

ОТЗЫВ

официального оппонента профессора кафедры химии и технологии органических соединений азота федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, доктора химических наук, **Юсуповой Луизы Магдануровны** по диссертации Петровой Диляры Наильевны на тему: «Совершенствование методов анализа ряда флавоноидсодержащих растений», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования

Растительное сырье является очень перспективным для получения лекарственных средств и поэтому роль лекарственных растений весьма значительна и имеет тенденцию дальнейшего роста. Особое значение имеют растения, содержащие флавоноиды, поскольку, прежде всего, из этих растений были выделены и приобрели огромное значение принципиально новые классы лекарственных средств.

Анализ химической природы растительного сырья и количественная оценка основных групп биологически активных веществ, отвечающих за терапевтическое действие этих препаратов обеспечивается путем разработки аналитических методов для контроля. Несмотря на широкое внедрение в аналитическую практику хроматографических методов анализа, прежде всего ВЭЖХ, для определения содержания флавоноидов в растительном сырье главенствующим остается спектрофотометрия. Метод спектрофотометрического определения суммы флавоноидов является удобным и рациональным. Достоинствами этого метода являются простота, дешевизна и хорошая воспроизводимость.

В Европейской фармакопее флавоноидсодержащее сырье стандартизируются по содержанию суммы флавоноидов, определяемых методом дифференциальной спектрофотометрии на основе цветной реакции этих соединений с хлоридом алюминия. Эта методика носит универсальный характер и применяется для оценки качества большой группы лекарственных растений.

В нормативных документах РФ придерживаются принципа индивидуального подхода к каждому сырью и условия определения довольно существенно варьируют. Это касается и режима экстракции, выбора условий реакции с хлоридом алюминия, использования референтного флавоноида для расчетов. С учетом того, что речь идет о близкородственной группе соединений, содержащихся, как правило, в морфологически и гистологически близких видах сырья (травы, листья, цветки) представляется оправданной попытка автора работы найти общие подходы к стандартизации различных видов флавоноидсодержащего сырья и унифицировать методики определения

флавоноидов в них. Важным элементом этого подхода является исследование возможности применения экспрессных методик за счет существенного сокращения времени экстракции сырья для извлечения флавоноидов.

Все это делает диссертационную работу Петровой Д.Н. весьма актуальной, направленной на совершенствование методов анализа лекарственного растительного сырья и гармонизации их с методами анализа Европейской фармакопеи.

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

Следует отметить несомненную *научную новизну* диссертационной работы Петровой Д.Н., заключающуюся в следующем:

- проведено комплексное исследование экстрагирования флавоноидсодержащего растительного сырья (семи видов), которое позволило определить количественный и качественный состав выбранных объектов. Для пяти видов сырья методом ВЖХ был уточнен основной преобладающий флавоноид.

- исследована кинетика выхода флавоноидов в зависимости от времени экстракции и впервые проведено планирование эксперимента и разработана математическая модель процесса экстракции флавоноидов из растительного материала с целью получения максимального выхода флавоноидов.

- исследована биологическая активность флавоноидной фракции выделенной из листьев амаранта багряного и впервые выявлено ее положительное влияние на рост экспериментальных животных и улучшение иммунологических показателей. Проведена стандартизация листьев амаранта багряного по содержанию флавоноидов и разработан экспрессный вариант их определения в этом сырье.

В диссертационной работе Петровой Д.Н. были использован широкий спектр методов экспериментальных исследований, включающий химические и физико-химические (высокоэффективная жидкостная и тонкослойная хроматография, спектрофотометрия). В исследованиях на экспериментальных животных применялись биохимические и иммунологические методы.

Достоверность научных положений и выводов основывается на достаточных по своему объему экспериментальных данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных. В диссертации большой процент исследований выполнен с использованием математических методов – планирования эксперимента, математического моделирования. Статистическая обработка экспериментальных данных исследований ($p=95\%$) проведена в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи с помощью современных компьютерных программ.

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

Практическая значимость работы заключается в следующем:

1. Разработан способ препаративного получения очищенной суммы флавоноидов из листьев амаранта багряного, основанный на водной экстракции сырья.

3. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидных соединений в листьях амаранта багряного, которая может быть использована для стандартизации данного сырья при производстве кормовых добавок.

4. Разработаны экспрессные методики количественного определения суммы флавоноидов в восьми видах лекарственного растительного сырья, которые доведены до уровня практической реализации. Предложены проекты изменения в действующие фармакопейные статьи на эти виды сырья.

Достоверность и обоснованность научных положений и результатов диссертации подтверждается экспертными оценками специалистов. Разработанные методики прошли апробацию в ОАО «Татхимфармпрепараты» и Казанском филиале государственного бюджетного учреждения «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» и получили положительные отзывы.

Результаты диссертационных исследований внедрены в учебный процесс кафедры фармакологии фармацевтического факультета с курсами фармакогнозии и ботаники Казанского государственного медицинского университета.

Полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы как в аналитической работе в практической фармации, так и в научных исследованиях связанных с изучением содержания флавоноидов в растениях.

Оценка содержания диссертации

Соответствие содержания диссертационной работы специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, по которой она представляется к защите, подтверждается апробацией работы, ее научной новизной и практической значимостью.

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, пяти глав, посвященных экспериментальным исследованиям, заключения, общих выводов, практических рекомендаций. Библиографический указатель включает 140 источников, из них 38 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 44 таблицами и 30 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. В главе 1 приведен обзор современного состояния изучения состава флавоноидов исследуемого растительного сырья, способам их количественной оценки

отечественными нормативными документами и Европейской фармакопеей и сравнительный анализ методик определения флавоноидов. На основе такого анализа сформулированы цели и задачи настоящего исследования. Глава 2 посвящена характеристика объектов и методов, используемых в работе, как химических, физико-химических, так и биохимических. В главе 3 диссертант привела результаты изучения экстракции семи видов растений кипящим спиртом и установила, что основная масса флавоноидов не взаимодействует с внутренними структурами сырья и легко переходит в раствор. Эти результаты позволили предложить экспрессные варианты экстракции продолжительностью от 5 до 10 мин. с использованием в расчетах поправочных коэффициентов, учитывающих неполноту экстракции определяемых соединений. Для пяти видов сырья методом высокоэффективной жидкостной хроматографии был уточнен основной преобладающий флавоноид и рекомендовано использовать для расчетов значения его удельного показателя поглощения, взамен используемых в настоящее время.

В главе 4 обсуждаются результаты обобщения исследований экстракции, приведенных в предыдущей главе и предлагается объяснение закономерностей процесса экстракции флавоноидов из растительного сырья на основе разработанной автором математической модели.

В 5-й главе приводятся результаты количественного определения водорастворимых флавоноидов в траве фиалки с применением метода планирования эксперимента и разработанная автором методика экспрессного анализа содержания флавоноидов в траве фиалки. Автором показано, что процесс водной экстракции флавоноидов подчиняется в целом тем же закономерностям, что и при экстракции спиртом. Это позволило разработать и предложить экспрессный вариант определения водорастворимых флавоноидов в траве фиалки.

В главе 6 предложен способ препаративного получения очищенной суммы флавоноидов из листьев амаранта багряного, основанный на водной экстракции сырья. Была изучена биологическая активность флавоноидной фракции выделенной из листьев амаранта багряного и показано положительное влияние экстракта листьев амаранта багряного на рост экспериментальных животных и улучшение иммунологических показателей. Проведена стандартизация листьев амаранта багряного по содержанию флавоноидов и разработан экспрессный вариант их определения в этом сырье.

В Приложения вынесены проекты изменений к 7 статьям Государственной фармакопеи, содержащих требования к качеству исследованных видов лекарственного растительного сырья.

Требования ВАК Минобрнауки России (п. 13 «Положения о порядке присуждения ученых степеней») к публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук соискателем Петровой Д.Н., выполнены. Основные результаты диссертационной работы достаточно полно изложены в 9 печатных работах

автора, в том числе в 4 статьях в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Данные диссертации используются в практической работе ОАО «Татхимфармпрепараты» и Казанского филиала государственного бюджетного учреждения «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения». Часть материалов исследования нашла отражение в учебном процессе кафедры фармакологии фармацевтического факультета с курсами фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО Казанский ГМУ Минздрава России.

Полученные автором результаты можно использовать в работе профильных кафедр медицинских и фармацевтических высших учебных заведений, а также в работе аналитических лабораторий, связанных с оценкой качества лекарственного растительного сырья.

В целом, положительно оценивая работу Петровой Д.Н., хочется задать несколько вопросов и сделать ряд замечаний:

1. По какому критерию подбирались объекты исследований для оптимизации методик количественного определения в них флавоноидов?

2. В диссертации были разработаны экспрессные методики определения флавоноидов в 9 видах растительного сырья, а проекты изменений в нормативные документы предлагаются только для 7 из них?

3. Выявлена ли зависимость величины поправочного коэффициента от используемой группы растительного сырья?

4. В приложении необходимо оговорить, что речь идет о проектах изменений, предлагаемых автором для внесения в текст нормативных документов.

5. Проекты изменений в приложении необходимо пронумеровать.

6. В библиографическом списке отсутствуют ссылки на собственные статьи.

7. В тексте диссертации имеются опечатки и неудачные выражения.

Указанные замечания не носят принципиального характера и не снижают общей ценности 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 Петровой Диляры Наильевны, полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заключение о соответствии диссертации требованиям настоящего Положения

Диссертация Д.Н. Петровой на тему: «Совершенствование методов анализа ряда флавоноидсодержащих растений», представленная на соискание ученой

степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, представляет собой актуальную самостоятельную законченную научно-квалификационную работу, в которой изложены новые научно-обоснованные технические решения и разработки в области методов анализа флавоноидсодержащего растительного сырья и представляющих интерес для разработки лекарственных средств.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям пункта 9. «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Петрова Диляра Наильевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Профессор кафедры химии и технологии
органических соединений азота
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
профессионального образования
«Казанский национальный исследовательский
технологический университет»
Министерства образования и науки
Российской Федерации,
420015, г. Казань,
ул. Карла Маркса, 68,
Тел.
e-mail: Luizamagdanurovna@yandex.ru

доктор химических наук,

Юсупова Луиза Магдануровна

« ____ » _____ 2015