

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу

Лужанина Владимира Геннадьевича

«Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения»,
представленную на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки)

Актуальность темы исследований

Лекарственные растения синтезируют в процессе своего развития множество различных биологически активных соединений (БАС). Многие из них обладают фармакологической активностью сопоставимой с химико-фармацевтическими препаратами, но лишены ряда побочных эффектов и не вызывают привыкания. Кроме того, для данных соединений характерен широкий спектр применения.

Биологический синтез в растениях обеспечивает высокое разнообразие БАС по сравнению с химическим синтезом, кроме того, можно увеличить синтез нужных БАС с помощью изменений условий среды в случае культивирования растений. Современные методы анализа раскрывают более детальное понимание химического состава растительного сырья, а новые методы выделения и оценки фармакологической активности *in silico* и *in vitro* дают понимание о механизмах действия. Это необходимо для того, чтобы обосновать связь химического состава и фармакологического эффекта ЛРС и пользоваться богатыми природными ресурсами нашей страны, что соответствует приоритетному направлению программы «ФАРМА-2023», утвержденной Правительством РФ. При этом необходимо учитывать

доступность, биоразнообразие и возобновляемость растительных ресурсов во избежание их сокращения.

В рецензируемой диссертационной работе предлагается актуальный новый подход, а именно: концепция новых методик выделения индивидуальных соединений из растительных экстрактов в связке с последующим прогнозированием их активности методом *in silico* и подтверждением в экспериментах *in vitro*. Данный подход позволяет осуществить скрининг перспективных молекул, предопределить молекулярные мишени, обосновать механизм действия, установить фармакокинетические параметры БАС и их потенциальную токсичность.

Цель исследования состоит в разработке методологии поиска перспективных лекарственных кандидатов путем алгоритмизации процессов выделения и изучения индивидуальных веществ из растительного сырья.

Научная новизна исследования

Данная работа открывает новый взгляд на растения как на источник индивидуальных БАС в качестве самостоятельных активных фармацевтических ингредиентов.

Автором впервые разработана методология поиска потенциальных ЛРС для создания новых лекарственных средств растительного происхождения. Объектами исследования стали виды ЛРС, которые используются для производства лекарственных препаратов, разрешенных для обращения на территории РФ, издавна известны в народной медицине или употребляются в пищу. Однако для этих растений был недостаточно изучен химический состав, а также не была должным образом установлена связь между составом БАС и фармакологическим эффектом. Автором впервые выделены индивидуальные БАС из травы ириса молочно-белого (*Iris lactea*), травы золотарника канадского (*Solidago canadensis*), из листьев морошки (*Rubus chamaemorus*), из травы стальника полевого (*Ononis arvensis*) из побегов

водяники черной (*Empetrum nigrum*) в общем количестве 38 природных соединений, из которых 8 являются впервые установленными.

Для выделенных соединений В.Г. Лужанин провел сочетанное (Way2Drug + SwissPredict) компьютерное моделирование и осуществил прогноз фармакологической активности *in silico* 38 выделенных индивидуальных соединений.

Автор впервые изучил влияние суммарных экстрактов и растворов индивидуальных соединений из перечисленного растительного сырья на систему гемостаза человека в условиях *in vitro*, в сравнении с референтными веществами (гепарином натрия, ацетилсалициловой кислотой, пентоксифиллином) и отметил соединения, перспективные для последующей фармацевтической разработки. Кроме того, исследован эффект совместного действия перспективных соединений («соединений-лидеров») при эквимолярном смешении на фармакологическую активность на моделях системы гемостаза организма человека *in vitro*.

Научная новизна несомненна и подтверждается 4 патентами на изобретения.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения 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; 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.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Методология научных исследований, предлагаемая диссертантом, формирует общий алгоритм поиска потенциальных индивидуальных природных БАС, обладающих биологической активностью, что обеспечивает установление связи между составом ЛРС и его фармакологическим эффектом. Предложенный подход имеет дальнейшее обширное применение в развитии данной тематики.

Особое значение в практическом применении результатов исследования является разработка 38 паспортов субстанций для выделенных индивидуальных соединений, которые содержат физико-химические характеристики веществ и данные компьютерного прогноза их фармакологической активности, что позволило сформировать реестр индивидуальных веществ фенольной природы. В настоящее время это весьма необходимо, поскольку в РФ на данный момент остро стоит проблема получения отечественных стандартных образцов для фармацевтического анализа. Работа В.Г. Лужанина содержит все процедуры по выделению и анализу индивидуальных БАС природного происхождения, которые могут быть фундаментом для разработки технологических регламентов получения стандартных образцов.

Эксперименты по скринингу фармакологической активности определили 4 наиболее перспективных растительных БАС, которые являются потенциальными лекарственными средствами 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-дигидрофенантрен; 5,7-дигидрокси-6,8-диметилфлаванон; 4-о- α -арабинофуранозилэллаговая кислота.

Результаты исследования В.Г. Лужанина внедрены в учебную, научную и производственную деятельность, что подтверждено соответствующими актами внедрения.

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики.

Результаты настоящего исследования расширяют перспективы использования растительного сырья в качестве источника индивидуальных БАС как активных фармацевтических ингредиентов для создания новых лекарственных средств и стандартных образцов. Предложенная методология исследования дает возможность ее применения на огромном количестве как фармакопейных растений, так и не официальных видах для установления связи химический состав-фармакологическое действие.

Личный вклад автора

Рецензируемая диссертация представляет собой самостоятельный научный труд автора и группы исследователей, работавшей под его руководством. В.Г. Лужанин полностью определял цель и задачи, а также выстраивал алгоритм исследования. Также автор принимал непосредственное участие в формировании теоретического базиса и практического выполнения всего экспериментального исследования.

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

Достоверность полученных результатов подтверждается выбором научных методов исследования в соответствии с поставленной целью и задачами, корректных методов статистической обработки данных и воспроизводимостью полученных результатов.

Основные положения работы были доложены на ряде международных конференций и конгрессах.

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 36 научных работ, в том числе 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. Получены 4 патента Российской Федерации на изобретение и свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 388 страницах машинописного текста, состоит из введения, 6 глав (обзор литературы; объекты и методы исследований; 3 главы, содержащие результаты экспериментальных исследований; базовый алгоритм и принципы разработанной методологии), заключения, 2 приложений, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 29 рисунками и 45 таблицами. Список литературы включает 216 источников, из них 45 на русском языке и 171 – на иностранных.

В главе 1 приведен обзор литературных источников по поиску перспективных лекарственных кандидатов растительного происхождения, представлены подходы к скринингу, методы выделения биологически активных соединений и их исследование.

Вторая глава описывает объекты, материалы и методы, используемые при проведении научного исследования.

Третья глава посвящена выделению и исследованию состава фенольных соединений *Empetrum nigrum*, *Rubus chamaemorus*, *Iris lactea pall.*, *Ononis arvensis*, *Solidago canadensis*. Приведена методика получения суммарных экстрактов, схема выделения индивидуальных БАС и их анализ с помощью современных методов: ВЭЖХ, УФ спектроскопии, ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии.

В четвертой главе описаны теоретические исследования возможных механизмов фармакологической активности *in silico* выделенных соединений с применением компьютерной программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances, версия 2020 Refined) и баз данных, таких как Way2Drug и Swiss Predict. Представлен новый подход, основанный на методологии

прогнозирования биологической активности с использованием синтетической модели.

Глава 5 описывает результаты экспериментального исследования фармакологической активности выделенных соединений. Представлены результаты скринингового исследования фармакологической активности *in vitro* в отношении системы гемостаза и установлены вещества, обладающие антиагрегационной и антикоагуляционной активностью.

В шестой главе предложен разработанный автором базовый алгоритм и основные принципы методологии поиска потенциальных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения.

Текст диссертации оканчивается заключением, также приведен список сокращений и перечень используемых литературных источников. В приложении 1 представлены паспорта на выделенные индивидуальные БАС, в приложении 2 – акты внедрения и скан-копии патентов.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Диссертация написана грамотным научным языком, логически выстроена. Несомненным достоинством работы является комплексный подход к решению поставленной проблемы, включающий выделение индивидуальных БАС, точное установление их структуры, прогноз активности *in silico* и *in vitro* как для индивидуальных соединений, так и для их смесей и суммарных экстрактов. Следует отметить творческий подход В.Г. Лужанина: обнаружив отсутствие валидированных методик исследования для ряда метаболических путей, он предложил математическую модель системы активации тромбоцитов, на основе которой написал программу для ЭВМ. Более того, результаты, полученные с применением этой программы, согласуются с экспериментальными данными.

Понятная и четко представленная методология исследования для поиска новых БАС – кандидатов в лекарственные средства открывает широчайшие возможности для нового вектора развития отечественной фармакогнозии и фармакологии.

Несмотря на высокую положительную оценку диссертационной работы, возник ряд вопросов и замечаний:

1. Чем обусловлен выбор в качестве объектов исследования сырье именно растений *Empetrum nigrum* L., *Iris lactea* Pall., *Ononis arvensis* L., *Solidago canadensis* L. и *Rubus chamaemorus* L.?
2. В цели исследования можно было бы конкретизировать, какое именно изучение индивидуальных веществ планируется.
3. В новизне исследования указано свидетельство о регистрации программы для ЭВМ. По нашему мнению, это больше относится к практической значимости.
4. Чем можно объяснить тот факт, что результаты исследований фармакологической активности *in vitro* на моделях системы гемостаза организма человека показали преимущественную эффективность индивидуальных веществ над их суммой в виде экстракта или эквимолярных смесей. Может ли это быть связано с природой экстрагента суммарного экстракта?
5. С какой целью в литературном обзоре автор приводит примеры животного сырья в параграфе 1.1?
6. На стр. 34 указано «Высокоэффективная жидкостная хроматография – универсальный, надежный и широко используемый метод, среди достоинств которого следует указать относительную дешевизну...». Можно поспорить с этим утверждением, особенно если речь идет о препаративной ВЭЖХ.

7. Почему для сырья *Rubus chamaemorus* применялась инфракрасная сушка, а для остальных объектов исследования воздушно-тенивая?
8. Поясните, пожалуйста, что означает блок в схеме на стр. 140 «Декомпозиция метаболических путей на минимально зависимые подсистемы»?
9. На странице 144 в табл. 40 вероятности взаимодействия соединения с мешенями. В каких единицах измеряется вероятность?
10. К таблице 1 следовало бы представить список литературы.
11. В работе встречаются опечатки и неудачные выражения, хотя нужно отметить их немногочисленность (например, стр. 19, 20, 22, 26, 32, 60, 147).

Перечисленные вопросы и замечания носят уточняющий характер, замечания не существенны и не снижают ценности рецензируемой работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Учитывая все вышеизложенное, можно сделать заключение, что диссертационная работа Лужанина Владимира Геннадьевича на тему: «Методология поиска перспективных лекарственных кандидатов на основе индивидуальных веществ растительного происхождения» является законченным научным исследованием, имеющим существенное значение для развития фармацевтической науки и практики.

В диссертации решается важная проблема современной фармацевтической науки, а именно разработка методологии поиска перспективных биологически активных соединений (лекарственных кандидатов) путем алгоритмизации процессов выделения и изучения индивидуальных веществ из растительного сырья.

По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и 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 ученой степени доктора фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Профессор Института биохимической технологии и нанотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, доктор фармацевтических наук (14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцент
117198, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6,
marakhova-ai@rudn.ru;
+7(499)936-86-25, доп. 2317

Марахова Анна Игоревна

«05» июня 2024 г.

Подпись Мараховой Анны Игоревны удостоверяю
Ученый секретарь ученого совета РУДН, доктор
исторических наук профессор



К.П. Курылев