

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора РАН Зилфикарова Ифрата Назимовича 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

Разработка лекарственных средств на основе пищевых культур является актуальным направлением фармакогностических исследований, так как сельскохозяйственные растения накапливают широкий спектр биологически активных веществ, имеют значительную сырьевую базу и успешно реализуются в составе некоторых лекарственных препаратов. Кроме того, на основе данных объектов может быть создано специализированное питание, разработка которого набирает популярность в пищевой и фармацевтической индустриях.

Изучение разновидностей сырья *Apium graveolens* L. перспективно в связи с разнообразным фитохимическим составом растения, который включает фенольные соединения, полисахариды, минералы, фталиды и другие группы БАВ, обуславливающие разнонаправленную фармакологическую активность. Наблюдается развитие промышленного культивирования сельдерея на территории Российской Федерации.

Таким образом, фитохимическое изучение сырья сельдерея пахучего и выделение из него различных фракций БАВ целесообразно для создания новых растительных лекарственных средств, что подтверждает актуальность диссертационной работы Сурбеевой Е.С.

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 заключается в систематизированном изучении трех форм сырья сельдерея – черешковой, корневой, листовой - с

использованием современных физико-химических методов анализа. Так, в ботанических формах растения идентифицировано 12 макро- и микроэлементов, проанализировано содержание суммы фенольных соединений, изучены полисахаридные и липофильные фракции. В липофильных фракция методом ГХ-МС установлено наличие 50, 36 и 22 соединений в корнеплодах, черешках и листьях, соответственно, которые относятся к различным классам БАВ. Идентифицировано порядка 60% всех установленных соединений. Показано избирательное накопление отдельных классов БАВ в различных видах сырья сельдерея. Результатом системного фитохимического изучения различных форм сельдерея выбраны наиболее перспективные источники разных групп БАВ, которые потенциально могут быть использованы для профилактики и терапии разных заболеваний.

Автором впервые была проведена оценка сортовых преимуществ сельдерея листового по содержанию хлорогеновой кислоты, показана корреляция между сортами, выращенными на разных локациях.

Впервые были получены очищенные полисахаридные фракции сельдерея пахучего, проведена оценка состава с использованием современным методов анализа высокомолекулярных соединений. Для перспективных фракций - водорастворимых полисахаридов (ВРПС) и пектиновых веществ (ПВ) сельдерея корневого - на модели лептиндефицитных мышей проведены фармакологические исследования. Показано статистически значимое снижение веса и массы жировой ткани у группы животных, получавших смесь полисахаридов сельдерея, что позволяет позиционировать фитосубстанции ВРПС и ПВ как средство для регуляции метаболизма.

Для маркерных соединений, идентифицированных в липофильных фракциях сельдерея, впервые была осуществлена прогностическая оценка биологической активности с использованием веб-ресурса PASS online.

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 фитохимического скрининга сырья сельдерея пахучего были разработаны и валидированы методики ВЭЖХ-анализа хлорогеновой кислоты, а также суммы кумаринов. Методики отличаются экспрессностью, были апробированы на разных видах сырья сельдерея пахучего и могут быть применены в рутинном анализе растительного сырья в испытательных лабораториях и отделах контроля качества фармацевтических предприятий.

Результаты выделения и всестороннего изучения отдельных фракций послужили основой для разработки фитосубстанций ВРПС и ПВ корнеплодов сельдерея и липофильной фракции сельдерея черешкового. Для данных субстанций были выбраны и нормированы показатели качества, которые вошли в разработанные проекты нормативной документации («Водорастворимые полисахариды и пектиновые вещества корнеплодов *Apium graveolens* L.»; «Липофильная фракция черешковой формы сельдерея пахучего»). Для контроля качества исходного сырья были разработаны проекты фармакопейных статей «Сельдерея пахучего корнеплоды» и «Сельдерея пахучего черешковой разновидности трава».

Автором были предложены концепции по созданию порошка для приготовления коктейлей на основе полисахаридов сельдерея корневого и мягкой лекарственной формы на основе липофильной фракции черешков сельдерея.

Результаты диссертационного исследования были внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую деятельность различных научных школ (кафедр фармацевтической химии и фармакогнозии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета (акты внедрения от 24 июня 2024 г.), Школы фармации Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова (акт внедрения от 06 декабря 2023 г.), Воронежского государственного университета (акт внедрения от 08 декабря 2023 г.)), а также нашли практическое применение в практической деятельности (лаборатории Северо-Западного центра по контролю качества лекарственных средств (акт внедрения от 29 ноября 2023 г.) и ООО «Фитолеум» (акт внедрения от 7 декабря 2023 г.).

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики.

Результаты, полученные в диссертационном исследовании Сурбеевой Е.С., позволяют проводить контроль качества разных видов сырья сельдерея пахучего, а также фитосубстанций на его основе, а также потенциально могут быть трансферированы (после процедуры верификации) на другие виды сельскохозяйственных культур, которые накапливают аналогичные группы БАВ. Так, разработанные методики могут использоваться лабораториями по контролю качества растительного сырья и фитопрепаратов в рутинном анализе.

Выделенные, очищенные и стандартизованные фракции с лабораторной технологией их получения в совокупности с концептуальным решением по разработке ЛС и БАД на их основе создает предпосылки для расширения спектра фармацевтических и пищевых продуктов с доказательной базой.

Личный вклад автора является определяющим и составляет не менее 90 %. Все этапы диссертационного исследования, включая обзор литературы, составление дизайна и проведение эксперимента, статистическую обработку и анализ полученных данных, а также формулирование выводов проведены автором лично.

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

Достоверность результатов исследования подтверждается использованием современного физико-химического аттестованного оборудования и поверенных средств измерений, использованием аттестованных стандартных образцов, воспроизводимостью результатов и статистической обработкой 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

Диссертационная работа имеет традиционную структуру и состоит из введения и 5-ти глав (включая обзор литературы, методологию исследования и результаты), заключения и 8 Приложений. Список литературы насчитывает 144 наименования (в т.ч. 116 источников зарубежной литературы). Работа изложена на 203 страницах компьютерного набора, а систематизация материала отражена на 54 рисунках и в 48 таблицах.

Во **введении** отражена актуальность диссертационной работы, сформулированы ее цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, охарактеризованы личный вклад и апробация результатов, представлено соответствие работы научной специальности.

Первая глава посвящена обзору литературы, в котором рассматривается актуальность применения растительного сырья в качестве источника компонентов для лекарственных препаратов и специализированного питания. Осуществлен систематический обзор влияния растительных соединений на терапию метаболического синдрома и ожирения. Представлена ботаническая и фитохимическая характеристика анализируемого сырья сельдерея пахучего, виды его фармакологической активности. Приведен сравнительный обзор ВЭЖХ методик анализа различных групп БАВ, входящих в состав сельдерея.

Вторая глава включает информацию о материалах и методах исследования.

Третья глава отражает результаты скрининга разных видов сырья сельдерея по содержанию минералов, фенолов, фталидов и других липофильных соединений и полисахаридов с помощью различных современных физико-химических методов анализа. Результаты демонстрируют перспективность выделения полисахаридов из корневой формы сельдерея, веществ липофильной природы – из черешковой, фенольных веществ – из листовой.

Четвертая глава посвящена разработке методики ВЭЖХ-анализа веществ фенольной природы в сырье сельдерея. Разработана и валидирована методика количественного определения хлорогеновой кислоты в сельдерее листовом и проведена оценка его сортовых преимуществ. Подобраны оптимальные условия анализа веществ группы кумаринов и приведены результаты их количественной оценки в корнеплодах, листьях и черешках сырья.

Пятая глава включает разработку фитосубстанций из корнеплодов и черешков сельдерея. В главе предложены оптимальные методики выделения ВРПС и ПВ из корневой, а также липофильных веществ из черешковой форм сырья. Проведено нормирование показателей качества субстанций, результаты оценки фармакологической активности полисахаридных фракций и прогнозирование биологической активности мажоритарных соединений липофильной природы с помощью PASS-online.

В *заключении* представлены общие результаты и выводы по итогам диссертационной работы.

В *Приложения* вынесены массивы данных по анализу рынка, иллюстрационный материал ГХ-МС анализу липофильных фракций, валидационный отчет, акты внедрений и проекты разработанных нормативных документов.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Диссертационная работа Сурбеевой Елизаветы Сергеевны выполнена на высоком научном уровне с применением современных аналитических методов анализа. Исследования отличаются целостностью, а изложенный материал последовательностью и логичностью изложения, текст работы хорошо иллюстрирован.

В целом выполненное исследование оценивается положительно, однако при рассмотрении работы Сурбеевой Е.С. возникли следующие вопросы и замечания:

1. Как автор может обосновать существование разнообразных форм сельдерея – корневой, черешковой, листовой, если рассматривать их как сырье одного и того же производящего растения? Можно ли в этом случае говорить о видовом и/или генетическом отличии?

2. По данным диссертационного исследования автор показывает и делает вывод, что листовая форма сельдерея является оптимальным источником фенольных соединений – флавоноидов, производных апигенина, хлорогеновой кислоты и др. Однако в дальнейшем для фармацевтической разработки данная фракция использована не была. Почему Вы приняли решение отказаться от работы в этом направлении?

3. С какой целью проводили очистку полисахаридных фракций? Возможно, целесообразно было использовать неочищенные фракции, используя фармакологическую активность примесей, в т.ч. веществ белковой и фенольной природы.

4. Учитывая доказанную фармакологическую активность полисахаридных комплексов сельдерея в отношении метаболических нарушений, возник вопрос – чем обосновано Ваше решение сосредоточиться на разработке не лекарственного препарата, а продукта функционального питания?

5. На основе липофильной фракции сельдерея автор обосновывает получение мягкой лекарственной формы – эмульгеля. По каким критериям планируется проводить стандартизацию данного лекарственного препарата?

6. Аналогичный вопрос возник в отношении продукта функционального питания – по каким критериям планируется стандартизация порошка для приготовления коктейля на основе полисахаридных фракций корневой формы сельдерея?

7. Можете ли Вы выделить общие маркерные соединения для всех трех морфологических форм сырья?

В тексте диссертации встречаются опечатки и не всегда удачные формулировки, которых в целом немного. Сделанные замечания и возникшие вопросы носят уточняющий характер, не снижают достоинства работы, и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Учитывая вышеизложенное, можно сделать заключение, что диссертационная работа **Сурбеевой Елизаветы Сергеевны** на тему: «Фитохимическое изучение ботанических форм *Apium 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 научная задача по фитохимическому анализу сельскохозяйственной культуры с прослеживаемостью к разработке на его основе лекарственных средств и специализированных продуктов питания.

По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа **«Фитохимическое изучение ботанических форм *Apium graveolens* L. как сырьевого источника пищевых и фармацевтических продуктов»** 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

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

И.Н. Зилфикаров

25 ноября 2024 г.

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

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

О.А. Семкина