

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ
**«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕ-
ДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ)

ул. Ленина, 3, г. Уфа, Республика Башкортостан, Российская Федерация,
450008
тел. (347) 272-41-73, факс 272-37-51
http:// www.bashgmu.ru, E-mail: rectorat@bashgmu.ru

ОКПО 01963597 ОГРН 1020202561136
ИНН 0274023088 КПП 027401001

№ _____
от _____



УТВЕРЖДАЮ
Ректор федерального
государственного бюджетного
образовательного учреждения
высшего образования
«Башкирский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
член-корр. РАН, доктор
медицинских наук, профессор
Павлов Валентин Николаевич

«13» // _____ 2019 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Урбагаровой Баярмы Мунхоевны на тему «Фармакогностическое исследование сапожниковии растопыренной (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin) корней и разработка на их основе экстракта сухого», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в диссертационный совет Д 999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук

Актуальность темы

В последние годы актуальными являются исследования, посвященные изучению природных соединений. В первую очередь, это связано с широким спектром их биологической активности и разнообразием структур. Из видов, активно используемых в традиционной медицине, для лечения артралгии, ревматизма, болевых синдромов как эффективное противовоспалительное средство в последние годы внимание исследователей привлекает сапожниковия растопыренная *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin (*Apiaceae*). Данные литературы свидетельствуют о широком спектре биологической активности (противовоспалительной, противоаллергической, антимикробной, антипролиферативной и др.) сапожниковии растопыренной корней и возможности их использования в качестве сырья для создания лекарственных средств. Ареал этого растения охватывает такие регионы, как Республика Бурятия, Амурская область, Забайкальский, Хабаровский и Приморский края. В России данный вид не является фармакопейным, однако активно применяется в

в виде биологически активных добавок. На основании анализа литературы установлено отсутствие данных о химическом составе сапожниковии растопыренной, произрастающей на территории России. С учетом вышеизложенного, актуальность проведения фармакогностического исследования сапожниковии растопыренной с целью разработки нормативной документации и внедрения в научную медицину не вызывает сомнений.

Работа выполнена в лаборатории химии природных систем БИП СО РАН в соответствии с задачами по проекту №0339-2016-0003 «Трансформация веществ в адаптивных реакциях организмов как индикатор антропогенного воздействия в экосистемах Азиатской России и сопредельных территорий» и на кафедре фармации медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» в рамках ряда проектов, в том числе проектной части государственного задания в сфере научной деятельности, проекта №19.1168.2014/К «Исследование низкомолекулярных метаболитов растений флоры Северной Азии и создание с использованием традиций восточной медицины новых лекарственных средств широкого спектра действия», проекта РФФИ №17-33-50176 «Разработка способов получения алкинилзамещенных дигидропирано- и дигидрофурохромонов и синтез азотсодержащих производных с помощью катализируемых соединениями меди реакций Манниха и 1,3-диполярного циклоприсоединения».

Соответствие содержания диссертации заявленной научной специальности

Основные положения диссертации Урбагаровой Баярмы Мунхоевны, выносимые на защиту и выводы по диссертации, соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Область исследования и полученные результаты соответствуют пунктам 2, 3, 4 и 6 паспорта специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

Впервые проведен комплексный фармакогностический анализ сапожниковии растопыренной корней флоры Бурятии, Забайкальского края и Монголии. В ходе изучения химического состава установлено наличие хромонов, кумаринов, эфирных масел, флавоноидов, дубильных веществ, жирных кислот, полиацетиленовых соединений, полисахаридов. Показано, что растение *Saposhnikovia divaricata* является ценным источником хромонов – цимифугина, гамаудола и их гликозидов. Цимифугин, гамаудол, 5-О-метилвисамминол и гликозиды: *перв*-О-глюкозилцимифугин, *втор*-О-глюкозилгамаудол, 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол выделены в индивидуальном виде. Наряду с этим выделены кумарины: скополетин, бергаптен, изоимператорин, мармезин, декурсинол, оксипеucedанин гидрат и прерупторин В. Структура прерупторина В подтверждена данными РСА. Для выделенных веществ впервые получены данные по цитотоксичности индивидуальных соединений на моделях опухолевых клеток человека: MEL-8,

U-937, DU-145, MDA-MB-231, BT-474. Определен компонентный состав эфирного масла, основными компонентами которого являются панаксинол (синонимы фалькаринол, каротатоксин) [3(R)-(9Z)-гепта-1,9-диен-4,6-диин-3-ол] и β-бисаболен. Исследован состав высших жирных кислот: доминирующими кислотами являются линолевая (34.53–48.49%), олеиновая (8.85–30.33%), пальмитиновая (6.15–18.30%). Определено суммарное содержание флавоноидов, которое составило 0.29–0.48%. Содержание дубильных веществ в корнях колеблется от 0.38% до 0.55%.

Впервые в сапожниковии растопыренной корнях из флоры Бурятии, Забайкальского края, Монголии и в культивированном сырье, методом ВЭЖХ-УФ определено содержание основных действующих веществ *перв*-О-глюкозилцимифугина, цимифугина и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминола, соответственно: 0.13 – 5.22 мг/г; 0.01 – 1.82 мг/г; 0.98 – 3.25 мг/г от массы воздушно сухого сырья (в.с.с.).

Разработан способ получения экстракта сухого из корней сапожниковии растопыренной, для которого установлена выраженная церебропротекторная активность на модели ишемии головного мозга у крыс.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Сформулированные автором выводы в полной мере обоснованы и отвечают цели и задачам исследования. Структура и последовательность изложения материала в диссертации и автореферате совпадают и отражают данные, полученные автором.

Результаты исследований базируются на достаточном фактическом материале. Эксперименты выполнены с использованием комплекса современных фармакогностических, фитохимических, физико-химических и статистических методов исследований.

Достоверность результатов исследований Урбагаровой Баярмы Мунхоевны подтверждена статистической обработкой полученных результатов, доказана валидность предложенной методики количественного определения хромонов в исследуемом сырье сапожниковии растопыренной.

Заключение и выводы логично вытекают из работы и аргументированы.

Основные положения исследования доложены в виде 8 докладов на международных, всероссийских и региональных конференциях, в них отражены основные положения и выводы диссертации. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 2 – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Содержание автореферата и печатных работ соответствует материалам диссертации.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, выводов и заключений

Структура, последовательность изложения работы и содержание глав отвечают цели и задачам диссертационного исследования.

Диссертационная работа изложена на 162 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав, общих выводов и 10 приложений. Работа иллюстрирована 28 рисунками и 33 таблицами. Список цитируемой литературы включает 136 источников, из них 95 – на иностранных языках.

Во введении автором обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследования.

В главе «Обзор литературы» соискатель приводит сведения о ботанической характеристике сапожниковии растопыренной. Подробно рассмотрена возможность и целесообразность использования сапожниковии растопыренной корней в качестве сырья для получения лекарственных препаратов. Обобщены сведения по химическому составу растения и применению его препаратов в народной и традиционной медицине. На основании анализа данных литературы диссертантом сделан вывод о том, что химический состав сапожниковии растопыренной корней, произрастающей на территории России ранее не изучался, а исследуемый вид не является фармакопейным, но активно используется в практиках частных клиник.

Во второй главе соискателем представлены сведения об объектах исследований, приводится обоснование использования методов и приборов, а также другие данные методического характера.

Глава 3 посвящена исследованию химического состава сапожниковии растопыренной. В корнях исследуемого растения обнаружены следующие классы биологически активных соединений: эфирные масла, жирные кислоты, тритерпеновые сапонины, флавоноиды, дубильные вещества. Впервые определен качественный состав и количественное содержание липидной фракции; идентифицированы 18 жирных кислот, основными кислотами являются линолевая, олеиновая, пальмитиновая. Доказано содержание водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, гемицеллюлозы А, гемицеллюлозы Б, эфирных масел, флавоноидов, дубильных веществ. В корнях определено содержание хромонов, таких как *перв-О-глюкозилцимифугин*, *цимифугин* и *4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол*. Показано, что растение *Saposhnikovia divaricata* является ценным источником хромонов – *цимифугина*, *гамаудола* и их гликозидов. *Цимифугин*, *гамаудол*, *5-О-метилвисамминол* и гликозиды: *перв-О-глюкозилцимифугин*, *втор-О-глюкозилгамаудол*, *4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол* выделены в индивидуальном виде. Обнаружены также кумарины: *скополетин*, *бергаптен*, *изоимператорин*, *мармезин*, *декурсинол*, *оксипеucedанин гидрат* и *прерупторин В*. Методом ГХ/МС определён компонентный состав эфирного масла корней и травы *Saposhnikovia divaricata*.

В четвёртой главе диссертант приводит результаты определения диагностических признаков сапожниковии растопыренной корней, обоснование условий экстракции основных действующих веществ, методику их количественного определения и валидацию. Показано, что цельное сырьё представляет собой корни размером до 30 см длиной и 0.5–1.5 см диаметром

цилиндрической формы, слегка суживающиеся к концу, коричневого цвета со специфическим запахом; основными микроскопическими признаками корней являются радиально закрытый сосудисто-волокнистый пучок, прямоугольной вытянутой формы с прямыми стенками клетки эпидермиса коры, капли эфирного масла, окрашенные в ярко желтый и оранжевый цвета и многочисленные секреторные каналы, также окрашенные в ярко оранжевый и желтый цвета. Установлены оптимальные условия экстракции хромонов *Saposhnikovia divaricatae radices* (перв-О-глюкозилцимифугин, цимифугин и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол): двукратная ультразвуковая экстракция 40% этанолом в течение 40 минут. Определены требования к показателям доброкачественности *Saposhnikovia divaricatae radices*: содержание перв-О-глюкозилцимифугина не менее 2 мг/г, цимифугина не менее 0.05 мг/г, 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминола не менее 1.50 мг/г, суммы экстрактивных веществ (40% этиловый спирт) не менее 30% и другие критерии качества сырья.

В пятой главе «Разработка технологии получения экстракта сухого и стандартизация» автор последовательно описывает этапы разработки способа получения *Saposhnikovia divaricatae radices extractum siccum* и его стандартизацию. Определены оптимальные параметры процесса: степень измельченности сырья – не более 2 мм; соотношение сырье-экстрагент 1:10; двукратная экстракция: первая стадия – экстракция 50% этанолом в течение 40 минут; вторая стадия – экстракция 60% этанолом в течение 40 минут. Определен химический состав экстракта сухого из сапожниковии растопыренной корней с содержанием хромонов в экстракте: перв-О-глюкозилцимифугина (11.85 мг/г), цимифугина (0.64 мг/г) и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминола (7.66 мг/г). Исследован жирно-кислотный состав липидной фракции и установлено высокое содержание линолевой (54.7%) и эруковой кислот (19.45%). Установлен срок годности лекарственной формы – 2 года. Разработан проект фармакопейной статьи «*Saposhnikovia divaricatae radices extractum siccum*».

В приложениях, приведенных в диссертации, представлены проекты ФС, акты внедрения, результаты лабораторных испытаний и определения фармакологической активности.

Диссертация завершена общими выводами и списком литературы. Достоверность выводов подтверждена достаточным объемом представленного материала, анализом полученных данных, результатами статистической обработки и выборов критериев при фармакологических исследованиях.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Диссертационная работа Урбагаровой Баярмы Мунхоевны вносит существенный вклад в решение важной задачи в области фармацевтической химии и фармакогнозии по исследованию перспективных видов лекарственных растений.

На основе проведенных исследований Урбагаровой Баярмы Мунхоевны разработаны и предложены:

- проект Фармакопейной статьи *Saposhnikoviae divaricatae radices*;
- проект Фармакопейной статьи *Saposhnikoviae divaricatae radices extractum siccum*;
- методика количественного определения хромонов, методические рекомендации по макро- и микроскопической характеристике *Saposhnikoviae divaricatae radices* и способ получения *Saposhnikoviae divaricatae radices extractum siccum* внедрены в учебный процесс на кафедре фармации медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова».

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, анализе и обобщении полученных результатов. В работах, выполненных в соавторстве, диссертант непосредственно участвовал в планировании, выполнении эксперимента и в обработке данных. Лично автором выполнены экспериментально-аналитические исследования по разработке методик качественного и количественного анализа, осуществлена статистическая обработка и валидация, проведено обобщение полученных результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии и выполнении всех этапов исследования: от постановки задач и их реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и их внедрения в практику.

При общей положительной оценке работы Урбагаровой Б.М. возникли некоторые вопросы и замечания:

1. С какой целью проводились исследования образцов из Монголии и Китая? Объясните, почему при количественном определении различных групп биологически активных веществ Вами не везде проведена сравнительная характеристика образцов из Бурятии, Монголии и Китая? Например, определение эфирного масла в траве сапожниковии не проводилось в образцах из Китая, определение флавоноидов в корнях не проводилось в образцах из Монголии, а в траве отсутствуют данные по Монголии и Китаю и т.д.

2. Определение количественного содержания эфирного масла в исследуемых образцах Вы проводили по методу №1 (Гинзберга). Почему именно этим методом? Изучали ли возможность применения других методов количественного определения – метод Клевенджера №1, №2? Был ли Вами произведен подбор оптимальных условий при определении эфирного масла?

3. Не представлены табличные данные по количественному определению эфирного масла со статистической обработкой в корнях и траве изучаемого Вами растения.

4. На стр.70, раздел 3.2.5 Вы приводите данные по количественному определению флавоноидов в исследуемых образцах методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин. Вы пишете, что максимум поглощения исследуемого водно-этанольного раствора с добавлением алюминия хлорида наблюдается при длине волны 412 нм, что соответствует максимуму поглощения СО рутина. Такой же максимум поглощения характерен, например, для гиперозида. Почему Вы считаете, что

это именно рутин? В работе не представлены данные по качественному изучению флавоноидов и не приведены данные о наличии рутина в изучаемом Вами растении в литературном обзоре. Проводился ли Вами подбор условий количественного определения флавоноидов: концентрация экстрагента, соотношение сырье-экстрагент, время и кратность экстракции?

5. При количественном определении некоторых групп биологически активных веществ не представлена статистическая обработка, например при определении хромонов.

6. Почему Вами приведены данные по детальному изучению хромонов только в корнях, но не приводятся результаты по содержанию данной группы БАВ в траве?

7. Данные по валидационной оценке методики количественного определения хромонов в корнях сапожниковии должны быть представлены в виде графиков и таблиц.

8. В ходе исследования состава эфирных масел в китайском образце Вы пишете, что содержание лигустилида составляет 73,29% в смеси, но эти данные не отражены в таблице 3.2.4.1. Вы пишете, что одновременное содержание лигустилида и фалькаринола в эфирном масле китайского образца, с одной стороны свидетельствует о наличии корней дудника, а с другой – сапожниковии растопыренной. Не понятно, что Вы хотите этим сказать?

9. Чем обоснован выбор ультразвуковой экстракции сырья при получении экстракта?

10. В список литературы не включены публикации автора.

Указанные замечания не носят принципиального характера и не умаляют достоинства диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Урбагаровой Баярмы Мунхоевны «Фармакогностическое исследование сапожниковии растопыренной (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin) корней и разработка на их основе экстракта сухого», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является самостоятельным законченным, научно-квалификационным исследованием по актуальной теме, в которой содержится решение важной задачи в области фармацевтической химии и фармакогнозии по исследованию перспективных видов лекарственных растений.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Урбагаровой Баярмы Мунхоевны соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор – Урбагарова Баярма Мунхоевна – заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв на диссертационную работу Урбагаровой Баярмы Мунхоевны на тему «Фармакогностическое исследование сапожниковии растопыренной (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin) корней и разработка на их основе экстракта сухого», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, обсужден на заседании кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 4 от «01» ноября 2019г).

Заведующий кафедрой фармакогнозии
с курсом ботаники и основ фитотерапии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Башкирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук
(15.00.02 - фармацевтическая химия,
фармакогнозия),
профессор

Кудашкина Наталья Владимировна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
450008, г. Уфа, ул. Ленина д. 3, +7 (347) 272 41 73, rectorat@bashgmu.ru,
<http://bashgmu.ru>

« 13 » ноябрь 2019 г.

