

ОТЗЫВ

официального оппонента заведующего кафедрой химии Государственного образовательного учреждения высшего образования «Государственный гуманитарно-технологический университет», доктора фармацевтических наук, профессора Ханиной Минисы Абдуллаевны 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

Остеомиелит является тяжелым заболеванием, которое сопровождается микробным поражением, резорбцией костной ткани, обширным воспалением и снижением иммунитета. Современная терапия остеомиелита предусматривает применение большого количества лекарственных средств различных фармакологических групп, что приводит к полипрагмазии, увеличению частоты побочных эффектов, аллергических реакций и повышению стоимости лечения. В настоящее время, в мировой медицинской практике отсутствуют лекарственное растительное сырье, и лекарственные препараты растительного происхождения, применяющиеся для лечения остеомиелита. Сфера применения растительных биологически активных веществ для терапии остеомиелита также является малоизученной. Так, известно всего несколько зарубежных исследований посвященных влиянию, суммы флавоноидов горянки корейской, а также байкалина на течение остеомиелита. Вместе с тем известно, что БАВ растений обладают широким набором фармакологических свойств и могут одновременно проявлять сразу несколько видов биологической активности. Таким образом, исследование активности биологически активных веществ растений в отношении остеомиелита является актуальным научным направлением.

Известно, что соссюрея спорная (*Saussurea controversa* DC.) применяется в народной медицине для вспомогательной терапии остеомиелита и являются одним из перспективных кандидатов для проведения исследования. Несмотря на это состав БАВ растения мало изучен, не установлено, какие вещества или комплексы БАВ отвечают за эффективность при остеомиелите. Поэтому подробное фармакогностическое и фармакологическое изучение соссюреи

спорной является актуальным и перспективным направлением современной фармации.

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Диссертант провел глубокое фитохимическое исследование соссюреи спорной и ее экстракта на 40% этаноле с применением современных методов анализа. Обнаружено 20 веществ различной химической природы, из которых 11 описаны для данного вида впервые. Впервые исследован компонентный состав эфирного масла соссюреи спорной. Методами селективной экстракции с последующим осаждением и колоночной хроматографии выделены мажорные группы БАВ экстракта соссюреи спорной: полисахариды, флавоноиды, хелидоновая кислота. С использованием клеточных технологий (in vitro) исследована остеогенная и иммуностропная активность мажорных БАВ. Исследована острая токсичность экстракта на 40% этаноле. Разработаны и валидированы методики качественного и количественного определения полисахаридов, флавоноидов и хелидоновой кислоты в сырье. Выявлены основные фармакогностические признаки и нормы качества растительного сырья. Представлен проект фармакопейной статьи на сырье «Соссюреи спорной листья». Цель исследования достигнута, задачи выполнены.

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

Диссертационная работа характеризуется аргументированными и логичными методами исследования, которые соответствуют поставленным задачам. Все положения обоснованы, представлены экспериментальные данные в виде таблиц и схем. Достоверность полученных результатов не подвергается сомнению. При их получении использованы современные физико-химические методы анализа: высокоэффективная жидкостная хроматография, газо-жидкостная хроматография, эксклюзионная хроматография, ультрафиолетовая и инфракрасная спектроскопия, масс- и хромато-масс-спектрометрия, спектроскопия ядерно-магнитного резонанса на ядрах углерода и водорода. Обработка результатов проведена с помощью общепринятых статистических методов анализа.

Выводы, представленные в диссертационной работе, являются аргументированными и являются логичным результатом выполненной автором работы.

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

Результаты исследований, представленные в диссертационной работе Решетова Ярослава Евгеньевича, могут служить основой для выполнения доклинических исследований и последующей разработки лекарственных средств, эффективных при остеомиелите, а ссылаясь спорная может быть внедрена в качестве лекарственного растительного сырья.

Часть полученных результатов исследования реализованы в виде патента РФ на средство для стимуляции роста клеток гранулоцитарного и лимфоидного ряда в костном мозге и регенерации костной ткани.

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 Решетова Я.Е. исполнена в классическом виде и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, описания полученных результатов и их обсуждения рассмотренных в трех главах, выводов, списка литературы и 5 приложений. Работа изложена на 188

листах машинописного текста и иллюстрирована 42 таблицами и 34 рисунками. Библиографический указатель включает 170 источников, 80 из которых - зарубежные.

Во введении автор формулирует и обосновывает актуальность работы, ее цель и задачи, вводит основные положения, выносимые на защиту, приводит факты, подтверждающие научную новизну, ее практическую значимость, описывает апробацию результатов исследования, отражает степень внедрения.

Обзор литературы в полной мере отражает смысл диссертационной работы. Автор исчерпывающе представляет современные проблемы терапии остеомиелита (ОМ). Описывает применение различного лекарственного растительного сырья и БАВ эффективно действующих на основные патогенетические звенья ОМ. Представляет данные официальной медицины по рассматриваемой проблеме. Дает описание составу БАВ изучаемых растений и близкородственных видов. Делает выводы о перспективности применения в терапии ОМ конкретных групп БАВ: полисахаридов, флавоноидов, биогенных элементов и карбоновых кислот. Обосновывает выбор объекта исследования – соссюреи спорной, отражает информацию о возможностях ее заготовки и интродукции. Информационный материал дополнен 2 таблицами и 4 рисунками отражающими суть рассматриваемых вопросов.

В главе 2 представлен перечень методов химического, физико-химического анализа, которые диссертант использовал в своей работе (качественные химические реакции на различные группы БАВ, методы ГЖХ, ВЭЖХ, УФ, ИК, ЯМР - спектроскопии и др.), методики фармакологических испытаний на острую токсичность, остеогенную и иммуностропную активность.

Глава 3 посвящена результатам полученных в ходе проведения фитохимических исследований. Представлен анализ на присутствие в сырье 10 групп БАВ. Подробно описано фракционное выделение и изучение полисахаридного комплекса из листьев соссюреи спорной. Представлена информация о колоночной хроматографии бутанольной и водной фракциях экстракта соссюреи спорной на 40% этаноле. Отражены данные по установлению структуры выделенных флавоноидов и хелидоновой кислоты. Установлен качественный состав полисахаридного комплекса водного остатка экстракта на 40% этаноле.

В 4 главе представлены испытания (in vivo) острой токсичности экстракта листьев на 40% этаноле, отражены результаты изучения остеогенной активности и стимулирование NO - синтазной активности макрофагов с использованием клеточных технологий (in vitro) для выделенных мажорных групп БАВ.

Результаты фармакогностического исследования представлены в главе 5. Описаны морфологические и анатомические диагностические признаки листьев сосюреи спорной. Разработаны товароведческие показатели качества сырья. Определено содержания доминирующих БАВ в различных вегетативных формах сосюреи спорной. Приведено описание методов анализа разработанных для целей стандартизации сырья. Проведена валидация описанных методик.

В Приложения включены: проект нормативной документации – «Сосюреи спорной листья» с пояснительной запиской, ЯМР- и масс-спектры флавоноидов, хелидоновой кислоты, копия патента РФ на средство для стимуляции роста клеток гранулоцитарного и лимфоидного ряда в костном мозге и регенерации костной ткани, акт внедрения методики количественного определения флавоноидов методом УФ-спектрофотометрии в учебный процесс кафедры фармацевтического анализа СибГМУ.

Результаты работы представлены 7 итоговыми выводами, которые убедительно, в полной мере отражают суть выполненных исследований.

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.

К достоинствам работы можно отнести высокий уровень фитохимических, аналитических и фармакологических исследований.

В целом работа оценивается положительно, однако вместе с тем имеется несколько замечаний и предложений.

1. Во второй главе, в разделе 2.4.6 «Определение мономерного состава» не указан вид проводимой хроматографии, соответственно необходимо указать, что при анализе ацетатов полиолов была использована газо-жидкостная хроматография.

2. Во второй главе, в разделе 2.8.3. «Исследование остеогенной активности» не указано, с каким объектом проводилось сравнение активности исследуемых веществ.

3. Путаница в определениях и терминологии: фазы развития растения – фазы вегетации в течении вегетационного периода (вегетация, бутонизация, цветение, плодоношение), стадии онтогенеза – периоды жизни растения – юнивенильная, вергенильная и т.д. (стр. 112).

4. При описании объектов исследования автором указывается, что исследовались листья и стебли (стр. 32), далее представлена Таблица 3 – «Места и годы заготовки листьев *S. controversa* DC.», в которой стебли не обозначены. На стр.112 в таблице 41. «Содержание БАВ в листьях *S. controversa* DC. различных вегетативных форм» приводятся результаты исследований листьев имматурных, виргинильных и генеративных особей. В главе 2 диссертации нет характеристики данных объектов исследования.

Кроме указанных замечаний при прочтении диссертации возникли некоторые вопросы:

1. Образцы сырья (листья) собраны в фазе цветения растения и подвергнуты исследованиям. Проводились ли сравнительные исследования качественного состава и количественного содержания БАВ в листьях по фазам развития растения?

2. Почему при анализе эфирного масла, не были исследованы органолептические показатели, а также числовые показатели - физические и химические константы (плотность, показатель преломления, кислотные и эфирные числа)?

3. В исследовании полисахаридного комплекса отсутствует стадия получения фракции «кислых» полисахаридов, с чем это связано? Проводилось ли исследование по изучению данной полисахаридной фракции? Чем обусловлен температурный режим экстракции полисахаридных фракций?

4. Каким образом определяли положения с замещением углеводными фрагментами в структуре выделенных флавоноидов?

5. При обсуждении данных таблицы 40 (стр.111), автор делает вывод, что в качестве сырьевой части сосюреи спорной будут использоваться листья, основываясь на том, что содержание БАВ в них больше, чем в стеблях.

Проводилось ли исследование соотношения листьев и стеблей в высушенной надземной части растения?

6. Автором определение острой токсичности на животных проводилось для сухого экстракта листьев *соссюреи спорной*, а определение специфической активности проводилось для очищенных фракций сухого экстракта. В связи с этим возникает ряд вопросов: определялась ли острая токсичность для исследуемых фракций сухого экстракта? Проводилось ли исследование специфической активности для суммарного экстракта? Что планируется в качестве субстанции для дальнейших исследований биологической активности?

Однако приведенные замечания не являются принципиальными и не снижают практическую и научную ценность диссертационной работы и не влияют на ее общую положительную оценку.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата соответствует основным положениям, цели и задачам диссертации. В полной мере отражает выводы диссертационной работы.

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 иммуностропной 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), 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

Заведующий кафедрой химии государственного образовательного учреждения высшего образования Московской области

«Государственный гуманитарно-технологический университет»

Министерства образования Московской области

142611, Московская область, г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, 22

e-mail: rektorat@ggtu.ru; 8(496)425-78-75

доктор фармацевтических наук,

15.00.02 - фармацевтическая химия и фармакогнозия

профессор

Ханина Миниса Абдуллаевна

«02» декабря 2020г.

Проректор по научной работе Государственного образовательного учреждения высшего образования Московской области

«Государственный гуманитарно-технологический университет»

Министерства образования Московской области

кандидат филологических наук, доцент

Яковлева Элина Николаевна

