

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора Белоусова Михаила Валерьевича на диссертационную работу Сурбеевой Елизаветы Сергеевны на тему: «Фитохимическое изучение ботанических форм *Apium graveolens* L. как сырьевого источника пищевых и фармацевтических продуктов», 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 (фармацевтические науки)

### Актуальность темы исследований

Фитохимический скрининг и выделение биологически активных веществ из растительного сырья остается актуальной задачей фармацевтической промышленности в связи с высокой популярностью применения фитопрепаратов, а также растительных пищевых добавок среди потребителей. Сельскохозяйственные культуры отличаются рядом преимуществ, включая разнообразный фитохимический профиль растений, возобновляемую сырьевую базу и значительную пищевую ценность, что позволяет рассматривать их в качестве потенциальных лекарственных кандидатов и разработать отечественные продукты на их основе.

Сырье сельдерея пахучего является интересным объектом в связи с разнообразием морфологических форм и сортов растения. Фитохимический профиль сельдерея представлен различными группами БАВ, которые могут проявлять фармакологическую активность в отношении ряда социально значимых заболеваний, включая ожирение и метаболический синдром.

Таким образом, исходя из вышесказанного, фитохимическое изучение сельдерея пахучего в качестве сырьевого источника компонентов пищевых и фармацевтических продуктов является перспективным направлением. Следовательно, исследования Сурбеевой Е.С., которые легли в основу диссертации, имеют несомненную актуальность.

**Целью диссертационного исследования** Сурбеевой Е.С. является фитохимическое изучение корневой, черешковой и листовой форм *Apium graveolens* L. (с учетом сортового разнообразия) для оценки перспективности разработки фитосубстанций – компонентов лекарственных средств и специализированного питания – и формулирование концепции создания на их основе различных продуктов.

**Научная новизна исследования** состоит в комплексном систематизированном изучении разных морфологических форм (черешковой, корневой, листовой) и сортов сырья сельдерея пахучего с использованием современных аналитических методов анализа (ВЭТСХ, УФ-спектрофотометрия, ВЭЖХ, АЭС-ИСП, ГХ/МС). Показано, что различные ботанические формы сырья содержат 12 макро- и микроэлементов, причем максимальное накопление микронутриентов наблюдается в листовой и корневой формах сельдерея. Установлено, что максимальное содержание фенольных веществ (гидроксикоричных кислот и флавоноидов) накапливается в листьях сельдерея, причем разные сорта накапливают различное количество данных БАВ. Максимальное количество полисахаридных фракций ( $8,18 \pm 0,68$  % водорастворимых полисахаридов (ВРПС) и  $3,38 \pm 0,80$  % пектиновых веществ (ПВ) характерно для корневой формы сырья. В липофильных фракциях корнеплодов, черешков и листьев сельдерея методом ГХ/МС установлено наличие веществ, относящихся к группам жирных кислот, фталидов, терпенов и др. Для мажоритарных соединений проведена оценка биологической активности с применением программы PASS online.

Таким образом, продемонстрировано преимущественное накопление отдельных групп БАВ и показано, что листовая форма является оптимальным сырьевым источником веществ фенольной природы, корневая – полисахаридных фракций, а черешковая – липофильных соединений.

Впервые осуществлен анализ сортовых преимуществ сельдерея листового по накоплению хлорогеновой кислоты.

Впервые проведена оценка фармакологической активности субстанций ВРПС и ПВ сельдерея корневого на лептиндефицитных мышах, имеющих аномальное ожирение. Показано, что прием полисахаридов сельдерея статистически значимо снижает вес и массу жировой ткани у животных.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертационной работы Сурбеевой Е.С. соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: 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; и пункту 7 – Изучение биофармацевтических аспектов стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе; изучение влияния экологических факторов на

химические и биологические свойства лекарственных растений; оценка экотоксикантов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных средствах.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

В ходе диссертационного исследования были предложены методики контроля качества разных форм сырья сельдерея. А именно, разработана и валидирована ВЭЖХ-методика количественного определения хлорогеновой кислоты в сельдерее листовом, с помощью которой была проведена оценка сортовых преимуществ сырья. Кроме того, были подобраны и частично валидированы условия хроматографирования для количественной оценки суммы кумаринов, которая была апробирована на ботанических формах сырья. Обе методики отличаются экспрессностью, ресурсосберегаемостью и специфичностью. Для анализа кумаринов предложены такие хроматографические условия, которые позволяют в рамках одного анализа разделить, достоверно идентифицировать и количественно определить 4 производных кумарина.

По результатам фитохимического скрининга были предложены оптимальные фракции – ВРПС и ПВ корнеплодов и липофильных соединений черешков сельдерея, на основании которых автором были разработаны (предложены оптимальные методики выделения) и нормированы (созданы проекты ТУ и ФС) фитосубстанции полисахаридов сельдерея и раствора липофильной фракции в вазелиновом масле. Кроме того, разработаны проекты ФС для контроля качества исходного сырья.

Результаты исследования были успешно внедрены как в ВУЗы фармацевтического профиля в качестве теоретического базиса и научной составляющей фитохимических дисциплин, так и нашли применение в практической деятельности испытательных лабораторий.

### **Рекомендации по использованию результатов для науки и практики.**

Результаты диссертационного исследования Сурбеевой Е.С. могут быть использованы аналитическими лабораториями в ходе контроля качества растительного сырья, в частности разных форм сельдерея пахучего. При этом методики анализа могут быть экстраполированы и на другие виды растительного сырья, имеющего схожий фитохимический профиль в части классов БАВ..

Методики выделения и контроля качества фитосубстанций сельдерея пахучего могут быть использованы фармацевтическими компаниями.

Концептуальная модель создания фитосубстанций и функциональных пищевых продуктов на основе сельдерея, предложенная автором, может быть успешно применена для разработки лекарственных средств и биологически активных добавок для коррекции метаболических нарушений.

### **Личный вклад автора**

Сурбеевой Е.С. совместно с научным руководителем были сформулированы цель и задачи исследования и разработан дизайн эксперимента. Поиск, анализ и систематизация научных публикаций, все этапы экспериментальной работы, в том числе обработка, интерпретация полученных данных и формулирование выводов проведены автором самостоятельно. Личный вклад автора составил не менее 90%.

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

Обоснованность и достоверность результатов исследования определяется воспроизводимостью данных, использованием современных методов анализа, применением квалифицированного и аттестованного аналитического оборудования, поверенных средств измерений, а также статистической обработкой данных в соответствии с ОФС.1.1.0012.

По каждому виду исследований наработан достаточный пул экспериментальных данных.

### **Публикации.**

По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России и индексируемых в международной базе данных Scopus.

### **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертация изложена на 203 страницах компьютерного набора, и включает в себя введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, отраженные в 3-х главах, заключение, список литературы и 8 Приложений. Работа иллюстрирована 54 рисунками и 48 таблицами.

**Введение** отражает актуальность работы, ее цель и основные задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, положения, выносимые на защиту, личный вклад автора и апробацию полученных результатов.

В **первой главе** приведен обзор литературных данных, который посвящен изучению актуальности применения растительных БАВ в составе лекарственных средств и специализированных пищевых продуктов. В главе подробно рассмотрены механизмы действия различных природных соединений в отношении ожирения и других нарушений метаболизма, а также приведена характеристика объекта исследования – ботаническая характеристика, фитохимический состав и основные направления применения сельдерея пахучего.

Во **второй главе** представлено подробное описание объектов исследования, используемого оборудования и реактивов, приведены методики выполнения анализов.

**Третья глава** отражает результаты фитохимического скрининга разновидностей сырья сельдерея пахучего, включая изучение минерального состава методом АЭС-ИП, фенольного профиля методами ВЭТСХ и спектрофотометрии, липофильных веществ методом ГХ/МС, полисахаридных фракций методами гравиметрии, ВЭТСХ, ИК-спектроскопии, ВЭЖХ. Сформулированы выводы о перспективности использования сельдерея листового как источника фенольных соединений, корневого – как источника полисахаридов, а черешкового – соединений липофильной природе.

В **четвертой главе** приведены результаты разработки и валидации методики количественного определения хлорогеновой кислоты в сортах сельдерея листового, в сравнительном аспекте изучены сорта растения, культивируемые на двух разных площадках. Кроме того, представлены результаты по подбору хроматографических условий и их валидации для количественного анализа производных кумарина, характерных для семейства зонтичные.

**Пятая глава** посвящена результатам разработки фитосубстанций на основе перспективных фракций сельдерея пахучего – ВРПС и ПВ корнеплодов и липофильной фракции черешков. В главе представлены оптимальные способы выделения, выбор и нормирование показателей качества, концепции разработки готовых продуктов. Также в данной главе приведены фармакологические исследования, результаты которых подтверждают перспективность разработки.

В **заключении** сформулированы выводы по результатам работы.

В **приложениях** представлены акты внедрения, первичные данные по анализу липофильных фракций методом ГХ/МС и по анализу рынка полисахаридов, отчет по валидации количественного определения хлорогеновой кислоты, проекты разработанных ТУ и ФС.

Автореферат отражает основное содержание диссертации структурирован логически верно и дает полное представление о диссертационном исследовании.

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

Диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, характеризуется целостностью и системностью полученных данных. В целом выполненное исследование оценивается положительно, однако при знакомстве с работой Сурбеевой Е.С. возникли следующие вопросы и замечания:

Вопросы:

1. В работе автор детально изучает различные морфологические группы сельдерея, но не уделяет должного внимание отдельному виду сырья - плодам сельдерея. С чем это связано?

2. Одним из основных подходов к очистке полисахаридных фракций, приведенных в литературе, является очистка методом диализа. Почему автором не был использован данный метод для очистки полученных полисахаридных фракций? Возможно, это позволило бы уменьшить содержание белковых соединений.

3. Чем обусловлен выбор автором модели ожирения для оценки фармакологической активности полисахаридных фракций? Почему не рассматривали иммунопротекторную модель?

4. Автором представлена разработка субстанции раствора липофильной фракции сельдерея в вазелиновом масле. Чем обусловлен выбор вазелинового масла в качестве носителя фракции? Почему не использовали растительные масла?

5. Какова дальнейшая перспектива предложенных автором продуктов? Учитывая направленную (очень востребованную потребителями) и доказанную фармакологическую активность, возможно автор уже оценивал возможности выхода на рынок с данными продуктами?

Замечания:

1. Для более полной характеристики минерального состава сырья сельдерея целесообразно было изучить элементный профиль почвы с места заготовки для того, чтобы рассчитать коэффициенты биологического накопления и учитывая, что речь идет прежде всего о пищевой сельскохозяйственной культуре.

2. Сортные преимущества автором оценены только для веществ фенольного характера. Однако судя по данным, полученным соискателем, наиболее ценные группы БАВ именно липофильные соединения – фитостеролы, стероиды и др. Целесообразно в дальнейшем также провести оценку сортных преимуществ именно по данным группам БАВ и определить некий алгоритм выбора конкретного сорта для получения конкретного продукта.

Однако высказанные вопросы и замечания не снижают положительной составляющей работы и не оказывают влияния на ее позитивное восприятие, носят дискуссионный характер.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать заключение, что диссертационная работа **Сурбеевой Елизаветы Сергеевны** на тему: «Фитохимическое изучение ботанических форм *Arium graveolens* L. как сырьевого источника пищевых и


фармацевтических продуктов» является законченным научным исследованием, имеющим существенное значение для развития фармацевтической науки и практики.

В диссертации решена важная научная задача по фитохимическому скринингу пищевой культуры *Apium graveolens* L. и разработке на его основе отечественных лекарственных средств и специализированных продуктов.

По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа **Сурбеевой Елизаветы Сергеевны** 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 кандидатским диссертациям, а ее автор, **Сурбеева Елизавета Сергеевна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

#### ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ

Заведующий кафедрой фармацевтического анализа ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктор фармацевтических наук (15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, 14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология), профессор



М.В. Белоусов

22 ноября 2024 г.

Подпись Белоусова М.В. заверяю.  
Ученый секретарь ФГБОУ ВО СибГМУ  
Минздрава России,



М.В. Терехова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Почтовый адрес: 634050, Российская Федерация, Томская область, г. Томск, Московский тракт, д. 2  
Телефон: +7 913 825-17-71  
e-mail: mvb63@mail.ru