

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.2.063.01,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФГБОУ ВО «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ» МИНЗДРАВА РОССИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 19.12.2024 г. № 48

О присуждении **Некрасовой Дарье Алексеевне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата фармацевтических наук.

Диссертация «Получение и фитохимический анализ каллусных культур аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.) как перспективного растительного сырья» по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия принята к защите 15 октября 2024 г., протокол № 39 диссертационным советом 21.2.063.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А) на основании приказа Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Некрасова Дарья Алексеевна, 22 декабря 1998 года рождения.

В 2021 году соискатель с отличием окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Фармация».

В 2024 году окончила очную аспирантуру федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего

образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Работает в должности преподавателя кафедры биохимии и младшего научного сотрудника лаборатории культур растительных клеток федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре фармакогнозии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель – доктор биологических наук, доцент Повыдыш Мария Николаевна, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии, заведующая.

Официальные оппоненты:

1. Моисеев Дмитрий Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармации и клинической фармакологии, профессор.

2. Гудкова Алевтина Алексеевна – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное

учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии, доцент

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Пермь) в своем положительном отзыве, подписанном Белоноговой Валентиной Дмитриевной, доктором фармацевтических наук, доцентом, заведующей кафедрой фармакогнозии, указала, что диссертационная работа Некрасовой Дарьи Алексеевны на тему: «Получение и фитохимический анализ каллусных культур аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.) как перспективного растительного сырья» является законченным научным исследованием, имеющим существенное значение для развития фармацевтической науки и практики в области поиска альтернативных сырьевых баз редких и исчезающих видов растений. В диссертации решена важная научная задача, состоящая в получении и исчерпывающем фитохимическом анализе культур тканей аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.) и оценке возможности их применения в качестве источника ценных биологически активных соединений. По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа Некрасовой Дарьи Алексеевны 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, Некрасова Дарья Алексеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Соискатель имеет 15 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 9 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 2 работы. Общий объем опубликованных работ составляет 2,3 печатных листа, авторский вклад – 90%. Опубликованные работы, в которых представлены теоретические и экспериментальные данные, полученные автором, отражают основное содержание диссертации.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Некрасова, Д. А. Каллусная культура аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.): получение, подбор условий культивирования, индукция соматического эмбриогенеза / Д. А. Некрасова, М. Н. Пovyдыш, Н. С. Пивоварова, К. О. Сидоров // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т. 12, № 4. – С. 40-45. – DOI 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1581. – EDN HJСJKF.

2. Некрасова, Д. А. Перспективы получения и исследования клеточных культур видов рода аралия (*Aralia ssp.*) / Д. А. Некрасова, М. Н. Пovyдыш, Н. С. Пивоварова, М. Ю. Гончаров // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2022. – Т.38, № 4. – С.55-63.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. От доцента Института биохимической технологии и нанотехнологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Минобрнауки России, кандидата фармацевтических наук Жилкиной В. Ю. Отзыв положительный, но имеются вопросы и замечания: 1) Почему в качестве источника первичного экспланта была выбрана ткань

листа? Рассматривали ли Вы возможность использования других частей растения, таких как стебли или корни, которые могут иметь другие биосинтетические возможности? 2) Добавление кокосовой воды с целью модификации питательной среды показало положительные результаты, было ли Вами установлено, какие именно компоненты кокосовой воды отвечают за стимуляцию роста? Рассматривали ли Вы возможность фракционирования кокосовой воды для выявления ключевых компонентов? 3) В работе был исследован только один ген биосинтеза ( $\beta$ -амиринсинтаза), в то время как путь биосинтеза тритерпенов включает множество генов. Анализ экспрессии других генов тритерпенового биосинтетического пути, в частности генов, кодирующих сквален-синтазу и оксидосквален-циклазу украсил бы работу и дал дополнительные данные для анализа. Вопросы и замечания являются дискуссионными и не снижают общего положительного впечатления о диссертационной работе и не влияют на ее высокую оценку.

2. От заведующего кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктора фармацевтических наук, профессора Куркина В. А. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

3. От заведующего кафедрой фармацевтического естествознания ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), доктора фармацевтических наук, доцента Луферова А. Н. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

4. От доцента кафедры ботаники и физиологии растений ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» Минобрнауки России, кандидата биологических наук, доцента Морозовой К. В. Отзыв положительный, но имеются вопросы: 1) Почему по мере увеличения биомассы культур количество тритерпеновых гликозидов снижается? 2) С

чем связан выбор экстракта левзеи для сравнения при проведении исследования работоспособности мышечной ткани по методике «Трехнагрузочная плавательная проба»?

5. От заведующей отделом доклинического и экспериментального исследования Республиканского научно-исследовательского унитарного предприятия «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси», доктора биологических наук, доцента Надольник Л. И. Отзыв положительный, но имеются вопросы: 1) Поясните, пожалуйста, почему наилучшие ростовые характеристики показывает каллусная культура аралии сердцевидной на среде, обогащенной кокосовой водой? Какие особенности химического состава кокосовой воды могут определять данный эффект? 2) При сравнении эффектов экстракта каллусной культуры аралии сердцевидной и экстракта левзеи сафлоровидной по влиянию на работоспособность мышечной ткани по методике «Трехнагрузочная плавательная проба» Вами не указаны дозы вводимых препаратов. Какие дозы использовались Вами и как они были выбраны? 3) Возможно ли промышленное масштабирование разработанного Вами метода получения каллусной культуры аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.), и, соответственно, промышленное получение ее вторичных метаболитов – тритерпеноидов? Представляется ли это экономически выгодным?

6. От заведующего кафедрой физиологии растений Биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», доктора биологических наук, профессора Носова А. М. Отзыв положительный, но имеются вопросы и замечания: 1) В автореферате не приведены ростовые характеристики исследуемых культур, без которых оценить продуктивность культур невозможно (по-видимому, они есть в диссертации); 2) По каким причинам в качестве стимуляторов образования изопреноидов были выбраны оливковое и амарантовое масло, а также кокосовая вода? Как готовили кокосовую воду и каким образом добавляли

стимуляторы к культуре клеток? 3) Непонятно, почему автор считает, что содержание аралозида А в процессе культивирования снижается, и что кокосовая вода стимулирует его образование – из табл. 3 следует, что максимум содержания аралозида А в биомассе клеток приходится на 14-е сутки их выращивания на стандартной среде. Высказанные замечания никак не снижают общего положительного впечатления о работе и скорее носят рекомендательный характер.

7. От доцента кафедры фармации ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Минобороны России, кандидата фармацевтических наук, доцента Саушкиной А. С. Отзыв положительный, но имеются вопросы: 1) Какой выход тритерпеновых сапонинов дают каллусные культуры аралии сердцевидной? 2) Какова сравнительная стоимость биологически активных веществ, полученных из каллусных культур, и из дикорастущего растительного сырья? 3) Почему в качестве растительного препарата сравнения физической активности подопытных животных выбран сухой экстракт левзеи сафлоровидной? Вопросы носят уточняющий характер, не снижают достоинства работы и не влияют на ее общую положительную оценку.

8. От заведующего кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктора медицинских наук, доцента Сидорова А. В. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

9. От доцента кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева» Минсельхоза России, кандидата биологических наук, доцента Чередниченко М. Ю. и доцента кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева» Минсельхоза России, кандидата биологических наук Хлебниковой Д. А.

Отзыв положительный, но имеются вопросы и замечания: 1) Почему в таблицах 2 и 5 результаты приведены не в миллиграммах на грамм, а в виде десятичного логарифма площади пиков? 2) Автор пишет о наличии прямой зависимости между уровнем экспрессии гена  $\beta$ -амиринсинтазы и количеством аралозида А, однако не приведено значение коэффициента корреляции и/или регрессии; 3) Автор пишет: «Данные также подтверждают высокую степень гомологии гена  $\beta$ -амиринсинтазы у аралии маньчжурской и аралии сердцевидной, что является важным открытием, поскольку последовательность гена для исследуемого вида на сегодняшний день не описана». Непонятно, какие именно данные (автора или других исследований) легли в основу данного вывода. На чем основано утверждение о гомологии (то есть наличие общего предка) генов, если последовательность гена не описана?

10. От доцента кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, кандидата фармацевтических наук, доцента Шамилова А. А. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их соответствием критериям, предъявляемым пунктами 22 и 24 «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), а также их широкой известностью в области фармакогнозии, значительным числом



опубликованных научных и учебно-методических работ, соответствующих тематике диссертационного исследования соискателя, что позволяет им квалифицированно определить научную и практическую ценность диссертации Некрасовой Дарьи Алексеевны.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

– *разработана* новая методика получения каллусных культур аралии сердцевидной из листа интактного растения на среде Мурасиге-Скуга с добавлением 0,5 мг/л 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты (2,4-Д) и 0,5 мг/л кинетина, обеспечивающая высокий уровень каллусогенеза;

– *предложены* оптимальные условия для длительного поддержания культур, включающие среду Линсмайера-Скуга с добавлением 1 мг/л 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты и 0,25 мг/л кинетина, модификаторы питательных сред, такие как кокосовая вода и липофильные добавки — оливковое масло, амарантовое масло и сквалан, влияющие на морфологические и биосинтетические характеристики каллусов;

– *доказана* способность каллусных культур аралии сердцевидной оказывать актопротекторное действие, что обуславливает возможное использование культур аралии сердцевидной в качестве перспективного растительного сырья;

– *введены* подходы к стандартизации сырья биомассы каллусов с использованием физико-химических методов анализа – ВЭТСХ, ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрии.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

– *доказана* способность каллусных культур к накоплению тритерпеновых гликозидов, в том числе аралозида А, который может быть использован в качестве маркера доброкачественности получаемого растительного сырья;

– применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных физико-химических, биотехнологических и молекулярно-генетических методов исследования;

– изложены этапы получения каллусных культур, анализа ростовых, биосинтетических и морфологических характеристик, стадии изучения экспрессии гена  $\beta$ -амиринсинтазы и биологической активности экстракта на моделях *in vivo*;

– раскрыто влияние модификаторов сред на морфологические, биосинтетические и ростовые характеристики культур, уровень экспрессии гена  $\beta$ -амиринстазы;

– изучен химический состав каллусов в зависимости от стадии культивирования и используемых добавок, фармакологический эффект экстракта культур на моделях *in vivo*;

– проведена модернизация способа получения каллусной культуры аралии сердцевидной, которая состоит в использовании среды Мурасиге-Скуга с добавлением 0,5 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 0,5 мг/л кинетина для индукции каллусогенеза.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

– разработаны и внедрены подходы к получению и анализу каллусных культур аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.) в научно-исследовательскую деятельность кафедры фармакогнозии и лаборатории культур растительных клеток федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 22.05.2024 г.);

– определены качественные и количественные характеристики вторичных метаболитов сырья каллусных культур аралии сердцевидной в сравнении с интактными растениями. Полученные данные демонстрируют,

что культуры накапливают большее количество тритерпеновых гликозидов, чем корень аралии маньчжурской, но меньшее, чем лист аралии сердцевидной, а компонентный состав каллусов приближен к таковому у листа интактного растения;

– *создан* проект паспорта культуры аралии сердцевидной, включающий ростовые, морфологические и биосинтетические характеристики культур;

– *представлены* методические подходы к фитохимическому анализу каллусных культур аралии сердцевидной, определению экспрессии гена  $\beta$ -амиринсинтазы и исследованию биологической активности экстракта культур растительных клеток.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

– *для экспериментальных работ* были применены современные физико-химические, биотехнологические и молекулярно-генетические методы анализа, современное оборудование, прошедшее аттестацию и поверенные средства измерения;

– *теория* построена на известных, проверяемых фактах о существующих подходах к культивированию растительных клеток, фитохимическом анализе растительного сырья, молекулярно-генетическом анализе и согласуется с данными литературы, изложенными в опубликованных научных работах, и не противоречит результатам, полученным в ходе выполнения исследования;

– *идея базируется* на обобщении передового опыта в области культивирования растительных клеток, молекулярно-генетических и фармакологических исследований, особое внимание уделяется условиям культивирования культур и накоплению в них биологически активных веществ;

– *использовано* сравнение полученных результатов с данными научной литературы; проведен анализ описанных в литературе составов питательных сред для получения и культивирования каллусов рода *Aralia*, данных о

химических компонентах, входящих в состав культур и подходах к анализу экспрессии генов в растениях;

– *установлено*, что в состав культур аралии сердцевидной входят тритерпеновые гликозиды, что согласуется с данными о химическом составе каллусов других представителей семейства *Araliaceae*;

– *использованы* методологические подходы, базирующиеся на анализе современной отечественной и зарубежной научной литературы; полученные результаты статистически обработаны.

**Личный вклад соискателя** состоит в непосредственном участии автора в планировании и проведении экспериментальных работ, сборе и обработке данных, анализе и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций, написании и оформлении диссертационной работы и автореферата.

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания, связанные с необходимостью обоснования выбора экстракта левзеи сафлоровидной в качестве препарата сравнения при изучении актопротекторной активности, целесообразности приведения в работе значения коэффициента корреляции и/или регрессии при установлении зависимости между уровнем экспрессии гена  $\beta$ -амиринсинтазы и количеством аралозидов А, а также были высказаны критические замечания, связанные с оформлением работы.

Соискатель Некрасова Дарья Алексеевна согласилась с замечаниями по оформлению работы и исчерпывающе ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию согласно результатам исследования и проанализированным в ходе работы источникам литературы. Так, использование экстракта левзеи сафлоровидной в качестве эталонного актопротектора продиктовано его показаниями к применению в качестве средства для увеличения работоспособности. Высокая фармакологическая активность экстракта каллусной культуры может быть

обусловлена непосредственным влиянием на ЦНС, в то время как фитостероиды оказывают анаболический эффект что может быть более эффективно при более длительном применении. Данные о коэффициенте регрессии не приведены, поскольку, по нашему мнению, вклад в биосинтез данного соединения могут вносить и другие гены, на сегодняшний день для данного вида не описанные.

На заседании 19 декабря 2024 г. диссертационный совет за успешное решение научной задачи, заключающейся в изучении каллусных культур аралии сердцевидной и имеющей существенное значение для развития отечественной фармацевтической науки и практики в области поиска альтернативных ресурсных баз растительного сырья, принял решение присудить Некрасовой Дарье Алексеевне ученую степень кандидата фармацевтических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 6 докторов наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки), участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – нет.

Заместитель председателя  
диссертационного совета 21.2.063.01,  
доктор фарм. наук, доцент

Тернинко Инна Ивановна

Ученый секретарь  
диссертационного совета 21.2.063.01,  
кандидат фарм. наук, доцент  
19.12.2024 г.



Орлов Александр Сергеевич