АННОТАЦИЯ
к диссертационной работе Изаза Ахмада на тему «Использование передовых спектроскопических и хроматографических методов для исследования биотрансформации стероидных препаратов и фитохимических компонентов *Tussilago farfara* L.», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе “8D05301 – Химия”

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена исследованию фитохимического состава растения *Tussilago farfara* L. с использованием современных спектроскопических и хроматографических методов, а также изучению микробной биотрансформации выбранных стероидных соединений с применением грибных систем. Кроме того, в работе проводится оценка биологической активности как выделенных фитохимических соединений, так и продуктов их биотрансформации.

Актуальность исследования. *Tussilago farfara* (мать-и-мачеха)-лекарственное растение, представляющее устойчивый и экологически безопасный источник для фармацевтических исследований. В составе *T. farfara* идентифицировано более 180 соединений, включая фенольные кислоты, алкалоиды, флавоноиды, терпеноиды, хромоны и летучие масла, многие из которых обладают противовоспалительной, антиоксидантной, противовирусной и нейропротекторной активностью. Таким образом, исследование *T. farfara* открывает возможности использования данного растения как природного и возобновляемого источника биологически активных соединений, тогда как микробная биотрансформация выбранных стероидных субстратов представляет собой дополнительную (комплементарную) стратегию. Оба подхода способствуют развитию экологически безопасного производства лекарственных средств, устойчивого поиска лекарств и принципов «зеленой химии». Наряду с исследованиями лекарственных растений, микробная биотрансформация является дополнительным и столь же устойчивым методом структурной модификации и повышения активности биоактивных соединений. В современной биотехнологии и разработке лекарственных средств этот метод приобретает всё большее значение. Он использует живые организмы — грибы, бактерии и клеточные культуры растений — для структурной модификации сложных органических соединений, включая многофункциональные, хиральные и инертные молекулы, обычно в водной среде, что делает процесс экономически выгодным и масштабируемым. Кроме того, данный подход обеспечивает высокую энантио-, хемо-, стерео- и региоселективность, позволяя осуществлять точные молекулярные модификации. Метод также соответствует принципам зеленой химии, поскольку приводит к образованию минимального количества нетоксичных отходов. В связи с этим микробная биотрансформация имеет важное значение в различных отраслях, включая фармацевтику, сельское хозяйство, пищевую промышленность и экологический менеджмент. В условиях растущей

потребности в экологически безопасных и устойчивых методах разработки лекарственных препаратов микробная трансформация становится важным инструментом получения новых биологически активных соединений.

Основной целью диссертационной работы является использование передовых спектроскопических и хроматографических методов для изучения фитохимического состава *Tussilago farfara* L., исследовании микробной биотрансформации выбранных стероидных соединений с использованием грибных систем экономически эффективным и экологически устойчивым способом, а также в оценке биологической активности выделенных фитохимических соединений и полученных биотрансформированных производных.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. исследовать и отобрать лекарственное растение *Tussilago farfara* L., а также штаммы грибов *Fusarium oxysporum* и *Penicillium chrysogenum*, перспективные для устойчивого создания лекарственных средств;
2. провести систематическую экстракцию, фракционирование, выделение и очистку вторичных метаболитов из *Tussilago farfara* L., а также получить и очистить биотрансформированные грибами стероидные метаболиты с использованием хроматографических методов;
3. установить химическую структуру выделенных соединений из *Tussilago farfara* L., и биотрансформированных стероидных производных с применением современных спектроскопических и спектрометрических методов;
4. оценить *in vitro* антилейшманиозную активность (ингибирование PTR-1) соединений растительного происхождения, а также антиароматазную активность выделенных биотрансформированных метаболитов;
5. подтвердить и обосновать экспериментальные биологические результаты для растительных соединений и биотрансформированных стероидов с использованием *in silico* методов, включая молекулярный докинг, молекулярную динамику и расчёт энергии связывания.

Объект исследования. Выделение и характеристика вторичных метаболитов из надземной части лекарственного растения *Tussilago farfara* L., а также микробная биотрансформация метилпреднизолона ацетата с использованием грибов *Fusarium oxysporum* и *Penicillium chrysogenum*.

Методы исследования. В работе применён комплекс современных методов исследования, включающий хроматографические методы (ВЭЖХ и ультра-ВЭЖХ) для выделения и очистки биологически активных соединений из *T. farfara* и продуктов биотрансформации. Для установления структуры использовались спектроскопические методы, включая ЯМР-спектроскопию (1D: ^{1}H, ^{13}C; и 2D-NMR), а также масс-спектрометрию (EI-MS, ESI-MS, FAB-MS), Фурье-ИК-спектроскопию (FT-IR) и УФ-видимую спектроскопию (UV-Vis). Также были проведены *in vitro* и *in silico* исследования для оценки анти-лейшманиальной и антиароматазной активности биологически активных соединений.

Для выделения и очистки биологически активных соединений из *T. farfara* и биотрансформированных метаболитов был использован комплексный методологический подход, включающий передовые хроматографические методы, такие как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и ультраэффективная жидкостная хроматография (УЭЖХ). Структурное исследование проводилось с использованием спектроскопических методов, включая 1D (^{1}H и ^{13}C) и 2D-ЯМР, а также масс-спектрометрию (EI-MS, ESI-MS и FAB-MS), инфракрасную (FT-IR) и УФ-видимую спектроскопию с преобразованием Фурье. Кроме того, были проведены исследования *in vitro* и *in silico* для оценки антилейшманиальной и антиароматазной активности биологически активных соединений *T. farfara* и биотрансформированных производных, соответственно.

Гипотезы исследования

1. *Tussilago farfara L.* содержит широкий спектр структурно разнообразных биологически активных вторичных метаболитов с потенциальной антилейшманиозной активностью.

2. Биотрансформация выбранного стероидного субстрата с участием грибов обеспечивает получение новых структурно модифицированных производных с повышенной ингибирующей активностью в отношении ароматазы.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Растительное сырьё *Tussilago farfara* L. содержит структурно разнообразные соединения (1–20), включая простые фенольные кислоты, флавоноиды и производные кофейлхиновой кислоты, такие как ванилиновая кислота (1), (1S,3R,4R,5R)-3,5-ди-*O*-кофеоилхиновая кислота (14) и метиловый эфир 3,4,5-три-*O*-кофеоилхиновой кислоты (20).

2. Микробная биотрансформация выбранного стероидного субстрата с использованием грибковых штаммов *Fusarium oxysporum* и *Penicillium chrysogenum* приводит к региоселективным и стереоселективным структурным превращениям с образованием одного нового метаболита - 20-(4′,5′-диметил-1′,3′-диоксолан-2-ил)-11β-гидроксипрегн-4-ен-3,20-диона - и семи ранее известных метаболитов.

Основные результаты исследования, основанные на фитохимическом анализе *Tussilago farfara* L. и биотрансформации метилпреднизолона ацетата, заключаются в следующем:

1. Применение *Tussilago farfara* L. и грибных штаммов *Fusarium oxysporum* и *Penicillium chrysogenum* показало высокую эффективность, обеспечив успешное выделение разнообразных фитохимических соединений и эффективную биотрансформацию метилпреднизолона ацетата с образованием структурно модифицированных метаболитов.

2. Современные хроматографические методы, включая тонкослойную хроматографию (ТСХ), колоночную хроматографию, хроматографию на Sephadex LH-20, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и ультраэффективную жидкостную хроматографию (УЭЖХ), позволили успешно

провести экстракцию, фракционирование и выделение двадцати вторичных метаболитов (1–20) из *Tussilago farfara* L. Кроме того, в результате микробной трансформации метилпреднизолона ацетата были получены восемь метаболитов, включая один новый метаболит (2) и семь ранее известных метаболитов (3–9).

3. Структуры всех выделенных соединений и метаболитов были установлены с использованием комплекса современных спектроскопических и спектрометрических методов, включая ^{1}H ЯМР, ^{13}C ЯМР, двумерную ЯМР-спектроскопию, HRMS, EI-MS, FAB-MS, ИК-спектроскопию и УФ/видимую спектроскопию. Установлено, что соединения 1, 14 и 20 впервые описаны для данного вида. В процессе биотрансформации происходили ключевые структурные изменения, включая гидроксилирование, расщепление сложных эфиров и восстановление кетогрупп.

4. Результаты биологической оценки показали, что соединения 15–18 проявили умеренную ингибирующую активность в отношении фермента *Lm*PTR-1, при этом соединение 18 продемонстрировало наибольшую активность с значением IC_{50} = 81,9 ± 1,12 мкМ. Кроме того, в исследовании биотрансформации исходный субстрат 1 и его метаболиты продемонстрировали перспективную антиароматазную активность. Среди них метаболит 4 показал наиболее выраженную ингибирующую активность (IC_{50} = 69,32 ± 0,17 нМ), превзойдя по эффективности как исходный субстрат 1, так и стандартный препарат экземестан в условиях проведённого эксперимента.

5. Результаты компьютерного моделирования, включая молекулярный докинг, молекулярную динамику и анализ MM-GBSA, подтвердили наличие прочных и стабильных взаимодействий соединений с целевыми ферментами. Производные кофеоилхинной кислоты (15–18) продемонстрировали стабильные взаимодействия с ферментом PTR-1, тогда как стероидные метаболиты (2–9), особенно соединения 2 и 4, характеризовались высокой аффинностью связывания с ароматазой, что подтверждает их высокий ингибирующий потенциал.

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые из растения *Tussilago farfara* L. были выделены соединения 1, 14 и 20, что существенно расширяет современные представления о фитохимическом составе данного лекарственного растения. Кроме того, впервые была проведена микробная биотрансформация метилпреднизолона ацетата с использованием штаммов *Fusarium oxysporum* и *Penicillium chrysogenum*, в результате которой был получен новый метаболит (2). Также впервые выполнена комплексная оценка анти-лейшманиальной и антиароматазной активности выделенных соединений с применением методов *in vitro* и *in silico*, что позволило выявить их потенциальную биологическую активность и перспективность для дальнейших фармакологических исследований.

Теоретическая и практическая значимость работы. Данное исследование объединяет два важных направления современной химии: фитохимию лекарственных растений и биотрансформацию выбранных стероидных субстратов, которые изучены с применением современных спектроскопических,

хроматографических и вычислительных методов. Кроме того, в рамках данного исследования были выявлены природные соединения, обладающие измеримой анти-лейшманиозной активностью в отношении *Lm*PTR-1, что создает основу для дальнейших исследований по оптимизации структуры и фармакологической активности перспективных соединений-лидеров. Параллельно проведённое исследование микробной биотрансформации стероидных лекарственных препаратов продемонстрировало способность микроорганизмов образовывать структурно модифицированные производные с повышенной биологической активностью на основе уже известных лекарственных соединений, таких как метилпреднизолона ацетат.

В совокупности эти взаимодополняющие подходы создают перспективную основу для разработки новых лекарственных средств в двух важных направлениях: терапии забытых тропических заболеваний посредством ингибирования PTR-1 и терапии гормонозависимых онкологических заболеваний посредством ингибирования ароматазы.

Личный вклад автора. В ходе выполнения диссертационного исследования автором было опубликовано четыре научные статьи, из которых три являются оригинальными исследовательскими статьями и одна - обзорной статьей. Первая обзорная статья опубликована в журнале Natural Product Research (Q2, percentile 78, CiteScore 5.2), вторая оригинальная статья — также в журнале Natural Product Research (Q2, percentile 78, CiteScore 5.2), третья статья опубликована в журнале Eurasian Chemico-Technological Journal (Q3, percentile 33, CiteScore 1.7), а четвертая статья — в журнале Journal of Molecular Structure (Q2, percentile 84, CiteScore 8.0).

1. I. Ahmad, B. Kudaibergenova, M. Ahmad, M. Sadia, M.I. Choudhary, S. Hafez-Ghoran. *Coltsfoot (Tussilago farfara* L.*; Asteraceae):* modern methods of extraction, phytochemistry, nanoparticles synthesis, ethnopharmacology, and biological activities. Natural Product Research, (2025) 1–20.DOI: https://10.1080/14786419.2025.2548616. Изаз Ахмад является первым автором статьи и отвечал за подготовку первоначального текста, разработку методологии исследования, проведение экспериментов, формальный анализ данных и формирование концепции исследования.

2. I. Ahmad, S. Hafez-Ghoran, M. Yousuf, H. Zafar, Atia-tul. Wahab, S. Yousuf, M. Ahmad, I. Gul, B. Kudaibergenova, M.I. Choudhary. Caffeoylquinic acid derivatives isolated from *Tussilago farfara* L. as potential anti-leishmanial agents; *in vitro* and *in silico* studies. Natural Product Research, (2026) 1–9. DOI: https://10.1080/14786419.2026.2613766. Изаз Ахмад является первым автором статьи и отвечал за написание первоначального текста, методологию исследования, проведение экспериментальных работ, формальный анализ и разработку концепции исследования.

3. I. Ahmad, M. Atif, G. Aldibekova, D. Balpanova, H. Zafar, M. Sadia, M. Ahmad, W. Atia-tul, B. Kudaibergenova, M.I. Choudhary. Aromatase (CYP19A1) inhibitory activity of coltsfoot *(Tussilago farfara* L.*)* phytochemicals: *in vitro and in*

silico evaluation. Eurasian Chemico-Technological Journal, 27 (2025) 315–321. DOI: https://10.18321/ectj1678. Изаз Ахмад является первым автором статьи и принимал непосредственное участие в разработке методологии исследования, проведении экспериментальных работ, анализе полученных данных и подготовке текста статьи.

4. I. Ahmad, M. Atif, B. Kudaibergenova, H. Zafar, S. Hafez-Ghoran, W. Atia-tul, M. Ahmad, M. Sadia, S. Ali, M.I. Choudhary. Fungal-mediated transformation of methylprednisolone acetate into potent aromatase inhibitors: *in vitro and in silico* studies. Journal of Molecular Structure, (2026) 145890. DOI: https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2026.145890. Изаз Ахмад является первым автором статьи и отвечал за подготовку первоначального текста, проведение экспериментов, методологическую разработку, анализ результатов и формирование концепции исследования.