

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента профессора кафедры фармакогнозии с курсом ботаники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, доцента Бомбела Татьяны Владимировны по диссертации Решетова Ярослава Евгеньевича на тему: «Соссюрея спорная (*Saussurea controversa DC.*) – перспективный источник средства для лечения остеомиелита», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

### ***Актуальность выполненного исследования***

Несмотря на существенный прогресс в терапии остеомиелита, в настоящее время данное заболевание является актуальной проблемой здравоохранения. Наблюдается возникновение антибиотикорезистентности микроорганизмов - возбудителей остеомиелита. А существующие методы терапии (комбинации антибиотиков, иммуномодуляторов, препаратов кальция, анальгетиков, нестероидных противовоспалительных средств, венопротекторов, витаминов) несут повышенную ксенобиотическую нагрузку на организм пациентов. Кроме того, применение инвазивных методов лечения переломов (эндопротезирование, металлоостеосинтез), приводит к увеличению числа больных остеомиелитом. Частота встречаемости остеомиелита у пациентов с заболеваниями опорно-двигательного аппарата составляет до 78 % лиц трудоспособного возраста. Гнойно-воспалительные поражения костей являются тяжелыми и долго протекающими заболеваниями, приводящими к инвалидизации в 55 % случаев. При этом наблюдается тенденция к смещению от ограниченных

форм заболевания в сторону более тяжелых проявлений. В связи с этим являются актуальными исследования, направленные на поиск и создание лекарственных средств для профилактики и лечения остеомиелита на основе природных биологически активных веществ, которые обладают системным полимодальным терапевтическим действием, относительно низкой токсичностью, повышают адаптивный ресурс организма, имеют высокий терапевтический индекс и низкий уровень побочных эффектов. Одним из перспективных растений является соссюрея спорная (*Saussurea controversa DC.*), которая применяется в народной медицине для комплексной терапии остеомиелита. При этом химический состав ее БАВ малоизучен.

Учитывая вышеизложенное, перспективно и актуально подробное фармакогностическое изучение соссюреи спорной для выявления БАВ – молекулярных носителей активности при остеомиелите и разработка проекта фармакопейной статьи на лекарственное растительное сырье обладающее эффективностью при остеомиелите.

### ***Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность***

Для достижения поставленной цели и задач, диссидентом впервые с использованием современных химических и физико-химических методов проведено исследование основных групп БАВ экстракта листьев Соссюреи спорной на 40% этаноле. Препаративно выделены: полисахариды, гликозиды кверцетина (7-O- $\alpha$ -L-рамнозид-3-O- $\beta$ -D-глюкозид кверцетина, 3-O- $\beta$ -D-диглюкозид-О- $\alpha$ -L-рамнозид кверцетина, рутин), хелидоновая кислота. Проведено фармакологическое исследование (*in vitro*) на наличие остеогенной и иммунотропной активности вышеуказанных веществ. Установлен химический состав и количественное содержание полисахаридного комплекса. Исследован компонентный состав эфирного масла. Для целей стандартизации обоснован выбор методик количественного определения целевых групп БАВ: полисахаридов, флавоноидов,

хелидоновой кислоты. Разработан проект фармакопейной статьи на сырье «Соссюреи спорной листья».

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

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, применением современных методов исследования, статистической обработкой полученных результатов эксперимента, осуществленной в соответствии с требованиями ГФ РФ.

### *Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования*

Экспериментальные данные, представленные в работе, являются основой для разработки эффективных лекарственных средств на основе БАВ листьев соссюреи спорной, обладающих остеогенной и иммунотропной активностью.

Получен патент на средство для стимуляции роста клеток гранулоцитарного и лимфоидного ряда в костном мозге и регенерации костной ткани.

Методика количественного определения флавоноидов листьев соссюреи спорной используется в учебном процессе Сибирского государственного медицинского университета при обучении ординаторов на кафедре фармацевтического анализа в разделе «Спектральные методы анализа».

### *Соответствие работы паспорту научной специальности*

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: пункту 2 – формулирование и развитие принципов стандартизации и

установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств, пункту 3 – разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления и пункту 6 – изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

### ***Оценка содержания диссертации***

Диссертационная работа выполнена традиционно в соответствии с общепринятым стандартом, изложена на 188 листах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, выводов и списка литературы, включающего 170 источников, из них 80 зарубежных. Работа иллюстрирована 42 таблицами и 34 рисунками.

Во введении дана общая характеристика работы, обоснована актуальность изучаемой проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, доказаны новизна и практическая значимость, показан личный вклад автора в выполнении работы, сформированы положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы представлен анализ современных данных научной и народной медицины об использовании биологически активных веществ лекарственных растений в терапии остеомиелита. Отражены достоинства и недостатки современных методов терапии ОМ. Представлено обоснование выбора объекта исследования - соссюреи спорной. Рассмотрен химический состав БАВ и морфологические признаки с. спорной и близких к ней видов.

Во второй главе приведены объекты и описаны методики химических, физико-химических, фармакологических исследований, а также методы

статистической обработки результатов, применяемые реактивы и растворители.

В третьей главе изложены результаты собственных исследований.

Рассмотрены данные по общему фитохимическому анализу на основные группы БАВ. Представлены результаты по выделению и установлению структуры флавоноидов, полисахаридов и хелидоновой кислоты.

В четвертой главе отражены данные по исследованию острой токсичности экстракта листьев на 40% этаноле, фармакологические испытания на остеогенную и иммунотропную активность выделенных БАВ: полисахаридов, флавоноидов, хелидоновой кислоты.

В пятой главе приведены результаты по разработке методик качественного и количественного определения целевых групп БАВ, их валидация. Рассмотрены диагностические признаки листьев с. спорной и нормы их качества. Отражены результаты по разработке проекта фармакопейной статьи – «Соссюреи спорной листья».

Выводы диссертации кратко отражают проведенную работу.

В приложение вынесены: проект фармакопейной статьи – «Соссюреи спорной листья», пояснительная записка, письмо в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России о направлении проекта фармакопейной статьи, ЯМР спектры выделенных флавоноидов и хелидоновой кислоты, копия патента и акта внедрения.

По теме диссертации опубликовано 19 работ: 9 статей в изданиях рекомендованных ВАК Минобрнауки России, в том числе 7 работ по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия, из которых 4 входят в базы цитирования SCOPUS; 1 патент РФ на изобретение и 5 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях.

Диссертационная работа Я.Е. Решетова выполнена на современном уровне и характеризуется теоретической и практической значимостью. Стоит отметить логичность и последовательность проведенных исследований, а

также научный стиль изложения материала и описания полученных результатов эксперимента.

Оценивая положительно диссертационную работу, считаем целесообразным, высказать некоторые замечания, предложения и вопросы:

1. В главе 1, раздел «Характеристика *S. controversa* DC. в общей картине рода *Saussurea*» особое внимание уделено местам произрастания, исследованиям химического состава и биологической активности. Однако, систематическое положение вида *S. controversa* и особенность систематики рода *Saussurea* не приведены, а учитывая наличие 52 видов на территории РФ, а также их филогенетическое родство, данная информация является необходимой и полезной при формировании стратегии фармакогностического анализа.

Например, учитывая большое количество видов их близкое морфологическое строение, есть ли необходимость вводить в медицинскую практику каждый вид отдельно или необходимо изучать близкородственные виды в качестве примесей?

Кроме того, литературные данные по систематическому положению позволяют понять почему, что в настоящее время под названием *S. controversa* следует понимать еще два вида: с. двухцветную и с. близкую. В работе отсутствуют литературные ссылки (стр. 27) по данному факту и можно предположить, что это решение автора.

2. В главе 2 и экспериментальной части, не указано, на каких образцах *S. controversa* изучали содержание элементного состава, и наблюдается ли влияние места произрастания на накопление тяжелых металлов в листьях исследуемого вида.

3. В работе не указано, каким способом: добавки в извлечение; сравнение значений *Rf* или по литературным данным, проведена идентификация БАВ методами ТСХ и БХ. Кроме того, не приведен список реагентов и чистых веществ, использованных для идентификации в качестве стандартных, не указан поставщик и их квалификация.

4. В представленном проекте нормативного документа отсутствует раздел «Спецификация», позволяющий оценить включенные в ФС показатели качества, их нормы, а также используемые методы и их соответствие современным требованиям. Кроме того, в НД и обосновании спецификации (пояснительная записка) отсутствуют данные по срокам годности сырья и таблицы аналитических данных, подтверждающие сроки годности сырья в ходе естественного хранения у исследованных образцов.

5. Требуется пояснить, почему при использовании метода ВЭЖХ все исследуемые фракции проанализированы в одних хроматографических условиях? Почему хелидоновая кислота, выделенная как макрокомпонент бутанольной фракции, не обнаружена при идентификации методом ТСХ или ВЭЖХ.

6. В разделе 3.3.3. «Исследование бутанольной фракции экстракта» указано, что элюирование осуществляли смесью этилацетат – этанол с увеличением концентрации последнего от 5 до 80%. В результате были выделены три соединения. Необходимо пояснить, при каких концентрациях элюируется каждое из выделенных веществ.

7. В ходе экспериментальных исследований (анатомо-морфологических и фитохимических) не было запланировано изучение генеративных частей растения? Очевидно, что при заготовке сырья не всегда можно, избежать присутствия в сырье, частей соцветий, цветков, плодов, семян, а также важно понимать допускается ли их наличие в качестве примесей? Возможно, автор поясняет данный вопрос в разработанной инструкции по сбору и сушке, направленной в ФГБОУ «НЦЭСМП» Минздрава России, однако в работе она не представлена.

8. Почему при определении остеогенной активности не использовался референс-препарат? Почему в качестве референтных препаратов при определении NO-синтазной активности макрофагов были использованы мурамилдипептид и липополисахарид?

9. При выборе оптимальных условий получения аналитического раствора для стандартизации сырья было изучено 13 вариантов (табл. 30) сочетания различных параметров для проведения эксперимента, необходимо пояснить какой подход был использован к их выбору.

По ходу изложения диссертационного исследования встречаются опечатки, некоторые неточности и неудачные выражения. Вместе с тем отмеченные недостатки не носят принципиального характера и не умаляют достоинства данной диссертационной работы.

### *Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации*

Содержание автореферата полностью соответствует и отражает основные положения и выводы диссертации.

### *Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»*

Диссертационная работа Решетова Ярослава Евгеньевича на тему: «Соссюрея спорная (*Saussurea controversa* DC.) – перспективный источник средства для лечения остеомиелита», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармацевтической науки - внедрение в фармацевтическую практику нового вида лекарственного растительного сырья, перспективного в комплексной терапии остеомиелита, также обладающего остеогенной и иммунотропной активностью.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Решетова Ярослава Евгеньевича соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения

о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (в ред. постановления Правительства РФ от 01.10.2018 №1168, с изм. от 26.05.2020 №751), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Решетов Ярослав Евгеньевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

### Официальный оппонент

Профессор кафедры фармакогнозии  
с курсом ботаники  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
образования «Пермская государственная  
фармацевтическая академия» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации,  
доктор фармацевтических наук  
(14.04.02 – Фармацевтическая химия,  
фармакогнозия),

доцент



Бомбела Татьяна Владимировна

614990, Российская Федерация,  
Пермский край, г. Пермь,  
ул. Полевая, д. 2  
Тел.: (342) 233-55-01,  
E-mail: [perm@pfa.ru](mailto:perm@pfa.ru)

«03» декабря 2020 г

Подпись  
заверяю:  
*Бомбела Т.В.*  
(нач. отдела кадров)

