

ОТЗЫВ

официального оппонента профессора института биохимической технологии и нанотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов»,

доктора фармацевтических наук, доцента Мараховой Анны Игоревны по диссертации Красюк Екатерины Васильевны на тему: «**Фармакогностическое**

исследование видов монарды, интродуцируемых на территории

Республики Башкортостан», представленной на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук, по специальности

14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

1. Актуальность выполненного исследования

В настоящее время доказана эффективность эфирных масел как противовирусных, антимикотических, противовоспалительных и др. фармакологически активных веществ. Эфирные масла используются как в виде отдельных компонентов, так и в сумме для создания лекарственных средств для лечения и профилактики различных заболеваний. Источниками эфирных масел являются фармакопейные лекарственные растения, ассортимент которых нуждается в расширении.

Растения рода *Monarda* L. являются источником биологических активных соединений, в том числе эфирного масла, и по данным литературных источников, обладают бактерицидной, противовирусной, противогрибковой, антибиотической, антигельминтной активностью, проявляют иммуномодулирующее, противовоспалительное, седативное действие, восстанавливают нарушенные окислительно-восстановительные процессы в организме, стимулируют регенерацию поврежденных участков кожи и слизистых оболочек.

В Республике Башкортостан в естественных условиях произрастает ограниченное количество эфиромасличных растений, поэтому актуальным

является их интродукция, фармакогностический анализ лекарственного растительного сырья, заготавливаемого на их основе и разработка проектов фармакопейных статей. Это позволит расширить ассортимент отечественных лекарственных растительных препаратов и рационально использовать природные растительные ресурсы.

2. Новизна исследования и полученных результатов, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основной задачей исследования Красюк Е.В. было проведение фитохимических, анатомо-морфологических и фармакологических испытаний представителей рода *Monarda* L., интродуцированных в условиях Республики Башкортостан для разработки проекта нормативной документации. Автором впервые проведено сравнительное морфолого-анатомическое изучение сырья растений рода *Monarda*, определены основные диагностически значимые признаки.

Диссертантом проведен химический анализ биологически активных соединений (БАС) травы различных видов монарды и выявлено свыше 20 компонентов эфирного масла, один из которых – винилгваякол определен впервые. Установлено присутствие в траве монарды веществ фенольной природы: флавоноидов, фенолкарбоновой кислоты и оксикоричных кислот. Впервые доказано присутствие в химическом составе травы монарды нарингенина и хлорогеновой кислоты.

Впервые изучен макро-, микроэлементный и аминокислотный состав травы различных видов монарды.

Определено количественное содержание большого количества БАС, таких как аскорбиновая кислота, органические кислоты, каротиноиды, полисахариды, оксикоричные кислоты, сапонины, кумарины, дубильные вещества. Автором предложены и валидированы методики количественного

определения эфирного масла в траве монарды и суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин, установлены нормы их содержания.

Диссертантом установлены критерии подлинности сырья монарды, показатели его качества. Изучена динамика накопления эфирных масел и флавоноидов по фазам вегетации в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан, на основании чего определено время заготовки травы монарды. Установлены сроки годности сырья.

Определена острая токсичность сырья, изучена противовоспалительная, антиоксидантная, антимикробная активность водных и водно-спиртовых извлечений из травы монарды.

Научная новизна исследования подтверждена патентом РФ «Стоматологические леденцы для лечения поражений слизистой оболочки полости рта».

3. Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования

Несомненной практической значимостью диссертационного исследования для фармакогнозии и фармацевтической науки в целом является разработка проекта фармакопейной статьи «Монарды трава», написанного по всем требованиям современного уровня развития Государственной фармакопеи. Автором усовершенствованы подходы к стандартизации травы монарды, доказана целесообразность использования травы монарды в медицине в лечебно-профилактических целях.

4. Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, включающего 103 отечественных и 16

зарубежных источников. Работа иллюстрирована 43 таблицами и 84 рисунками.

Первая глава освещает обзор литературы, включающий историю изучения монарды, ботаническую характеристику растений рода *Monarda* L., описание сырьевой базы монарды на территории Российской Федерации, обобщение данных по химическому составу растений рода *монарда*, а также информацию по фармакологической активности и применению монарды в научной и народной медицине. Литературный обзор показал, что трава монарды различных видов является перспективными объектами исследования из-за большого видового многообразия, сложного и богатого химического состава, широкого спектра фармакологической активности.

Вторая глава описывает объекты и методы исследования. Изучению подвергались образцы травы различных видов монарды: монарда дудчатая или трубчатая (*M. Fistulosa* L.), монарда двойчатая (*M. Didyma* L.), монарда гибридная (*M. Hybrid* L.), монарда лимонная (*M. Citriodora* Cerv. ExLag.) и монарда Рассела (*M. Rassela* Nut.). Заготовку травы монарды проводили в разные фазы вегетации с 2012 по 2017 гг. В главе описаны методы заготовки и хранения сырья, осуществленные согласно требованиям современной нормативной документации, а также способ получения экстракта сухого из травы различных видов монарды.

Перечислены методы определения показателей качества травы монарды, качественные реакции для обнаружения основных групп БАС, условия хроматографического анализа, перечислены используемые стандартные образцы.

Для анализа БАС автор использовал современные адекватные физико-химические методы: газовой хроматографии с масс-детектором для исследования компонентного состава эфирных масел; высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для анализа фенольных соединений; спектрофотометрии для качественной и количественной оценки фенольных

соединений, полисахаридов, каротиноидов, сапонинов, оксикоричных кислот; рентгенофлуоресцентный метод для изучения содержания аминокислот, макро- и микроэлементов, титриметрию для определения содержания органических кислот, кислоты аскорбиновой, дубильных веществ.

Также в главе 2 приводятся методы, используемые для оценки токсичности сырья и фармакологических испытаний: выявления антиоксидантной, противовоспалительной, антимикробной активностей.

Третья глава посвящена морфолого-анатомическому исследованию сырья монарды. Сравнительная характеристика видов монарды по морфологическим признакам представлена в виде обобщающей информативной таблицы. Результаты изучения микродиагностических признаков сырья монарды позволили выявить диагностически значимые признаки для сборного образца травы монарды, к которым автор отнес строение клеток эпидермиса верхней и нижней стороны листа, устьичный аппарат, эфиромасличные железки, различные типы волосков, особенности строения фрагментов стебля, элементов цветка. Следует отметить хорошее качества фотографий сырья и микроскопических фотографий диагностических признаков, иллюстрирующих вторую главу диссертации.

В четвертой главе приводится сравнительное фитохимическое исследование пяти видов монарды: монарда дудчатая или трубчатая (*M. fistulosa* L.), монарда двойчатая (*M. Didyma* L.), монарда гибридная (*M. Hybrid* L.), монарда лимонная (*M. citriodora* Cerv. ExLag.) и монарда Рассела (*M. Rassela* Nut.). Приведены результаты изучения показателей качества травы монарды: влажности, золы общей, золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, измельченность, содержание примесей. Представлены результаты качественных реакций на присутствие алкалоидов, полисахаридов, эфирных масел, флавоноидов, кумаринов, хромонов, сапонинов, аминокислот, флавоноидов. Описаны условия проведения тонкослойной хроматографии и результаты анализа фенольных соединений.

Подтверждение наличия соединений проведено спектрофотометрическим методом. В главе также приведены данные по определению качественного состава флавоноидов методом ВЭЖХ.

Метод тонкослойной хроматографии применен также для подтверждения присутствия сапонинов, кумаринов, аскорбиновой кислоты, органических кислот.

Один из параграфов четвертой главы посвящен количественному определению БАС. Определено содержание аскорбиновой кислоты, полисахаридов, сапонинов, кумаринов, каротиноидов, оксикоричных кислот, микро- и макроэлементов, аминокислот. Разработаны методики установления содержания органических кислот, дубильных веществ, флавоноидов. Следует отметить, что автор для определения дубильных веществ и эфирных масел использовал в сравнении по две методики, выбор оптимальной методики доказывал методом расчета критерия Фишера. Методика определения содержания флавоноидов была валидирована по критериям: правильность, прецизионность, линейность и специфичность.

Две наиболее значимые группы БАС – флавоноиды и эфирные масла – подвергались более детальному анализу по содержанию отдельных компонентов с использованием ВЭЖХ и ГЖХ соответственно.

В четвертой главе также приводятся данные по накоплению флавоноидов и эфирных масел по фазам вегетации и спецификация травы монарды.

Пятая глава описывает результаты изучения фармакологической активности травы монарды. Представлены результаты изучения острой токсичности, позволяющие судить о безопасности растительного сырья и возможности его дальнейшего использования. Автор приводит результаты исследования антиоксидантной активности водных и спиртовых извлечений травы монарды, противовоспалительной активности водного извлечения травы монарды в сравнении с диклофенаком натрия, антимикробной активности.

По теме диссертации опубликовано 38 работ, 9 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, оформлен 1 патент.

Данные диссертации используются в практической работе ГБУЗ РБ «Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств», а также в учебном процессе на кафедрах фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Полученные автором результаты можно использовать при контроле качества травы монады и препаратов на его основе.

Вопросы и замечания:

1. Почему данные по содержанию каротиноидов представлены в мг%, а остальных БАС в % от массы абсолютно сухого сырья?

2. Как рассчитывали содержание кумаринов в пересчете на кумарин? В диссертации не приведена формула для расчета и спектр стандартного образца кумарина. Расчет проводился с использованием удельного показателя поглощения кумарина?

3. Насколько достоверными можно считать определение суммы оксикоричных кислот методом прямой спектрофотометрии в ультрафиолетовой области при длине волны 325 нм? Могут ли другие из изученных фенольных соединений вносить вклад в оптическую плотность?

4. В чем заключается смысл изучения влияния количества добавленного раствора хлорида алюминия путем изменения концентрации раствора или его объема при разработке методики количественного определения флавоноидов? По сути, это повторение одного и того же опыта.

5. Изучалось ли содержание флавоноидов и эфирного масла в траве монады разных мест и лет заготовки для установления значения этих числовых показателей?

6. Автором изучена антимикробная активность различных видов монарды и установлено, что спиртовые извлечения более активно влияют на задержку роста микроорганизмов по сравнению с водными растворами. Проводился ли контрольный опыт с использованием дисков, пропитанных спиртовыми растворами для выявления эффекта БАС, извлекаемых спиртом без учета влияния спирта? Спирт какой концентрации был использован для получения водно – спиртовых растворов?

7. В диссертации встречаются опечатки, в табл. 17 не указаны единицы измерения содержания аминокислот, оси на некоторых графиках не подписаны.

Указанные вопросы и замечания не носят существенного значения и не снижают ценности и значимости рецензируемой диссертационной работы.

5. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата диссертации Красюк Е.В. полностью соответствует основным положениям и выводам работы. Следует отметить, что диссертационная работа Красюк Е.В. соответствует п. 2,3,5,6 паспорта научной специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

6. Заключение о соответствии диссертации требованиям настоящего Положения

Таким образом, диссертационная работа Красюк Екатерины Васильевны тему: **«Фармакогностическое исследование видов монарды, интродуцируемых на территории Республики Башкортостан»**, представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершённой научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной задачи современной фармацевтической науки по

расширению ассортимента лекарственных средств растительного происхождения с доказанной фармакологической активностью.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Красюк Екатерины Васильевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Профессор Института биохимической
технологии и нанотехнологии
федерального государственного
автономного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Российский университет
дружбы народов»
117198, г. Москва,
ул. Миклухо-Маклая, д.6,
тел. (495) 434-70-27,
e-mail: rudn@rudn.ru
доктор фармацевтических наук, доцент
14.04.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия

Марахова Анна Игоревна



Дата: «23» апреля 2020г.

Подпись Мараховой Анны Игоревны
удостоверяю Ученый секретарь
Ученого совета РУДН, профессор



В.М. Савчин