

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Чириковой Надежды Константиновны «Фенольные и терпеновые соединения растений из флоры Республики Саха (Якутия): состав и структура», представленную к защите в диссертационный совет Д999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы исследований.

Исследование растительных богатств такого огромного региона, как Сибирь, с целью их более интенсивного использования для нужд медицины, является одной из важнейших задач медицинской и фармацевтической наук. Особенно актуальным это становится для таких больших и малоисследованных территорий, как Республика Саха (Якутия), где произрастает значительное количество полезных растений.

При этом разработка и производство лекарственных средств из возобновляемого биологического сырья является перспективным направлением социально-экономического развития страны. Современные растительные препараты полностью отвечают нормам качества, эффективности и безопасности, редко вызывают аллергические реакции и имеют минимум побочных действий и противопоказаний.

Интерес к поиску новых лекарственных средств направлен в сторону традиционных медицинских систем. Описание использовавшихся веками самобытных способов врачевания является базисом для разработки новых лекарственных средств. Совокупность исключительных абиотических факторов, а также территориальная изоляция Республики Саха (Якутия) привели к возникновению собственной традиционной медицины. Кроме того, уникальная флора Республики и её большой интродукционный потенциал

определяют тенденцию к широкому использованию растительных ресурсов в качестве лекарственного растительного сырья.

Развитие этномедицинских исследований в настоящее время имеет большое практическое значение. Интеграция опыта прошлых столетий с достижениями современной науки дает перспективу для создания инновационных лекарственных средств из растительного сырья.

В этой связи, тема диссертационной работы Чириковой Надежды Константиновны по изучению химического состава отдельных растительных видов, произрастающих на территории Республики Саха (Якутия), их фармакогностический анализ и совершенствование методов оценки качества сырья и получаемых из него лекарственных средств является, несомненно, актуальной.

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

Научная новизна представленной диссертационной работы заключается в том, что на основании проведенных автором этномедицинских исследований лекарственных растений, применяемых в традиционной медицине Республики Саха (Якутия) были определены перспективные виды растений для дальнейшего изучения их химического состава. Было впервые осуществлено исследование фенольных и терпеновых соединений растительных видов, произрастающих в Республике Саха (Якутия), и относящихся к следующим семействам: Rosaceae (32 вида), Asteraceae (13 видов), Gentianaceae (5 видов) и Lamiaceae (14 видов).

С использованием комплекса хроматографических методов было выделено более 350 соединений, в том числе 8 новых природных соединений, строение которых установлено с помощью УФ-, ИК-, КД-, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. К новым соединениям были отнесены четыре флавоноида, в том числе гнафалозид С из *Gnaphalium uliginosum* (Asteraceae), 6"-*O*-малонил-пиракантозид, 4"-*O*-малонил-пиракантозид и

дракопальмазид из *Dracocephalum palmatum* (Lamiaceae). Также соискателем были выделены четыре иридоида, в том числе алгидизид I и алгидизид II из *Gentiana algida* (Gentianaceae), флотуберозид Iи флотуберозид II из *Phlomoides tuberosa* (Lamiaceae).

Диссертантом были разработаны и валидированы новые методики анализа фенольных и терпеновых соединений с применением высокоэффективных методов. Кроме того, было изучено распределение исследуемых соединений по органам растений и возможное хемотаксономическое значение некоторых соединений в изучаемых семействах.

Выходы, сформулированные соискателем, обоснованы и полностью отвечают цели и задачам исследования. Таким образом, достоверность научных положений и обоснованность выводов базируются на достаточных по своему объему теоретических и экспериментальных данных, непротиворечивости полученных результатов и обеспечены использованием современных методов исследований и статистической обработкой полученных данных.

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

Диссертационная работа Чириковой Надежды Константиновны вносит существенный вклад в решение важных для отечественной фармации задач, а именно: исследование химического состава лекарственного растительного сырья, идентификация природных соединений, разработка методов их выделения и стандартизации, а также рациональное использование ресурсов лекарственного растительного сырья.

Результаты проведенного комплекса исследований (этномедицинских, фитохимических и технологических) растительных видов республики Саха (Якутия) определяют перспективу внедрения в официальную медицину изученных видов растений, что значительно расширит список фармакопейного лекарственного растительного сырья. В результате

выполненных исследований разработаны новые методики качественного и количественного анализа 50 растительных видов с применением методов ВЭЖХ с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием, которые используются в учебном процессе ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова». Разработаны проекты ФСП на «Траву шлемника байкальского» и «Экстракт травы шлемника байкальского сухой». Полученные результаты используются в ООО МИП «Арура». Материалы диссертации и проекты Фармакопейных статей предприятия на «Траву змееголовника пальчатого» и «Траву тимьяна Ревердатто» используются в работе ГБУ РС(Я)«Республиканский Центр медицинской профилактики» и ГБУ РС(Я) «Республиканский наркологический диспансер» в качестве информационных материалов.

Таким образом, можно заключить, что результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, имеют большую научно-практическую значимость и могут быть использованы в научных исследованиях, в качестве прикладных материалов для обучения по курсам «Фармацевтическая химия», «Фармакогнозия», а также на предприятиях фармацевтического профиля.

Оценка личного вклада автора. Автору приадлежит ведущая роль в выборе направления исследований, постановке цели и задач, выборе объектов исследований, проведении экспериментальных исследований, обобщению полученных данных и их статистической обработке, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Оценка содержания диссертации. Диссертационная работа изложена на 320 страницах и состоит из введения, описания объектов и методов исследования, 6 глав экспериментальных исследований, общих выводов, списков сокращений, рисунков и таблиц. Список литературы насчитывает 357 источников, из которых 304 на иностранном языке. Работа иллюстрирована 44 рисунками, 48 таблицами, включает 9 приложений.

В введении обоснована актуальность темы, указана степень разработки проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, приведены научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов.

Глава 1 посвящена этномедицинскому исследованию растительного лекарствоведения в традиционной медицине Республики Саха (Якутия). Автором подробно представлена история изучения лекарственных растений региона, обоснован высокий интродукционный потенциал и уникальность местных растительных видов вследствие особых абиотических факторов Республики. Соискателем приводятся данные о развитии традиционной медицины в регионе, указываются методы и приемы народного врачевания, доказывается необходимость сохранения уникальных этномедицинских сведений народов Республики Саха (Якутия). Автором был проведен опрос большого числа респондентов (28 человек), по результатам которого был составлен список лекарственных растений, применяемых до настоящего времени. По итогам главы 1 сделан вывод о необходимости изучения химического состава отдельных растительных видов, произрастающих на территории Республики Саха (Якутия), их фармакогностического анализа и совершенствования методов оценки качества растительного сырья. Таким образом, глава 1 достаточно полно отражает актуальность проблемы дальнейшего развития этномедицины и возможные пути ее решения. Материалы главы свидетельствуют о хорошем знании автором предмета исследований.

В главе 2 приведена характеристика объектов и методов исследования (фармакогностические, аналитические и препаративные методы разделения, физико-химические, химические методы и статистический анализ).

Глава 3 посвящена изучению фенолома растительных видов семейства Rosaceae. Исследованы 29 растительных объектов из данного семейства, выявлены растения-концентраторы флавоноидов, катехинов, процианидинов и гидролизуемых танинов. Было проведено исследование фенольных соединений травы *Potentilla anserina*, в результате которого выделено 17

компонентов (9 флавоноидов, 4 эллаготанина и 4 кислоты). Присутствие эллаготанинов потентилина, агримоновых кислот А и Б было установлено впервые. Отмечена перспективность изучения следующих растительных видов: *Comarum palustre*, *Chamaerhodos erecta*, *Fragaria orientalis*, *Geum allepicum*, *Rosa acicularis*, *Rubus matsumuranus*, *Rubus saxatilis*.

В главе 4 автором приводятся сведения о химическом составе представителей наиболее распространенного и широко используемого в республике Саха (Якутия) рода *Artemisia* (12 видов). Соискателем представлены данные о выделении 112 фенольных соединений, среди которых кофеилхинные кислоты были доминирующими компонентами. В ходе изучения компонентного состава фенольных соединений надземной части *Gnaphalium uliginosum* было выделено 22 соединения, из них 1 новое – гнафалозид С. Установлено, что доминирующей группой веществ в траве *G. uliginosum* являлись фенилпропаноиды. Сделан вывод о перспективности использования данного растительного сырья вследствие высокого содержания фенилпропаноидов.

В 5 главе соискателем обсуждаются результаты фитохимического исследования растительного сырья семейства Gentianaceae (*Gentiana algida*, *G. decumbens*, *G. macrophylla*, *G. triflora*). Из надземной части *G. algida* выделено два новых иридоидных гликозида – алгидизид I и алгидизид II, а также 14 известных иридоидов. Кроме того, в образцах *G. triflora* впервые был обнаружен мангиферин. Пектиновые полисахариды с высоким содержанием рамногалактуронанов и арабиногалактанов были также идентифицированы и охарактеризованы в изучаемых видах *Gentiana* впервые.

Глава 6 посвящена химическому анализу растительных видов семейства Lamiaceae. В результате проведенных исследований в составе фракций из травы *Thymus baicalensis*, *T. sibiricus*, *T. reverdattoanus* было выявлено присутствие флавоноидов, простых фенолов и тритерпеновых кислот. В результате комплексного хроматографического исследования надземной

части *Dracocephalum palmatum* было выделено 23 соединения. Кроме того, из надземной части *D. palmatum* было выделено 3 новых соединения: 6"-*O*-малонил-пиракантозид, 4"-*O*-малонилпиракантозид и дракопальмазид. Было определено общее содержание фенольных соединений в 7 видах рода *Leonurus*. Также было проведено хроматографическое разделение *Galeopsis bifida* и *Scutellaria scordifolia*. Было впервые установлено наличие циннамамида для рода *Scutellaria* и семейства Lamiaceae в целом. Из подземных органов *Phlomoides tuberosa* было выделено 16 компонентов, а также 2 новых соединения: флотуберозид I и флотуберозид II.

В главе 7 приведены данные по фармакогностическому исследованию надземной части *Scutellaria baicalensis* и определены внешние признаки, особенности анатомического строения, выявлены товароведческие показатели и методы качества сырья. Разработан способ получения сухого экстракта из травы *Scutellaria baicalensis* и проекты ФСП «Шлемника байкальского трава» и «Шлемника байкальского экстракт сухой».

На основе полученных результатов разработаны 4 проекта фармакопейных статей предприятия: «Тимьяна Ревердатто трава», «Змееголовника пальчатого трава», «Шлемника байкальского трава» и «Экстракт шлемника байкальского сухой», которые представлены в Приложениях.

Основные положения диссертации отражены в 38 публикациях, в число которых входят 37 работ, опубликованных в периодических изданиях, рекомендованных ВАК МО и науки РФ, и 1 монография.

Результаты диссертационных исследований были представлены и обсуждены на международных и российских конференциях. Результаты, полученные при проведении исследований, используются в учебном процессе ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», а также в работе в ООО МИП «Арура», ГБУ РС(Я) «Республиканский центр медицинской профилактики», ГБУ РС(Я) «Республиканский наркологический диспансер».

Диссертационная работа Чириковой Надежды Константиновны оформлена по существующим правилам, исследовательский материал изложен последовательно и логично, полученные экспериментальные данные обработаны статистически и достоверны, выводы аргументированы.

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

Вопросы, замечания и предложения. Оценивая выполненную работу в целом положительно и отмечая значимость проведенных исследований, хотелось бы высказать некоторые вопросы и замечания, касающиеся содержания и оформления работы.

1. В диссертации отсутствует список исследованных видов растений. В диссертации и автореферате несколько раз повторяется, что при сборе этноМедицинских сведений о применении лекарственных растений, произрастающих в Республике Саха (Якутия), выявлены факты применения 85 видов. В то же время в тексте гл. 1 и в таблице 1.1 не указаны два вида *Filipendula*, а также *Galeopsis bifida*, то есть непонятно, есть ли сведения о их применении, и не указано, на основании чего они взяты для изучения. А далее вообще идет разнобой. В пункте «Научная новизна» при сложении числа исследованных видов 4 семейств получается цифра 64 (32+13+5+14). На с. 27 автореферата приведена цифра 52. Так сколько же видов было исследовано диссертантом?

2. В разделе 2.1 главы 2 «Материалы исследования» нет четкого указания, где именно собраны некоторые образцы для исследования. Это касается тех видов, местом сбора которых указан г. Якутск. В одних случаях - это «Якутск. Ботанический сад», в других – просто «Якутск», например, виды *Gentiana*, *Filipendula*, *Galeopsis bifida*. А о полынях автор пишет: «Образцы *Artemisia* были собраны в соответствующий период: Якутск, 23.VII.2017». Где – в Якутске, и что означает «соответствующий период»?

Неясно также, образцы каких видов полыни были собраны в Якутске, если дальше для 11 конкретных видов указаны другие районы сбора, и остается только *Artemisia anetifolia*. Для 4 видов *Gentiana* и для *Leonurus quinquelobatus* в аблице 1.1 (с. 27-33) приведены их якутские названия, что указывает на их распространение в естественных условиях. Тогда почему они были собраны в ботаническом саду, то-есть при выращивании в искусственных условиях?

3. В разделе 3.3 «Фенольные соединения травы *Potentilla anserina*» на рис. 3.10 представлены графики количественного содержания аргимонина и суммы флавоноидов в партиях травы указанного вида из Якутии, Бурятии, Иркутска и коммерческого образца. Однако не указано, было ли собрано сырье в одинаковую фазу вегетации и в один ли год сбора. Известно, что количественное содержание БАС может значительно варьировать в зависимости не только от места сбора, но и от года сбора и фазы развития растения.

4. В разделе 3.5 (с. 94) указано: «... нами изучены основные питательные компоненты исследованных видов *Filipendula*, включая макро- и микроэлементы, углеводы, органические кислоты, аминокислоты, эфирное масло и полисахариды». В то же время результаты этого исследования не приводятся, хотя сделан вывод, что «Изученные виды *Filipendula* можно рассматривать как новый природный источник функциональных напитков из-за высокого содержания улучшающих здоровье соединений, включая антидиабетические и антиоксидантные фенолы и иммуноактивные полисахариды».

5. В разделе 4.1 главы 4 на с. 99 приведен рис. 4.1 «Хроматограммы фенольных соединений видов *Artemisia* при 280 нм». Далее на с. 100 при обсуждении рисунка сказано, что соединение 52 (1,5-ди-О-кофеилхинная кислота) наблюдается только у *A. tanacetifolia*. Но на указанном рис. 4.1 у этого вида не обозначено соединение 52. В то же время соединение 53 на рис. указано только для одного вида - *A. palustris*, тогда как в табл. 4.1 это соединение отмечено для 8 видов полыни. Где истина?

6. Вообще следует сказать, что из-за обилия выделенных соединений трудно разбираться в рисунках, таблицах и их обсуждении, особенно в указанном разделе 4.1. Например, на с. 111 сказано, что в *Artemisia sericea* и *A. tanacetifolia* обнаружены 2 лютеолин-О-гексозида 51 и 56, но на рис. 4.1 у этих видов они не обозначены. Нет на рисунке соединений 62 (хризоэриол-7-О-глюкорунид) и 67 (хризоэриол-О-гексозид). Может быть, это произошло из-за мелкого масштаба рисунка, но в этом случае следовало бы указать на данное обстоятельство или увеличить масштаб.

7. В диссертации встречаются ошибки и опечатки; размерность в табл. 3.3 дана в мг/г, а в табл. 3.4 – в мкг/мл. Если предположить, что масса в граммах – это масса взятого сырья, то что было измерено в мл? Вместо «травы» написано «корни» (с. 248).

Заключение. Диссертационная работа Чириковой Н.К. «Фенольные и терпеновые соединения растений из флоры Республики Саха (Якутия): состав и структура», представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является самостоятельно выполненной и завершенной научной квалификационной работой, которая включает в себя решение важной проблемы современной фармацевтической науки – изучения химического состава лекарственного растительного сырья, установления строения и идентификации природных соединений, разработки методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Н.К. Чириковой «Фенольные и терпеновые соединения растений из флоры Республики Саха (Якутия): состав и структура» соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к докторским

диссертациям, а ее автор Чирикова Надежда Константиновна заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук (03.02.01 – Ботаника),
профессор кафедры «Неорганическая и
аналитическая химия» Федерального
государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Восточно - Сибирский государственный
университет технологий и управления»
Министерства науки и высшего
образования РФ

 Анцупова Татьяна Петровна

670013, Республика Бурятия,
г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, д.40В,
строение 1
телефон: 89148467386
факс: 8 (3012) 41-71-50
e-mail: office@esstu.ru,
e-mail: antsupova-bot@mail.ru

