

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
**«Пермская государственная
фармацевтическая академия»**
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России)
Юридический адрес: ул. Екатерининская, д.101,
г. Пермь, 614990
Почтовый адрес: ул. Полевая, д.2, г. Пермь, 614990
Тел/факс (342) 233-55-01; 236-90-50;
E-mail: perm@pfa.ru; <http://www.pfa.ru>
ИНН 5902291011; КПП 590201001

«Утверждаю»
Ректор
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Пермская государственная
фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук,
профессор
В.Г. Лужанин,



2025 г.

9	№ 1230/02-23-99
листо	06 10 2025
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации тел./факс +7(846) 374-10-03	

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертации Печинского Станислава Витальевича на тему «Теоретическое и экспериментальное обоснование модификации структуры некоторых ксантофиллов и флавоноидов путем энзимного синтеза», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Актуальность проблемы.

Среди первоочередных задач российского здравоохранения развитие фармацевтической отрасли, в частности синтез отечественных лекарственных средств, является ключевой проблемой. Комплексный подход, сочетающий передовые принципы «зеленого» синтеза и научно-практические рекомендации его применения, позволит создавать конкурентоспособные российские препараты.

Из 12 принципов «зеленой химии» наиболее приемлемым для использования синтетиками является оптимизация катализа, в частности применение энзимов. Этот тип катализаторов позволяет снизить себестоимость целевого продукта, повысить степень его чистоты за счет отказа от токсичных растворителей, минимизации использования вспомогательных веществ, возможности проводить синтез без нагревания и получить продукты реакции в форме только одного изомера.

При очевидных преимуществах биокатализа следует отметить крайне низкую степень разработанности этого направления в области синтеза отечественных субстанций для фармацевтического применения, что подтверждает актуальность и своевременность исследования Печинского С.В.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов.

Диссертационная работа Печинского С.В. характеризуется научной новизной. Автором предложен способ энзимного синтеза сложных эфиров астаксантина, лютеина и зеаксантина и синтезировано 21 соединение, 19 из которых получены впервые, что подтверждено патентами РФ «Синтез полусинтетических производных природных лютеина и астаксантина» (патент РФ № 2702005), «Синтез полусинтетических сложных эфиров природного зеаксантина (патент РФ № 2739248).

Впервые разработан способ получения субстанций лютеина и зеаксантина в форме *all-trans*-изомеров, что подтверждено патентом РФ

№ 2777890 «Хемоэнзимный способ получения *all-trans*-изомеров субстанций лютеина и зеаксантина».

Печинским С.В. разработан способ получения сложных эфиров флавоноидов и получено 22 соединения, 17 из которых синтезированы впервые, научная новизна этого фрагмента работы подтверждается патентом РФ № 2800457 «Синтез сложных эфиров флавоноидов нарингенина, кверцетина, гесперетина» и патентом РФ № 2806073 «Региоселективный энзимный синтез производных кверцетина и мирицетина».

Диссертантом впервые осуществлен региоселективный синтез сложных эфиров кверцетина и мирицетина (патент РФ № 2806073 «Региоселективный энзимный синтез производных кверцетина и мирицетина»).

Антиоксидантная активность синтезированных сложных эфиров лютеина, зеаксантина, астаксантина, нарингенина, кверцетина, гесперетина, мирицетина подтверждена экспериментом *in vitro* при взаимодействии с радикал-катионами ABTS^{•+}, выявлены соединения-лидеры.

Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций.

Достоверность и обоснованность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций достигнута благодаря использованию в работе современных физико-химических, химических, математических методов, методов *in silico* и *in vitro* и демонстрируется достаточным объемом экспериментальных данных и логично выстроенным дизайном исследования. Оценки результатов эксперимента и выводы сформулированы с учетом статистической обработки данных, что позволило автору получить воспроизводимые и достоверные результаты.

Обоснованность технических решений и параметров также обеспечивается инструментами математического планирования эксперимента с построением модели на основе уравнения регрессии первого порядка.

Полученные данные всесторонне проанализированы, результаты и их обсуждения приведены в соответствующих главах диссертации.

Значительный объем литературных данных, проанализированных автором и использованных при решении поставленных задач, также подтверждает убедительность заключений и выводов.

Апробация результатов диссертационного исследования проведена достаточно, о чем свидетельствует их представление и обсуждение на международных конференциях в Москве, Казани, Саратове, Пятигорске.

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, включая 11 статей, опубликованных в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ. Получено 5 патентов РФ.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата и печатных работ полностью соответствует материалам диссертации.

Значимость полученных результатов для науки и практики.

Значимость результатов диссертационной работы Печинского С.В. заключается в том, что с применением методов *in silico* на примере представителей двух обширных классов природных БАС – каротиноидов и флавоноидов – проведено теоретическое обоснование возможности химической модификации их структуры путем получения сложных эфиров.

Предложенные автором математические модели энзимного синтеза сложных эфиров ксантофиллов на примере лютеина, зеаксантина, астаксантина и флавоноидов на примере нарингенина, кверцетина, гесперетина, мирицетина способствуют дальнейшему масштабированию предложенных схем синтеза и их адаптации к производственным условиям.

Единый системный подход к разработке способов энзимного синтеза сложных эфиров на примере изученных ксантофиллов и флавоноидов

позволяет использовать предложенные условия для синтеза сложных эфиров других соединений этих классов.

Разработанный способ ферментативного синтеза субстанций лютеина и зеаксантина в форме *all-trans*-изомеров демонстрирует принципиальную возможность получения соединений в виде только одной геометрической формы, что может быть использовано для синтеза других соединений, которым присуще наличие геометрических изомеров.

Сравнительный анализ результатов антиоксидантной активности синтезированных соединений, полученных методом *in vitro* и теоретического прогноза *in silico* с определением влияния введенных ацильных фрагментов в молекулы исходных ксантофиллов и флавоноидов, дополняет уже имеющиеся данные по взаимосвязи структура-активность этих классов соединений.

Рекомендации по использованию результатов и выводов.

Дальнейшее промышленное масштабирование ферментативного синтеза производных ксантофиллов и флавоноидов рекомендуется внедрять в практическую работу отечественных производителей ЛС, что расширит номенклатуру ЛС природного происхождения, проявляющих антиоксидантную активность.

Основные результаты диссертации рекомендуется внедрять в практическую работу российских производителей синтетических субстанций для фармацевтического применения, характеризующихся наличием геометрических изомеров, что имеет принципиальное значение для уменьшения уровня токсичности таких ЛС за счет снижения или исключения содержания примесей «нежелательных» геометрических изомеров.

Значимым для практической и экспериментальной медицины будет дальнейшее установление специфической фармакологической активности синтезированных сложных эфиров и ее сравнение с активностью исходных ксантофиллов и флавоноидов, позволит провести более достоверную корреляционную оценку зависимости между теоретическим

прогнозированием взаимосвязи структура-активность *in silico* и экспериментом *in vivo* на модели взаимодействия с радикал-катионами ABTS^{•+}.

Теоретические положения, сформулированные в диссертационном исследовании целесообразно использовать в учебном процессе при преподавании дисциплин «Фармацевтическая химия», «Органическая химия».

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

Вопросы:

1. Как Вы осуществляли проверку модели, описанной в Вашей работе, взаимодействия лютеина с белком StARD3 методом молекулярного докинга? Каким образом кристаллографический снимок лиганда – лютеина, увеличивает точность модели?

2. К какому типу моделей «структура-активность» Вы можете отнести разработанную модель взаимодействия лиганда с белком STARD3 с использованием молекулярного докинга?

3. Для оценки разработанной Вами математической модели оптимизации параметров синтеза использован критерий Фишера, возможно ли использование, в рамках оценки, коэффициента корреляции прогнозных значений выхода дибензоата астаксантина с экспериментальными?

4. Почему нет доказательства структуры соединений с использованием ИК-спектров, в которых бы наблюдались полосы поглощения сложноэфирной группы? Хотя Вы предлагаете ИК-спектрометрию для идентификации в проектах ФС (в Приложении на стр. 351, 356, 361 и 366).

5. В проектах ФС (в Приложении) предложены методы ИК-спектрометрии и ВЭЖХ, в методиках которых указываете, что показатели соответствуют стандартному образцу. Вы получили стандартный образец?

6. Для прогноза биологической активности автор использует программу *PASS online*. Она предлагает разные способы оценки прогноза

активности, какую величину автор приводит в своей работе? Учитывалась ли при прогнозе величина p_i ?

7. Проводилась ли автором статистическая обработка данных? Каким образом? В таблице 6.1 приведено значение ТЕАС и не указано среднее квадратичное отклонение измерения. Также автор указывает, что активность соединений-лидеров превышает активность кверцетина и мирацестина. Можно ли считать данные отличия достоверными?

8. Почему в экспериментах в качестве препарата сравнения выбран Тролокс, ведь он не входит в Госреестр ЛС?

9. При оценке острой токсичности *in silico* программа выдает несколько значений LD_{50} для разных путей введения и для различных видов животных. Какая именно величина использовалась для сравнения и приведена в таблице 3.2? Проводились ли *in vivo* исследования? Насколько спрогнозированный результат может быть достоверным?

Замечания:

1. Стереоселективность реакции нужно показывать на схеме реакции, а также указывать конфигурацию асимметрических атомов углерода в химических названиях полученных соединений.

2. Рис. 4.19 (стр. 124) и рис. 5.13 (стр. 189) считаем неинформативными, так как на них отсутствуют данные интегрирования, а также невозможно определить мультиплетность сигналов.

3. В работе присутствуют технические ошибки в описании протонных спектров, например, автор пишет $Me^{13,13'}$ вместо $Me^{20,20'}$ и $Me^{9,9'}$ вместо $Me^{19,19'}$, не приводит значения химических сдвигов протонов ОН-групп для астаксантина, лютеина, зеаксантина; если сигнал прописывается в виде двух дублетов, то следует приводить две КССВ, в некоторых случаях автор указывает КССВ для мультиплетов, но не приводит ее для триплетов.

4. В описании масс-спектров следует указывать значения m/z не только молекулярного иона, но и фрагментных, а также интенсивность сигналов.

5. По тексту работы встречаются неудачные выражения при интерпретации спектров, например, *полосы поглощения* в ЯМР ^{13}C вместо сигналов, *сигналы циклогексановых фрагментов* ^{13}C спектра вместо сигналы химических сдвигов ядер атомов углерода .. и т.д.

6. В списке литературы выявлены дублирующиеся источники, а именно 64=65=66 (стр. 245), а также 189=190 (стр. 258) и 232=233 (стр. 263)

Однако вышеперечисленные замечания и вопросы носят уточняющий характер, не снижают достоинства работы, и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

Заключение.

Диссертационная работа Печинского Станислава Витальевича «Теоретическое и экспериментальное обоснование модификации структуры некоторых ксантофиллов и флавоноидов путем ферментативного синтеза», представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием по актуальной проблеме, результаты которой имеют существенное значение для современной фармацевтической науки.

В исследовании Печинского Станислава Витальевича решена крупная практическая проблема по использованию биокатализаторов в направленной модификации структур природных биологически активных соединений.

Диссертационная работа Печинского Станислава Витальевича соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 16.10.2024 № 1382), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв на диссертацию обсужден на заседании кафедры фармацевтической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 2 от «17» сентября 2025 г.).

Заведующий кафедрой фармацевтической химии
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Пермская государственная
фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор химических наук
(02.00.03. Органическая химия),
доцент

Замараева Татьяна Михайловна

22.09.2025

Подпись Замараевой Т.М.
заверяю Андрей В. Рубцов
(начальник отдела кадров)



С отзывом ознакомлен 06.10.2025