

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Вишнякова Евгения Владимировича
на тему «Синтез, установление структуры и скрининговая оценка биологической активности комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения», 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 Российской Федерации, на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности
3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы исследования. Фенольные соединения растительного происхождения за счёт наличия в их структуре -ОН, -С=О, -СООН групп способны вступать во взаимодействие с катионами металлов. В ходе процесса хелатирования образуются так называемые металло-фенольные комплексы, которые по данным литературы обладают широким спектром биологической активности. Потенцированное действие двух компонентов (лиганда и комплексообразователя) может приводить к появлению новых и усилению уже имеющихся видов фармакологических эффектов.

Стоит отметить, что синтез металло-фенольных комплексов – сложная задача в виду того, что представленные в научных публикациях подходы носят разрозненный характер. Следовательно, важно оптимизировать и алгоритмизировать имеющиеся подходы с возможностью трансфера методологии на разные классы фенолов и металлы. Это позволит увеличить выход получаемого продукта и снизить экономические затраты при производстве. Доказательство структуры также значимая проблема, решение которой приведёт к пониманию и обоснованию физико-химических свойств, механизмов действия и подходов к стандартизации. Необходимо сделать акцент на том, что нативным источником комплексов является лекарственное растительное сырьё (ЛРС), содержащее как металлы, так и фенольные соединения, предопределяющие сочетанное фармакологическое действие.

Металло-фенольные комплексы можно опосредованно использовать для определения суммы БАВ в ЛРС, контроля содержания примесей металлов. Также они находят своё применение в качестве красителей в текстильной промышленности.

Исходя из вышесказанного, становится очевидным, что получение, изучение структуры и исследование биологической активности комплексов металлов с

фенольными соединениями растительного происхождения являются актуальными и перспективными направлениями фармацевтической отрасли. Следовательно, исследования Вишнякова Е.В., лежащие в основе диссертационной работы, имеют несомненную актуальность.

Целью диссертационного исследования Вишнякова Е.В. является разработка, унификация и алгоритмизация способа получения, оценка структуры, а также скрининг биологической активности металло-фенольных комплексов для прогностической оценки возможности их применения. Реализация поставленной цели достигалась путём решения ряда научных задач, раскрывающих содержание работы.

Личный вклад диссертанта является значимым и составляет не менее 90%. Автором самостоятельно были определены векторы работы, предложены и обсуждены совместно с научным руководителем цели и задачи, проведены экспериментальные исследования и сформулированы выводы, которые нашли своё отражение в научных публикациях.

Соответствие диссертационного исследования паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия», а именно пункту 1 – Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ; и пункту 3 – Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Вишнякова Е.В. характеризуется целостностью и логичностью. Состоит из введения, литературного обзора, главы «Материалы и методы», 3 экспериментальных глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и 11 приложений. Библиография включает 129 ссылок на литературные источники, из них 119 зарубежные. Диссертационная работа изложена на 145 страницах текста компьютерного набора, иллюстрирована 22 рисунками и 35 таблицами.

Анализ диссертации по главам

Во введении представлены актуальность диссертационной работы, цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

В первой главе работы представлен литературный обзор по теме исследования. Описаны варианты фенольных лигандов, охарактеризованы особенности синтеза, методы оценки структуры металло-фенольных комплексов. Автором приведены данные о возможности применения комплексов как в фармацевтической (в качестве лекарственных средств), так и в лёгкой промышленности.

Вторая глава содержит информацию о материалах и методах исследования.

Третья глава посвящена фитохимическому изучению растительного сырья (створки фасоли обыкновенной, побеги черники обыкновенной) с точки зрения оценки содержания групп БАВ - потенциальных лигандов (флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, органические кислоты). Определён элементный профиль изучаемых растений. Данные, представленные в данной главе, легли в основу биологического эксперимента по предварительному скринингу противодиабетической активности нативных комплексов.

В четвёртой главе приведены методики синтеза девяти металло-фенольных комплексов цинка, кобальта, марганца с рутином, кверцетином и хлорогеновой кислотой с учётом унифицированного алгоритма, представленного в виде Дерева принятия решений. Структуры комплексов охарактеризованы с помощью УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и РФА.

Пятая глава даёт представление о металло-фенольных комплексах как о перспективных лекарственных кандидатах. Представлены данные о противодиабетической активности нативных и синтетических минеральных комплексов, а также изучена возможность применения фенольных лигандов (флавоноидов) для оценки содержания элементных примесей (алюминий) в фармацевтических субстанциях.

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

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертационной работы.

Научная новизна диссертационной работы

Впервые был предложен алгоритм синтеза металло-фенольных комплексов, унифицирующий подходы, приведённые в литературных источниках. Алгоритм апробирован на четырёх лигандах (рутин, кверцетин, хлорогеновая кислота, ресвератрол) и трёх ацетатных солях цинка, кобальта, марганца. Для девяти выделенных комплексов с помощью современных физико-химических методов удалось установить сайты связывания катиона металла с молекулой лиганда.

Проведено фитохимическое исследование двух растительных объектов – створок фасоли обыкновенной и побегов черники обыкновенной, обладающих противодиабетической активностью и являющихся природными источниками минеральных комплексов. Данные, полученные в ходе данного исследования, легли в основу проведения биологического эксперимента на дексаметазон-индуцированной модели сахарного диабета с целью оценки противодиабетического действия нативных и синтетических комплексов.

Впервые был осуществлён скрининг противодиабетической активности полученных комплексов на моделях *in vivo*. Показана перспективность применения металло-фенольных комплексов в качестве лекарственных кандидатов.

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

Достоверность данных подтверждается использованием современных физико-химических методов анализа, высокоточного оборудования, а также статистической обработкой результатов химического и биологического экспериментов. Валидация методики спектрофлуориметрического определения примеси алюминия в субстанции калия хлорида с помощью рутина была проведена согласно ОФС.1.1.0012

Теоретическая и практическая значимость работы, внедрение результатов исследования

В процессе реализации исследований в рамках диссертационной работы Вишнякова Евгения Владимировича удалось создать алгоритм, позволяющий получать металло-фенольные комплексы с достаточно высоким выходом и с малыми издержками (так, выход комплекса цинка с хлорогеновой кислотой составил ~ 64,3 %). Предложенный алгоритм возможно применять при получении других металло-фенольных комплексов.

Оценка структуры и определение сайтов связывания катиона металла в молекуле лиганда также подтверждает теоретическую и научную значимость диссертационного исследования.

В работе рассматривается вопрос о возможном применении синтезированных комплексов в качестве лекарственных кандидатов. Результаты биологических экспериментов *in vivo* по оценки противодиабетической активности показывают, что, например, комплекс цинка с рутином приводит к повышению содержания в крови экспериментальных животных адипонектина и лептина. Увеличение концентраций которых благоприятно сказывается на течении заболевания сахарного диабета II типа.

Практическая значимость работы также заключается в разработке методики спектрофлуориметрического определения примеси алюминия с помощью рутин в субстанции калия хлорида. Предложенный подход исключает стадию экстракции катионов алюминия в хлороформ. Это приводит к повышению экспрессности и экологичности альтернативной методики по сравнению с подходом, изложенным в ГФ РФ XV.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую деятельность кафедр химико-фармацевтических дисциплин Школы фармации Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова (акт внедрения от 06 декабря 2023 г.), кафедры химической технологии лекарственных веществ Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета (акты внедрения от 09 января 2024 г.), Воронежского государственного университета (акт внедрения от 08 декабря 2023 г.) и нашли практическое применение в лабораториях ООО «Центр фармацевтической аналитики» (акт внедрения от 20 июня 2023 г.), Северо-Западного центра по контролю качества лекарственных средств (акт внедрения от 29 ноября 2023 г.) и АО «Фирма Медполимер» (акт внедрения от 29 декабря 2023 г.).

Апробация работы и публикации

Основные результаты диссертационного исследования были представлены на 7 научных российских и международных конференциях в период с 2021 по 2023 год.

Всего по теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из которых 2 статьи - в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для публикации основных научных результатов диссертаций, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 статья - в издании, индексируемом в наукометрической базе данных Scopus, и 9 тезисов.

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, полученные в диссертационном исследовании, дают представление о синтезе, структурных особенностях и биологической активности металло-фенольных комплексов. Эти данные в дальнейшем могут быть применены для получения новых лекарственных препаратов, полученных на основе фенольных соединений и металлов. Алгоритм синтеза комплексов может быть использован в отделах R&D фармацевтических предприятий, в фокусе деятельности которых находится получение активных фармацевтических субстанций, так как диссертационное исследование закладывает основы для фармацевтической разработки.

Созданная методика спектрофлуориметрического определения примеси алюминия является более точной, экологичной, экономически выгодной и может быть успешно внедрена на предприятиях, проводящих контроль содержания элементных примесей.

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертационной работы

Диссертационная работа на тему «Синтез, установление структуры и скрининговая оценка биологической активности комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения» может быть охарактеризована как завершённый научный труд. Работу характеризует целостность и последовательность изложения. Выводы логичны и вытекают из экспериментальных данных. В работе использован научный стиль изложения информации. Вместе с тем, в ходе анализа работы возникли вопросы и замечания, требующие уточнения:

1. Известно, что побеги и плоды черники обыкновенной, стручки фасоли обыкновенной в своем составе содержат разнообразные БАВ, в том числе фенольные соединения и органические кислоты. В этой связи, объясните, необходимость проведенных вами исследований, подтверждающих присутствие в вышеперечисленных объектах флавоноидов (рутин, кверцетин и др.), органических кислот (хлорогеновая кислота, янтарная кислота и др.)?

2. При получении извлечений из ЛРС вами использованы различные навески ЛРС, количества спирта 70% и его концентрации, количества воды очищенной. Объясните, почему именно такое соотношение компонентов выбрано вами для получения соответствующих извлечений (стр. 37)?

3. В табл. 11. приведены условия синтеза исследуемых комплексов. Обоснуйте объем метилата натрия, конкретную температуру (60 или 65 °С) и время

проведения реакций. Почему не приведены значения выходов реакций получения целевых комплексов?

4. При скрининге противодиабетической активности не использован препарат сравнения, почему? В качестве препарата сравнения можно было применить «Арфазетин», содержащий побеги черники обыкновенной и створки фасоли обыкновенной.

5. Расчет доз металло-фенольных комплексов при скрининге противодиабетической активности на моделях с использованием лабораторных животных осуществлен на основании инструкции для применения ЛС «Черники обыкновенной побеги» для человека. Объясните используемый вами коэффициент пересчета, а также возможное влияние ионов металлов на расчет соответствующих доз?

6. При проведении биологического скрининга синтезированных вами металло-фенольных комплексов не проведена оценка достоверности значений экспериментальных групп от соответствующих показателей контрольной группы. Объясните?

Сделанные замечания не имеют принципиального характера и не снижают ценности проведённых исследований, в целом, не влияют на положительную оценку работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Вишнякова Евгения Владимировича на тему «Синтез, установление структуры и скрининговая оценка биологической активности комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершённым научным трудом, выполненным на высоком уровне, где представлено решение одной из научных задач фармацевтической науки – получение и оценка структуры соединений, потенциальных лекарственных кандидатов на основе металлов и биологически активных веществ растительного происхождения. По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Вишнякова Евгения Владимировича 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 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023

г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Вишняков Евгений Владимирович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ

Катаев Валерий Алексеевич

Заведующий кафедрой фармации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук (3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор

«29» марта 2024 г.



Подпись

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Почтовый адрес: 450008, Российская Федерация, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3

Телефон: +79276368976

e-mail: centreles@mail.ru

Подпись профессора Катаева В.А. удостоверяю

«29» марта 2024 г.

Подпись: _____
Заведующий
Ученый секретарь ФГБОУ
Минздрава России

