

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Сулоева Ивана Сергеевича
«Фармакогностическое изучение травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) как перспективного источника природных соединений с прогнозируемой фармакологической активностью», представленную 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 России, на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки)

Актуальность темы диссертационного исследования

В настоящее время лекарственные растения занимают существенное место в фармацевтической отрасли и остаются незаменимыми источниками получения ряда лекарственных средств. Препараты, полученные на основе растительного сырья, как правило, обладают меньшими побочными эффектами и комплексным действием на организм. В связи с этим, поиск перспективных видов лекарственного растительного сырья, их внедрение в медицину и расширение сырьевой базы по-прежнему остается актуальной задачей для современной фармакогнозии.

Выбранный объект исследования - Золотарник канадский (*Solidago canadensis* L.) семейства *Asteraceae* широко распространен на территории России и стран СНГ. Его богатый химический состав с преобладанием фенольных соединений определяет широкий спектр фармакологической активности. В официальной медицине данный вид относится к диуретикам растительного происхождения с нефролитическим и спазмолитическим действием. В 1991 году на траву золотарника канадского была разработана фармакопейная статья ФС 42-27777-91 «Трава золотарника канадского». Однако в связи с произошедшим за последнее время изменением подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и внедрению в

практику более точных физико-химических методов анализа, данный документ нуждается в актуализации.

С учётом имеющихся на сегодняшний день сведений о золотарнике канадском, комплексный анализ травы данного вида, а также выделение индивидуальных соединений с последующим установлением их фармакологических эффектов позволит решить ряд важнейших вопросов в отечественной медицине.

Таким образом, тема диссертационной работы Сулоева Ивана Сергеевича является актуальной.

Цель исследований

Целью диссертационной работы Сулоева И.С. является проведение фармакогностического анализа травы *Solidago canadensis* с применением современных физико-химических методов, а также стандартизация и обоснование перспективы использования травы *Solidago canadensis* в качестве источника индивидуальных соединений с потенциальной фармакологической активностью.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что Сулоевым И.С. впервые было изучено распределение флавоноидов в различных органах травы золотарника канадского, актуализирована методика количественного определения и подобраны параметры, позволяющие достичь наибольшего выхода данной группы веществ из растительного сырья. Разработанная методика выделения индивидуальных веществ для травы золотарника канадского позволила автору методом препаративной ВЭЖХ выделить в чистом виде четыре фенольных соединения: кверцетин, рутин, кверцетин-3-О-β-D-6''-ацетилглюкопиранозид и нарциссин, для которых был впервые проведён компьютерный прогноз спектра фармакологической активности. Были существенно дополнены и уточнены морфологические и микроскопические диагностические признаки различных частей травы золотарника канадского. Сравнительный эксперимент по исследованию диуретической активности экстракта травы золотарника канадского и его двух основных компонентов – рутина и кверцетина, показал

опосредованный вклад данных веществ в диурез опытных животных, что даёт основание для проведения дальнейшего исследования.

Соответствие содержания диссертационной работы паспорту научной специальности.

Научные положения 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.

Теоретическая и практическая значимость работы

Автором проведена работа по уточнению диагностических признаков органов исследуемого объекта, уточнению методики количественного определения суммы флавоноидов в траве золотарника канадского и определению оптимальных параметров при заготовке и экстракции сырья, что может быть использовано для дополнения существующей нормативной документации на траву золотарника канадского.

Усовершенствованная методика выделения индивидуальных веществ может стать основой для создания промышленных регламентов получения новых фармацевтических субстанций из лекарственного растительного сырья.

Результаты фитохимических и фармакологических исследований могут быть использованы при целенаправленном создании фитопрепаратов из травы золотарника канадского.

Методика выделения фенольных соединений, полученных из травы золотарника канадского внедрена в учебный процесс кафедры фармакогнозии (акт внедрения от 01 декабря 2022 г.) и научно-исследовательский процесс кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (акт внедрения от 02 декабря 2022 г.), а также в производственный процесс АО «Фармпроект» (акт внедрения от 28 ноября 2022 г.).

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики

Полученные Сулоевым И.С. результаты, связанные с подходами к очистке и выделению вторичных метаболитов из травы золотарника канадского в индивидуальном виде, могут быть использованы в учебной и научно-практической деятельности и внедрены в производство на фармацевтических предприятиях.

Выделенные индивидуальные соединения являются основой для их стандартизации и регистрации в качестве стандартных образцов, с последующим применением в разработке и использовании подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья.

Личный вклад автора

Вклад Сулоева И.С. в изучение объекта является определяющим на всех этапах и заключается в сборе, определении и паспортизации сырья, формулировании цели и постановке задач исследования, сборе и анализе литературных данных, планировании и выполнении экспериментальных опытов, обработке и систематизации полученных результатов. Личный вклад автора составил не менее 90%.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе

Обоснованность научных положений и заключений определяется как достаточная и основывается на воспроизводимости, использовании современных методов анализа и современного оборудования. Диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, выводы сделаны на основе полученных данных, корректно изложены и соотносятся с задачами исследования.

Публикации

По теме диссертационной работы Сулоева И.С. опубликовано 12 работ, среди которых 1 статья в журнале Scopus, 1 статья в журнале Web of Science и 2 статьи в журналах перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Сулоева И.С. изложена на 136 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 6 глав экспериментальных исследований, заключения, списка сокращений и списка литературы, включающего 93 источника, из них 51 на иностранных языках, а также приложения, содержащего акты внедрения. Материалы исследования иллюстрированы 39 рисунками и 30 таблицами

Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, охарактеризована научная новизна и практическая значимость исследования.

В первой главе освещается обзор литературы по теме диссертационной работы. Автором проанализирована и изложена информация о ранее проведенных исследованиях и степени изученности золотарника канадского.

Во второй главе охарактеризован объект исследования, приведены данные об используемых материалах, оборудовании и методах.

В третьей главе содержатся результаты товароведческого и общего фитохимического анализа 4 образцов травы золотарника канадского. Для образцов сырья были определены пределы измельченности сырья, содержание стеблей, в том числе отделенных при анализе, содержание частиц сырья, изменивших окраску, влажность, зола общая и зола, нерастворимая в 10% растворе кислоты хлористоводородной, содержание минеральной и органической примесей, а также содержание основных действующих веществ. Помимо этого, образцы сырья подвергали предварительным испытаниям на основные группы биологически активных веществ.

В четвертой главе представлены результаты комплексного фитохимического анализа 80% этанольного извлечения из травы золотарника канадского методами бумажной, тонкослойной, высокоэффективной тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детекцией. Анализ компонентного состава экстракта золотарника канадского хроматографическими методами позволил сделать предположение о наличии

в надземных частях данного растительного объекта не менее 5 природных соединений и определить целевую фракцию для выделения вторичных метаболитов.

В пятой главе описывается процесс выделения 4 фенольных соединений из бутанольной фракции золотарника канадского в индивидуальном виде методом препаративной хроматографии и установление их структуры методами ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения.

Шестая глава посвящена разработке методики количественного определения, основанной на дифференциальной спектрофотометрии по реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом (III), и определение оптимальных параметров, с помощью которых возможно достижение максимального выхода данной группы веществ из сырья. Для установления оптимальных размеров травы *S. canadensis* и рекомендаций по её заготовке с учетом содержания в сырье суммы флавоноидов было проведено их количественное определение отдельно в листьях, соцветиях и стеблях. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *Solidago canadensis* проводилась по показателям специфичности, линейности, правильности, повторяемости и робастности. По результатам валидации было принято решение о допустимости применения данного метода.

Седьмая глава посвящена морфологическому и анатомическому исследованию надземных органов травы золотарника канадского. Анализ гербарных образцов позволил конкретизировать диагностические признаки травы золотарника канадского: форма листовой пластинки, наличие опушения у листьев и в верхней части стеблей, кистевидно-метельчатые соцветия, представленные корзинками с цилиндрическими многорядными обёртками. Исследования по анатомии подтвердили ранее описанные в литературе признаки этого вида, а также позволили установить ряд новых признаков для листьев, стеблей, листочков обвёртки и ложноязычковых цветков вида.

В восьмой главе описывается эксперимент *in vivo* по изучению диуретической активности суммарного извлечения золотарника канадского, а также двух мажорных компонентов, входящих в его состав: рутина и кверцетина. Также был выполнен *in silico* прогноз фармакологической активности четырёх ранее выделенных и идентифицированных индивидуальных соединений. В выводах к главе автором даются рекомендации по использованию данных, полученных в результате эксперимента *in vivo* и компьютерного прогноза.

Заключение отражает результаты решения задач, поставленных автором при выполнении диссертационного исследования.

Приложение включает акты внедрения в образовательный, научный и производственный процессы.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению, общая оценка работы

Диссертационная работа Сулоева Ивана Сергеевича обладает целостностью и последовательностью. Примечательным является использование современных методов анализа. Микроскопические признаки определены с помощью сканирующего электронного микроскопа, что позволило диссертанту привести четкие качественные фотографии диагностических признаков. В работе логично выстроена цепочка от анализа химического состава до стандартизации лекарственного растительного сырья и определения фармакологических свойств. Все изложенные главы содержат выводы, отражающие результаты исследования и соответствующие поставленным задачам. Достоверность экспериментальных данных подтверждена воспроизводимостью полученных результатов и не вызывает сомнений.

Отмечая актуальность, научную и практическую значимость диссертационной работы Сулоева Ивана Сергеевича, следует обозначить некоторые замечания и вопросы:

1. В разделе «Разработка и стандартизации методики определения флавоноидов...» следовало бы продемонстрировать некоторые абсорбционные спектры для примера.
2. Что означает фраза в главе 6 «...стандартизация методики количественного определения...»?
3. На странице 33 в параграфе 2.2.2 указана концентрация спирта 80%. Следовало бы указать почему именно такая концентрация выбрана.
4. В разделе 2.2.3.2 не указано, какие именно стандартные образцы применялись, равно как и в главе «Материалы и методы исследования».
5. Почему вкус золотарника канадского травы определялся при пробе сухого сырья, а не 10% водного извлечения?
6. Анатомическое изучение сырья проводилось с применением современного высокоточного метода сканирующий электронный микроскопии, но испытательные лаборатории практически не оснащены таким оборудованием. Будут ли видны все обнаруженные диагностические признаки при помощи обычного светового микроскопа? Также в диссертации приводится сложная пробоподготовка, требующая специального оборудования.
7. На странице 33 следовало бы указать, что параметры количественного суммы флавоноидов установлены автором.
8. На странице 42 и далее термин «зала нерастворимая в 10% растворе кислоты хлористоводородной следовало бы заменить на актуальный по ГФ XIV изд.
9. В таблице 5 на стр. 31 и в таблице 4 нет расшифровки номеров образцов.
10. В разделе 32 на стр. 44 приводятся качественные реакции на флавоноиды, а их количественное определение дано ранее. Логичнее было бы сначала установить присутствие групп БАВ, а потом приводить их количественное содержание
11. На странице 46 указано, что эфирного масла в сырье содержится незначительное количество, однако в обзоре литературы много ссылок по содержанию компонентного состава эфирных масел. Возможно,

- метод 1 для определения содержания эфирного масла, не подходит для травы золотника канадского?
12. На странице 47 цит. «...чем в аналогичных образцах, собранных в окрестностях Праги ...». В главе 2 указан только один образец травы из Чехии. Образцов было несколько, или это опечатка?
 13. Почему для обнаружения флавоноидов при исследовании методом ТСХ применялся детектор оксид-дихлорид циркония?
 14. Редакционное замечание по оформлению таблиц на странице 63, 27.
 15. Выводах на странице 77 хотелось бы увидеть количество выделяемых флавоноидов, что связано и с их прогнозируемой активностью. Возможно ли использовать сырье золотарника канадского для получения индивидуальных флавоноидов?
 16. На странице 78 указана концентрация спирта 80% для анализа флавоноидов, а только потом на странице 81 дается обоснование почему это концентрация оптимальна.
 17. Почему при анализе флавоноидов применялась трехкратная экстракция? Есть ли существенная разница с однократной экстракцией? При серийном анализе время экстракции имеет немаловажное значение.
 18. Почему при подборе условий спектрофотометрического анализа суммы флавоноидов использовали спирт в диапазоне концентраций от 90 до 60% и не проверяли более низкие концентрации?
 19. Как можно объяснить, что при добавлении большего количества 2% раствора алюминия хлорида оптическая плотность падает? (стр.85 табл. 24).
 20. На странице 90 в доказательстве специфичности методики анализа следовало бы привести спектр поглощения извлечения без алюминия хлорида, ведь анализируется комплекс флавоноидов с алюминия хлоридом, а растворитель не вступает в реакцию с данным комплексообразователем. Нужно доказать отсутствие поглощения (или его незначительное влияние) именно в анализируемом диапазоне длин волн.

21. Почему правильность методики анализировалась при трех уровнях концентрации только в одной повторности, а не в трех?
22. На наш взгляд, морфолого-анатомическое диагностическое изучение травы золотарника канадского следовало бы привести перед определением химического состава.
23. Автор делает вывод, что диуретический эффект водного экстракта травы золотарника канадского напрямую не связан входящими в его состав мажорными компонентами - рутином и кверцетином, однако количество этих флавоноидов по отдельности не определялось. На каком основании их можно считать мажорными? Возможно, присутствует эффект синергизма между БАВ, входящими в состав сырья?

Выявленные замечания и недочёты несут уточняющий характер, не влияя на положительную оценку диссертационной работы Сулоева Ивана Сергеевича.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Сулоева Ивана Сергеевича «Фармакогностическое изучение травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) как перспективного источника природных соединений с прогнозируемой фармакологической активностью», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершённым научным исследованием, в котором содержится решение существенной для науки задачи по проведению фармакогностического анализа травы золотарника канадского с применением современных физико-химических методов, а также стандартизация и обоснование перспективы использования травы золотарника канадского в качестве источника индивидуальных соединений с потенциальной фармакологической активностью.

По актуальности и важности темы, объёму и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа Сулоева Ивана Сергеевича

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, Сулоев Иван Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Профессор Института биохимической технологии и нанотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования, доктор фармацевтических наук (14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцент

Марахова Анна Игоревна

117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6,
marakhova-ai@rudn.ru; +7(499)936-86-25, доп. 2317

«26» апреля 2023 г.

Подпись Мараховой Анны Игоревны удостоверяю
Ученый секретарь Ученого совета РУДН доктор
исторических наук профессор



К.П. Курылев