

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Лёзиной Алёны Владимировны  
на тему «Фитохимическая оценка и стандартизация сырья родиолы  
четырёхлепестной и ортилии однобокой», представленной в диссертационный  
совет 21.2.063.01, созданный на базе федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский  
государственный химико-фармацевтический университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, на соискание ученой степени кандидата  
фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия,  
фармакогнозия

### Актуальность темы исследования

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) число заболеваний женской репродуктивной системы имеет монотонную тенденцию к росту. Наиболее распространенными и опасными патологиями являются эндометриоз, воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) и онкологические заболевания, которые могут привести к серьезным необратимым последствиям. Существующие методы лечения - гормональная терапия, терапии нестероидными противовоспалительными препаратами, лучевая терапия и хирургическое вмешательство – обладают доказанной эффективностью, но их применение ограничивается значительными нежелательными явлениями и дополнительными рисками для здоровья женщин. Поэтому поиск и разработка новых лекарственных средств на растительной основе для профилактики и лечения заболеваний женской репродуктивной системы является важным и перспективным направлением. Приведенные в научной литературе данные свидетельствуют, что около 30% женщин в комплексной терапии используют фитопрепараты. Однако для введения новых лекарственных растительных препаратов в официальную медицину требуется проведение полного цикла фармацевтической разработки, в том числе нормирование критериев стандартизации исходного растительного сырья и растительных субстанций.

Перспективными объектами для комплексных фармакогностических исследований являются: ортилия однобокая (*Orthilia secunda* L.) и родиола

четырёхлепестная (*Rhodiola quadrifida* (Pall.) Fisch. & C.A. Mey.), которые применяются в народной медицине для лечения широкого спектра заболеваний, в том числе и связанных с женской репродуктивной системой. Ортлики однобокой трава (боровая матка) и корневища с корнями родиолы четырёхлепестной (красная щетка) входят в состав ряда БАД, используемых для профилактики и лечения заболеваний женской репродуктивной сферы. Как показывает анализ доступной научной литературы данные о химическом составе травы ортлики однобокой и подземных органов родиолы четырёхлепестной носят фрагментарный характер и требуют более детального и комплексного подхода к изучению их фитохимического профиля.

Таким образом, диссертационная работа Лёзиной Алёны Владимировны является релевантной запросу фармацевтической отрасли.

**Цель диссертационного исследования** Лёзиной А.В. - комплексное фитохимическое профилирование сырья ортлики однобокой и родиолы четырёхлепестной, выделение маркерных соединений и последующая стандартизация, а также разработка растительной композиции на основе изучаемых растений. Автором был поставлен ряд задач, решением которых осуществлялось достижение поставленной цели.

**Личный вклад диссертанта** является определяющим и составляет не менее 95%. Автором самостоятельно был разработан дизайн исследования, сформулирована цель исследования и определен перечень задач, при решении которых, поставленная цель будет достигнута. Диссертантом проведен обзор литературы, выполнен значительный объем экспериментальных исследований, на основе полученных результатов были сформулированы выводы. Материалы диссертации обсуждались на конференциях различного уровня и публиковались в рецензируемых журналах.

**Соответствие диссертационного исследования паспорту научной специальности**

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», а именно пункту 6 – изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе; пункту 7 – изучение биофармацевтических аспектов стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе; изучение влияния экологических факторов на химические и биологические свойства лекарственных растений; оценка экотоксикантов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных средствах.

### **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертационная работа Лёзиной А.В. построена традиционно, включает введение, обзор литературы по обозначенной теме диссертации, главу материалы и методы исследования, 4 главы с результатами экспериментальных исследований и их обсуждением, заключение, список сокращений и условных обозначений, список литературы и 6 приложений. Список литературы включает 135 ссылок на источники, в том числе из них 80 на зарубежные. Диссертационная работа изложена на 188 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 46 рисунками и 44 таблицами.

#### *Анализ диссертации по главам*

Актуальность диссертационной работы, цель и задачи, научная новизна и практическая значимость работы представлены во введении.

**В главе 1** автором приведен анализ источников литературы на тему исследования, рассмотрено место фитотерапии и фитопрепаратов на современном фармацевтическом рынке, приведена динамика их потребления. Большая часть отведена всестороннему обзору объектов исследования, приведены данные по распространению, химическому составу и применению ортилии однобокой и родиолы четырехлепестной в народной, научной и официальной медицине..

**В главе 2** представлены материалы и методы исследования.

**Глава 3** посвящена результатам качественного и количественного анализа основных маркерных компонентов, которые могут быть использованы для стандартизации, сырья ортилии однобокой из трех регионов заготовки и родиолы четырехлепестной в сравнении с родиолой розовой и родиолой разнозубчатой.

**В главе 4** автор представил результаты по выделению индивидуальных компонентов из корневищ и корней родиолы четырехлепестной, структура которых была установлена методами ЯМР и масс-спектрометрии. С помощью программы PASS были спрогнозированы наиболее вероятные фармакологические эффекты выделенных соединений.

**В главе 5** приведены основные числовые и технологические показатели сырья ортилии однобокой и родиолы четырёхлепестной. Сформированы проекты фармакопейных статей на указанные виды сырья.

**В главе 6** представлены результаты разработки фитосубстанции («Сбор гинекологический №1») и проект нормативного документа на нее..

В заключении представлены общие результаты и выводы по итогам диссертационной работы.

Автореферат представляет собой сжатую версию диссертационной работы и дает полное представление о сути работы, соответствует основным положениям и выводам диссертации.

### **Научная новизна диссертационной работы**

Лёзиной А.В. впервые проведена комплексная фитохимическая оценка сырья ортилии однобокой и родиолы четырехлепестной. Определены мажоритарные соединения, составляющие фитохимический профиль растений - объектов исследования, проведена их количественная оценка. Определен макро- и микроэлементный состав травы ортилии однобокой, заготовленной в 3 разных фитоценологических зонах, установлено, что место заготовки не влияет на элементный состав растения. Также проведена оценка элементного состава корневищ с корнями родиолы четырехлепестной в сравнении с родиолой розовой и родиолой разнозубчатой, установлено, что растения рода *Rhodiola* отличаются по элементному профилю. Показано, что исследуемые виды относятся к манганофилам. Фитохимическое изучение корневищ с корнями родиолы

четырёхлепестной проведено в сравнении с сырьем родиолы розовой (фармакопейный вид) и родиолы разнозубчатой, установлено различие в составе БАВ, что может служить критерием идентификации сырья. Также установлены различия в хроматографическом профиле и содержании родоспецифичных соединений растений рода *Rhodiola*. С помощью метода ВЭЖХ было определено, что родиола четырёхлепестная и родиола разнозубчатая не содержат в своем составе производных розавина, а содержание салидрозида и тирозола значительно выше таковых в сырье фармакопейного вида – родиолы розовой корневищах с корнями.

Для идентификации сырья исследуемых объектов проведено их морфолого-анатомическое исследование с установлением анатомических диагностических признаков.

Впервые выделено 7 индивидуальных соединений из корневищ с корнями родиолы четырёхлепестной. С помощью современных физико-химических методов (ЯМР, масс-спектрометрия) установлена их структура.

Установлены соединения, составляющие фитохимической профиль липофильной фракции корневищ и корней *Rhodiola quadrifida*.

Оценено количественное содержание арбутина в траве ортилии однобокой и установлено количественное содержание галловой кислоты. Проведена валидационная оценка примененной спектрофотометрической методики.

#### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Достоверность результатов и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждается использованием широкого спектра современных высокоточных физико-химических методов анализа, таких как ВЭЖХ, ГХ, АЭС, ЯМР, МС, а также результатами статистической обработки пула полученных данных. Кроме того, в работе использованы фармакопейные методики, а методики, разработанные автором или адаптированные подвергались валидации по критериям «правильность», «линейность», «сходимость».

### **Теоретическая и практическая значимость работы, внедрение результатов исследования**

Диссертационная работа отличается не только теоретической, но и практической значимостью, которая заключается в разработке проектов фармакопейных статей на траву ортилии однобокой и корневища с корнями родиолы четырехлепестной, а также проекта нормативной документации «Сбор гинекологический №1», что может способствовать расширению спектра растительных лекарственных средств, используемых в официальной медицине.

Проекты ФС, разработанные по результатам исследования, включены в производственную деятельность (лаборатория ОКК) ООО «Фитолеум» (Республика Казахстан) (акт внедрения б/н от 6 июня 2022 г), СПб ГБУЗ «СЗЦККЛС» (акт внедрения б/н от 8 июня 2022 г), а также внедрены в научную (акт внедрения б/н от 15 июня 2022 г) и учебную (акт внедрения б/н от 18 июня 2022 г) деятельность кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

### **Апробация работы и публикации**

По теме работы диссертантом опубликовано 12 печатных работ, из которых 2 статьи в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 статья в издании, индексируемом в наукометрической базе данных Scopus и 9 тезисов. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на научных конференциях различного уровня (Всероссийских и международных).

### **Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом исследовательских работ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках тематики государственного задания «Разработка методологической концепции контроля качества лекарственных средств и субстанций природного происхождения с использованием инновационных аналитических методов»

(регистрационный номер АААА-А20-120121790032-2 от 17.12.2020) и инициативной темы «Инновационные подходы в стандартизации лекарственных средств синтетического и природного происхождения» (номер гос. регистрации: АААА-А19-119030590044-6, зарегистрирована 05.03.2019).

#### **Рекомендации по использованию результатов для науки и практики**

Результаты фитохимического и морфолого-анатомического исследования могут быть внедрены в учебную и научную деятельность фармацевтических университетов/факультетов по соответствующим образовательным и исследовательским направлениям.

Фитохимический профиль растения является основанием для проведения последующих доклинических исследований и формулирования структурно логической цепочки «маркерное соединение \ группа БАВ – действие». Дальнейшие исследования по установлению профиля фармакологической активности и токсичности разработанной фитокомпозиции могут стать завершающими для регистрации нового ЛП для лечения заболеваний женской репродуктивной системы.

Критерии стандартизации могут быть использованы для установления идентичности и доброкачественности лекарственного сырья изучаемых видов.

#### **Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертационной работы**

Диссертационная работа на тему «Фитохимическая оценка и стандартизация сырья родиолы четырехлепестной и ортилии однобокой» выполнена на высоком научном уровне. В работе использованы современные и классические методы анализа. Полученные данные изложены последовательно и логично, выводы основываются на полученных результатах. В целом выполненное исследование оценивается положительно, однако при рассмотрении работы возникли вопросы и замечания:

1. Опечатки, неудачные выражения – стр. 45, 46 (реактор?), 50, 103, 111, 112, 115.

2. Фотографии гербариев исследуемых видов - ортилии однобокой и родиолы четырехлепестной заимствованы из интернета и приводятся только в обзоре литературы.

3. Фотографии сырья и микропрепаратов приводятся в черно-белом формате, что затрудняет восприятие описания внешних признаков.

4. В методиках количественного определения галловой кислоты и суммы полифенольных соединений в траве ортилии однобокой (стр. 36, 41) указано, что оптическую плотность полученных растворов измеряли трижды на спектрофотометре СФ-2000. В таблице 16 (стр. 74), где приводятся результаты количественного определения указанных соединений указано, что  $n=6$ . Необходимо пояснить, что имеется в виду в первом и втором случае.

5. В методиках количественного определения БАВ в траве ортилии однобокой указан размер частиц сырья – 5-7 мм (стр. 36, 40), в таблице 24 – Степень измельченности травы ортилии однобокой в измельченном сырье основную массу (73%) составляют частицы размером 5-7 мм. Необходимо пояснить, почему данный размер частиц сырья фигурирует и в методиках, и при характеристике сырья ортилии однобокой?

Известно, что максимальное извлечение БАВ, экстрактивных веществ из сырья зависит от оптимальных технологических параметров. В связи с этим проводятся исследования по подбору технологических параметров экстрагирования (размер частиц, количество экстракций, гидромодуль, продолжительность экстрагирования, температурный режим). Возможно, автором проводились данные исследования, но материалы не вошли в диссертационную работу?

6. Образцы корней и корневищ родиолы четырехлепестной собраны весной 2019г и осенью 2021г. Проводились ли исследования в сравнительном плане данных образцов по составу и содержанию БАВ?

7. При исследовании минерального состава объектов исследования автором делается предположение о том, что виды родиолы могут служить индикаторами почв с высоким содержанием марганца. Без анализа минерального состава почв под растениями такие выводы и предположения делать не уместно.



8. При микроскопических исследованиях травы ортилии однобокой проводились ли сравнительные исследования по выявлению влияния возраста растений на анатомо-морфологические диагностические признаки?

9. В разделе 5.2.1. Морфолого-анатомический анализ корневищ с корнями родиолы четырехлепестной приводятся результаты микроскопических исследований только корневищ.

10. При валидации методики количественного определения галловой кислоты по показателю «Устойчивость» было выявлено, что при хранении извлечения в течение 8 часов содержание целевого компонента снижается на 1,5%. Как этот факт скажется на проявлении биологической активности, поскольку предполагается, что будут использоваться экстрапаральные лекарственные формы, которые рекомендуют хранить не более трех суток при хранении в холодильнике.

Указанные вопросы и замечания не снижают научно-практической ценности диссертационных исследований, являются дискуссионными и не носят принципиального характера.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Лёзиной Алёны Владимировны на тему «Фитохимическая оценка и стандартизация сырья родиолы четырехлепестной и ортилии однобокой», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершённым научным трудом, выполненным на высоком научном уровне, где представлено решение одной из главных задач фармацевтической отрасли, а именно расширение ассортимента лекарственного растительного сырья, обладающего биологической активностью. По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Лёзиной Алёны Владимировны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. № 426, от

11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Лёзина Алёна Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

#### ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ

Заведующая кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии  
государственного образовательного учреждения высшего образования  
Московской области «Государственный гуманитарно-технологический  
университет» (ГОУ ВО МО ГГТУ),  
доктор фармацевтических наук  
(15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),  
профессор



Ханина Миниса Абдуллаевна

« 16 » февраля 2023 года

Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО ГГТУ)

Почтовый адрес: 142611, Московская область, г.о. Орехово-Зуевский, г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая, д. 22

Телефон: 8 (499) 955-25-20 (доб. 242, 241); моб. 8 (915) – 481 – 54 - 60

e-mail: khanina06@mail.ru

Проректор по научной и инновационной деятельности  
государственного образовательного учреждения  
высшего образования Московской области  
«Государственный гуманитарно-технологический университет»  
Министерства образования Московской области

кандидат филологических наук, доцент



Яковлева Элина Николаевна