

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

**Зилфикарова Ифрата Назимовича на диссертационную работу
Лужанина Владимира Геннадьевича на тему «Методология поиска
перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных
веществ 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 доктора
фармацевтических наук по научной специальности
3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия
(фармацевтические науки)**

Актуальность темы исследования

Разработка новых лекарственных препаратов на основе веществ растительного происхождения традиционно является актуальной задачей фармацевтической науки, особенно с учётом их большого биохимического разнообразия. Современные методы фармакологического скрининга *in silico* и *in vitro* позволяют существенно оптимизировать процесс фармацевтической разработки, обеспечивая параллельное изучение индивидуальных веществ и их сочетаний, независимо от принадлежности к различным химическим классам. Современные методы физико-химического анализа позволяют добиваться высокой степени чистоты фармацевтических субстанций, точно определять структуру исследуемых соединений. Совокупность указанных факторов обеспечивает возможность осуществления направленного поиска биологически активных веществ и комплексов в растительных объектах, повышая эффективность научно-практических исследований.

Выделение индивидуальных соединений из суммарных растительных экстрактов с последующим прогнозированием их фармакологической активности методом *in silico*, подтверждением в экспериментах методом *in vitro*, позволяет осуществить очень точный скрининг перспективных молекул - лекарственных кандидатов, определить мишени и механизмы действия, оценить основные фармакокинетические параметры и безопасность.

Методология разработки новых лекарственных средств растительного происхождения предполагает использование алгоритма комплексного исследования с применением различных современных методов анализа, позволяющего осуществить обоснованный выбор наиболее перспективных

для фармацевтической разработки молекул и определить источники и методы их получения. В литературе отсутствуют данные о системном выделении и изучении индивидуальных веществ растительного происхождения, относящихся к классам полифенолов, построении теоретически обоснованных прогностических моделей их фармакологической активности *in silico* с последующим фармакологическим скринингом *in vitro*. Наличие воспроизводимых алгоритмов выделения и изучения индивидуальных веществ из растительного сырья позволит проводить фармацевтическую разработку фитопрепаратов с высокой степенью точности прогнозирования и доказательной базы.

В связи с изложенным, диссертационная работа Лужанина Владимира Геннадьевича, посвященная разработке методологии поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения, является актуальной.

Личный вклад автора

Структура диссертации, уровень рассматриваемых в ней вопросов, сформулированные основные результаты и выводы, положения, выносимые на защиту, отражают собственную точку зрения автора на решение научной проблемы. Автор принимал активное участие в сборе и определении сырья, выполнении работ по выделению и идентификации индивидуальных соединений, проведении скрининговых исследований фармакологической активности, обобщении и систематизации полученных результатов, формулировке основного алгоритма и принципов предлагаемой методологии. Лично автором написаны сама диссертация и автореферат. Под руководством автора выполнены три кандидатские диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки), 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.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Лужанина Владимира Геннадьевича имеет традиционную структуру и изложена на 388 страницах машинописного текста, иллюстрирована 29 рисунками и 45 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (5 глав), заключения, списка литературы, включающего 216 наименований (из них 171 источник зарубежной литературы) и 2 приложений.

Каждая глава представляет собой заверченный этап исследования, а выводы отражают наиболее значимые теоретические и практические результаты.

Во **введении** Лужанин В. Г. обосновал актуальность выбранной темы исследования, сформулировал цель и задачи, показал научную новизну и отразил теоретическую и практическую значимость, а также представил положения, выносимые на защиту.

В главе 1 проведен обзор литературы, в котором подробно описаны существующие подходы к поиску лекарственных кандидатов растительного происхождения, указаны преимущества и недостатки различных методов выделения индивидуальных веществ из растительного сырья, проанализированы различные современные подходы к фармакологическому скринингу методами *in silico*, *in vitro*, *in vivo*, в том числе в пределах актуальных задач по исследованию фармакологической эффективности смеси индивидуальных соединений. На основании данных изученной литературы Лужаниным В.Г. предложены критерии и обоснован выбор растительных объектов диссертационной работы, а также определены методы комплексного экспериментального исследования, теоретическую основу которых составили труды зарубежных и отечественных ученых по фитохимическому анализу вторичных метаболитов растений, относящихся к группе фенольных соединений.

Глава 2 включает в себя описание материала исследования и оборудования, реактивов, растворителей и методов, используемых при выполнении диссертационной работы. В начале главы приведена таблица с характеристиками объектов исследования, указаны места и параметры заготовки и сушки изученного растительного сырья. Подробно приведены характеристики методов текущего анализа химического состава суммарных фракций и выделения индивидуальных соединений, установления структуры выделенных соединений и их фармакологического скрининга. Особенно детально описаны методы изучения влияния выделенных индивидуальных

соединений на систему гемостаза человека и статистической обработки полученных результатов.

В **главе 3** представлены результаты выделения и исследования фенольных соединений из 5 различных видов сырья, представлены схема и описание общего подхода к выделению целевой группы веществ, а также методики выделения всех 38 индивидуальных веществ. Большое внимание уделяется интерпретации ЯМР-спектров выделенных соединений, представлены их химические формулы и физико-химические характеристики. Особое значение имеет факт выделения 8 новых природных соединений, ранее не описанных в литературе.

Глава 4 содержит результаты исследования методами *in silico* и включает анализ данных компьютерного прогноза фармакологической активности индивидуальных соединений, обоснование выбора модельной системы организма человека для последующих исследований методами *in vitro*, результаты молекулярного докинга и итоговый прогноз антиагрегантной активности всех молекул выделенных в рамках диссертационной работы индивидуальных веществ.

Глава 5 содержит результаты фармакологического скрининга методами *in vitro* всех полученных экстрактов и индивидуальных соединений в отношении системы гемостаза человека. Отдельное внимание уделено эксперименту по определению взаимного влияния наиболее активных компонентов экстракта *Empetrum nigrum*, полученные результаты являются уникальными для отечественной фармакогностической науки.

Глава 6 содержит схему предлагаемой методологии исследования с описанием алгоритма всех последовательных этапов научного эксперимента. Также сформулированы основные принципы методологии, которые определяют теоретические и практические особенности проведения исследований, обеспечивают воспроизводимость результатов.

В **заключении** диссертационной работы сформулированы 7 основных результатов, полученных согласно всем поставленным задачам диссертационного исследования. В **приложениях** представлен реестр индивидуальных соединений, сформированный из паспортов субстанций и содержащий первичные данные физико-химического анализа всех изученных веществ, а также акты внедрения и результаты интеллектуальной деятельности.

Научная новизна диссертационной работы состоит в следующем:

- впервые предложена методология поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения;
- впервые из исследуемых растений выделены и идентифицированы 38 индивидуальных соединений, 8 из которых являются новыми природными;
- впервые проведено компьютерное моделирование и осуществлен прогноз фармакологической активности выделенных индивидуальных веществ растительного происхождения несколькими программными продуктами *in silico*;
- впервые исследовано влияние суммарных экстрактов и растворов индивидуальных соединений, выделенных из растительного сырья, на систему гемостаза человека в условиях *in vitro* и установлены 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*;
- получены 4 патента РФ на применение выделенных индивидуальных соединений в качестве средств, обладающих антиагрегационной активностью, и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

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

Обоснованность основных научных положений, выводов и практических рекомендаций научного исследования подтверждается достаточным объемом выполненного эксперимента, методами статистической обработки научных данных. Научные положения и выводы, сформулированные в работе, являются обоснованными, достоверными и логически вытекают из поставленных задач.

Теоретическая и практическая значимость, внедрение результатов исследования

Результаты диссертационной работы позволили разработать базовый алгоритм и сформулировать основные принципы поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения. Результаты исследований фармакологической активности *in vitro* на моделях системы гемостаза организма человека

показали преимущественную эффективность индивидуальных веществ над их суммой в виде экстракта или эквимольных смесей. Полученный комплекс экспериментальных данных позволяет осуществлять целенаправленный выбор наиболее перспективных индивидуальных веществ растительного происхождения, разрабатывать новые методики стандартизации лекарственного растительного сырья по содержанию индивидуальных веществ, разрабатывать промышленные регламенты по культивированию и заготовке лекарственного растительного сырья для направленного увеличения содержания в нем целевых веществ, разрабатывать промышленные регламенты по выделению индивидуальных соединений из растительного сырья, методик их химического воспроизведения и модификации.

Сформирован реестр индивидуальных веществ фенольной природы, включающий 38 паспортов субстанций для выделенных индивидуальных соединений, которые содержат физико-химические характеристики веществ и данные компьютерного прогноза их фармакологической активности. Из 38 выделенных индивидуальных соединений определены 4 наиболее перспективных лекарственных кандидата с целью последующей фармацевтической разработки 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.

Методика выделения из растительного сырья индивидуальных веществ, обладающих лекарственным потенциалом и относящихся к производным бибензила, 9,10-дигидрофенантрена и дигидрохалконов, внедрена в учебный процесс ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (г. Пермь) (акт от 30 августа 2023 г.). Разработанная методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения внедрена в научный процесс ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (г. Санкт-Петербург) (акт от 29 января 2024 г.). Алгоритм выбора перспективных для фармацевтической разработки молекул и их сочетаний на основе анализа результатов прогностического моделирования внедрен в производство АО «Фармпроект» (г. Санкт-Петербург) (акт от 14 ноября 2023 г.). Методика выделения индивидуальных производных С-гликозидов флавоноидов и ксантонов из травы *Iris lactea* внедрена в производство ООО «Тенториум» (г. Пермь) (акт от 25 января 2024 г.).

Апробация и публикации

Основные результаты работы представлены на Международных конгрессах «РНУТОРНАРМ» (Санкт-Петербург, 2016, 2019, 2023; Грац (Австрия), 2017; Хорген (Швейцария), 2018); XXII Санкт-Петербургской Ассамблее молодых ученых и специалистов (Санкт-Петербург, 2017); Международных научно-методических конференциях «Гаммермановские чтения» (Санкт-Петербург, 2017, 2019; Пермь, 2023); Международной научной конференции «Перспективы лекарственного растениеводства» (Москва, 2018); Международных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (Пятигорск, 2019, 2023); XVII Международной школе-конференции "Magnetic Resonance and its Applications Proceedings - SPINUS 2020» (Санкт-Петербург, 2020); Научно-практической конференции с международным участием «Создание новых лекарств – от идеи до производства» (Пермь, 2021); Научно-практических конференциях «Международная интеграция в сфере химической и фармацевтической промышленности» (Москва, 2021, 2023); Международных научно-практических конференциях «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (Томск, 2021, 2023); Международной научной конференции «От биохимии растений – к биохимии человека» (Москва, 2022); Международной научно-практической конференции «Фармацевтическая наука XXI века: актуальные проблемы и перспективы их решений» (Уфа, 2022); Научно-методических конференциях с международным участием «Сандеровские чтения» (Санкт-Петербург, 2023, 2024); Конгрессе «Химико-фармацевтические и биологические препараты: фармацевтическая и клиническая разработка согласно правилам ЕАЭС» (Москва, 2023); Международной научной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии в современных реалиях» (Москва, 2023).

По теме диссертационной работы опубликовано 36 научных работ, среди которых 13 статей в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, рекомендованный ВАК Минобрнауки России, а также 5 статей, индексируемых в наукометрической базе данных Scopus.

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 исследования для науки и практики

Результаты работы Лужанина В. Г. рекомендуются к использованию в практике фармацевтической разработки современных эффективных фитопрепаратов, практике научного поиска новых природных соединений, практике выделения и наработки индивидуальных соединений из природных источников сырья.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Лужанина В.Г. выполнена на высоком научном уровне с применением современных методов исследования. Представленный материал оформлен в соответствии с требованиями государственных стандартов Российской Федерации и хорошо иллюстрирован, текст изложен логично.

Несомненными достоинствами диссертационного исследования являются его теоретическая и практическая значимость, уровень апробации и внедрения. Выполненные исследования хорошо спланированы, логичны и обоснованы в своей последовательности. Полученные в результате выводы закономерны и согласуются с поставленными задачами.

Диссертационная работа представляет собой законченное научное исследование. Однако при общей положительной оценке работы, необходимо выделить следующие вопросы и замечания:

1. Как формировался паспорт соединения, что служило прототипом данного документа? Почему в справочной части паспорта приведена масса вещества в абсолютном выражении? Может правильнее было отразить содержание в растительном сырье, хотя бы примерное, например, в г на 1 кг воздушно-сухого сырья? Также обоснованным выглядит упоминание производящего растения.

2. Почему у природных соединений - лекарственных кандидатов, защищенных патентами, зарегистрирована только антиагрегационная активность? Что можно сказать о противовоспалительной активности данных

соединений, учитывая, что ацетилсалициловая кислота, с которой они сравнивались, ею обладает?

3. Одним из обоснований выбора исследуемых растительных объектов явилась потенциальная возможность введения их в культуру, как вариант – наличие надежной сырьевой базы в природе. Насколько это обоснование справедливо применительно к побегам водяники черной (*Empetrum nigrum L.*) и листьям морошки (*Rubus chamaemorus L.*), для которых характерно распространение в высоких широтах?

4. Какие из выделенных индивидуальных соединений могли бы стать маркерными для проведения контроля качества лекарственного растительного сырья?

5. Насколько разработанные в ходе диссертационного исследования лабораторные методики выделения индивидуальных соединений могут быть реализованы в промышленных условиях? Каковы перспективы масштабирования процесса выделения или синтеза запатентованных Вами кандидатов-лидеров и разработки новых лекарственных препаратов для лечения социально значимых заболеваний, например – коронавирусной инфекции, учитывая наличие у них антиагрегационной активности?

Следует отметить, что высказанные замечания не снижают научную и практическую значимость проведенных исследований и не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой диссертационной работы Лужанина В.Г., и носят уточняющий характер.

Заключение

Таким образом, диссертация Лужанина Владимира Геннадьевича на тему «Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения», представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена важная научная проблема, связанная с разработкой новых подходов к выделению индивидуальных соединений из растительного сырья, оценке их вклада в фармакологическую активность суммарных экстрактов, оптимизации процессов разработки новых лекарственных средств растительного происхождения.

По актуальности, методическому уровню, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости работа 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 её автор, Лужанин Владимир Геннадьевич, заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник отдела химии природных соединений федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), доктор фармацевтических наук (15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия), профессор РАН

И.Н. Зилфикаров

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР),
117216, Российская Федерация, г. Москва, ул. Грина 7, стр. 1,
тел.: раб. (495)388-55-09; моб. 8(903)004-53-92, 8(968)902-90-75,
e-mail: dagfarm@mail.ru

07 июня 2024 г.

Подпись И.Н. Зилфикарова заверяю.
Ученый секретарь ФГБНУ ВИЛАР,
кандидат фармацевтических наук



О.А. Семкина