

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

заведующего кафедрой химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук (15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессора Кобелевой Татьяны Алексеевны по диссертации Хренкова Алексея Николаевича на тему «Химический состав и фитостимулирующее действие продуктов бактериальной деструкции ацетилсалициловой кислоты», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

### **Актуальность выполненного исследования**

В современных условиях резко обозначилась проблема фармацевтического загрязнения окружающей среды, особенно ее водных объектов. Ацетилсалициловая кислота (АСК) является одним из повсеместно детектируемых фармацевтических поллютантов. Ежегодное мировое потребление АСК составляет десятки тысяч тонн, что способствует неизбежному попаданию данного вещества в окружающую среду. В связи с этим необходимы методы детоксикации данного фармполлютанта. Приоритет по показателям эффективности и экологической безопасности признается за биотехнологическими способами разложения подобных загрязнителей. Работы по биоконверсии АСК проведены с использованием различных микроорганизмов. Однако исследования направлены в основном на изучение метаболических путей процесса биодegradации данного вещества. При этом существует явный недостаток информации о разработке методик анализа АСК и образующихся продуктов в процессе биодеструкции, скорости данного процесса, об обеспечении качества проводимых аналитических процедур и свойствах, в том числе биологической активности, образующихся продуктов. В

этой связи работа Хренкова А.Н., посвященная исследованию химического состава и фитостимулирующего действия продуктов биодеструкции АСК непатогенными актинобактериями рода *Rhodococcus*, безусловно актуальна.

#### **Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (номер государственной регистрации темы 01.9.50 007417).

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

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты работы соответствуют области исследования данной специальности, указанной в пункте 4 «Разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы».

#### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), четырех глав экспериментальной части, выводов, списка сокращений и списка цитируемой литературы, содержащего 202 источника, а также приложения. Работа изложена на 140 страницах машинописного текста, иллюстрирована 25 таблицами и 24 рисунками.

Содержание работы соответствует цели исследования и отражает последовательность выполнения поставленных автором задач.

**Во введении** обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи, представлена научная новизна, теоретическая и

практическая значимость работы, сведения об апробации и внедрении результатов, личный вклад автора, соответствие исследования паспорту специальности, сформулированы положения, выносимые на защиту.

**В первой главе** содержится обзор литературных данных, который посвящен анализу ситуации и перспективам переработки фармацевтических отходов. Представлены пути попадания лекарственных средств в окружающую среду, методы детектирования фармацевтических поллютантов, в том числе АСК, в объектах окружающей среде и биологических жидкостях. Показаны пути детоксикации АСК различными микроорганизмами. Отмечено, что возможным бактериальным метаболитом АСК является фумаровая кислота, фитостимулирующее действие которой указано в единичных публикациях. В конце главы представлены выводы, из которых следуют цель и задачи диссертационного исследования.

**Вторая глава** посвящена объектам, материалам и методам исследования. В главе подробно указаны использованные при проведении эксперимента приборы, реактивы, схемы, методики исследования химического состава и свойств продуктов биодеструкции АСК.

**В третьей главе** представлены результаты разработки методики определения содержания АСК в посферментационных средах родококков методом обращено-фазовой ВЭЖХ, а также результаты скрининга активного штамма-биодеструктора данного вещества. С использованием метода математического моделирования показано влияние концентраций АСК и вспомогательных веществ таблеток на скорость процесса биодеструкции.

**В четвертой главе** описаны результаты исследования химического состава продуктов биодеструкции АСК методами ТСХ и ВЭЖХ/МС. Представлены возможные пути метаболизма АСК клетками *R. jostii* ИЭГМ 60, один из которых приводит к образованию фумаровой кислоты. Разработан

лабораторный регламент получения продуктов биодеструкции АСК, содержащих фумаровую кислоту.

**В пятой главе** представлены результаты исследования свойств и биологической активности продуктов биодеструкции АСК в условиях как лабораторного, так и полевого экспериментов. Показано, что продукты биодеструкции АСК являются умеренно токсичными, мало опасными для окружающей природной среды и проявляют слабую антиоксидантную активность. Установлено, что данные продукты за счет наличия в их составе фумаровой кислоты оказывают положительный эффект на динамику накопления флавоноидов в траве зверобоя продырявленного.

В конце работы представлены выводы и перспективы использования полученных экспериментальных данных.

#### **Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность**

Диссертантом впервые разработана методика количественного определения содержания АСК методом обращено-фазовой ВЭЖХ в процессе биологической деструкции данного вещества. Проведен сравнительный анализ скорости процесса биодеструкции АСК в виде фармацевтической субстанции и таблеток с использованием метода математического моделирования. Установлено влияние ряда факторов, в том числе вспомогательных веществ таблеток, на продолжительность процесса биодеструкции АСК. На основании данных ТСХ и ВЭЖХ/МС определен химический состав продуктов биодеструкции и пути метаболизма АСК. Показано, что продукты бактериальной деструкции АСК являются умеренно токсичными и мало опасными для окружающей природной среды. Впервые показано фитостимулирующее действие данных продуктов на лекарственные растения на примере зверобоя продырявленного. Установлено, что фитостимулирующий эффект обусловлен присутствием в составе продуктов биодеструкции АСК фумаровой кислоты и зависит от ее концентрации.

Степень достоверности полученных результатов определяется большим объемом экспериментального материала, использованием комплекса современных методов анализа, валидации методик исследования и статистической обработки полученных результатов.

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

Степень обоснованности научных положений, сформулированных в диссертации, подтверждается логичным планированием ее экспериментальной части, выбором хроматографических, математических и других современных методов исследования, статистической обработкой полученных результатов. Выводы, представленные в диссертации, доказательны, обоснованы и вытекают из полученных результатов.

#### **Значимость результатов исследования для науки и практики, возможные пути их применения**

Полученные диссертантом данные о химическом составе и свойствах продуктов биодеструкции АСК дополняют имеющиеся сведения о бактериальных метаболитах лекарственных средств. Автором доказаны возможные пути метаболизма АСК актинобактериями рода *Rhodococcus*, сопровождающиеся образованием нетоксичных и мало опасных для окружающей природной среды продуктов.

Разработанная методика идентификации АСК и ее метаболитов в культуральных средах родококков методом ТСХ применяется в лабораторном практикуме студентов при изучении дисциплины «Аналитическая химия» в Пермской государственной фармацевтической академии. Методика количественного определения АСК методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в культуральных средах родококков апробирована в РИЦ «Фарматест» (г.Пермь). Методика количественного определения фумаровой кислоты в составе бактериальных метаболитов АСК методом ВЭЖХ/МС с положительным результатом апробирована в ФБУН «ФНЦ медико-профилактических

технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь. Разработан лабораторный регламент получения продуктов биодеструкции АСК, содержащих фумаровую кислоту, которые могут использоваться в качестве фитостимуляторов лекарственных растений.

### **Соответствие публикаций требованиям ВАК**

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 2 – в изданиях, входящих в утвержденный ВАК перечень.

### **Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы**

Следует отметить, что материал диссертационной работы изложен логично, последовательно и аргументировано. Замечаний по оформлению нет. Однако при чтении диссертации все же возникли некоторые вопросы:

1. Почему в диссертационной работе один и тот же процесс биологической деструкции ацетилсалициловой кислоты называется по-разному: бактериальная деструкция, биоконверсия, биodeградация?

2. Почему именно поливинилпирролидон выступает в качестве дополнительного источника питания для бактериальных клеток при биодеструкции таблеток ацетилсалициловой кислоты?

3. Отличаются ли метаболиты ацетилсалициловой кислоты, образующиеся в организме человека, от бактериальных метаболитов?

Данные вопросы носят уточняющий характер и не снижают ценности проведенного диссертантом исследования.

### **Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»**

Таким образом, диссертационная работа Хренкова Алексея Николаевича на тему «Химический состав и фитостимулирующее действие продуктов бактериальной деструкции ацетилсалициловой кислоты», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершённой

научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной задачи современной фармацевтической науки по установлению химического состава, свойств продуктов бактериальной деструкции ацетилсалициловой кислоты и разработке методов их анализа в биологических объектах.

Диссертационная работа Хренкова Алексея Николаевича соответствует требованиям пунктов 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018, с изм. от 26.05.2020), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Хренков Алексей Николаевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

#### Официальный оппонент

Заведующий кафедрой химии  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
образования «Тюменский государственный  
медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации,  
доктор фармацевтических наук (15.00.02 –  
фармацевтическая химия, фармакогнозия),  
профессор

Кобелева Татьяна Алексеевна

Адрес: 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, д. 54  
федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Тюменский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
8 (345) 220-89-65      моб. +7-912-925-11-60  
kobeleva@tyumsmu.ru

3 ноября 2020 г.

