс, так и оценку качества лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на его основе.

Во второй главе представлены объекты исследования, методы анализа. Все реактивы и оборудование отвечает требованиям нормативной документации.

Третья глава посвящена изучению морфологических особенностей растений рода горец с использованием разных методов анализа (стереомикроскопия, люминесцентная микроскопия). Автором получены результаты, которые могут быть использованы для экспресс-идентификации растительного сырья по морфологическим признакам, как при заготовке, что бы максимально исключить ошибки при сборе, так и при разработке современной нормативной документации для стандартизации и оценки качества данного вида сырья.

Четвертая глава содержит данные, касающиеся анатомического строения видов, сравнительный анализ методов пробоподготовки. Выявлены характеристические особенности, позволяющие идентифицировать близкородственные виды. В качестве анатомических маркеров, позволяющих с высокой достоверностью идентифицировать изучаемые виды, предложены наличие, размер и строение трихом, а также выделительного аппарата (железки и вместилища). Предложено усовершенствование методики подготовки свежезаготовленного растительного сырья к микроскопированию. Впервые проведено сравнение биометрических характеристик 10 видов рода горец.

Пятая глава посвящена сравнительному изучению соединений первичного синтеза (полисахаридов, простых сахаров, витаминов и аминокислот) с помощью ТСХ, спектрофотометрии, капиллярного электрофореза и других методов. Автором установлен качественный состав и количественное содержание исследуемых групп соединений в траве фармакопейных и примесных видов в сравнении.

В шестой главе представлена информация по исследованию состава соединений вторичного синтеза (гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества, органические кислоты). Методом капиллярного электрофореза выявлено наличие щавелевой, муравьиной, яблочной, янтарной и др. органических кислот в составе изучаемых видов, даны количественные характеристики каждого компонента. На примере травы горца почечуйного показана возможность использования метода ВЭЖХ с МС-детектором для качественной идентификации фенольных соединений. Использованный метод позволил установить наличие в траве горца

почечуйного танина, галловой кислоты, хлорогеновой кислоты, криптохлорогеновой, хинной кислоты, п-кумаровой кислоты, эллаговой кислоты, эпигаллокатехина, эпикатехина.

*Седьмая глава* посвящена изучению состава флавоноидов изучаемых объектов. Методами ВЭЖХ установлен компонентный состав флавоноидных соединений. Приведены данные по разработке и валидации спектрофотометрической методики определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин. Установлено влияние факторов окружающей среды на накопление суммы флавоноидов в растениях. Выявлены хемотаксономические маркеры для идентификации растений рода горец. Выявлены отличия в составе и содержании отдельных групп БАВ для изучаемых видов горцев в сравнении с фармакопейными видами.

*Восьмая глава* содержит информацию о минеральном составе растений рода горец. В представителях рода горец впервые идентифицировано 56 элементов. Показано, что накопление элементов среди представителей рода не однородно, рассчитаны коэффициенты биологического накопления элементов. Автором подобраны оптимальные условия и разработана методика количественного определения содержания кальция и магния в растительных объектах с помощью комплексометрического титрования после их озоления и прокаливания. Установлено, что содержание тяжелых металлов и мышьяка находится в пределах, установленных НД.

*В девятой главе* представлены данные по накоплению растительным сырьем экотоксикантов, микотоксинов и микробиологическому загрязнению. Автором установлено, что содержание экотоксикантов (радионуклидов, тяжелых металлов, мышьяка, остаточных количеств пестицидов) в траве горца почечуйного, произрастающего в Воронежской обл., находится на уровне, допустимом НД. Микробиологическая чистота сырья, используемого для изготовления водных извлечений, также соответствует требованиям НД. Содержание микотоксинов (афлотоксин В, охратоксин А, Т-2 токсин, зеараленон и ДОН) не превышает величин, установленных требованиями СанПиН 2.3.2.1078-01. Результаты проведенного исследования, описанный в восьмой главе показали необходимость



дальнейшей работы по определению микотоксинов в ЛРС и включению данного показателя в современную ИД на ЛРС и ЛРП.

Десятая глава посвящена получению жидких экстрактов из травы горца почечуйного и травы горца щавелелистного, а также первичной оценке их фармакологической активности. Автором впервые помощью веб-ресурса PASS-online проведена сравнительная оценка вероятных видов фармакологической активности, побочных и токсических эффектов основных соединений, входящих в состав видов рода горец. В лабораторных условиях изготовлены травы горца почечуйного экстракт жидкий и впервые получен жидкий экстракт травы горца щавелелистного, даны их характеристики и определены показатели качества. В результате доклинических исследований впервые установлено наличие у жидкого экстракта горца щавелелистного травы гемостатической активности и выраженной капилляропротекторной активности.

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

Диссертационная работа Гудковой А.А. имеет классическую структуру, текст работы написан в грамотном научном стиле, с использованием научной терминологии. Автором обозначены цель и задачи исследования, обоснованы пути их решения. Выводы логичны, научно – обоснованы, базируются на большом количестве экспериментальных исследований. Объем приложений составил 164 страницы, куда включен большой объем иллюстраций, микрофотографий и табличного материала.

Вместе с тем при чтении диссертации возникли некоторые замечания и вопросы:

1. На наш взгляд в работе большое количество глав 10, их можно было бы объединить, т.к. некоторые главы занимают небольшой объем, например глава 5 и 6, 7 и 8 и т.д., работа от этого только бы выиграла.

2. В главе «Материалы и методы исследования» нет единообразия при приведении методов исследования, в некоторых случаях автор приводит только ссылку на литературный источник, например для определения флавоноидов, дубильных веществ, в других случаях идет очень подробное описание методики,

например при определении аминокислот. Чем автор руководствовался в этих случаях?

3. При определении простых сахаров при проведении их анализа методом тонкослойной хроматографии автор установил наличие глюкозы и фруктозы (таблица 10), а методом капиллярного электрофореза установлено наличие 3-х сахаров: глюкозы, фруктозы, сахарозы (таблица 11), при этом что количество сахаров примерно одинаковое. Чем автор это может объяснить?

4. Чем автор может объяснить такой большой выход экстрактивных веществ, извлекаемых 40% спиртом этиловым в горце шероховатом 47,8%, горце щавелелистном 36,2%, горце узловатом 38,5%; содержанием каких групп биологически активных веществ?

5. Почему изучение гидроксикоричных кислот проведено только на примере горца почечуйного, тогда как изучение других биологически активных веществ проведено для всех видов. На основании каких исследований автор в выводах по главе 6 (вывод 1) указывает, что проведено сравнительное изучение органических кислот, гидроксикоричных кислот и т.д.

6. При разработке методики количественного определения флавоноидов в зависимости от соотношения сырье-экстрагент автором установлено, что при использовании соотношения 1:50 содержание флавоноидов составляет 1,85%, а при соотношении 1:100 их содержание снижается до 0,73%. Как автор может это объяснить?

7. Не всегда корректны подписи к рисункам, например подписи к рисунку 85, 86 и др. «Спектр поглощения хлорогеновой кислоты», интересно какой спектр, спектр стандартного вещества или соединения из извлечения из сырья горцев?

8. На стр. 186 при приведении результатов исследования флавоноидов в работе имеется ссылка на п. 6.2.5, а такого раздела в диссертации нет.

9. Каким образом проведена идентификация флавоноидов при исследовании их методом ВЭЖХ. Почему в работе не приведены результаты исследования и идентификации?

10. В работе имеются опечатки, неудачные выражения.

Сделанные замечания и вопросы в целом, не носят принципиального характера, не снижает научно-практическую значимость и ценность проделанной

работы и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

### Использование материалов диссертации в учебных целях

Фрагменты настоящего диссертационного исследования нашли применение в научной и учебной работе кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии, кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, при подготовке курсов повышения квалификации по направлению «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» фармацевтического факультета Воронежского государственного университета, а также кафедры ботаники и микологии медико – биологического факультета Воронежского государственного университета.

По материалам диссертации автором опубликована и используется в учебном процессе монография: «Экспериментально-теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.» // А.А. Гудкова, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина (УДК 615(322+071), 581(41+8) ББК 52.82).

### 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 важной проблемы современной фармакогнозии: экспериментальное обоснование возможности использования лекарственного растительного сырья представителей рода *Persicaria*, характеризующихся близкородственными связями, в качестве источника получения лекарственных препаратов.

По актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости диссертация Гудковой Алевтины Алексеевны 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.

Обсуждение диссертационной работы и отзыва проведено на заседании кафедры фармакогнозии и ботаники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации протокол № 13 от «27» апреля 2020 года.

Заведующий кафедрой фармакогнозии  
и ботаники фармацевтического факультета  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Курский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
доктор фармацевтических наук

(14.04.02 – Фармацевтическая химия,  
фармакогнозия), профессор

Бубенчикова Валентина Николаевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

305041 г. Курск, ул. Карла Маркса, д.3;

Тел.: +7(4712)588-137

e-mail: kurskmed@mail.ru

Подпись профессора Бубенчиковой В.Н. заверяю

Начальник управления персоналом  
и кадровой работы



Сорокина Наталья Николаевна