

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора химических наук, профессора Мельниковой Нины Борисовны на диссертацию **Оготоевой Дайааны Дмитриевны** на тему **«Физико-химические, биологические и хеометрические подходы в оценке качества лекарственных растительных препаратов»**, представленную в диссертационный совет ПДС 0300.021 на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы выполненной работы

Фитопрепараты, в том числе настойки, на основе экстрактов из лекарственных растений, содержащих большое количество биологически активных веществ (БАВ), являются эффективными «мягкими» лекарственными препаратами (ЛП), позволяющими легко корректировать дозу препарата. БАВ, присутствующие в фитопрепаратах, могут выступать как в качестве основного активного фармацевтического ингредиента (АФИ), так и в синергизме с другими компонентами. Кроме того, БАВ могут использовать некоторые компоненты экстрактов в качестве векторов доставки основного АФИ.

Большой проблемой анализа и контроля качества сложнкомпонентных экстрактов, состав которых зависит от ботанического вида, технологии извлечения, условий хранения, является идентификация БАВ как характеристика по показателю подлинности. В ряде случаев полный состав компонентов некоторых настоек, например, минорные примеси, до сих пор не установлен. Установление подлинности компонентов фитопрепаратов осложняется проявлением оптической изомерии – хиральности, многих природных БАВ, трудно выявляемых тандемной ВЭЖХ с хромато-масс детектором, а также отсутствием и высокой стоимостью стандартных образцов компонентов фитопрепаратов.

Использование хеометрических подходов к обработке массива физико-химических данных, полученных различными методиками, позволяет облегчить решение проблем с идентификацией БАВ в растительном лекарственном сырье (монографии в Ph. Eur. 11.2). Математический подход с преобразованием исходной матрицы полученных результатов до произведения матрицы баллов (счетов) на матрицу нагрузок с учетом матрицы остатков позволяет выявить геометрические координаты – главные компоненты, снижая направления выбора искомого диапазона параметров (кластерный анализ с большой выборкой). Приемы статистической обработки позволяют более четко сформулировать физико-химические свойства (элементный состав, спектральные и оптические свойства), необходимые для показателя «подлинность».

Другой важной характеристикой для фитопрепаратов, без которой невозможно их использование, является биологическая активность. Для прогнозирования биологической активности наибольшее распространение получили корреляционные соотношения «структура-активность» (QSAR), и компьютерных анализ банка данных по активности

веществ близкой структуры (PASS). Решающими являются биологические тесты в *in vitro* и *in vivo* экспериментах.

В связи с вышеизложенным сочетание аналитических данных, хеометрических подходов, методов прогнозирования биологической активности и биологических тестов с использованием клеточного биосенсора *Sp. ambigua* для разработки методик установления подлинности и эффективности настоек валерианы, пустырника и боярышника со сложным составом является актуальной задачей фармацевтической химии и фармакогнозии.

Новизна результатов работы заключается в следующем:

1) Впервые использован кластерный анализ с большой выборкой – метод главных компонентов, большого массива спектральных данных для БАВ, присутствующих в сложных многокомпонентных экстрактах и настояках валерианы, пустырника и боярышника. Использование этого подхода позволяет идентификацию суммы БАВ без использования стандартного образца.

2) Впервые разработана методология определения степени извлечения эссенциальных микро- и макроэлементов из сухих экстрактов и настоек методом РФА с использованием референс-образца с идентичной биологической матрицей, для которого установлен общий состав микро- и макроэлементов (элементный метаболом). На основе этой методологии проведено ранжирование элементного состава лекарственного растительного сырья и настоек валерианы, пустырника и боярышника.

3) Впервые предложено дополнение к методике идентификации настоек разных ботанических родов с указанием допустимых интервалов значений углов вращения плоскости поляризованного света и кратности разбавления этанолом. Была сформирована библиотека значений оптических активностей настоек валерианы, пустырника и боярышника.

4) Впервые для оценки биологического отклика (эффективности) для суммы БАВ в настояках предложен биологический тест Spirotox на модели одноклеточной инфузории *Sp. ambigua*. В качестве биологического отклика была использована кажущаяся энергия активации гибели инфузорий, рассчитанная из формальной аррениусовской зависимости « $\ln k - 1/T$ ». Полученная формальная характеристика в виде кажущейся энергии активации коррелируется с токсичностью компонентов настоек с LD₅₀ на крысах.

Достоверность результатов диссертации и степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов подтверждается большим массивом полученных результатов (ИК, УФ и флуоресцентных спектров, РФА, поляриметрии, ДРС), данных хеометрических подходов (PASS Online, QSAR и МГК) и биологических тестов для настоек и ЛРС. Все результаты обработаны с использованием ПО соответствующего оборудования и методами статистического анализа с помощью пакета программ OriginPro 2021 (OriginLab Corporation, США). Все научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, являются обоснованными.

Ценность для науки и практики результатов работы

Теоретическое значение работы заключается в характеристике фитопрепаратов как сложного и многокомпонентного комплекса БАВ, некоторые из которых могут проявлять и токсические эффекты. Теоретическая значимость для фармацевтической химии обусловлена, в первую очередь, кластерным математическим подходом на основе метода главных компонентов к обработке большого массива экспериментально полученных спектральных данных для установки подлинности многокомпонентных систем. Во-вторых, дополнительное изучение оптической активности в строго определенных условиях открывает возможности идентификации настоек разных ботанических родов. В-третьих, подтверждается необходимость корреляционных соотношений «биологический отклик - структура и состав БАВ», подтвержденная в работе биологическим тестом с биосенсором инфузории, прогнозируемая компьютерной программой PASS и расчетом липофильности.

Теоретические обоснования и практические результаты диссертационной работы апробированы и внедрены в практику производственной деятельности контрольно-аналитической лаборатории ООО «КоАЛ Фарманализ».

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс специальности «Фармация» - дисциплины «Общая фармацевтическая химия», «Методы фармакопейного анализа», «Специальная фармацевтическая химия». Создано обучающее видео по освоению МГК в программе OriginPro в рамках инициативной темы № 033320-0-000 «Создание новых лекарственных веществ с помощью искусственного интеллекта», выполняемой на базе кафедры фармацевтической и токсикологической химии медицинского института РУДН.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати. По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в международные базы цитирования (Scopus) и 2 работы в рецензируемых журналах, входящих в перечень РУДН.

Основные результаты диссертационного исследования были представлены на конференциях: XVII Международная (XXVI Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых (Москва, Россия, 2022 г.); XII и XIII (2 доклада) Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, Россия, 2022 г. и 2023 г.); XIII межвузовская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Научная весна 2023» (Москва, Россия, 2023г.).

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует и отражает основные положения и общие выводы диссертации. Автореферат диссертации и диссертационная работа Оготоевой Дайааны Дмитриевны соответствует заявленной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Замечания по работе

Диссертационная работа построена логично, общие выводы соответствуют результатам проведенного исследования. При рассмотрении работы возникли следующие вопросы и замечания:

1) Желательно более корректно и подробно представить данные по крайне интересному биологическому Spirotox-тесту как в разделе 2.2.8, так и при обсуждении результатов (стр. 112-116). Формальное соответствие уравнению Аррениуса позволяет рассчитывать кажущуюся энергию активации, что необходимо подчеркивать по всему тексту; размерность кДж/моль – условные величина и единица измерения, т.к. неизвестно, к какому лиганду (или рецептору) отнесена; k – константа скорости гибели клеток. Такой подход к биологическому отклику является плодотворным, но требует комментария. В продолжение этого замечания: к рис. 41, 42, 43 подписи должны быть скорректированы. Например, «Зависимость биологического отклика от $1/T$ » или «Зависимость $\ln(1/k) \sim f(1/T)$ ». Таблицу 17 желательно поправить, обозначив среду, в которой происходит лиганд-рецепторное взаимодействие.

2) Спектры флуоресценции на рис. 18 некорректны, отсутствует базовая линия. Вероятно, она находится ниже нуля и обрезана на рисунке. Сложно сопоставить литературные данные спектров флуоресценции матричных настоек и глицериновых мацератов смородины черной, липы пушистой, винограда культурного, в которых интенсивность флуоресценции изменяется от 0 до 0,09 (рис. 17), тогда как на рис. 18 интенсивность достигает 180. Желательно было привести фрагмент первичной матрицы результатов флуориметрических измерений настоек, как на рис. 11.

3) Требуется пояснения таблица 14 по прогнозированию активности соединений сырья валерианы, пустырника и боярышника в соответствии с программой PASS, и сопоставления расчетов по валереновой кислоте, поскольку она используется в качестве стандартного образца при анализе препаратов валерианы. Часть материалов, указанных в приложении (Таблицы 18, 19, 20) желательно было прокомментировать.

4) Следует более корректно оформить некоторые таблицы: таблица 6 – отсутствие погрешностей для P , S ; две части таблицы имеют разные единицы измерения (% или мг/кг) – желательно привести результаты к одинаковым единицам измерения; таблица 8 – в столбце «настоящее исследование» следует привести погрешности измерений; таблица 9 – массу сырья измеряли с точностью до четвертого знака после запятой в граммах. Как пересчитывали количество элемента в микромоль? Желательно пояснить. Изумляет погрешность оценки содержания калия (± 1).

Заключение

Диссертационное исследование Оготоевой Дайааны Дмитриевны является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена важная научная задача современной фармацевтической химии по разработке, совершенствованию и валидации методов контроля качества лекарственных растительных препаратов – настоек валерианы, пустырника и боярышника, содержащих комплекс БАВ, в том числе с оптической

активностью с использованием совокупности физико-химических, биологических и хеометрических подходов.

Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, согласно п.2.2 раздела II (кандидатская) Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № УС-12 от 03.07.2023г., а её автор, Оготовева Дайаана Дмитриевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

профессор кафедры аналитической и медицинской химии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», доктор химических наук (02.00.11 – коллоидная химия), профессор

Н. Мельникова

Мельникова Нина Борисовна

Подпись Мельниковой Н.Б. заверяю.

603022, г. Нижний Новгород, проспект Гагарина, д. 23

Тел.: +79023092298

Электронная почта: melnikovanb@gmail.com

09.01.2024



Подпись Мельниковой Н.Б.
Заверяю: Ученый секретарь ННГУ
Л.Ю. Черноморская
Тел. 462-30-21