

## **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.** Значительная часть диссертационного исследования Вишнякова Евгения Владимировича посвящена получению и изучению комплексов металлов с флавоноидами – представителями большой группы соединений, содержащих фенольные гидроксильные группы. Флавоноиды являются одной из наиболее загадочных групп природных соединений: синтезируются только растениями, но эти микронутриенты жизненно необходимы организму человека. Они способны образовывать комплексы с ионами металлов. Такие комплексы обладают широким спектром биологической активности за счет сочетанного действия металла и лиганда, поэтому в перспективе могут обрести статус лекарственных средств. Однако, несмотря на пристальный интерес научного сообщества к исследованиям фенольных соединений, и их металлокомплексов с целью использования в медицине, данная область науки пока еще находится на стадии накопления фактов, здесь много нерешенных вопросов. Одной из актуальных проблем, рассматриваемых в диссертационной работе, является алгоритмизация процесса получения комплексов и разработка унифицированного подхода для разных групп фенольных соединений и катионов металлов.

Таким образом, диссертационная работа Вишнякова Евгения Владимировича адекватно отвечает запросу фармацевтической отрасли.

**Цель диссертационного исследования** Вишнякова Е. В. – разработка и алгоритмизация способа получения, определения структуры и скрининг биологической активности металло-фенольных комплексов для прогностической оценки возможности их применения. Автором достигнута сформулированная цель путем выполнения всех поставленных задач.

**Личный вклад диссертанта** является определяющим и составляет не менее 90%. Автором самостоятельно был разработан дизайн исследования,

сформулированы цель и задачи, выполнены теоретические и экспериментальные работы, на основе полученных результатов были сформулированы выводы. О широком обсуждении полученных данных свидетельствуют публикации (тезисы, статьи) и выступления с докладами на многочисленных конференциях, в том числе международного уровня.

#### **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. построена классически, включает введение, литературный обзор, главу материалы и методы, 3 экспериментальные главы, заключение, список сокращений и условных обозначений, список литературы и 11 приложений. Диссертационная работа изложена на 145 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 22 рисунками и 35 таблицами.

Список литературы включает 129 ссылок на источники, из них 119 зарубежных. Более 55% литературных источников были опубликованы за последнее десятилетие, а больше половины из этих работ – за последние пять лет, что свидетельствует о высоком интересе научного сообщества к теме диссертационного исследования и подчеркивает его актуальность.

#### *Анализ диссертации по главам*

**Введение** отражает актуальность диссертационной работы, цель и задачи, научную новизну и практическая значимость работы. В него полностью включены основные рубрики, рекомендованные ГОСТом Р 7.0.11-2011 по написанию диссертации.

**В главе 1** автором приведен анализ литературных источников на тему исследования, рассмотрены методики синтеза комплексов, методы установления структуры, варианты возможной биологической активности и области практического применения. Следует отметить авторское осмысление собранного материала и его систематизацию.

**В главе 2** представлены материалы и методы исследования.

**Глава 3** посвящена результатам качественного и количественного анализа фенольных соединений (потенциальных лигандов), а также макро-, микроэлементного профиля створок фасоли обыкновенной и побегов черники обыкновенной. Отмечается, что нативными источниками минеральных комплексов являются растительные объекты. Данные, представленные в этой главе, легли в основу по оценки гипогликемической активности синтетических и природных комплексов в эксперименте *in vivo*.

**В главе 4** автор предлагает унифицированный алгоритм синтеза металло-фенольных комплексов. Алгоритм апробирован на различных представителях класса фенольных соединений: рутине (биозид флавоноловой природы), кверцетине (флавоноловый агликон), хлорогеновой кислоте (димерная гидроксикоричная кислота) и ацетатных солях цинка, марганца и кобальта. Для полученных девяти комплексов были оценены соотношения компонентов, определены константы устойчивости, охарактеризованы сайты связывания катиона металла в молекуле фенольного соединения.

**Глава 5** посвящена оценке противодиабетической активности нативных и синтетических комплексов. Определена антиоксидантная активность девяти образцов в сравнении с лигандом-предшественником. Показана возможность обнаружения примесей металлов в лекарственных субстанциях с помощью фенольных лигандов (рутин) за счёт образования флуоресцирующих комплексов.

**В заключении** представлены общие выводы по итогам диссертационной работы, которые логично вытекают из обработанных результатов.

**Автореферат** представляет собой конспективную версию диссертационного исследования и дает полное представление о сути работы.

#### **Научная новизна диссертационной работы**

Вишняковым Е. В. впервые было предложено Дерево принятия решений, которое было апробировано на разных классах фенольных соединений (рутин, кверцетин, хлорогеновая кислота, ресвератрол) и солях металлов (цинк, марганец, кобальт). Создание определённого алгоритма позволяет унифицировать разрозненные подходы к синтезу, представленные в литературе.

Изучен качественный и количественный состав основных групп БАВ – потенциальных лигандов, а также определён элементный профиль двух видов сырья (побеги черники обыкновенной и створки фасоли обыкновенной), являющихся природными источником минеральных комплексов. Полученные

данные по количественному определению использовались для предварительной оценки наличия противодиабетической активности нативных комплексов *in vivo*.

Впервые был проведён скрининг противодиабетической активности синтезированных комплексов. Показано, что исследуемые соединения благоприятно воздействуют на течение заболевания.

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

Достоверность результатов и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждается использованием широкого спектра современных высокоточных физико-химических методов анализа, таких как ВЭТСХ, УФ, ИК, АЭС, ЯМР, масс-спектрометрия, РФА, спектрофлуориметрия, а также результатами статистической обработки пула данных, полученных в ходе химического и биологического экспериментов. Валидацию методики спектрофлуориметрического определения примеси алюминия в субстанции калия хлорида проводили по параметрам «специфичность», «линейность» и «предел обнаружения» согласно ОФС.1.1.0012.

### **Теоретическая и практическая значимость работы, внедрение результатов исследования**

Диссертационная работа отличается не только теоретической, но и практической значимостью, которая заключается в разработке алгоритма синтеза металло-фенольных комплексов. Алгоритм был апробирован на 4 лигандах и 3 солях металлов. Предложенный подход позволяет трансферировать методологию на разные классы фенолов и металлы, получать комплексы с оптимальным выходом и минимальными издержками.

Теоретическая значимость подкрепляется оценкой структуры изучаемых соединений путём определения оптимальных сайтов связывания металла с лигандом современными физико-химическими методами.

Металло-фенольные комплексы можно отнести к перспективным лекарственным кандидатам. Так в экспериментах было показано, что комплекс цинка с рутином способствует снижению уровня глюкозы в крови и моче, а также его приём приводит к повышению содержания в крови адипонектина, лептина, что благоприятно сказывается на течении заболевания сахарного диабета II типа.

Практическая значимость работы подкрепляется разработкой альтернативной методики определения примеси алюминия с помощью рутина, которая может быть использована на предприятиях фармацевтического сектора, где контролируется содержание элементных примесей в ЛС.

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**

По теме диссертационной работы было опубликовано 12 печатных работ: 2 статьи в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 статья в издании, индексируемом в наукометрической базе данных Scopus, и 9 тезисов докладов.

#### **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 диссертационного исследования дают информацию о синтезе, структуре и биологической активности металло-фенольных комплексов. Эти данные и наработки могут быть использованы для разработки новых лекарственных препаратов на основе металлов и фенолов растительного происхождения. Подходы к синтезу можно внедрять в научно-практическую деятельность структур, в сферу научных интересов которых входит получение биологически активных субстанций.

Разработанная методика спектрофлуориметрического определения примеси алюминия экологична и эргономична. Она может быть применена на предприятиях, где контролируется содержание элементных примесей.

### **Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертационной работы**

Неоспоримыми достоинствами диссертационной работы на тему «Синтез, установление структуры и скрининговая оценка биологической активности комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения» являются:

- современный научный уровень (работа хорошо эшелонирована комплексом современных инструментальных методов исследования органических соединений)
- структурная организация материала
- высокая степень **авторской** обработки, анализа и систематизации данных
- визуализация результатов в виде схем, рисунков, инфографики
- современный научный литературный язык и стиль изложения.

Интересной «изюминкой» в работе является предложенная методика спектрофлуориметрического определения примеси ионов алюминия в фармацевтических субстанциях, путем образования комплексов с рутином.

Тест диссертации тщательно выверен, практически не содержит опечаток и читается с наслаждением.

В целом выполненное исследование оценивается положительно, однако при рассмотрении работы возникли вопросы и замечания:

1. Почему при планировании эксперимента на крысах самцах в процессе исследования гипогликемического действия комплекса рутина с цинком отсутствовала группа животных, получавших лечение не комплексом, а просто рутином? Сравнение биологической активности флавоноидов и их комплексов с металлами является одной из нерешенных задач в этой области.
2. В действующей ФС 2.5.0133 Черники обыкновенной побеги количественное содержание флавоноидов определяют в пересчете на моногалактозид кверцетина – гиперозид. Хотя в литературе имеются сведения по разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин (Бюллетень ВСНЦ СО РАМН 2010, №3(73). – С. 253-255) и автор тоже определяет суммарное содержание

флавоноидов в пересчете на рутин. В отличие от гиперозида, рутину в большей степени приписывают капилляропротекторные свойства, а за гиперозидом числится более широкий спектр биологической активности, в том числе и гипогликемическое действие. Встречались ли соискателю сведения о количественном содержании гиперозида и рутина в побегах черники обыкновенной? Какой из флавоноидов преобладает в сырье? Полагаю, что исследования в направлении выделения индивидуальных флавоноидов из побегов, получение их комплексов и сравнение активности путем молекулярного моделирования (*in silico*) и в *опытах in vivo* является перспективной задачей и может послужить интересным продолжением выполненной диссертационной работы.

3. Автором проделан большой объем работы по скринингу фенольных соединений в створках фасоли обыкновенной и побегах черники обыкновенной методом ВЭТСХ, накоплен массив данных по хроматографической подвижности флавоноидов и фенолокислот, но не проанализирована взаимосвязь структуры соединений и их хроматографической подвижности, что представляет определенный теоретический интерес.
4. В работе содержатся некоторые погрешности в использовании терминологии: так в случае характеристики спектров ЯМР принятым является термин сигнал, а не пик (с. 26).
5. Структурной особенностью диссертационной работы является группировка многих рисунков в приложениях, что создает определенные неудобства при чтении из-за дискретности подачи материала.

Указанные вопросы и замечания являются дискуссионными и не носят принципиального характера.

### **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 законченным научным трудом, выполненным на высоком уровне, результаты которого имеют существенное значение для фармацевтической отрасли, где содержится решение важной научной задачи по синтезу биологически

активных соединений на основе ионов металлов и фенольных соединений растительного происхождения, способных в перспективе обрести статус лекарственных средств. 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

**Селиванова Ирина Анатольевна**

Профессор кафедры химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), доктор фармацевтических наук (3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор



Подпись

«26» марта 2024 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Почтовый адрес: 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Телефон: +7 917 504-77-55

e-mail: irinaselivanova@yandex.ru

