

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Анцуповой Татьяны Петровны, на диссертационную работу Горностай Татьяны Геннадьевны на тему: «Химический состав, способ получения и фармакогностическая характеристика мицелия *Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae)», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Диссертационный совет Д 999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

**Актуальность диссертационной работы.** В последние десятилетия в медицинской практике наблюдается все более широкое применение растительного сырья и получаемых из него препаратов. При этом наряду с высшими растениями, внимание ученых привлекают грибы, водоросли, лишайники как потенциальные источники различных биологически активных веществ (БАВ). В фунготерапии одним из наиболее распространенных и наиболее изученных является представитель базидиальных грибов – трутовик скошенный (*Inonotus obliquus* Ach.ex Pers.) Pilat, который формируется в основном на живых стволах разных видов березы. Экстракты и соединения из *I. obliquus* обладают широким спектром фармакологической активности: антиоксидантной, противоопухолевой, противовирусной, противовоспалительной и др. При этом другие виды трутовика до сих пор остаются мало изученными. В то же время известно, что химический состав растений и, следовательно, биологическая активность препаратов из растительного сырья могут значительно варьировать в зависимости от различных экологогеографических факторов, что создает сложности в стандартизации сырья. В связи с этим, тема диссертации Т.Г.Горностай, посвященная изучению химического состава и фармакогностической характеристике мицелия *I. rheades*, а также разработке способа его получения и метода стандартизации, является, несомненно, актуальной.

**Научная новизна исследований.** Научная новизна представленной диссертационной работы Т.Г.Горностай заключается в том, что автором впервые изучен химический состав мицелия трутовика листьевого - *I. rheades*. При этом выявлено присутствие стеролов, лупановых тритерпеноидов, полисахаридов, жирных кислот и стирилпионов. Из числа последних был выделен новый бис(стирилпион), названный реадинином, для которого определено строение и установлена структура. При изучении влияния различных факторов на содержание БАВ установлено, что в зависимости от использованного типа субстрата и варьирования светового режима происходят изменения в синтезе стирилпионов, водорастворимых полисахаридов, жирных кислот и терпеноидов, которые могут быть исследованы в биотехнологии получения эффективного лекарственного средства. Впервые показана способность мицелия *I. rheades* к биотрансформации бетулина в бетулиновую кислоту.

**Практическая значимость диссертационной работы.** Предложен способ получения мицелия трутовика лисьего сухого и установлены показатели его качества. Разработана методика количественного анализа гиспидина в мицелии *I. rheades* методом ВЭЖХ. На основании полученных данных разработан проект ФСП «Мицелий трутовика лисьего сухого». Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры химии и пищевой технологии имени проф. В.В.Тутурина ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет».

**Структура диссертации.** Диссертация изложена на 208 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания объектов и методов исследования (глава 2), экспериментальной части (3 главы), заключения, выводов, списка литературы и приложений. Список литературы включает 279 источников, из которых 241 - на иностранных языках. Работа иллюстрирована 18 рисунками и 32 таблицами.

Во введении соискатель обосновывает актуальность темы, указывает степень разработанности проблемы, формулирует цель и задачи исследований, обозначает новизну, практическую значимость проведенных исследований, степень внедрения и степень достоверности результатов, связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук и соответствие диссертации паспорту научной специальности, а также указывает положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлены сведения отечественной и зарубежной литературы о современном состоянии исследований представителей рода *Inonotus* P. Karst.: эколого-морфологическая характеристика ксилотрофных базидиомицетов, сведения по их химическому составу, влияние субстратного и светового факторов на химический состав базидиальных грибов, биологическая активность извлечений из различных видов трутовиков. Следует отметить, что в данной главе представлены качественные иллюстрации представителей рода *Inonotus*. Положительным является наличие раздела «Выводы к главе», в котором детально изложен массив полученных к настоящему времени научных данных и сформулированы оставшиеся нерешенными вопросы, подтверждающие актуальность исследования. Материалы главы свидетельствуют о хорошем знании автором предмета исследований.

Вторая глава посвящена описанию объектов и методов исследований. Для решения поставленных задач в работе были использованы методы выращивания мицелиальной массы на древесных дисках, а для определения химического состава - современные физико-химические методы анализа: спектрофотометрия, УФ-, ИК-, масс- и ЯМР-спектроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография. Полученные результаты количественных определений статистически обрабатывались. Все это свидетельствует о

хорошой экспериментальной подготовке диссертанта и ее интересе к поставленной проблеме.

В третьей главе приводятся результаты химического анализа мицелия *I. rheades*. Приводится обоснование выбора объекта, описание методов выделения отдельных фракций экстрактивных веществ мицелия *I. rheades* и химическая характеристика каждой фракции. Было получено 5 фракций и проведено исследование их биологической активности. Изучен компонентный состав трех наиболее активных фракций: гексановой (Ir-01), этилацетатной (Ir-03) и водной (Ir-05). Из фракции Ir-01 выделено 7 лупановых тритерпеноидов и 3 стерола. При этом тритерпеновые соединения являются доминирующими липофильными компонентами мицелия *I. rheades*. Из фракции Ir-03 было выделено и идентифицировано 6 стирилпиронов и 5 бис(стирилпиронов). Доминирующим в составе стирилпиронов был гиспидин. Из числа бис(стирилпиронов) было выделено новое соединение, названное реадинином, для которого установлена структура – 3,3'-этилиденбис[4-гидрокси-6-(4-гидроксистирил)-2Н-пиран-2-он]. Водная фракция Ir-05 отличалась высоким содержанием водорастворимых полисахаридов (ВРПС), которые были охарактеризованы диссертантом впервые. Диссидентом отмечено, что использование мицелиальной массы *I. rheades* в качестве источника биологически активных стирилпиронов имеет значительное преимущество перед использованием плодовых тел.

Четвертая глава посвящена исследованию влияния светового режима на химический состав мицелия *I. rheades*. Диссидентом представлены результаты влияния субстратного фактора на накопление лупановых тритерпеноидов, стирилпиронов и бис(стирилпиронов), а также ВРПС и жирнокислотный состав мицелия, которые свидетельствуют о том, что мицелий *I. rheades* способен дифференцированно накапливать указанные соединения из древесины *Betula pendula* и *Populus tremula*. Исследование влияния светового режима на накопление тех же БАВ в мицелии *I. rheades* показывает, что мицелий способен накапливать стирилпироны под действием света, с уменьшением их количества при облучении от синей к красной части спектра с почти полным их исчезновением в темноте. Показан также светозависимый характер биосинтеза полисахаридов определенных типов, а для моносахаридного состава установлено преобладание в темноте галактанов, а на свету – глюканов. Соискателю удалось показать биотрансформацию бетулина в бетулиновую кислоту под действием светового фактора. На основании представленных в данной главе результатов автором разработана технологическая схема получения мицелия трутовика лисьего сухого с использованием обработки светом для увеличения содержания действующего вещества – гиспидина.

В пятой главе изложены материалы по фармакогностическому исследованию мицелия *I. rheades*. Путем исследования микроскопического строения мицелия установлены диагностические признаки сырья, которые включены в проект ФСП. Далее изложены материалы по стандартизации сухого мицелия. Автором проведены исследования по установлению показателей подлинности и доброкачественности сырья, а также по разработке методики количественного определения гистидина в мицелии трутовика лисьего методом ВЭЖХ. Разработанные числовые показатели и нормы качества мицелия трутовика лисьего сухого включены в проект ФСП «Мицелий трутовика лисьего сухого».

Экспериментальная часть работы завершается разделом «Заключение», где диссертант обобщает и обсуждает основные положения проведенного исследования, сравнивает полученные результаты с имеющимися в литературе данными по изучаемому вопросу.

Далее сформулированы 4 вывода, соответствующие цели и задачам исследования. Заключение и выводы, приведенные в диссертации, полностью отражают содержание диссертации.

В Приложении приведены структуры фенольных соединений, результаты определения антигликозидазной активности лупановых тритерпенов, стирилпионов и бис(стирилпионов) мицелия *I. rheades*, антиоксидантного действия экстрактивных веществ мицелия *I. rheades* на растительные клетки *Thelungiella salsuginea* при тепловом стрессе, а также определение антикомплémentарной активности гетерополисахаридов мицелия. Далее представлен проект Фармакопейной статьи предприятия «Трутовик лисий *Inonotus rheades*» и материалы по внедрению результатов диссертационной работы.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов.** Задачи, поставленные диссидентом, соответствуют цели работы и подтверждаются результатами проведенных исследований. Выводы полностью согласуются с задачами. Большой объем выполненных исследований с использованием современных методов, статистическая обработка результатов свидетельствуют о достоверности и обоснованности научных положений и выводов диссертационной работы. В работе использованы методы анализа: спектрофотометрия, УФ-, ИК-, масс- и ЯМР-спектроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография. Полученные результаты количественных определений статистически обрабатывались. Результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на Международных, Всероссийских и Межрегиональных научных конференциях. Основные результаты и положения диссертационной работы опубликованы в 14 научных работах, в том числе 9

статей – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ. Достоинством диссертационной работы является то, что автором проведен глубокий анализ сведений литературы по теме диссертации, запланирован и выполнен большой объем экспериментальных исследований, что позволило получить объективные и достоверные результаты. Диссертационная работа хорошо оформлена, содержит достаточное количество иллюстративного материала.

Автореферат отражает содержание диссертации. В публикациях изложены основные результаты диссертационной работы.

**Вопросы, замечания, предложения.** Оценивая выполненную работу в целом положительно, следует отметить некоторые вопросы и замечания, касающиеся содержания и оформления работы.

1. Считаю, что глава 1 «Род *Inonotus* P. Karst.: описание, химический состав, биологическая активность (обзор литературы)» перегружена данными, которые затем не использованы в работе, и слишком детализирована. Например, раздел 1.4 «Биологическая активность ...» занимает 18 страниц (44% объема всей главы) и включает 13 подразделов, в которых подробно описываются виды биологической активности, хотя это не указано в задачах диссертационной работы.
2. В той же главе 1 в разделе 1.2 «Химический состав видов рода *Inonotus* P. Karst.» включены виды, которые не описаны ранее, непонятно, где встречаются (*I. xeranticus*, *I. clemensiae*, *I. cuticularis*) и неясно, какая информация заложена, например, в таких данных (с. 20): «Содержание общих фенолов *I. clemensiae* и *I. cuticularis* составляет 643,2 и 102,8 мг-экв/г галловой кислоты»?
3. Как можете объяснить большее содержание стирилпиронов в мицелии по сравнению с их содержанием в плодовых телах (таблица 9), если в дальнейшем сделан вывод о том, что образование данного класса веществ светозависимо?
4. Из текста диссертации непонятно, каким образом производится заготовка древесного субстрата, а также место сбора древесины и возраст древесных пород, используемых для культивирования мицелия.
5. В диссертации встречаются опечатки и ошибки (с. 7, 13, 43, 62, 81, 100, 105, 107, 114...). Также при первом упоминании латинских названий ботанических объектов (растений, грибов, микроорганизмов) необходимо указывать полное название рода и вида. Однако в диссертации при первом упоминании (с. 24, 25) отсутствует название рода (*H. coralloides*, *H. ulmarius*, *T. versicolor*) поэтому непонятно, о каких объектах идет речь.

**Заключение.** Диссертационная работа Горностай Татьяны Геннадьевны на тему «Химический состав, способ получения и фармакогностическая характеристика мицелия

*Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae)» является завершенной научно-квалификационной работой, самостоятельно выполненной на современном научно-методическом уровне, и содержит решение важной задачи в области фармацевтической химии и фармакогнозии по поиску новых природных источников биологически активных веществ.

По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Т.Г.Горностай соответствует требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. за № 842), а ее автор Горностай Татьяна Геннадьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Доктор биологических наук (03.02.01 – Ботаника),  
Профессор кафедры «Неорганическая и  
аналитическая химия» Федерального  
государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Восточно - Сибирский государственный  
университет технологий и управления»  
Министерства науки и высшего  
образования РФ, Доктор биологических  
наук (03.02.01 – Ботаника)

 Анцупова Татьяна Петровна

670013, Республика Бурятия,  
г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, д.40В,  
строение 1  
телефон: 89148467386  
факс: 8 (3012) 41-71-50  
e-mail: [office@esstu.ru](mailto:office@esstu.ru),  
e-mail: [antsupova-bot@mail.ru](mailto:antsupova-bot@mail.ru)

18.11.2019.

