

ОТЗЫВ

официального оппонента профессора кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, профессора **Пупыкиной Киры Александровны** по диссертации *Лигостаевой Юлии Валерьевны* на тему: «Фармакогностическое исследование бересты и перспективы ее использования в медицине», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования

Заболевания печени являются одним из ведущих видов патологии, не только в России, но и в мире. При этом разные категории больных имеют различную частоту и причины поражения печени. Лекарственные поражения печени являются одной из серьезных проблем в гепатологии. Насчитывается более 800 лекарственных средств, способных вызывать поражения печени. Наиболее часто гепатопатии возникают при действии химических соединений - ксенобиотиков, проявляющих прямое токсическое действие на печень и организм в целом или веществами, которые становятся токсичными в процессе их метаболизма. Считается, что выраженность токсического повреждения печени, а также механизмы ее возникновения определяются балансом между тремя основными факторами: степенью образования токсических метаболитов, механизмом их токсического действия, а также защитным потенциалом самой печени.

Выраженными гепатозащитными средствами являются гепатопротекторы. В настоящее время существует большое количество гепатопротекторных препаратов, как природных, так и синтетических. В

целом преобладающее использование имеют средства растительного происхождения - до 54%, на фосфолипидные препараты приходится до 16%, а на другие средства (синтетические, органолепиды, препараты аминокислот) - до 30% от общего количества «истинных» гепатопротективных средств. Однако, несмотря на большое количество гепатопротективных препаратов, используемых в медицинской практике, ни один из них не удовлетворяет в полной мере требованиям «идеального гепатопротектора».

С этой точки зрения к числу ценных источников биологически активных веществ перспективных для лечения и профилактики токсических повреждений печени относится береста. Исследования, проведенные отечественными и зарубежными учеными, показали, что береста и ее экстракты обладают широким спектром биологической активности. Однако, несмотря на значительные сырьевые запасы, высокую биологическую активность, изученность химического состава тритерпеноидов, береста находит применение только в народной медицине. Поэтому, изучение бересты в качестве нового вида лекарственного растительного сырья является актуальной задачей.

Таким образом, диссертационная работа Лигостаевой Ю.В. посвящена комплексному фармакогностическому исследованию бересты *Betula pendula* и *Betula pubescens* для обоснования возможности использования ее для разработки новых эффективных лекарственных средств для лечения и профилактики токсических поражений печени.

**Новизна исследования и полученных результатов, степень
обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций,
сформулированных в диссертации**

В рамках диссертационной работы Лигостаевой Ю.В. проведено сравнительное фитохимическое исследование бересты *Betula pendula* и *Betula pubescens*, произрастающих в разных географических зонах. Изучен состав

гидроксикоричных кислот и кумаринов бересты *Betula pendula*, *Betula pubescens* и впервые установлено наличие кислоты хлорогеновой и кумарина. Исследован качественный состав и количественное содержание суммы аминокислот в бересте *Betula pendula* и *Betula pubescens* в зависимости от места произрастания, установлено присутствие метионина, треонина, фенилаланина, триптофана, лизина, орнитина, аланина, серина, пролина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутамин. Изучено влияние возраста бересты на накопление в ней БАВ.

На основе результатов сравнительного морфолого-анатомического анализа бересты *Betula pendula* и *Betula pubescens* выявлены диагностически значимые признаки, позволяющие определять подлинность указанных объектов. Впервые проведен микроскопический анализ механохимически активированной бересты и установлены ее микродиагностические признаки.

Автором проведены исследования по изучению влияния механохимической активации бересты на качественный состав и количественное содержание биологически активных веществ, при этом установлено, что она способствует увеличению выхода большинства групп БАВ: тритерпеновых сапонинов, кумаринов, полифенольных окисляемых (дубильных) веществ и гидроксикоричных кислот. Проведено исследование влияния метода измельчения на элементный состав бересты и сухих экстрактов из них, полученных на 20 и 80% спирте этиловом, и установлено, что метод измельчения бересты не влияет на компонентный состав элементов, но оказывает значительное влияние на их содержание.

Определены оптимальные технологические параметры для получения сухих экстрактов из бересты, измельченной классическим способом и механохимически активированной бересты.

В результате скрининговых исследований противовоспалительной активности сухого экстракта, полученного из механохимически активированной бересты (экстрагент 20% спирт этиловый) (МХИБЭ20), установлено его преимущественное влияние на пролиферативную стадию

воспалительного процесса.

Автором выявлена гепатопротекторная активность сухих экстрактов из бересты на различных моделях экспериментального токсического поражения печени и установлено, что активность МХИБЭ20 более выражена по сравнению с карсилом.

Диссертационная работа выполнена с использованием фармакогностических, химических, технологических, хроматографических методов (бумажная, тонкослойная, высокоэффективная жидкостная хроматография), спектральных методов (УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопия), а также методов исследований специфической фармакологической активности.

Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке полученных результатов. Статистическая обработка экспериментальных данных исследований ($P=95\%$) проведена с помощью программ Microsoft Excel с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением ошибки единичного определения в соответствии с требованиями ГФ СССР XI издания.

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

Результаты проведенных исследований Лигостаевой Ю.В. по фитохимическому изучению бересты *Betula pendula* и *Betula pubescens*, могут быть использованы при целенаправленном создании новых фитопрепаратов из бересты, а также для введения ее в официальную медицину в качестве лекарственного растительного сырья. Разработаны критерии, позволяющие установить подлинность сырья - «Береста» и определены показатели его доброкачественности. По результатам диссертационной работы разработан

проект нормативной документации - ФС на новый вид лекарственного сырья «Береста».

Предложены методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов, дубильных веществ в бересте, а разработанная методика количественного определения суммы аминокислот в бересте может быть использована при анализе других видов растительного сырья.

Результаты диссертационного исследования внедрены в практику научных исследований и используются в учебных процессах на кафедре фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава РФ, на кафедре фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО МГОГИ, на кафедре фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава РФ, на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава РФ.

Полученные результаты диссертационного исследования Лигостаевой Ю.В. представляют интерес для совершенствования учебного процесса по курсу «Фармакогнозия», а также могут быть востребованы учреждениями практической фармации, специализирующихся на переработке ЛРС и в Центрах контроля качества лекарственных средств.

Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной объектам и методам исследований, 5 глав собственных исследований, выводов, приложений и библиографического указателя, включающего 291 наименование, из которых 64 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 69 таблицами и 110 рисунками.

Во введении обоснована актуальность темы, поставлены цель и задачи исследования, отмечена новизна и практическая значимость полученных результатов, а также изложены положения, выносимые на защиту. Глава 1

содержит систематизированный обзор отечественной и зарубежной литературы по современным исследованиям ЛРС (*Betula pendula* и *Betula pubescens*). Систематизированы данные литературы о химическом составе бересты, методах выделения экстрактивных веществ из бересты и биологической активности *Betula pendula* и *Betula pubescens*. В главах 3-7 приводятся результаты собственных исследований по разработке селективных методов качественного обнаружения и количественного определения основных групп БАВ в сырье, методик качественного анализа ЛРС, способа получения сухих экстрактов из бересты, оценке их противовоспалительной и гепатопротекторной активности. Диссертация завершается общими выводами по работе и списком литературы. В Приложения вынесены акты внедрения, проект нормативной документации (ФС на сырье «Береста»), фотографии хроматограмм.

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК».

Данные диссертации используются в учебном процессе на кафедрах: фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава РФ, фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО МГОГИ, фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава РФ, фармакогнозии с курсом ботаники ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава РФ.

В целом положительно оценивая диссертационную работу Лигостаевой Ю.В., имеются некоторые вопросы и замечания:

1. В разделе «Материалы и методы исследований» (гл.2.8.) приведены методики количественного определения различных групп БАВ, но нет ссылок на литературу, разработаны они Вами, или модифицированы, или взяты из каких либо источников и почему при описании методик (гл.2.8.), Вы не указываете, какие использованы мерные колбы, какой объем аликвоты брали для количественного определения, а в формулах, которые приведены учитывается только коэффициент влажности ($100/100-W$), но не

хватает еще значения 100 в числителе для расчета содержания БАВ в процентах?

2. Чем Вы можете объяснить очень высокое содержание тритерпеновых сапонинов в бересте от 18,06% до 36,22%, учитывая, что определение Вы проводите в пересчете на абсолютно-сухое сырье и навеска 1,0 грамм? Проводилась ли валидация методик количественного определения тритерпеновых сапонинов и полифенольных соединений в сырье бересты?

3. При изучении полифенольных соединений Вы представляете электронные спектры из различных образцов бересты в сравнении с РСО танина и максимум наблюдается при 275 нм (стр.71), в то же время при изучении кумаринов (стр.68) у Вас максимумы 273 и 310 нм, поэтому возникает вопрос, не одно ли и тоже это вещество, так как находится в пределах ± 2 нм?

4. Почему содержание дубильных веществ (стр.73), определяемых титриметрическим методом, при котором определяется сумма окисляемых веществ меньше, чем при определении спектрофотометрическим методом, который более чувствителен и пересчет ведется на определенное вещество – танин?

5. При установлении морфолого-анатомических показателей подлинности бересты *Betula pendula* и *Betula pubescens* в главе 4 у Вас представлены очень информативные рисунки: рис. 4.1 с комментариями и затем идет таблица 4.1, которая дублирует сведения, указанные на рис.4.1, тоже касается рис.4.2, рис.4.3 и затем приводится таблица 4.2. с отличительными микроскопическими признаками бересты *Betula pendula* и *Betula pubescens*, думаю было бы целесообразно оставить только рисунки с подробными комментариями.

6. При изучении гидроксикоричных кислот количественное определение проводится в спиртовом растворе (96% и 70%) при длине волны

326 нм, а как устраняете влияние сопутствующих веществ, может лучше было бы сочетание хроматографического метода со спектрофотометрией?

7. Почему при определении экстрактивных веществ (стр.139) в воду у Вас переходит такое маленькое их содержание, а наилучший экстрагент 80% и 96% спирт этиловый, ведь обычно, по литературным данным, вода достаточно хорошо извлекает из растительного сырья сумму экстрактивных веществ?

Указанные замечания не носят принципиального характера и не снижают ценности большой и актуальной работы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует и отражает основные положения и выводы диссертации и, также как и диссертационная работа *Лигостаевой Юлии Валерьевны*, полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заключение о соответствии диссертации требованиям настоящего Положения

Таким образом, диссертационная работа Лигостаевой Юлии Валерьевны на тему: «Фармакогностическое исследование бересты и перспективы ее использования в медицине», 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 задачи современной фармацевтической химии и фармакогнозии по изучению лекарственного растительного сырья, выделению биологически активных веществ, стандартизации и разработке нормативной документации на ЛРС.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Лигостаевой Юлии Валерьевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Лигостаева Юлия Валерьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3, тел. (8347) 272-11-60, e-mail: rectorat@bashgmu.ru доктор фармацевтических наук, профессор

Пупыкина Кира Александровна

« ____ » _____ 2015г.