

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Кащенко Нины Игоревны «Фенольные соединения растений Байкальского региона: состав, структура, биологические свойства», представленную к защите в диссертационный совет 99.0.045.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН на соискание учёной степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы исследования

Одна из задач государственной программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» (Постановление Правительства Российской Федерации от 29.12.2021 № 2544) – удовлетворение потребности системы здравоохранения Российской Федерации в среднесрочной и долгосрочной перспективе с учётом повышения ожидаемой продолжительности жизни в качественных, эффективных и безопасных лекарственных препаратах и медицинских изделиях преимущественно локального производства. Приоритетной указана разработка лекарственных средств для лечения социально значимых заболеваний, например сахарного диабета, деменции при болезни Альцгеймера. Изучению гипогликемического и нейропротективного действия фенольных соединений, установлению их механизмов посвящён ряд научных работ как отечественных, так и зарубежных авторов. Учитывая широкую распространённость этой группы биологически активных веществ в растительном мире как среди популярных в медицине, так и малоизученных видов, поиск новых лекарственных средств перспективно сосредоточить как в области выделения из сырья, так и в сфере полусинтетического и синтетического получения. Особенный интерес представляет изучение отечественной флоры, так как решение указанной задачи тесно связано с наличием стабильной сырьевой базы.

Поиск перспективных растительных видов возможно осуществлять как путём этноботанических исследований, филогенетического родства, так и биологического скрининга, который позволяет сузить круг исследуемых

объектов для более углублённого изучения их химического состава и выявления активных компонентов интересующей направленности.

Актуальные источники фенольных соединений – растения экономически важных семейств *Rosaceae*, *Asteraceae* и *Lamiaceae*, которые распространены или культивируются в умеренных климатических широтах Российской Федерации, в частности, в Байкальском регионе, изучению которых посвящена диссертационная работа Кащенко Нины Игоревны.

Степень обоснованности, достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Для определения перспективных видов растений автор осуществил скрининговые исследования на предмет изучения антиацетилхолинэстеразной и антиглюкозидазной активности извлечений из сырья, заготовленного от 214 видов семейств *Rosaceae*, *Asteraceae* и *Lamiaceae*, произрастающих и выращенных в условиях культуры в Байкальском регионе. По результатам скрининга были отобраны 13 видов (*Agrimonia eupatoria* subsp. *asiatica* (Juz.) Skalický, *Geum aleppicum* Jacq., *Sibbaldianthe bifurca* (L.) Kurtto & T.Erikss., *Rubus matsumuranus* H.Lév. & Vaniot, *Comarum palustre* L., *Spiraea salicifolia* L., *Calendula officinalis* L., *Matricaria chamomilla* L., *Leuzea uniflora* (L.) Holub, *Nepeta multifida* L., *Dracocephalum austriacum* L., *D. botryoides* Steven, *Nepeta cataria* L.) для дальнейшего углублённого изучения их фенолома. При последующем анализе указанных объектов с использованием комплекса хроматографических методов было выделено более 400 компонентов, а также 19 новых фенольных соединений (календозиды I–IV, 1,5-ди-*O*-изоферулоилхинная кислота, неоизобайссеозид, апигенин-7-*O*-(4"-малонил)- β -D-глюкопиранозид, апигенин-7-*O*-(4"-малонил-6"-ацетил)- β -D-глюкопиранозид, раунозиды A, B, C, D, E, F, G, спиреасалицин, лютеолин-7-*O*-(3",6"-ди-*O*-ацетил)- β -D-глюкопиранозид, непетамултин D, непетамултин C). Структура новых соединений была установлена при помощи УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии и МС-спектрометрии. Для изученных видов растений

Н.И. Кащенко разработаны и валидированы новые методики анализа фенольных соединений, а также исследовано их орган-специфическое распределение.

Диссидентом изучена микробная трансформация перспективного класса фенольных соединений – эллаготанинов, а именно хебулаговой и хебулиновой кислот, в результате чего было доказано образование уролитинов. Впервые предложен и запатентован способ получения уролитина D, обладающего гипогликемическим действием (патент РФ 2712023 от 24.01.2020 г.).

Сформулированные автором выводы в достаточной мере обоснованы и отвечают цели и задачам исследования, достоверность выводов основывается на достаточных по своему объёму теоретических положениях и статистически обработанных экспериментальных данных. В работе приводятся хроматограммы и спектры, подтверждающие достоверность полученных результатов.

По результатам проведённого исследования Н.И. Кащенко предложены две схемы: первая – выбора маркерных групп фенольных соединений для проведения стандартизации лекарственного растительного сырья; вторая – поиска активных веществ из лекарственного растительного сырья для выполнения задачи создания на его основе лекарственных препаратов с гипогликемическим и антиацидетилхолинэстеразным действием.

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

Обозначена перспектива расширения списка фармакопейного лекарственного растительного сырья благодаря полученным результатам скрининговых, фитохимических и биологических исследований видов Байкальского региона и выращенных в условиях культуры. Отмечена возможность разработки потенциальных растительных средств для лечения социально-значимых заболеваний, таких как сахарный диабет и болезнь Альцгеймера.

С использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-селективным детектированием Н.И. Кащенко разработаны новые методики качественного и количественного анализа фенольных соединений 13 видов растений. Разработанные методики включены в учебный процесс ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» (Институт естественных наук, биологическое отделение).

Разработаны проекты ФСП («Календулы лекарственной цветки», «Календулы лекарственной травы», «Малины Мацумуры листья», «Котовника многонадрезанного трава»), которые используются в качестве справочных материалов в работе лаборатории трансмиссивных инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», ООО МИП «Арура», ГАУЗ «Республиканский клинический лечебно-реабилитационный центр «Центр восточной медицины».

Оценка личного вклада автора в разработку научной проблемы, репрезентативность эмпирического материала

Все экспериментальные исследования выполнены автором лично или при его непосредственном участии. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, логически вытекают из результатов экспериментов.

По материалам диссертационной работы Н.И. Кащенко опубликовано 45 научных работ, в том числе 35 статей – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, получен патент РФ на изобретение.

Оценка содержания диссертации

Объем представленной диссертационной работы составляет 346 страниц и включает введение, 6 глав собственных экспериментальных исследований, текст которых сопровождается рисунками и таблицами, материалы и методы исследования, заключение, список рисунков (41), список таблиц (45), список литературы (378 источников, в том числе 353 – на иностранном языке) и

приложения (11).

Во введении автором аргументирована необходимость выполнения исследования, его цель и задачи. Чётко сформулированы научная новизна, практическая ценность работы и основные положения, выносимые на защиту. Судя по представленным данным, работа прошла апробацию на научных конференциях и симпозиумах Международного и Всероссийского уровней.

Первая глава охватывает результаты скринингового исследования по изучению антиацитилхолинэстеразной и антиглюкозидазной активности растений Байкальского региона, а также видов, выращенных в условиях культуры. В результате 13 растений из семейств *Rosaceae*, *Asteraceae* и *Lamiaceae* были отобраны автором для фитохимического изучения и выделения активных соединений.

Вторая глава посвящена изучению метаболомного профиля 6 видов из семейства *Rosaceae* (*Agrimonia eupatoria* subsp. *asiatica*, *Geum aleppicum*, *Sibbaldianthe bifurca*, *Rubus matsumuranus*, *Comarum palustre*, *Spiraea salicifolia*), а также разработке хроматографических методик для разделения их метаболитов. Из указанных видов было выделено свыше 200 компонентов и 1 новое соединение, спиреасалицин, из цветущих побегов *S. salicifolia*.

В третьей главе приведены сведения о биодоступности фенольных соединений, в частности эллаготанинов и простых фенолов, в условиях симулированного желудочного и кишечного переваривания. Представлены данные по образованию уролитинов – продуктов микробной трансформации эллаготанинов. Автором был модифицирован способ получения уролитина D, а также была разработана методика его количественного анализа методом ВЭЖХ-УФ.

В четвертой главе диссертантом описаны результаты изучения фенолома 3 видов семейства *Asteraceae*, в результате чего были выделены новые соединения: календозиды I–IV, 1,5-ди-*O*-изоферулоилхинная кислота, неоизобайссеозид (из цветков *Calendula officinalis*), апигенин-7-*O*-(4"-

малонил)- β -D-глюкопиранозид, апигенин-7-O-(4"-малонил-6"-ацетил)- β -D-глюкопиранозид (из цветков *Matricaria chamomilla*), раунозиды A, B, C, D, E, F, G (из листьев *Leuzea uniflora*).

В пятой главе было уделено внимание представителям семейства *Lamiaceae*, что привело к выделению новых соединений, таких как лютеолин-7-O-(3",6"-ди-O-ацетил)- β -D-глюкопиранозид (из листьев *Nepeta multifida*), непетамултин D и непетамултин C (из корней *Nepeta multifida*). В результате метаболомного анализа листьев *Nepeta cataria*, а также травы и корней *Dracocephalum austriacum* и *D. botryoides* было выделено свыше 80 соединений.

В шестой главе диссидентом осуществлялась разработка ФСП «Календулы лекарственной цветки» и «Календулы лекарственной травы» на основе действующих ФС «Календулы лекарственной цветки» и ТУ «Календулы трава», в результате чего была предложена редакция разделов «Подлинность» и «Количественное определение». Использование хроматографического профиля в разделе «Подлинность» автор обосновывает, сравнивая результаты, полученные при анализе фармакопейного сырья и возможных примесей других видов семейства *Asteraceae*.

Седьмая глава включает описание объектов исследования с указанием времени и места сбора, применяемого оборудования и методов анализа и их статистической обработки.

В заключении логично представлена информация по изучению антихолинэстеразной и антиглюкозидазной активности новых соединений. Также приведена схема поиска действующих компонентов из лекарственного растительного сырья для создания на его основе растительных препаратов, перспективных для использования в терапии сахарного диабета и болезни Альцгеймера.

В целом, диссертационная работа оформлена согласно существующим требованиям, материал изложен логично и последовательно с достоверными

результатами и аргументированными выводами. Автореферат соответствует основным положениям диссертации.

При положительной оценке диссертационной работы имеются некоторые замечания и вопросы:

1. В положениях, выносимых на защиту, автор указывает «изучение строения новых фенольных соединений, методы их выделения, идентификации», «разработка методов хроматографического анализа фенольных соединений», а в общих выводах сообщает об итогах разработки методик выделения и количественного определения фенольных соединений. Учитывая, что в работе использованы известные методы выделения, разделения и анализа фенольных соединений, то всё же речь идёт о новых методиках, а не методах.
2. При описании пробоподготовки образцов лекарственного растительного сырья для химического анализа автор использует термины «экстракт», «сухой экстракт», «извлечение». Однако экстракт в фармацевтической практике подразумевает соответствующую лекарственную форму, отвечающую требованиям ОФС.1.4.1.0021 «Экстракты» ГФ РФ XV издания. На наш взгляд, корректно использовать термины «извлечение», «сухой остаток».
3. Получение отвара из цветков и травы не обосновано экспериментально и противоречит требованиям ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» ГФ РФ XV издания, в которой для этих морфологических групп лекарственного растительного сырья регламентировано получение настоя.
4. Почему при изучении фенольных соединений *Nepeta cataria* в качестве образцов сырья использовали цветки, листья, корни и стебли, но не траву? Ведь стебли в отличие от травы не могут быть самостоятельным лекарственным растительным сырьём, подлежащим заготовке и применению.

5. Почему при разработке проектов ФСП «Календулы лекарственной цветки» и «Календулы лекарственной травы» в разделе «Количественное определение» предлагается использовать только метод спектрофотометрии, хотя при определении основных групп биологически активных веществ была рекомендована ВЭЖХ? Возможно, стоило прописать два альтернативных варианта анализа:
 - 1) высокоэффективная тонкослойная хроматография как метод качественного анализа и спектрофотометрия – количественного;
 - 2) ВЭЖХ как для качественного, так и для количественного. Такой подход позволил бы выполнять рутинный фармакопейный анализ в лабораториях разного уровня оснащённости.
6. Рассматривал ли автор возможность использования исследуемых видов лекарственного растительного сырья не только для производства лекарственных препаратов, но и для выделения стандартных образцов фенольных веществ для аналитических целей?
7. Применялась ли схема выбора маркерных групп (рисунок 6.1), разработанная для травы и цветков *Calendula officinalis* при составлении проектов ФСП «Котовника многонадрезанного трава», «Малины Мацумуры листья»? Насколько она универсальна для фенольных соединений?

Указанные замечания и вопросы носят уточняющий характер и не снижают ценность проведённой работы.

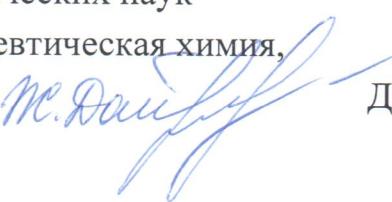
Заключение

Диссертация и автореферат Кащенко Нины Игоревны «Фенольные соединения растений Байкальского региона: состав, структура, биологические свойства» соответствуют специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты исследования имеют научную новизну, практическую ценность, интересны и не вызывают сомнений. Выводы диссертационной работы правомерны, обоснованы имеющимся большим объёмом экспериментальных данных и согласуются с

поставленными задачами. Работа представляет собой самостоятельно выполненное научное исследование, в котором предложено решение важной проблемы фармацевтической отрасли по изучению фенольных соединений растений.

Диссертационная работа Кащенко Нины Игоревны «Фенольные соединения растений Байкальского региона: состав, структура, биологические свойства» по актуальности, объёму выполненных исследований, научно-методическому уровню, теоретической и практической значимости соответствует требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования РФ (п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры фармакогнозии,
ботаники и технологии фитопрепаратов
Пятигорского медико-фармацевтического
института – филиала федерального
государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Волгоградский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук
(14.04.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия) 
05 марта 2024 г.

Дайронас Жанна Владимировна

357532 г. Пятигорск,
пр-т Калинина, 11
Тел: 8(918) 747-93-69
email: daironas@mail.ru
<https://www.pmedpharm.ru/>

Подпись(и)	
Заверяю:	
Заместитель начальника отдела правового и кадрового обеспечения Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России	