

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ

«Всероссийский научно-

исследовательский институт

лекарственных и ароматических

растений», чл.-корр. РАН, д.с.-х.н.



Н.И. Сидельников

«06» ноября 2019 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» на докторскую работу Дыленовой Елены Петровны «Фармакогностическая характеристика *Artemisia frigida* Willd. и *Artemisia jacutica* Drob. и разработка лекарственных средств на их основе», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Докторский совет Д999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы

В поисках новых лекарственных соединений исследователи все чаще обращаются к растениям рода *Artemisia* L. ввиду не только их распространенности и доминирования на больших территориях, но и содержания большого разнообразия биологически активных веществ, в частности терпеновой природы. Докторская работа Дыленовой Елены Петровны «Фармакогностическая характеристика *Artemisia frigida* Willd. и *Artemisia jacutica* Drob. и разработка лекарственных средств на их основе» посвящена изучению перспективных видов секции *Absinthium*, ряда *Frigidae* – *Artemisia frigida* Willd. (полынь холодная) и *Artemisia jacutica* Drob. (полынь якутская).

A. frigida широко применяется в традиционной медицине народов Востока при лечении ран, авитаминозов, туберкулезе, нервных расстройств, для регулирования давления, артозах и артритах, при головной и зубной

болях. *A. jacutica* применяется в народной медицине Якутии и является перспективным источником хамазуленсодержащего эфирного масла, обладающего противовоспалительным, бактерицидным, регенераторным действием. *A. jacutica* содержит сесквитерпеновый лактон арглабин. Ранее было известно только об одном виде – полыни гладкой (*Artemisia glabella* Kar. et Kit.), эндемике Казахстана, содержащей арглабин, на основе которого был разработан одноименный противоопухолевый препарат. Исследования *A. frigida* и *A. jacutica* как лекарственного растительного сырья до настоящего времени не проводилось, поэтому фармакогностическая характеристика указанных видов и получение лекарственных средств на их основе является актуальным.

Научная новизна

Диссидентом впервые дана фармакогностическая характеристика *A. frigidae herba* и *A. jacuticae herba*. Определены запасы сырья *A. frigida* на конкретных зарослях и оценена возможность культивирования *A. jacutica* на территории Республики Бурятия. В ходе фармакогностического анализа установлены основные диагностические внешние и микроскопические признаки *A. frigidae herba* и *A. jacuticae herba*, показатели доброкачественности и нормы содержания основных групп БАВ.

В ходе изучения химического состава *A. frigida* выявлена зависимость компонентного состава эфирного масла *A. frigida* от места произрастания растений: образцы, собранные из мест с semiаридным климатом, характеризуются большим накоплением в масле 1,8-цинеола, борнилацетата, терpineол-4 и α-терpineола; образцы с аридных территорий, наряду с указанными выше макрокомпонентами, накапливают в большем количестве сесквитерпеновые соединения – карифиллен и карифиллен оксид, а из высокогорных районов – спатуленол и гермакрен Д. Доминирующим компонентом в эфирном масле *A. jacutica*, выделенном на разных фазах вегетации, из различных частей, в разные годы сбора растений, остается хамазулен. В липидной фракции двух исследуемых видов преобладают линолевая, линоленовая и пальмитиновая кислоты. Для *A. frigidae herba* и *A.*

jacuticae herba дана оценка количественного содержания полисахаридных фракций, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, дубильных веществ. Автором определены оптимальные условия получения углекислотного экстракта из *A. jacuticae herba*, содержащего сесквитерпеновый лактон арглабин (содержание - 0,37-0,39%). Определен макро- и микроэлементный состав, характеризующийся высоким накоплением марганца и железа.

При разработке способа получения настойки *A. frigidae herba* и настойки *A. jacuticae herba*, обладающих антирадикальной активностью, установлены закономерности извлечения экстрактивных веществ и суммы флавоноидов в зависимости от типа экстрагента, соотношения сырье:экстрагент и времени экстракции.

Практическая значимость работы

На основании проведенных исследований диссертантом разработаны и внедрены в учебный процесс на кафедре фармации медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» методические рекомендации по определению микроскопических признаков *A. frigidae herba* и *A. jacuticae herba*; методики получения эфирного масла; методика количественного определения суммы флавоноидов в *A. frigidae herba*; способ получения *A. frigidae herbae tinctura* (полыни холодной травы настойка), *A. jacuticae herbae tinctura* (полыни якутской травы настойка), способ получения углекислотного экстракта из *A. jacuticae herba*. Полученные результаты использованы при оформлении проектов фармакопейных статей на *A. frigidae herba*, *A. jacuticae herba*, *A. frigidae herbae tinctura* и *A. jacuticae herbae tinctura*.

Структура диссертации

Диссертация изложена на 226 страницах, состоит из введения, пяти глав, общих выводов и 6 приложений. Работа иллюстрирована 46 рисунками и 67 таблицами. Список литературы включает 179 источников, из них 65 – на иностранных языках.

Во введении диссертантом обоснована актуальность выбранной темы, показана степень разработанности темы исследования, сформулированы цель

и задачи, представлены научная новизна, практическая значимость работы, методология и методы исследования, основные положения, выносимые на защиту, личный вклад автора и сведения об апробации результатов диссертационной работы.

В первой главе автором представлен анализ отечественной и зарубежной научной литературы по состоянию исследований *A. frigida* и *A. jacutica*, отражающих ботаническую характеристику, химический состав и фармакологические свойства извлечений из исследуемых видов. Приведенные данные свидетельствуют о том, что для внедрения *A. frigida* и *A. jacutica* в медицинскую практику необходимо решить комплекс задач, заключающихся в разработке методов стандартизации сырья и лекарственных средств на их основе.

Во второй главе Дыленовой Е.П. приведены характеристика объектов исследования и методы фармакогностического, химического исследования, статистической обработки данных. В экспериментальных исследованиях применялись современные физико-химические методы: ВЭЖХ, ГХ-МС, УФ-спектрофотометрия, ИК-спектроскопия, атомно-эмиссионная, атомно-абсорбционная спектроскопия, тонкослойная хроматография, титrimетрия.

В третьей главе представлены результаты исследования химического состава *A. frigida* и *A. jacutica*. Автором проведен сравнительный анализ по выходу и компонентному составу эфирного масла надземной части трех широкоареальных видов (*A. scoparia* Waldst. et Kit, *A. annua* L., *A. frigida* Willd.) и двух хамазуленсодержащих (*A. sieversiana* Willd., *A. jacutica* Drob.). На основе полученных данных в качестве объектов исследования выбраны наиболее перспективные виды – *A. frigida* и *A. jacutica*. Подробно изучен компонентный состав эфирных масел *A. frigidae herba*, собранной на территории России, Монголии и Китая, методом главных компонент проведен статистический анализ полученных результатов. Для двух видов сырья исследован выход и компонентный состав эфирного масла в зависимости от фазы вегетации и места сбора сырья. В главе также отражены результаты исследования качественного состава и количественного

содержания компонентов липидной фракции, содержание водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, гемицеллюлозы А и Б. Дано оценка количественному содержанию суммы флавоноидов, гидроксикоричных кислот, дубильных веществ, содержанию лютеолина, лютеолин-7-O-гликозида и хлорогеновой кислоты, установлен элементный состав.

В четвертой главе диссертант излагает данные по определению запасов сырья полыни холодной в районах Бурятии, стандартизации сырья - *A. frigidae herba* и лекарственного средства – настойки *A. frigidae herba*. Для этого определены основные диагностические внешние и микроскопические признаки цельного, измельченного сырья и порошка *A. frigida*. Подобраны оптимальные условия выделения эфирного масла в зависимости от степени измельчения сырья и времени экстракции; разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин методом УФ-спектрофотометрии. Определены показатели испытаний доброкачественности сырья и установлены нормы для цельного, измельченного сырья и порошка *A. frigida*. Автором разработан способ получения настойки *A. frigidae herba*, обладающей высокой антирадикальной активностью (показатель IC₅₀ – 2,0 мкл/мл). В настойке определено содержание лютеолина, хлорогеновой кислоты, суммы флавоноидов, также изучен состав летучей фракции.

Пятая глава посвящена исследованию запасов сырья *A. jacutica*, оценке возможности введения ее в культуру на территории Бурятии, стандартизации сырья и разработке настойки *A. jacuticae herba*. Ввиду ограниченного ресурсного потенциала *A. jacutica* на территории Бурятии ее выращивали на двух экспериментальных участках. По результатам исследования компонентного состава эфирного масла культивируемого растения выявлено, что содержание доминирующего компонента - хамазулена (55,05-72,57%) выше по сравнению с маслом дикорастущего растения (15,45-25,00%). Для *A. jacutica* определены диагностические внешние и микроскопические признаки цельного, измельченного сырья и порошка. Подобраны оптимальные условия выделения эфирного масла и определено количественное содержание

хамазулена в нем. Диссидентом разработан и предложен способ получения углекислотного экстракта. В полученном СО₂-экстракте определено содержание арглабина - 0,38±0,01%. Установлены показатели испытаний доброкачественности сырья и их нормы для цельного, измельченного сырья и порошка *A. jacuticae herba*. Разработан способ получения настойки, обладающей антирадикальной активностью (показатель IC₅₀ – 2,1 мкл/мл). В полученной настойке определено содержание лютеолин-7-O-гликозида, хлорогеновой кислоты, суммы флавоноидов и состав летучей фракции.

Общие выводы соответствуют основным результатам проведенных исследований и раскрывают поставленные в диссертационном исследовании задачи и цель.

На основе полученных результатов диссертационной работы разработаны проекты фармакопейных статей на *A. frigidae herba*, *A. jacuticae herba*, *A. frigidae herbae tinctura* и *A. jacuticae herbae tinctura*.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов

Результаты, полученные автором с использованием современных методов исследований, убеждают в их достоверности и обоснованности. Автор в полной мере обосновывает основные положения и выводы, сформулированные в диссертации, которые являются логическим завершением работы. Содержание автореферата соответствует диссертации. Основные положения диссертации отражены в 20 научных работах, в том числе 6 статей - в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ. Результаты диссертационных исследований были представлены и обсуждены на конференциях международного, всероссийского и регионального уровня.

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (пунктам 3, 5, 6).

При общей положительной оценке работы Дыленовой Елены Петровны в процессе ознакомления возникли требующие пояснения вопросы и рекомендации:

1. Согласно требованиям ГФ XIV издания для лекарственного растительного сырья определяются анатомо-диагностические признаки отдельных морфологических частей: листьев, стеблей, цветков, что наблюдается при исследовании дикорастущих видов *A. frigida* и *A. jacutica*. Однако для культивируемого вида *A. jacutica* автором представлены анатомо-диагностические признаки только для листьев. Проводилось ли определение для других морфологических частей?
2. По данным литературы известна высокая биологическая активность флавоноидов *A. frigida* и используемые методики анализа данной группы соединений методом ВЭЖХ. Почему при стандартизации *A. frigidae herba* не был выбран данный метод?
3. Какая периодичность заготовок *A. frigidae herba* закладывалась при расчете возможного ежегодного объема заготовок (ВЕЗ)?
4. Какой вклад вносят компоненты летучей фракции в антирадикальное действие разработанных настоек?

Следует отметить, что указанные вопросы имеют уточняющий и рекомендательный характер, не снижают научной и практической ценности диссертационной работы. Результаты, полученные диссидентом, имеют несомненную значимость для медицинской и фармацевтической науки.

Заключение

Диссертационная работа Дыленовой Елены Петровны на тему «Фармакогностическая характеристика *Artemisia frigida* Willd. и *Artemisia jacutica* Drob. и разработка лекарственных средств на их основе», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия, является самостоятельно выполненной, завершенной научно-квалификационной работой, содержащей решения важной задачи фармации по расширению ассортимента отечественного лекарственного растительного

сырья. По актуальности, научно-методическому уровню, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Дыленовой Елены Петровны соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Дыленова Елена Петровна – заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв на диссертационную работу Дыленовой Елены Петровны
заслушан и утвержден на заседании секции по поиску биологически
активных веществ и разработке лекарственных растительных препаратов
Ученого совета ФГБНУ ВИЛАР, протокол № 6 от 06 ноября 2019 года.

Главный научный сотрудник отдела
фитохимии и стандартизации
ФГБНУ ВИЛАР, доктор
фармацевтических наук, профессор
Специальности:
14.04.01 – технология получения лекарств
14.04.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия

Даргаева Тамара Дарижаповна

Подпись доктора фармацевтических наук, профессора Даргаевой Т.Д.
заверяю

«06» ноября 2019 г.

Семкина Ольга Александровна

