

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата фармацевтических наук Шишмаревой Татьяны Михайловны на диссертационную работу Петуховой Светланы Андреевны на тему: «Фармакогностическое исследование володушки козелецелистной (*Vipleurum scorzonerifolium* Willd.) травы и разработка на ее основе экстракта сухого», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Диссертационный совет Д 999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность работы. Лекарственное растительное сырье и фитопрепараты, созданные на их основе, обладают широким спектром терапевтического действия, так как содержат комплекс биологически активных веществ (БАВ). В профилактике и терапии заболеваний печени широко используются лекарственные растительные средства. В частности, трава володушки многожилчатой обладает противовоспалительной, желчегонной и Р-витаминной активностью. За рубежом, в Китае, Японии и Индии, фармакопейными являются володушка китайская, серповидная, применяемые при дискинезии желчевыводящих путей, аутоиммунных заболеваниях. Близким видом к володушке многожилчатой является володушка козелецелистная, которая в Прибайкалье образует заросли на степных лугах и имеет достаточные сырьевые ресурсы. В связи с этим проведение фармакогностического исследования володушки козелецелистной как источника новых растительных средств является актуальным.

Научная новизна исследований. Автором проведено детальное изучение химического состава надземных органов володушки козелецелистной. В ходе изучения фенольных соединений выделено и идентифицировано 24 флавоноида, производных кверцетина, кемпферола, изорамнетина, из них 13 флавоноидов в надземной части обнаружены впервые. Также установлено содержание эпикатехина, катехина, кумарина, 7 фенолкарбоновых кислот.

Проведено исследование терпеноидов володушки козелецелистной. В ходе изучения метаболомного профиля тритерпеновых сапонинов

идентифицировано 14 гликозидов. Исследован состав эфирного масла володушки козелецелистной, произрастающей в Прибайкалье. Эфирное масло получено методом дистилляции, выход его составил 0,22%. При анализе хромато-масс-спектрометрическим методом автором зафиксировано 50 пиков, из которых 33 идентифицировано. В эфирном масле установлено содержание 16 монотерпеновых и 17 сесквитерпеновых соединений. Преобладающим компонентом является β -гвайен, содержание которого для володушки козелецелистной установлено впервые.

Автором хромато-масс-спектрометрическим методом идентифицировано 17 жирных кислот (свободных и связанных). Среди свободных непредельных жирных кислот содержатся линолевая, α -линоленовая кислоты. Методом микроколоночной ВЭЖХ с УФ-детектированием установлено количественное содержание в надземных органах володушки козелецелистной кофеил-глюкозы, 5 фенолкарбоновых кислот и 6 флавоноидов. Среди флавоноидов преобладает изокверцитрин. Кроме этого, диссертантом изучен состав аминокислот и минеральный комплекс.

Петуховой С.А. проведено изучение динамики накопления флавоноидов, дубильных веществ, фенолкарбоновых кислот в надземных органах володушки козелецелистной и установлено, что максимальное их количество содержится в листьях и цветках в период цветения. На основании этого в качестве лекарственного растительного сырья предложена трава, собранная в период цветения.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы. Автором получены дополнительные сведения о химическом составе надземных органов володушки козелецелистной. Предложено проводить стандартизацию растительного сырья и экстракта сухого по флавоноидам и фенолкарбоновым кислотам. Предложены и валидированы методики их количественного анализа для включения в нормативные документы на траву и экстракт сухой володушки козелецелистной. На основании сведений о динамике накопления БАВ по органам и фазам развития растения составлена инструкция по сбору и сушке сырья. Разработана технология и проведена

стандартизация экстракта сухого с использованием принципа сквозной стандартизации. Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе по специальности «Фармация» в Иркутском государственном медицинском университете и на предприятии «Иван-чай» (Ангарск).

Структура и оформление диссертации. Диссертационная работа Петуховой С.А. имеет введение, обзор литературы, экспериментальную часть, общие выводы, список литературы, приложения. Диссертация изложена на 224 страницах, иллюстрирована 50 таблицами и 49 рисунками. В списке литературы 170 источников, на иностранных языках – 67.

Во введении обоснована актуальность темы, обозначены цель, задачи, новизна и практическая значимость проведенных исследований, а также положения, выносимые на защиту.

В первой главе приводится аналитический обзор сведений литературы о растениях рода *Vipuleurum* и володушки козелецелистной.

Во второй главе описаны объекты, фитохимические, фармакогностические, физико-химические и статистические методы исследований.

В третьей главе приведены результаты определения флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, кумаринов, тритерпеновых сапонинов, высокомолекулярных жирных кислот, аминокислот, эфирного масла, минерального комплекса. Дана оценка количественного содержания БАВ в надземных органах, а также приводятся сведения о динамике накопления полифенольных соединений.

В четвертой главе приведены данные по изучению микроскопических признаков сырья володушки козелецелистной. Автором установлены анатомо-диагностические признаки для цельного и измельченного сырья. Для листьев, стеблей и цветков характерно наличие крупных млечников с желтым и коричневым содержимым. В этой главе также приводятся данные по микроскопическому строению порошка травы володушки козелецелистной. Глава иллюстрирована микрофотографиями, приведены результаты исследований ресурсов володушки козелецелистной.

В пятой главе изложены материалы по разработке методик качественного и количественного анализа сырья володушки козелецелистной и их валидация. Для определения подлинности сырья автором предлагается аналитическая реакция – цианидиновая проба и тонкослойная хроматография с использованием стандартных образцов рутина и 3-О-кофеилхинной кислоты. В ходе адаптации методик количественного определения суммы флавоноидов и суммы фенолкарбоновых кислот автором изучены факторы, влияющие на их выход и установлены оптимальные параметры экстракции. Относительные ошибки методик не превышают 2,96%. По результатам валидации методик количественного определения автором установлено их соответствие критериям – правильность, прецизионность, линейность, специфичность. В этой главе также приведены материалы по установлению товароведческих показателей и сроков годности сырья.

В шестой главе описывается разработка технологии получения экстракта сухого. Петуховой С.А. выбран метод дробной трехступенчатой экстракции в динамических условиях. Экспериментально подобраны оптимальные условия экстракции. В качестве экстрагента предложено использование 60% и 70% спирта этилового, что позволило достичь эффективности экстракции по экстрактивным веществам в пределах 80 %, флавоноидов – 90%, а фенолкарбоновых кислот – 78%. Далее автором приводится описание химического состава экстракта сухого. Методом ВЭЖХ на приборе «Gilson» установлено содержание 15 фенольных соединений, методом микроколоночной ВЭЖХ-УФ определено количественное содержание отдельных фенольных соединений (фенолокислот и флавоноидов), также изучен состав жирных кислот, аминокислот и элементный состав экстракта сухого. Проведены исследования по разработке качественного и количественного анализа экстракта сухого для его стандартизации.

Выводы согласуются с задачами, основными положениями диссертационной работы. Приложение содержит проекты нормативных документов на сырье – траву володушки козелецелистной, экстракт сухой, первичные материалы по изучению элементного состава, сроков годности

сырья, документы по внедрению результатов диссертационной работы, заключение о результатах фармакологического исследования экстракта сухого.

Степень обоснованности, достоверности научных положений и выводов. В диссертационной работе дано теоретическое и практическое обоснование по использованию травы володушки козелецелистной и экстракта сухого на её основе. В работе использовались современные методы и оборудование. Достоверность результатов эксперимента не вызывает сомнений, т. к. исследования проведены в достаточном количестве повторностей и статистически обработаны.

Достоинством диссертационной работы является то, что работа Петуховой С.А. написана грамотным и доступным языком, отмечается последовательность и логическая связь между главами. Следует отметить, что автором проведен детальный фитохимический анализ володушки козелецелистной и подробно изложены его результаты.

Результаты диссертационной работы были представлены на научно-практических конференциях всероссийских, с международным участием, региональных. Автором опубликовано 18 научных работ, среди них – 1 патент РФ на изобретение и 6 статей, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Автореферат соответствует содержанию диссертационной работы. Приведенные публикации охватывают основные положения диссертации.

В ходе знакомства с диссертационной работой возникли следующие вопросы:

1. Почему изучение динамики накопления БАВ проводилось только по содержанию фенольных соединений?
2. Из таблицы 3.12 видно, что надземные органы накапливают в большей степени изокверцитрин: почему при разработке методики количественного определения флавоноидов в качестве стандартного образца выбран рутин?
3. К какому типу относятся млечники володушки козелецелистной?
4. Почему для определения подлинности сырья Вами предлагается цианидиновая реакция?

5. Отличается ли рассчитанный Вами удельный показатель поглощения рутина от фармакопейных методик?

Заключение. Диссертационная работа Петуховой Светланы Андреевны на тему «Фармакогностическое исследование володушки козелецелистной (*Vipleurum scorzonerifolium* Willd.) травы и разработка на ее основе экстракта сухого» является завершенной научно-квалификационной работой, имеющей большое теоретическое и практическое значение в области создания новых растительных средств, технологии их получения и стандартизации.

Считаю, что диссертационная работа по актуальности, объему проведенных исследований, научно-методическому уровню, теоретической и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Научный сотрудник лаборатории
медико-биологических исследований
ФГБУН «Институт общей и экспериментальной
биологии» СО РАН
кандидат фармацевтических наук

Татьяна Михайловна Шишмарева

(шифр специальности: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия)

20.11.2018 г

ФГБУН «Институт общей
и экспериментальной биологии»
Сибирского Отделения Российской
академии наук,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой,
Тел. (3012)434743; факс (3012) 433034
e-mail: shishmarevatm@mail.ru
<http://igeb.ru>



Подпись удостоверяю
Ученый секретарь Института
общей и экспериментальной
биологии СО РАН *кофл*
Козирева Л.П.
20.11.2018г.