

Минздрав России

УТВЕРЖДАЮ

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования
«Сибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

И. о. ректора
д-р биол. наук, доцент

А.В. Ратькин

Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050
Телефон (3822) 53 04 23;
Факс (3822) 53 33 09
e-mail: office@ssmu.ru
http://www.ssmu.ru

ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251
ИНН 7018013613 КПП 701701001

24.05.2024 № 2527
На № _____ от _____



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы
Лужанина Владимира Геннадьевича на тему «Методология поиска
перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных
веществ растительного происхождения», представленной на соискание
ученой степени доктора фармацевтических наук по научной
специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы исследования. Актуальность темы диссертационного исследования не вызывает сомнений, поскольку поиск лекарственных средств на основе биологически активных веществ природного происхождения остается востребованным направлением фармацевтических исследований и разработок.

Природные источники биологически активных соединений, по сравнению с веществами синтетического происхождения, имеют гораздо более весомые преимущества в терапевтической практике, что связано с их шлейотропной фармакологической активностью и относительно низкой токсичностью, а также доступностью, биоразнообразием и

возобновляемостью природных ресурсов. Более того, существуют растения и другое природное сырье, которые являются единственным источником создания различных продуктов фармацевтической и другими отраслями промышленности. Лекарственная значимость природных источников биологически активных молекул отмечается в многочисленных научных публикациях, а также фармацевтических и медицинских сообществах. Как и отметил автор диссертационной работы в своём обзоре литературы: согласно данным D. Newman и G. Cragg (2012), в период с 1981 по 2010 г. 54 % всех новых одобренных лекарственных средств имели природное происхождение (26 % получены из растительного сырья, 13 % – путем полного синтеза, но активный хромофор был продуктом растительного происхождения, 15 % получены из других биологических источников). Примерами самых продаваемых во всем мире препаратов природного происхождения являются антибиотики и противогрибковые средства («Эритромицин», «Кларитромицин», «Амоксициллин», «Амфотерицин В»), противоопухолевые средства («Паклитаксел», «Доцетаксел», «Кампотецин»), препараты, снижающие уровень холестерина («Аторвастатин», «Симвастатин», «Ловастатин»), иммунодепрессанты («Такролимус», «Циклоспорин А»), антигипертензивные средства («Каптоприл», «Эналаприл») и другие. Порядка 50% лекарственных препаратов разработаны на основе соединений, впервые идентифицированных или выделенных из растений. Доля зарегистрированных в России препаратов растительного происхождения составляет порядка 20 % от общего числа зарегистрированных лекарств.

Рассматривая данное научное направление с другой стороны, можно отметить, что более широкое разнообразие биологически активных молекул создает ряд существенных трудностей при стандартизации и изучении их фармакологической активности. Необходимо выделять индивидуальные вещества из суммарных экстрактов, устанавливать

фармакологические мишени, оценивать их основное терапевтическое действие и токсичность, исследовать химическое и биологическое влияние соэкстрактивных веществ, разрабатывать методы разделения и очистки без потери фармакологической эффективности, устанавливать физико-химические и биологические параметры стандартизации и так далее. Данный путь является очень трудоемким и длительным во времени, что в современных условиях необходимости быстрого развития отечественной фармацевтической экономики является существенной проблемой. В отличие от методов оценки фармакологической активности индивидуальных соединений из суммарных растительных экстрактов с использованием прогностических моделей *in silico* и подтверждением их свойств в экспериментах *in vitro*. Эти методы действительно позволяют сократить время и ресурсы и проводить более глубокие скрининговые исследования по установлению биологических мишеней, а также механизмов действия, достоверно оценить их фармакокинетические параметры и потенциальную токсичность.

В связи с этим, диссертационная работа В.Г. Лужанина «Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения» является актуальной для современной отечественной фармацевтической науки и практики.

Оценка новизны, достоверность и ценность полученных автором результатов. Научная новизна диссертационной работы Лужанина В.Г. заключается в том, что впервые предложена методология поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения. Впервые из исследуемых растений (*Iris lacteal*, *Solidago canadensis*, *Rubus chamaemorus*, *Ononis arvensis*, *Empetrum nigrum*) выделены и идентифицированы 38 индивидуальных соединений (8 из которых являются новыми природными) и осуществлен прогноз их фармакологической активности *in silico* с использованием

сочетанного (Way2Drug + SwissPredict) компьютерного моделирования. Впервые проведены исследования влияния суммарных экстрактов и растворов индивидуальных соединений, выделенных из исследуемых растений, в сравнении с референтными веществами (гепаринатом натрия, ацетилсалициловой кислотой, пентоксифиллином) на систему гемостаза человека в условиях *in vitro*, по результатам выбраны соединения-лидеры для последующей фармацевтической разработки. Впервые изучено взаимное влияние соединений-лидеров при эквимольном смешении на фармакологическую активность на моделях системы гемостаза организма человека *in vitro*.

Анализ диссертационной работы показывает, что все исследования выполнены на достаточно высоком уровне. Научные положения, выводы, сформулированные в диссертационной работе, являются достаточно обоснованными. В работе использованы современные методы исследования и статистической обработки полученных данных, что повышает достоверность сделанных автором выводов.

Соответствие содержания диссертации паспорту специальности.

Научные положения диссертации Лужанина В.Г. полностью 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», пункту 6 – Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. Выводы, представленные в работе, соответствуют поставленной цели и сформулированным задачам.

Последовательность изложения и содержания материала в диссертации и автореферате совпадают.

Достоверность результатов диссертации подтверждена достаточным количеством экспериментальных данных, полученных физико-химическими методами и биологическими экспериментами *in vitro* со статистической обработкой.

Результаты и основные положения диссертационной работы достаточно полно обсуждены на международных конгрессах, научно-практических конференциях.

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 36 печатных работ, в том числе из них 13 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в печенк рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, 5 статей, индексируемых в наукометрической базе данных Scopus. Получено 4 патента Российской Федерации на изобретение и свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Содержание автореферата и печатных работ соответствует материалам диссертации.

Личный вклад автора.

Лужанин В.Г. сформулировал общую концепцию диссертации, ее структуру, уровень понимания рассматриваемых в ней проблем, сформулировал основные результаты и выводы работы, положения, выносимые на защиту. В совместных работах, а также в трёх диссертациях, выполненных под его руководством, автор принимал активное участие в постановке задач, разработке методик и проведении аналитических расчетов, в интерпретации, систематизации и обобщении полученных результатов, информационном обеспечении исследований, отборе материала и написании публикаций. Личный вклад автора

оценивается в 90%.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом, выводов и заключений. Диссертационная работа Лужанина В.Г. изложена на 388 страницах машинописного текста и имеет обзор литературы, объекты и методы исследований, 3 главы, содержащие результаты экспериментальных исследований, заключение, список сокращений, 2 приложения и список литературы, включающий 216 источников, из которых 45 в отечественных журналах и 171 – в зарубежных.

Во введении диссертантом обоснована актуальность темы диссертации; показана степень разработанности темы исследования; сформулированы цель и задачи исследования; отражена научная новизна, теоретическая и практическая значимость; методология и методы исследования; положения, выносимые на защиту; степень достоверности и апробация работы; связь задач с проблемным планом фармацевтических наук; указано соответствие паспорту научной специальности; публикации; описан личный вклад автора; структура и объем диссертационной работы.

Глава 1 «Поиск перспективных лекарственных кандидатов растительного происхождения: скрининг, выделение биологически активных соединений и их исследование (обзор литературы)» представлена на 42 страницах, содержит описание современных методологий поиска лекарственных кандидатов растительного происхождения с подробным анализом проблем, подходов и решений, также представлен обзор современных методов выделения индивидуальных соединений растительного происхождения, их преимущества и недостатки, достаточно широко описана роль методов *in silico*, *in vitro* и *in vivo* в разрезе современных подходов к фармакологическому скринингу лекарственных кандидатов растительного происхождения.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» традиционна, изложена на 8 страницах. В данной главе дана характеристика объектов исследования, реактивов и растворителей, описание методов фитохимического и биологического исследований, влияния биологически активных соединений на систему гемостаза, а также методы статистической обработки биологических экспериментов.

Глава 3 «Выделение и исследование состава фенольных соединений *Empetrum Nigrum L.*, *Rubus Chamaemorus L.*, *Iris Lactea Pall.*, *Ononis Arvensis L.*, *Solidago Canadensis L.*» представлена на 70 страницах и содержит результаты по разработке общих подходов к выделению индивидуальных соединений из растительного сырья. Кроме того, показано, как с применением данного подхода выделены индивидуальные соединения *Empetrum nigrum L.* (дихлорметановая, н-гексановая и н-бутанольная фракции), *Rubus chamaemorus L.*, *Iris lactea Pall.*, *Ononis arvensis L.*, *Solidago canadensis L.*

Глава 4 «Теоретические исследования возможных механизмов фармакологической активности выделенных *in silico* соединений» изложена на 26 страницах и включает результаты прогнозирования фармакологической активности индивидуальных соединений, отбор перспективных молекул-кандидатов по результатам предварительного прогнозирования, идентификацию метаболических путей системы коагуляции крови и агрегации тромбоцитов и имитационное моделирование времени образования сгустка в норме и при добавлении химических соединений, обладающих антиагрегантным действием.

Глава 5 «Исследование фармакологической активности выделенных соединений» представлена на 13 страницах и посвящена скринингу полученных экстрактов и индивидуальных соединений в отношении системы гемостаза, а также определению взаимного влияния активных компонентов, выделенных из суммарных экстрактов.

Глава 6 «Базовый алгоритм и основные принципы методологии поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения» изложена на 3 страницах и содержит схему методологии исследования с описанием основных шагов, включающих 6 этапов, а также основные принципы методологии, которые определяют теоретические и практические особенности проведения исследований, обеспечивают воспроизводимость научных экспериментов.

В заключении диссертационной работы приведено описание 7-ми ключевых результатов исследования и указаны перспективы дальнейшей разработки темы.

В приложениях представлены реестр первичных данных физико-химического исследования выделенных индивидуальных соединений, а также акты внедрения и результаты интеллектуальной деятельности.

Значимость полученных результатов для науки и практики. Диссертантом разработан алгоритм и предложены основные принципы поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения.

По результатам фармакологических исследований *in vitro* на моделях системы гемостаза организма человека показана более высокая эффективность индивидуальных веществ, по сравнению с их суммой в виде экстракта или эквимольных смесей. Таким образом, на основании результатов исследований выделенные индивидуальные вещества можно рассматривать в качестве потенциальных лекарственных кандидатов и формулировать актуальные научно-практические задачи по разработке новых методик стандартизации лекарственного растительного сырья по содержанию индивидуальных веществ, разработке промышленных регламентов по культивированию и заготовке лекарственного растительного сырья для направленного увеличения содержания в нем целевых веществ, разработке промышленных регламентов по выделению

индивидуальных молекул из природного сырья, методик их синтеза и модификации в химии *in vitro*.

Диссертантом разработано 38 паспортов субстанций для выделенных индивидуальных соединений, в которых представлены физико-химические характеристики веществ и данные компьютерного прогноза их фармакологической активности, что позволило сформировать реестр индивидуальных веществ фенольной природы. По результатам скрининга из 38 выделенных индивидуальных соединений были определены 4 перспективных лекарственных кандидата для дальнейшего изучения и фармацевтической разработки лекарственных средств для лечения заболеваний сердечно-сосудистой и кровеносной систем: 1-(3,5-дигидрокси-4-метоксифенил)-2-(3-гидроксифенил)-этан; 2,3,4-триметокси-5-гидрокси-9,10-дигидро-фенантрен; 5,7-дигидрокси-6,8-диметилфлаванон; 4-о- α -арабинофуранозилэллаговая кислота.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, в том числе 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).

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Разработанный базовый алгоритм на основании экспериментальных данных позволяет перейти от традиционного изучения лекарственного растительного сырья как лекарственного средства, к изучению его как источника биологически активных молекул. Также показано, что

фармакологическая активность *in vitro* на моделях системы гемостаза организма человека индивидуальных веществ значительно выше по сравнению с их суммой в виде экстракта.

Результаты диссертационного исследования внедрены в научный и учебный процессы Российских фармацевтических университетов (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, г. Пермь; ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, г. Санкт-Петербург, а также в промышленный сектор фармацевтических компаний (АО «Фармпроект», г. Санкт-Петербург; ООО «Тенториум», г. Пермь).

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации.

Положительно оценивая результаты диссертации в целом, следует задать некоторые вопросы и сделать замечания по содержанию и оформлению работы.

1. Лекарственное растительное сырье содержит обычно в своём составе конституционные неорганические элементы. Учитывался ли этот факт при получении экстрактов и индивидуальных веществ? И каким образом контролировался?

2. В диссертационном исследовании определены 4 наиболее перспективные субстанции для разработки корректоров заболеваний сердечно-сосудистой и кровеносной систем. Существуют ли на сегодняшний день данные о фармакологической активности иных природных или синтетических молекул, сходных по химической структуре с кандидатами-лидерами?

3. Среди 4 установленных в диссертационной работе перспективных лекарственных кандидатов, 3 были выделены из побегов *Empetrum nigrum*. Какое влияние на количественное соотношение данных молекул может оказывать место произрастания лекарственного сырья и климатические условия?

4. В результате исследования перспективных лекарственных кандидатов было показано, что эквимольное смешивание растворов кандидатов-лидеров приводит к снижению фармакологической активности. На Ваш взгляд, чем это можно объяснить?

5. Установленная в эксперименте фармакологическая эффективность перспективных лекарственных кандидатов, безусловно, указывает на их высокую терапевтическую ценность. Планируется ли дальнейшая фармацевтическая разработка? Каким промышленным способом предполагается получать данные индивидуальные вещества?

6. Каким образом следует использовать численный симулятор активации тромбоцитов для других биологически активных веществ? Возможно ли, используя данную программу для ЭВМ, оценивать биологическую активность молекул других биоорганических классов?

7. С какой степенью достоверности можно экстраполировать полученные результаты на другие виды лекарственного растительного сырья, содержащие флавоноиды?

8. В автореферате (стр. 9) и диссертации (стр. 26, 35, 169, 182) присутствуют опечатки.

Вместе с тем, следует отметить, что сделанные замечания не снижают научную практическую значимость проведенных исследований и не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой диссертационной работы.

Диссертация является законченным научным исследованием, изложена последовательно и логично. Автореферат полностью отражает содержание выполненной работы.

Заключение. Диссертационная работа Лужанина Владимира Геннадьевича «Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения», представленная на соискание учёной степени доктора фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровне по актуальной проблеме, результаты которой имеют существенное значение для современной фармацевтической науки и практики.

В исследовании Лужанина Владимира Геннадьевича решена актуальная и значимая научно-практическая проблема разработки методологии поиска перспективных лекарственных кандидатов путем алгоритмизации процессов выделения и изучения индивидуальных веществ из растительного сырья.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Лужанина Владимира Геннадьевича 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, от 25.01.2024 г. № 62), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Лужанин Владимир Геннадьевич, заслуживает присуждения учёной степени доктора фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на заседании кафедры химии
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России протокол № 5 от «20» мая 2024 г.

Заведующий кафедрой химии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук
(14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),
доцент



М.В. Зыкова
20.05.2024 г

Адрес: 634050, Российская Федерация, Томская область, г. Томск,
Московский тракт, д. 2

Телефон рабочий: +7 (3822) 901-101 (доб. 1819)

E-mail: zykova.mv@ssmu.ru

*Горшков заверено
Горшков и научный
работы и посмертно
персонале
Горшкова@*

