

ОТЗЫВ

официального оппонента профессора кафедры физической химии и хроматографии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королева (национальный исследовательский университет)», доктора химических наук, профессора Курбатовой Светланы Викторовны по диссертации Хасановой Светланы Рашитовны на тему: «Экспериментально-теоретическое обоснование создания и стандартизации лекарственных растительных препаратов с антиоксидантной активностью», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования. Использование природных антиоксидантов является перспективным направлением в терапии ряда заболеваний, поскольку многие процессы, протекающие в организме, тесно связаны со свободно-радикальным окислением. Снижение естественной антиоксидантной активности вызывает в организме увеличение концентрации активных форм кислорода, что приводит к развитию различных заболеваний.

Среди наиболее изученных свободнорадикальных патологий, занимающих по данным Всемирной организации здравоохранения одно из ведущих мест по распространенности и первое место по числу смертности среди населения, являются заболевания сердечно-сосудистой системы. Имеющийся клинический опыт и результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о важной роли оксидантного стресса в формировании и прогрессировании сердечно-сосудистой патологии, необходимости ранней, планомерной и комплексной антиоксидантной коррекции.

Широко известными являются антиоксидантные свойства флавоноидов, которые обуславливают обширный спектр биологического действия последних и вызывают значительный интерес исследователей, связанный с перспективами использования данного класса соединений.

Расширение ассортимента антиоксидантных лекарственных средств на основе отечественной растительной сырьевой базы является одной из актуальных задач современной фармации. Одним из путей ее решения является внедрение в практику новых растительных сборов и новых видов лекарственного растительного сырья уже изученных растений. В качестве одного из таких можно назвать листья боярышника кроваво-красного. Лекарственные препараты из листьев боярышника представлены на

отечественном фармацевтическом рынке, однако нормативная документация на этот вид сырья практически отсутствует.

В связи с этим диссертационная работа Хасановой Светланы Рашитовны, посвященная теоретическому и экспериментальному обоснованию создания и стандартизации лекарственных растительных средств с антиоксидантной активностью для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний, **является актуальной.**

Новизна исследования и полученных результатов, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Автором проведен фармакологический скрининг антиоксидантной активности 25 видов лекарственного растительного сырья и 145 различных сочетаний на их основе. Теоретически и экспериментально обоснованы составы двух новых сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Осуществлено комплексное фармакогностическое изучение этих сборов и листьев боярышника кроваво-красного, с использованием фитохимических, хроматографических, спектроскопических методов анализа изучен их химический состав.

Изучен компонентный состав биологически активных веществ листьев боярышника кроваво-красного с использованием современных физико-химических методов исследования (ВЭТСХ, ГХ/МС, ВЭЖХ, ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопия). Из листьев боярышника кроваво-красного выделены 17 фенольных производных и с применением ЯМР-, ИК-, УФ-спектроскопии установлена их структура. Впервые в листьях боярышника кроваво-красного обнаружены изовитексин, физетин, дигидрокверцетин, нарингин, гесперидин, кофейная и хлорогеновая кислоты. В листьях боярышника кроваво-красного методом ВЭЖХ идентифицированы 5 флавоноидов, при этом впервые - байкалеин. Методом ГХ/МС в листьях боярышника кроваво-красного идентифицированы 6 веществ, 4 из которых - соединения фенольной природы. Изучен компонентный состав эфирного масла листьев боярышника кроваво-красного и идентифицировано 18 соединений. Впервые методами ВЭЖХ и ГЖХ установлен состав полисахаридов листьев боярышника кроваво-красного. Кроме того, автором исследована динамика накопления основных групп БАВ листьев боярышника кроваво-красного в различные фазы вегетации растения и определены сроки их заготовки.

Исследованы морфолого-анатомические признаки сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного и установлены диагностически-значимые признаки, которые предложены в качестве критерия стандартизации. При проведении микроскопического исследования листьев боярышника выявлены новые анатомо-диагностические признаки. Впервые проведено морфолого-анатомическое исследование черешка и прилистников боярышника кроваво-красного.

Разработаны показатели подлинности и качества сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного и проведена их стандартизация.

Изучены токсико-фармакологические свойства исследованных объектов. Определена острая токсичность разработанных сборов и листьев боярышника кроваво-красного, исследованные объекты отнесены к 4 классу «Вещества малотоксичные». В ходе фармакологических исследований впервые установлены антиоксидантные, кардиотропные, антикоагулянтные, антиагрегантные, антигипоксические свойства сбора «Кардиофит-ИБС»; антиоксидантные, антикоагулянтные, антиагрегантные, антигипоксические свойства сбора «Ангиофит-НМК»; антиоксидантные, кардиотропные, антиаритмические свойства листьев боярышника кроваво-красного.

Исследованы оптимальные условия получения водных извлечений из сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Изучены оптимальные условия и разработана технология получения жидких экстрактов из сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и густого экстракта из листьев боярышника кроваво-красного.

Диссертационные исследования Хасановой С.Р. подтверждены тремя патентами: «Сбор лекарственных растений для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения», «Сбор лекарственных растений для профилактики и лечения ишемической болезни сердца», «Способ местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у лиц пожилого и старческого возраста с применением жевательного субстрата».

Таким образом можно заключить, что достоверность научных положений и обоснованность выводов базируются на достаточных по своему объему теоретических и экспериментальных данных, непротиворечивости полученных результатов и обеспечены использованием современных методов исследования и тщательно выполненной статистической обработкой полученных результатов.

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

Автором разработаны показатели подлинности и качества сборов и листьев боярышника кроваво-красного, необходимые для их стандартизации, а также методика их качественного анализа методом ТСХ, методика определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в листьях боярышника кроваво-красного, сборах «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК»; методика качества сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК» по количественной оценке проявляемости анатомических диагностически-значимых признаков.

Проведенные исследования позволили обосновать возможность расширения отечественной номенклатуры официального сырья - листьев боярышника кроваво-красного и сборов «Кардиофит-ИБС» и «Ангиофит-НМК». Результаты фармакологических испытаний подтвердили целесообразность разработанных методологических подходов к созданию новых растительных лекарственных средств для профилактики и комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

На основании проведенных исследований разработан ряд проектов нормативных документов: проект фармакопейной статьи «Боярышника кроваво-красного листа» (проходит экспертизу в ФГУ «НЦЭСМП» Минздрава России с целью включения в Государственную Фармакопею XIII издания), проекты фармакопейной статьи предприятия «Сбор «Кардиофит-ИБС», «Сбор «Ангиофит-НМК», «Жидкий экстракт из сбора «Кардиофит-ИБС», «Жидкий экстракт из сбора «Ангиофит-НМК», «Густой экстракт боярышника кроваво-красного листьев», инструкция по сбору и сушке листьев боярышника кроваво-красного.

Результаты исследований включены в монографии «Фитотерапия артериальной гипертензии», «Фитотерапия в гинекологии», «Фитотерапия инфекционных заболеваний», «Фитотерапия в урологии», а также внедрены в работу ГКУЗ Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств Республики Башкортостан, ООО «Травы Башкирии», ООО «Фитоцентр Гордеева», в учебный процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России.

Следует отметить, что результаты проведенных исследований позволили создать методологическую базу подходов к разработке новых растительных средств с антиоксидантной активностью, а также расширить возможности целенаправленного поиска новых сырьевых источников получения эффективных отечественных антиоксидантных фитопрепаратов для использования в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Таким образом, результаты, полученные в диссертационной работе Хасановой С.Р., имеют несомненное научно-практическое значение и могут быть использованы в научных исследованиях, учебном процессе, а также на фармацевтических предприятиях.

Оценка содержания диссертации. Диссертационная работа построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, 6 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, включающего 270 отечественных и 113 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 87 таблицами и 112 рисунками.

Глава 1 - обзор литературы, в котором обсуждено современное состояние использования антиоксидантов при свободно-радикальных патологиях, применение лекарственного растительного сырья и растительных препаратов при сердечно-сосудистых заболеваниях и степени изученности химического состава и фармакологических свойств листьев различных видов боярышника. Обзор литературы достаточно полно отражает актуальность проблемы и существующие пути ее решения. Из обзора литературы логично следует выбор объектов исследования и задач, которые

необходимо решить для разработки растительных препаратов с антиоксидантной активностью.

В главе 2 представлена характеристика объектов и методов исследования; приведены методики химических исследований лекарственного растительного сырья, технологических и фармакологических исследований, статистического анализа.

Главы 3-8 содержат результаты обширных, разноплановых исследований, проведенных автором, и их обсуждение.

Глава 3 посвящена теоретическому и экспериментальному обоснованию методологических подходов к разработке новых лекарственных растительных препаратов с антиоксидантной активностью для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

В главе 4 представлены данные морфолого-анатомического исследования листьев боярышника кроваво-красного, в результате которого определены основные характерные диагностически значимые признаки, необходимые для определения подлинности сырья; впервые проведено морфологическое и микроскопическое исследование прилистников, черешка листа боярышника кроваво-красного. Разработана схема выделения биологически активных веществ, исследован их химический состав с использованием современных физико-химических, хроматографических, спектроскопических методов анализа (ГХ/МС, ВЭЖХ, ЯМР-, масс-, УФ- и ИК-спектроскопия).

В главе 5 обсуждаются результаты морфолого-анатомического исследования сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК», в соответствии с которыми определены основные характерные диагностически значимые признаки, необходимые для определения подлинности сборов. Приведены результаты комплексного фармакогностического изучения сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК».

Глава 6 посвящена исследованиям содержания биологически активных веществ в сборах «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК», листьях боярышника кроваво-красного. Исследована динамика накопления действующих веществ в листьях боярышника кроваво-красного. Разработаны показатели подлинности и качества сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК», листьев боярышника кроваво-красного и проведена их стандартизация.

В главе 7 приведены результаты технологических исследований по разработке лекарственных форм на основе сборов и листьев боярышника кроваво-красного.

В главе 8 приводятся результаты определения токсичности и изучения фармакологической активности сборов «Кардиофит-ИБС», «Ангиофит-НМК» и листьев боярышника кроваво-красного.

По теме диссертации Хасановой С.Р. опубликовано 59 работ, из них 21 статья в журналах, включенных в Перечень ВАК Министерства образования и науки РФ. Результаты диссертационных исследований были

представлены и обсуждены на конференциях различного уровня. Кроме того Хасановой С.Р. получены 3 патента на изобретение, изданы 4 монографии, подготовлены инструктивные письма и акты внедрения.

Результаты исследовательской работы Хасановой С.Р. используются в практической работе ГКУЗ Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств Республики Башкортостан, ООО «Травы Башкирии», ООО «Фитоцентр Гордеева», а также в учебном процессе кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России (акты внедрения приведены в приложении диссертации). Кроме того, полученные автором результаты могут быть использованы для создания и стандартизации новых лекарственных растительных препаратов и целенаправленного поиска новых сырьевых источников получения эффективных отечественных антиоксидантов.

Диссертационную работу отличают целостность проведенных исследований, последовательность и логичность изложения материала, полученные в работе результаты достоверны, выводы аргументированы. Работа оформлена в соответствии с современными требованиями.

Однако, по представленной работе имеются некоторые вопросы и замечания.

1. В диссертационной работе исследованы листья боярышника кроваво-красного, собранные в разные сроки вегетации растения в районах Республики Башкортостан. Из представленных данных не ясно, изменятся ли показатели, характеризующие качественный и количественный состав сырья при изменении географии произрастания лекарственного растения и скажется ли это в конечном итоге на биологическом действии лекарственных препаратов, полученных на основе данного растительного сырья.

2. Определение и идентификацию некоторых компонентов исследованных растительных препаратов автор осуществлял методом ТСХ. Очевидно, что при таком сложном многокомпонентном составе исследуемых смесей разделение и идентификация компонентов представляют достаточно сложную задачу. Однако, из представленного материала неясно, какие вещества, помимо идентифицированных, предположительно могут присутствовать в исследуемых методом ТСХ извлечениях, могут ли они давать близкие значения R_f , мешая определению искомым соединений, и с какой точностью определены эти величины хроматографической подвижности.

3. Что собой представляют комплексы биологически активных соединений лекарственного растительного сырья с ионами

кальция, данные о которых приведены в таблице 3.2.3 диссертации? Для каких конкретно комплексов приведены константы устойчивости? Поскольку в качестве одного из реагентов при образовании комплексов указаны конкретные растительные материалы, трудно судить о реальных процессах комплексообразования, протекающих в данных системах. Являются ли источниками соответствующего вида биологической активности одни и те же вещества, содержащиеся в растительном сырье, и можно ли в таком случае сопоставлять их БА с точки зрения константы устойчивости?

4. В тексте диссертации указано, что идентификация некоторых соединений проведена по сопоставлению полученных времен удерживания с временами удерживания стандартных веществ. Однако, для веществ, находящихся в смеси и в индивидуальных стандартных образцах эти значения могут различаться. На полученных хроматограммах присутствует значительное число пиков, отнесение которых к соответствующим веществам могло бы способствовать более точной идентификации всех компонентов данной сложной смеси (например, рис. 4.2.1.12.) Не предпринимались ли попытки идентифицировать остальные вещества?

5. В тексте присутствуют неудачные подписи к рисункам, например «График **расчета гиперозида** от площади пика» (рис. 4.2.1.9, 4.2.2.7. и другие аналогичные). Приводится все-таки денситограмма растворов (извлечений), а не самих плодов и листьев.

6. Некоторые выводы по диссертации носят констатирующий характер.

Однако, указанные замечания не принципиальны, а вопросы носят скорее уточняющий характер и не снижают ценности многоплановой актуальной работы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации. Автореферат диссертации оформлен в соответствии с современными требованиями и полностью соответствует основным положениям и выводам диссертации.

Заключение о соответствии диссертации требованиям настоящего Положения. Диссертационная работа Хасановой Светланы Рашитовны «Экспериментально-теоретическое обоснование создания и стандартизации лекарственных растительных препаратов с антиоксидантной активностью», представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия,

