

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 99.0.027.03,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ РОССИЙСКОГО ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО  
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО  
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ТВЕРСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
ТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМЕНИ  
Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело

№ \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета  
от «31» января 2022 года № 1

О присуждении Китаевой Марии Петровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Клеточная культура *Podophyllum peltatum* L. как продуцент биологически активных веществ, обладающих цитотоксической активностью» по специальности 1.5.6. Биотехнология принята к защите «22» ноября 2022 года (протокол заседания № 11) диссертационным советом 99.0.027.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственной технической университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук (125047, Москва, Миусская площадь, 9, приказ о создании диссертационного совета от «28» сентября 2016 года №1172/нк).

Соискатель Китаева Мария Петровна, «16» марта 1982 года рождения. В 2013 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). В 2022 году освоила программу подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». Работает научным сотрудником лаборатории атомарно-молекулярной биорегуляции и селекции Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории биотехнологии Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – доктор медицинских наук Федотчева Татьяна Александровна, главный научный сотрудник Научно-исследовательского центра Медико-биологических проблем Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений, главный научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории молекулярной фармакологии Научно-исследовательского института трансляционной медицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова».

Официальные оппоненты:

- **Загоскина Наталья Викторовна**, доктор биологических наук, профессор, заведующий группой фенольного метаболизма растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук;

- **Чердниченко Михаил Юрьевич**, кандидат биологических наук, доцент, исполняющий обязанности заведующего кафедрой биотехнологии Федерального государственного бюджетного



образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»;

дали **положительные** отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» (Москва) в своем **положительном** отзыве, подписанном Суслиной Светланой Николаевной, доктором фармацевтических наук, доцентом, заведующим кафедрой Общей фармацевтической и биомедицинской технологии, указала, что по объему выполненных исследований, научному и методическому уровню их проведения, актуальности, новизне, значимости для науки и практики полученных результатов диссертационная работа «Клеточная культура *Podophyllum peltatum* L. как продуцент биологически активных веществ, обладающих цитотоксической активностью», представленная на официальное оппонирование, полностью удовлетворяет требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в редакции от 26.09.2022), предъявляемым ВАК Министерства науки и высшего образования РФ к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор – Китаева Мария Петровна – заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология (отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры Общей фармацевтической и биомедицинской технологии «5» декабря 2022 года, протокол № 4).

Соискатель имеет 21 опубликованную работу, в том числе по теме диссертации опубликована 21 работа, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 работы. Общий объем публикаций составляет 95 страниц. **В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах.** 15 работ опубликовано с соавторами. Личный вклад в работы, опубликованные в соавторстве, составляет не менее 80 %, и состоит в разработке концепции исследования, постановке задач, выполнении исследований и интерпретации полученных результатов. Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на 16 международных и всероссийских научных конференциях и форумах; монографий и депонированных рукописей соискатель не имеет.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Китаева М.П.,** Савина Т.А., Федотчева Т.А. Влияние условий экстрагирования на состав смолы подофиллин, полученной из суспензионной культуры *Podophyllum peltatum* // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23. – № 7. – С. 30-34 (ВАК).

2. **Китаева М.П.,** Аксенов А.А., Федотчева Т.А., Семейкин А.В., Шимановский Н.Л. Цитотоксическая активность экстрактов, полученных из интактного растения и клеточной культуры *Podophyllum peltatum*, в отношении клеток рака шейки матки // Химико-фармацевтический журнал. - 2022. - № 3(56). - С. 29-33 (Scopus, Web of Science).

На диссертацию и автореферат поступило 9 отзывов, **все положительные.** В отзывах указывается, что представленная к защите диссертационная работа характеризуется высокой актуальностью, научной ценностью и имеет большое значение для теории и практики биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации. Отзывы направили:

1. Мухордова Мария Евгеньевна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Омский аграрный научный центр».

2. Миронова Галина Дмитриевна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией митохондриального транспорта Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

3. Иванова Инга Юрьевна, кандидат сельскохозяйственных наук, заместитель директора по научной работе, руководитель группы селекции и семеноводства Чувашского научно-исследовательского института сельского хозяйства – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого».



4. Худокормов Александр Александрович, кандидат биологических наук, заведующий кафедрой генетики, микробиологии и биохимии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный университет».

5. Смирнов Валерий Валерьевич, доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий научно-производственным комплексом Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России.

6. Шевченко Сергей Николаевич, академик РАН, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник, и Милехин Алексей Викторович, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией биотехнологии Самарского научно-исследовательского института сельского хозяйства имени Н.М. Тулайкова – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

7. Горбачева Любовь Руфэлевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

8. Цугкиев Борис Георгиевич, доктор сельскохозяйственных наук, заведующий кафедрой биотехнологии и стандартизации, и Гагиева Лариса Черменовна, доктор биологических наук, доцент кафедры биотехнологии и стандартизации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет».

Отзывы 1-8 замечаний не содержат.

9. Сопрунова Ольга Борисовна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой прикладной биологии Института рыбного хозяйства, биологии и природопользования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Астраханский государственный технический университет». В качестве замечания отмечается, что в автореферате не приведены ссылки на источники, которые использованы автором при выборе и представлении методов исследования.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются признанными специалистами в данной области биотехнологии, что подтверждается наличием соответствующих публикаций в ведущих научных рецензируемых изданиях, а также спецификой и профилем диссертационной работы, и выполнен в соответствии с пп. 22 и 24 «Положения о присуждении научных степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 в действующей редакции).

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:** определены морфологические характеристики и физиологические особенности роста суспензионных культур, полученных из почки, плода и корня растения; предложен способ экстракции, позволяющий извлечь из биотехнологического сырья целевые фенольные соединения, определяющие цитотоксическую активность, а также валидный метод определения цитотоксической активности экстрактов органов растений и клеточных культур; проведен сравнительный анализ цитотоксической активности экстрактов клеточных культур и органов растений; определены состав и содержание фенольных соединений суспензионных культур и проведено сравнение их с составом и содержанием фенольных соединений каллусных культур и органов растения; выбран штамм суспензионной культуры, перспективный с точки зрения получения противоопухолевого лекарственного сырья, проведена идентификация содержащихся в нем фенольных соединений на протяжении всего срока культивирования.

**Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что:** описаны новые типы сырья с противоопухолевой активностью – суспензионные культуры *P. peltatum* ФГБНУ ВИЛАР; обоснован выбор резазурин-теста (по сравнению с МТТ-тестом) для оценки цитотоксической активности экстрактов *P. peltatum* L. в отношении клеток HeLa; предложен усовершенствованный способ экстракции и определения цитотоксической активности экстрактов; в экстрактах органов растения и культур *P. peltatum* идентифицированы производные эллаговой, галловой и кофейной



кислот; получены зависимости изменения состава фенольных соединений в суспензионной культуре из корня *P. peltatum* от срока культивирования.

**Значение полученных соискателем результатов исследований для практики подтверждается тем, что:** на основе полученных результатов обоснованы критерии оптимизации процесса культивирования исследуемых культур клеток, предложены варианты усовершенствования клеточной культуры *P. peltatum* как продуцента фенольных соединений с цитотоксической активностью; для извлечения комплекса фенольных соединений из суспензионной культуры *P. peltatum* использован 80 % водный раствор ацетона, причем цитотоксический эффект ацетоновых экстрактов оказался выше, чем при использовании таких экстрагентов, как хлороформ, метиловый и этиловый спирт, фосфатный буферный раствор; экспериментальные данные и методические приемы, используемые в работе, введены в спецкурсы для студентов фармацевтического и медико-биологического факультетов Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Разработан альтернативный биотехнологический способ получения растительного сырья для фармацевтической промышленности. Возможность масштабирования суспензионной культуры позволяет экономить биологические сельскохозяйственные ресурсы страны.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

- результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;
- теория построена на известных проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- достоверность полученных результатов обеспечена использованием современных методов эксперимента, соответствующих современному научному уровню;
- выводы диссертации обоснованы, не вызывают сомнения и согласуются с современными подходами к выбору объектов и методов.

**Личный вклад соискателя состоит** во включенном участии на всех этапах процесса: поиске и анализе научной литературы, постановке основных задач исследования, проведения всех экспериментов и получении исходных данных, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты диссертации были заданы **следующие вопросы:**

1. Был ли использован контроль при определении цитотоксической активности экстрактов, полученных на 80 %-м водном растворе ацетона? Вы лили 80 %-й ацетон на клетки?
2. Опишите методы экстракции. Рассматривали ли другие концентрации ацетона?
3. Почему Вы взяли именно этот объект исследования? Расскажите предысторию его исследования.
4. Это дикорастущее или культивируемое растение?
5. Как Вы думаете, в результате будет получено лекарственное средство или БАД?
6. Какие математические методы были использованы в работе?
7. Почему на рисунке, обозначающем рост культуры, указано, что в один этап рост носит экспоненциальный характер, а в другой – прямолинейный? Достаточно ли для этого двух-трех точек?
8. Чьи фибробласты использовались в работе?
9. Клеточные линии, используемые в работе, - первичные или вторичные, пассируемые?

Соискатель Китаева М.П. ответила на заданные ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

**На первый вопрос автор ответила,** что контроль был использован. В качестве контроля применяли растворитель, в котором растворяли высушенный экстракт. Клетки инкубировали с



раствором, полученным при растворении сухого экстракта, полученного отгонкой 80 %-го водного раствора ацетона, в одном из четырех экстрагентов (дистиллированная вода, спирт двух концентраций и ДМСО).

**На второй вопрос автор подробно описала** процесс экстракции с указанием физических условий, пояснила, что водный раствор ацетона использовали только в концентрации 80 % на основании методики, позволяющей эффективно извлечь фенольные соединения из лекарственного растительного сырья.

**На третий вопрос автор указала**, что растение было обнаружено в Северной Америке, где традиционно применяется в лечебных целях местными племенами; сообщила, что растение изучается в России, США, Бразилии с середины XX века, что в 1981 году из растения впервые была получена каллусная клеточная культура, что в 50-х годах XX века в Ленинградской и Московской областях культивировали это растение, и из корневищ с корнями растения получали препарат подофиллин, который использовался для лечения генитальных кондилом, а также в педиатрической онкотерапии; обозначила, что за рубежом в настоящий момент изучается геном растения.

**На четвертый вопрос автор ответила**, что есть и дикорастущие растения данного вида, и культивируемые сорта.

**На пятый вопрос автор пояснила**, что при лечении опухолевых заболеваний биологически активные добавки применять очень опасно, поэтому планируется получение лекарственного препарата.

**На шестой вопрос автор перечислила** применяемые в работе статистические методы: стандартная описательная статистика, рассчитанная в программе Excel; U-критерий Манна-Уитни, используемый для сравнения полученных в экспериментах данных.

**На седьмой вопрос автор уточнила**, что «экспоненциальный» и «линейный» рост – это не математические термины, но термины биотехнологии растений. Поэтому на одном рисунке возможно сосуществование обоих этих этапов, полученных на небольшом количестве данных.

**На восьмой вопрос автор ответила**, что в работе использовали крысиные фибробласты.

**На девятый вопрос автор обозначила**, что клетки HeLa и K562 являются вторичными, пассируемыми, а фибробласты – первичными.

На заседании «31» января 2023 года диссертационный совет за решение научной задачи по изучению суспензионных клеточных культур *Podophyllum peltatum* L. как альтернативных источников сырья для получения противоопухолевых лекарственных препаратов, имеющей существенное значение для развития биотехнологии, принял решение присудить Китаевой Марии Петровне ученую степень кандидата биологических наук.

Диссертация соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции). По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология по направлениям исследования «Системы выращивания клеточных культур растений и животных для направленного синтеза биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, биологически активных соединений» и «Оценка качества и безопасности новых видов продуктов, полученных биотехнологическими методами; методы контроля подлинности биотехнологических продуктов». Результаты работы могут быть рекомендованы для изучения и внедрения в научных и образовательных организациях, а также в медицинских и фармацевтических организациях, занимающихся вопросами онкотерапии.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 16 докторов наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17 (семнадцать), против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета  
Ученый секретарь диссертационного совета



*Виктор Иванович Панфилов*  
*Ирина Васильевна Шакир*

Виктор Иванович Панфилов  
Ирина Васильевна Шакир

*И.А. Водяниченко* 31.01.2023