ОТЗЫВ

официального оппонента профессора кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, доцента Клен Елены Эдмундовны по диссертации Скрябиной Евгении Николаевны на тему: «Сравнительное фармакогностическое изучение и биологическая активность марьянника лесного и марьянника лугового», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

1. *Актуальность выполненного исследования*

По данным ВОЗ сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти, а от психических расстройств страдает более 450 млн. людей в мире, поэтому создание новых эффективных лекарственных препаратов для терапии данных заболеваний, в том числе на основе новых лекарственных растений, является актуальным.

Поиск новых лекарственных растений часто базируется на исследовании растений, применяемых в народной медицине, или близких к уже применяемым по систематическому ряду. С этой точки зрения, интерес представляет Марьянник лесной (Melampyrum sylvaticum L.), поскольку для близкого морфологического вида марьянника лугового (Melampyrum pratense L.) было доказано наличие гипотензивной, противосудорожной, антикоагулянтной активности. Кроме того, оба марьянника применяются в народной медицине при лечении сердечно-сосудистых патологий и заболеваний нервной системы.

Представленная на отзыв диссертационная работа посвящена сравнительному фармакогностическому изучению двух морфологически близких видов, произрастающих на территории России, марьянника лесного и марьянника лугового, а также исследованию их фармакологической активности с целью получения средства для лечения заболеваний нервной и сердечно-сосудистой систем.

Тема работы является актуальной, поскольку для введения марьянника лесного в официальную медицину требуется изучить его морфолого-анатомические особенности, химический состав и фармакологическую активность.

2. *Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность*

В соответствии с поставленной целью и задачами диссертантом в результате ресурсоведческого исследования марьянника лесного на территории Костромской области определен биологический и

эксплуатационный запас, который может обеспечить промышленную заготовку сырья.

Проведено анатомическое исследование марьянника лесного и выявлены анатомодиагностические признаки вегетативных и генеративных органов, позволяющие отличить его от марьянника лугового.

К достоинствам диссертационной работы следует отнести использование современных инструментальных методов анализа (бумажная хроматография, ТСХ, ВЭЖХ, газовая хроматография с масс-спектрометрией, УФ-спектроскопия, эмиссионный спектральный анализ) при изучении химического состава марьянника лесного. Впервые в результате фитохимического анализа травы и органов марьянника лесного идентифицированы цинарозид и гиперозид. Качественный и количественный анализ аминокислотного состава показал наличие глутаминовой кислоты, глицина, фенилаланина и лизина. В результате определения жирных кислот в семенах марьянника лесного и марьянника лугового установлено, что доминирующими являются линоленовая, линолевая и олеиновая. Микроэлементный анализ марьянника лесного показал наличие 19 элементов.

На основании полученных данных о фитохимическом составе марьянника лесного предложены методики количественного определения флавоноидов, иридоидов и аминокислот.

Показано, что при низкой токсичности экстракты марьянника лесного обладают антикоагулянтной, седативной, противосудорожной активностью и оказывают нейромодуляторное антиалкогольное действие.

Научная новизна исследования подтверждена патентом РФ на изобретение № 2613312 «Способ получения средства, обладающего седативной, противосудорожной и нейромодуляторной антиалкогольной активностью».

Достоверность полученных результатов базируется на достаточных по своему объему экспериментальных данных, полученных с применением современных методов исследования и статистической обработке данных в соответствии с требованиями ГФ РФ XIII издания.

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

Степень обоснованности научных положений, заключения и рекомендаций, сформулированных в диссертации, подтверждается достаточным экспериментальным материалом, наглядными иллюстрациями и табличными данными, проведенной статистической обработкой результатов фармакологических экспериментов. Теоретические и практические положения логически вытекают из экспериментальных данных.

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

Диссертантом научно обоснована целесообразность применения травы марьянника лесного наряду с марьянником луговым для получения препаратов антикоагулянтного, седативного, нейромодуляторного антиалкогольного и противосудорожного действия.

С целью стандартизации травы марьянника лесного обоснован выбор методик количественного определения суммы флавоноидов, иридоидов и аминокислот. Разработаны некоторые показатели качества для проекта ФС «Марьянника лесного трава».

Результаты диссертационных исследований используются в учебном процессе кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (от 15.01.2018).

Полученные автором результаты представляют научно-практическую значимость и могут быть использованы для проведения научных исследований по новым видам лекарственных растений семейства Норичниковые, а также представляют интерес для совершенствования учебного процесса по курсу «Фармакогнозия».

5. *Оценка содержания диссертации*

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, 4 глав собственных исследований, заключения, списка литературы, включающего 133 источника, приложений. Работа иллюстрирована 37 таблицами и 46 рисунками.

Во введении обоснована актуальность и степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследования, отмечена новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, методология и методы диссертационного исследования, а также изложены положения, выносимые на защиту.

В первой главе обобщены и систематизированы данные отечественной и зарубежной литературы по современному состоянию исследований марьянника: распространение в Российской Федерации и за рубежом, ботаническое описание, морфолого-анатомические признаки, характеристика важнейших групп биологически активных соединений, фармакологические свойства и применении в народной медицине.

Вторая глава посвящена объектам и методам исследования. Приведены методики получения сухого и спиртового экстрактов, методики получения комплексов флавоноидов и иридоидов, ресурсоведческого, анатомического, химического и физико-химического изучения лекарственного растительного сырья, а также фармакологические методы.

Результаты ресурсоведческого исследования марьянника лесного и марьянника лугового приведены *в третьей главе*.

В *главе четыре* обсуждаются результаты сравнительного морфолого-анатомического исследования марьянника лесного и марьянника лугового.

Глава 5 посвящена описанию результатов исследований химического состава и распределения основных групп биологически активных веществ в траве и экстрактах марьянника лесного химическими, хроматографическими и спектральными методами. Также приводится разработка методик количественного определения суммы флавоноидов, суммы иридоидов в траве марьянника лесного, а также их распределение по органам. Установлено количественное содержание флавоноидов, иридоидов и аминокислот в экстрактах марьянника лугового и марьянника лесного.

Глава 6 содержит результаты изучения фармакологической активности и острой токсичности экстрактов марьянника лесного и марьянника лугового.

В Приложения включен проект ФС «Марьянника лесного трава», а также акт внедрения полученных результатов, патент РФ на изобретение.

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 5 в журналах, включенных ВАК Минобрнауки РФ в перечень рецензируемых научных изданий, получен 1 патент РФ на изобретение.

Данные диссертации используются в учебном процессе и научно-исследовательской работе кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России.

В целом, несмотря на общую положительную оценку диссертационной работы Скрябиной Е.Н., возникли следующие вопросы и замечания:

1. В табл. 11 приведены результаты обнаружения биологически активных веществ в отдельных органах марьянника лесного. В каких извлечениях водных или спиртовых их определяли?
2. Как готовили извлечения из травы марьянника лесного для проведения двумерной бумажной хроматографии фенольных соединений и иридоидов? Чему равны концентрации испытуемых растворов и веществ свидетелей при проведении бумажной хроматографии и ТСХ? Проводилось ли определение предела обнаружения для веществ-свидетелей в предлагаемых хроматографических условиях?
3. Согласно данным ВЭЖХ времена удерживания стандартных образцов гиперозида и цинарозида близки - 35,156 мин и 35,845 мин. Какое разрешение наблюдалось между двумя пиками? Почему методика количественного определения флавоноидов в траве и экстрактах марьянников методом ВЭЖХ предлагается в пересчете на цинарозид, хотя согласно табл. 18 пики со временем удерживания около 35,1 мин часто имеют большую площадь?
4. Одной из задач исследования, отраженной в выводах, являлась разработка проекта фармакопейной статьи на Марьянника лесного траву. Почему в состав сырья кроме надземной части входят также корни? Коме того, в проекте ФС отсутствует показатель

«Количественное определение», а данные по определению показателей влажности, золы общей, радионуклидов и др. отсутствуют как в главе «Материалы и методы исследования», так и в главах 3 - 5.

5. Почему Вы считаете, что антикоагулянтная активность марьянника лесного обусловлена влиянием флавоноидов на плазменные факторы свертывания? Достоверны ли различия между процентом изменения свертываемости цельной крови, плазмы, обогащенной тромбоцитами, и плазмы без тромбоцитов (табл. 32)?

6. В диссертационной работе имеются отдельные опечатки и погрешности. Например, стр. 18 в табл. 3 имеются опечатки в формулах флавоноидов. При получении сухого водного экстракта не указан выход продукта от массы сырья, а при получении сухого спиртового экстракта - соотношение сырья и экстрагента. На рис. 24-27, а также в табл. 13-15 не указано, что данные приведены для бумажной хроматографии. В табл. 14 не указано для каких спиртовых или водных экстрактов приводятся данные. В табл. 19 по определению удельного показателя поглощения цинарозида не приведены данные статистической обработки, хотя в тексте приводится доверительный интервал. На рис. 41 отсутствуют данные о влиянии водного экстракта марьянника лугового на продолжительность жизни в дозе 200 мг. На стр. 106 приведено некорректное утверждение о том, что глутаминовая кислота имеет общие фенильные и метилбензимидазольные остатки с ГАМК. В автореферате не приведены данные по определению нейромодуляторного антиалкогольного действия.

Данные замечания и предложения не касаются существа выполненных исследований, не снижают научную и практическую ценность диссертации.

6. *Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации*

Содержание автореферата соответствует и отражает основные положения и выводы диссертации и, также, как и диссертационная работа Скрябиной Евгении Николаевны, полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия по пунктам 5 и 6.

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

Таким образом, диссертационная работа Скрябиной Евгении Николаевны на тему: «Сравнительное фармакогностическое изучение и биологическая активность марьянника лесного и марьянника лугового», 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 химии и фармакогнозии по изучению нового лекарственного растения рода марьянник с целью введения в официальную медицину.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Скрябиной Евгении Николаевны соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Скрябина Евгения Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент
Профессор кафедры фармацевтической химии
с курсами аналитической и токсикологической химии
федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Башкирский
государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
450008, Республика Башкортостан, г. Уфа,
ул. Ленина, 3
телефон: раб. (347)2749552; моб.: 89191591308
e-mail: klen_elena@yahoo.com
доктор фармацевтических наук,
доцент, 14.04.02 - фармацевтическая химия,
фармакогнозия

Клен Елена Эдмундовна

« 9 » ноября 2018г