

ОТЗЫВ

официального оппонента заведующего кафедрой химии государственного образовательного учреждения высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», доктора фармацевтических наук, профессора Ханиной Минисы Абдуллаевны по диссертации Жилкиной Веры Юрьевны на тему: «Фармакогностическое изучение витаминных сборов из лекарственного растительного сырья», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

1. Актуальность выполненного исследования

Витамины относятся к низкомолекулярным биорегуляторам, участвующим в обменных процессах белков, жиров и углеводов, как непосредственно, так и в составе сложных ферментных систем. Важную роль витамины играют в поддержании иммунных реакций организма, обеспечивающих его устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды, что имеет существенное значение в профилактике инфекционных заболеваний. Растительное сырье является ценным источником витаминов для человека, его использование исключает опасность передозировки и возникновения побочного действия, неизбежного при длительном и неконтролируемом употреблении синтетических витаминных препаратов.

В растительном сырье витамины находятся в комплексе с полисахаридами, сапонинами, флавоноидами, вследствие чего проявляют большую биодоступность.

В настоящее время все большую актуальность приобретает поиск новых лекарственных средств природного происхождения, главным образом, растительного. Это связано с тем, что природные средства обладают широким спектром фармакологического действия и могут отличаться и новыми механизмами действия. В отечественной медицинской практике хорошо зарекомендовали себя как различные отдельные виды лекарственного растительного сырья, богатые витаминами (плоды шиповника, листья крапивы, плоды облепихи и др.), так и витаминные сборы.

Ранее для профилактики авитаминозов и повышения иммунитета широко использовались среди прочих, витаминный сбор №1 (плоды шиповника, плоды смородины черной) и витаминный сбор №2 (плоды шиповника, плоды рябины). Химический состав этих сборов представлен аскорбиновой кислотой, витаминами К, В2, Р, каротиноидами, флавоноидами, органическими кислотами и другими биологически активными веществами (БАВ).

Нормативная документация (НД) на витаминные сборы устарела и требует актуализации в соответствии с современными тенденциями к составлению фармакопейных стандартов качества. На плоды черной смородины, как отдельного вида лекарственного растительного сырья (ЛРС), нормативная документация отсутствует.

Целью диссертационной работы является фармакогностическое изучение витаминных сборов №1, №2 и отдельных компонентов для совершенствования и разработки нормативной документации, что, несомненно, является актуальным.

2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Научная новизна исследований В.Ю. Жилкиной состоит в комплексном фармакогностическом исследование витаминных сборов №№ 1, 2 и их отдельных компонентов. Автором показаны преимущества потенциометрического титрования перед индикаторным для извлечений плодов смородины черной и витаминного сбор №1. Диссертантом определены условия реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом и выявлено значение pH реакции, способствующее повышению селективности определения флавоноидов в витаминных сборах и компонентах.

На ЛРС шиповника плоды и витаминный сбор №1 предложена методика спектральной идентификации по присутствию трех максимумов поглощения для доказательства их подлинности (получен патент на изобретение).

Диссидентом показана возможность исследования анатомических признаков лекарственного растительного сырья в поляризованном свете.

Следует отметить, что автор не ограничился углубленным изучением витаминных сборов и классической для них лекарственной формы – настоя, но и получил и охарактеризовал спиртовые извлечения – настойки. При разработке данной лекарственной формы была установлена оптимальная концентрация экстрагента, проведен анализ содержания БАВ, установлены антимикробная и антимикотическая активность (получены два патента на изобретения). Данные исследования представляются весьма интересными, так как витаминные препараты, как правило, применяются в качестве вспомогательных в терапии инфекционных заболеваний. Экспериментальными исследованиями автором показано, что суммарные извлечения, полученные из витаминных сборов №№ 1 и 2 способны не только стимулировать иммунные процессы, но и подавлять рост микроорганизмов.

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

Степень обоснованности научных положений и выводов диссертации основывается на большом объеме полученных экспериментальных данных, использовании адекватных поставленным задачам методов анализа (физико-химических, химических и микробиологических). Для разработанных методик автором проведена их валидация. Результаты исследований отвечают поставленным задачам; положения, вынесенные на защиту, научно обоснованы.

Основные материалы диссертационной работы были доложены и обсуждены на российских и международных научных конференциях, отражены в публикациях, среди которых 5 статей в журналах перечня ВАК, 3 публикации в журналах представленных в базах данных Scopus и WoS, 3 патента, 1 монография. Результаты исследований легли в основу фармакопейных статей и учебного пособия для студентов магистратуры. Диссертация иллюстрирована наглядными графиками, диаграммами, рисунками;

полученные данные систематизированы в виде таблиц. Результаты каждой главы проанализированы и обобщены выводами.

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

Материалы диссертации могут служить методической основой для разработки подходов к стандартизации двух и многокомпонентных лекарственных препаратов растительного происхождения. Полученные данные по получению, анализу и установлению антимикробной и антимикотической активности настоек могут стать предпосылкой для дальнейшего создания экстракционных препаратов на основе витаминных сборов.

Практическое значение исследования заключается в разработке проектов 3 фармакопейных статей «Витаминный сбор №1», «Витаминный сбор №2», «Смородины черной плоды», в которые вошли результаты установления подлинности и качества витаминных сборов №1 и №2 и компонентов. Предложена стандартизация по показателю «сумма органических кислот» методом потенциометрического титрования и уточнены характеристики подлинности по показателям «Внешние признаки» и «Микроскопия».

5. Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения, выносимые на защиту, выводы по диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты диссертационной работы соответствуют областям исследований специальности, а именно пунктам 2, 3, 4 и 6 паспорта специальности.

6. Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, 5 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, включающего 216 отечественных и 40 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 78 таблицами и 76 рисунками.

В первой главе приводится обзор литературы, в котором приведены данные по химическому составу, фармакологическим свойствам и применению витаминных сборов №1 и №2 и их компонентов. Рассмотрены достоинства и недостатки современных методов качественного и количественного анализа свободных органических кислот, кислоты аскорбиновой, флавоноидов, антоцианов, дубильных веществ и каротиноидов.

Вторая глава содержит характеристику изучаемых объектов, дает краткое описание материалов и методов исследования.

В третьей главе изложены результаты морфолого-анатомического анализа изучаемых объектов и уточнены макро- и микроскопические диагностические признаки.

Четвертая глава посвящена изучению подлинности и качеству витаминных сборов №1 и №2 и их компонентов. Представлены результаты идентификации свободных органических кислот и кислоты аскорбиновой методом ТСХ и результаты исследований по

идентификации органических кислот и флавоноидов методом ВЭЖХ в изучаемых объектах, а также предложена методика идентификации витаминного сбора №1 и плодов шиповника методом дифференциальной спектрофотометрии.

В пятой главе представлены результаты исследований по разработке методик потенциометрического титрования, кулонометрического титрования и ВЭЖХ для определения суммы свободных органических кислот; результаты исследований по разработке методик дифференциальной спектрофотометрии для определения содержания суммы флавоноидов.

Шестая глава включает результаты определения содержания БАВ в водных извлечениях из витаминных сборов и их компонентов.

В седьмой главе описана методика получения настойки из витаминных сборов, включающая выбор оптимальной концентрации экстрагента для максимального извлечения БАВ. Представлены преимущества спиртовых извлечений перед настойками, связанные с более выраженной антимикробной и антимикотической активностью, более высоким содержанием основных БАВ и большей продолжительностью хранения.

Выводы по диссертации полностью соответствуют поставленным задачам и отражают суть проведенных исследований.

По теме диссертации опубликовано 15 работ, 3 статьи в изданиях Перечня ВАК, 1 монография, 3 публикации в изданиях, представленных в базах данных Scopus и WoS, получено 3 патента на изобретения.

Данные диссертации по определению характеристик подлинности и стандартизация витаминных сборов №1 и №2, а также их компонентов внедрены в работу ООО Фирма «Здоровье». Разработанные в ходе исследования методики и полученные результаты анализа, витаминных сборов №1 и №2 и их компонентов, применяются в учебном процессе на кафедрах ФГБОУ ВО «МИРЭА - Российский технологический университет», ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», ЧУОО ВО «Медицинский университет «Реавиз».

При общей положительной оценке диссертации Жилкиной Веры Юрьевны на тему: «Фармакогностическое изучение витаминных сборов из лекарственного растительного сырья», в процессе анализа работы возник ряд вопросов и замечаний.

Замечания:

1. Опечатки, повторы, неудачные и неточные выражения, технические ошибки и т.п. (стр. 29, 43, 60, 81, 113, 114, 187).
2. В методике пробоподготовки на стр. 118 пропущена фраза «экстракт фильтровали».
3. На стр. 133 в тексте цит.: «на рисунке 5.26 изображены спектры исследуемого образца и СО рутин». На стр. 134 в подписи к рисунку 5.26 – б- СО раствора кверцетина.
4. Таблица 5.37. В названии таблицы ошибочно назван грудной сбор №2.

Вопросы:

1. В таблице 4.6. (стр.76) приведены хроматографические параметры гликозидов флавоноидов витаминных сборов №№ 1, 2 и их компонентов. В витаминном сборе №1, включающем плоды шиповника и плоды смородины черной установлено присутствие комплекса кверцетин-пентозид+мирицетин-3-галактозид, однако данный комплекс не обнаруживается в компонентах сбора – плодах шиповника и плодах черной смородины. Поясните данный факт.

2. При количественном анализе свободных органических кислот в витаминных сборах и в отдельных компонентах использовались различные методики. При использовании методик алкалиметрического, потенциометрического и кулонометрического титрования использовалась одна и та же (щадящая) пробоподготовка, что позволяет говорить о содержании свободных органических кислотах. При использовании метода ВЭЖХ пробоподготовка была иной, использовалось трехкратное УЗ озвучивание в течение 30 минут каждый раз. Известно, что длительное воздействие УЗ приводит к разрушению биомолекул. В связи с этим возникает вопрос – при данной пробоподготовке определяются только свободные органические кислоты или связанные тоже?

3. При количественном определении кислоты аскорбиновой методом прямой спектрофотометрии к анализируемому раствору добавляли 1 мл 0,03% кислоты аскорбиновой. На рисунке 5.16 (стр. 114) приведены спектры поглощения СО кислоты аскорбиновой ($\text{max} = 267 \text{ нм}$), спектр поглощения извлечения из витаминного сбора №2 ($\text{max} = 279 \text{ нм}$), спектр поглощения извлечения из витаминного сбора №2 с добавлением внешнего стандарта кислоты аскорбиновой ($\text{max} = 282 \text{ нм}$), поглощение в области 267 нм у последнего раствора снизилось, что противоречит логике. Добавление СО кислоты аскорбиновой сдвинуло точку максимального поглощения в длинноволновую область более чем на 15 нм. Чем объясняется данный факт?

4. При исследовании противомикробной, антимикотической активности настоев и настоек из витаминных сборов №№1и2, выяснилось, что наибольшей активностью в отношении к штаммам *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* обладают настои (при условии исключения влияния спирта этилового). При этом, диссертационные исследования автора подтверждают, что наибольшее содержание фенольных соединений, аскорбиновой кислоты и органических кислот характерно для настоек. Связано с этим возникает вопрос – с какой группой БАВ можно связать проявление противомикробной активности в настоях?

Указанные замечания не принципиальны, а вопросы носят уточняющий и дискуссионный характер и не снижают ценности диссертационной работы.

7. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям и результатам, представленным в тексте диссертации, и не противоречат им.

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

Диссертационная работа Жилкиной Веры Юрьевны на тему: «Фармакогностическое изучение витаминных сборов из лекарственного растительного сырья», 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 по совершенствованию отечественных фармакопейных стандартов качества на лекарственное растительное сырье и лекарственные растительные препараты.

Таким образом, диссертационная работа Жилкиной Веры Юрьевны представляет собой законченную научно-квалификационную работу, по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, достоверности полученных результатов, уровню аprobации и опубликованию основных положений в печати соответствует требованиям пунктов 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 01 октября 2018г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Жилкина Вера Юрьевна 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
доктор фармацевтических наук,
15.00.02 - фармацевтическая химия и фармакогнозия

профессор

Ханина Миниса Абдуллаевна

«29» апреля 2019г.

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