

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу

Прожогиной Юлии Эдуардовны

«Глубокие эвтектические растворители как альтернативные экстрагенты биологически активных веществ из растительной композиции», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств (фармацевтические науки)

**Актуальность темы исследований.** Использование экстракционных лекарственных препаратов в медицинской практике (экстракты сухие, густые и жидкие, настойки и др.), а также выделенных из растительного сырья отдельных биологически активных веществ (БАВ) или групп БАВ ставит перед производителями этих лекарственных средств актуальную задачу повышения эффективности процесса экстрагирования. Применяемые в настоящее время органические экстрагенты летучи, в ряде случаев огнеопасны, могут быть токсичны для человеческого организма и наносить вред окружающей среде. Вопросы замены классических экстрагентов, таких как спирт этиловый различных концентраций, хлороформ, четыреххлористый углерод и др. на современные, безопасные и эффективные растворители решаются сегодня исследователями во всем мире. В настоящее время в качестве перспективных экстрагентов активно изучаются глубокие эвтектические растворители (ГЭР). В большинстве своем они представляют собой экологически чистые эвтектические смеси, обладающие способностью извлекать различные БАВ из лекарственного растительного сырья.

**Цель диссертационного исследования** - теоретическое обоснование и экспериментальное исследование возможности экстракции БАВ из модельной растительной композиции с применением глубоких эвтектических растворителей (ГЭР).

В соответствии с поставленной целью Прожогиной Ю.Э. были сформулированы и последовательно решены задачи исследования.

**Научная новизна исследования.** В работе определен оптимальный с точки зрения экстрагирующей способности состав глубокого эвтектического растворителя, как потенциального экстрагента БАВ из модельной растительной композиции.

Впервые, с применением методов дифференциальной спектрофотометрии и ультраэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией, установлен компонентный состав БАВ, извлекаемых из модельной растительной композиции с помощью спирта этилового 70% и выбранного состава глубокого эвтектического растворителя.

Диссертантом проведена сравнительная оценка экстрагирующей способности спирта этилового 70% и ГЭР выбранного состава на примере экстрагирования БАВ фенольной природы из многокомпонентной модельной растительной композиции.

Новизна работы подтверждена двумя патентами на изобретения – способы экстракции БАВ из растительного сырья с применением в качестве экстрагентов глубоких эвтектических растворителей с необходимостью дальнейшего удаления экстрагента (Патент № 2782459 С1, Патент № 2794516 С1).

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

Диссертационная работа Прожогиной Ю.Э. соответствует паспорту научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств (фармацевтические науки), а именно пункту: 2 – «Проектирование и разработка технологий получения фармацевтических субстанций и лекарственных форм, утилизация производственных отходов с учетом экологической направленности. Стандартизация и валидация процессов и методик, продуктов и материалов. Оптимизация организационных и технологических процессов при разработке и получении лекарственных средств».

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость работы заключается в том, что получены экспериментальные данные о возможности извлечения БАВ фенольной природы из модельной растительной композиции, в состав которой входят: 4 части травы пустырника обыкновенного, 2,5 части травы зверобоя продырявленного, 2,5 части травы Melissa лекарственной, 1 часть травы тимьяна ползучего, с помощью ГЭР. Обоснован выбор состава ГЭР по критерию экстрагирующей способности. Показано, как внешние факторы влияют на эффективность процесса экстракции.

В работе описаны преимущества и недостатки полученных составов экспериментальных образцов ГЭР. Разработана технологическая инструкция на процесс экстрагирования ГЭР БАВ из модельной растительной композиции. Предложена технологическая схема процесса экстракции БАВ из модельной растительной композиции с применением в качестве экстрагента выбранного по критерию извлекающей способности состава ГЭР, состоящего из холина хлорида, глюкозы и воды.

Практическая значимость диссертационного исследования состоит во внедрении материалов работы в учебный процесс факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова (акт о внедрении в учебный процесс № 092/23/110-03 от 01.03.2023 г.).

**Рекомендации по использованию результатов для науки и практики.** Материалы диссертационного исследования Прожогиной Юлии

Эдуардовны могут быть использованы в учебном процессе высших учебных заведений фармацевтического профиля.

Положения и экспериментальные результаты работы могут явиться теоретической основой для дальнейшего изучения ГЭР как нового класса эффективных и безопасных экстрагентов.

**Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений».

**Личный вклад автора** заключается в обосновании актуальности, постановке цели и определении задач исследования, в планировании экспериментов, анализе и обработке полученных результатов. Соискатель лично принимал участие во всех экспериментальных исследованиях и написании опубликованных материалов исследования. Степень личного участия диссертанта в общем объеме проведенных работ - не менее 90%.

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

Результаты, полученные в ходе исследования, достоверны, что подтверждено проведением экспериментальных исследований в необходимом числе повторностей, валидации спектрофотометрического метода количественного определения БАВ, применением современных методов анализа, в том числе ультраэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией. Все положения и тезисы обоснованы и логичны.

#### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 6 статей – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

#### **Апробация результатов диссертационного исследования.**

Основные положения и результаты работы доложены и обсуждены на:

- IX Международной научной конференции молодых учёных «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (Россия, Москва, ВИЛАР, 2021);
- Международной научной конференции «От биохимии растений к биохимии человека» (Россия, Москва, ВИЛАР, 2022);
- X Международной научной конференции молодых учёных «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (Россия, Москва, ВИЛАР, 2022).

## **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертационная работа Прожогиной Юлии Эдуардовны состоит из 202 печатных страниц, включает в себя введение, обзор литературы, характеристику объектов и методов исследования, четыре главы исследовательской работы, заключение, список использованной литературы. В состав работы входит восемь приложений, 32 рисунка, 25 таблиц.

**Введение** включает в себя описание актуальности работы, цели и задач исследования, научной новизны раскрываемой темы, характеристику методологии и методов исследования, положений, выносимых на защиту.

**Первая глава** содержит описание процесса экстракции биологически активных веществ из растительного сырья с постадийной характеристикой процесса, в которой приводятся как внешние факторы, влияющие на экстрагирование, так и свойства сырья и экстрагента, определяющие ход процесса.

В продолжении первой главы автор дает определение глубоким эвтектическим растворителям, характеризует их структуру, приводит теорию образования ГЭР, говорит об их токсикологических характеристиках, преимуществах и недостатках ГЭР. Так как диссертант описывает токсическое действие ГЭР на организм человека, превышающее простой суммарный токсикологический профиль их компонентов, в первой главе представлены предлагаемые в литературных источниках методы удаления экстрагента – ГЭР – после извлечения БАВ.

**Во второй главе** приводятся материалы и методы исследования: метод спектрофотометрии, ИК-спектрометрии, ультраэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией, поляриметрии и ионометрии.

**В третьей главе** описано, как было осуществлено математическое моделирование процесса экстрагирования БАВ из модельной растительной композиции с применением водного раствора этилового спирта в качестве экстрагента. Диссертант использовал метод ортогонального планирования второго порядка с композиционным планом эксперимента. Проведенная в оптимальных условиях экстракция позволила извлечь  $13,30 \pm 0,20$  мг/г (относительно массы сухого сырья) флавоноидов в пересчете на рутин из модельной растительной композиции.

**Четвертая глава** содержит описание разработки составов и получения экспериментальных образцов ГЭР. При проведении выбора веществ, входящих в состав ГЭР диссертант основывался, преимущественно, на их химической структуре и низкой летучести, без анализа токсикологических и фармакологических эффектов, оказываемых данными веществами, с целью скрининга экстрагирующей способности ГЭР как нового класса веществ для

дальнейшего поиска путей их оптимизации и усовершенствования их качественного и количественного составов.

Проведенная экстракция БАВ из модельной растительной композиции с применением экспериментальных составов ГЭР выявила экстрагент со статистически достоверной наилучшей извлекающей способностью, для которого дальнейший поиск высокотехнологичных методов удаления экстрагента и очистки представляет интерес. Для дальнейших исследований диссертантом был выбран ГЭР на основе холина хлорида, глюкозы и воды в мольном соотношении 2:1:1 (ГЭР-23).

Далее Прожогой Ю.Э. были установлены оптимальные параметры процесса экстракции с применением ГЭР разработанного состава. Полученный полупродукт был изучен методом поляриметрии.

Так как по результатам эксперимента было установлено наличие токсичности *in vivo* как у самого ГЭР, так и у полученного на его основе извлечения, показана необходимость дальнейшего удаления экстрагента из извлечения. После анализа литературных источников диссертантом предложен метод последующего удаления ГЭР из полученного извлечения – твердофазная экстракция с применением пористых мембран.

**В пятой главе** приводится описание валидации методики количественного определения суммы флавоноидов, извлекаемых 50 %-ым водным раствором ГЭР, в пересчете на рутин в экспериментальной растительной композиции методом дифференциальной УФ-спектроскопии по параметрам: специфичность, линейность, правильность (точность), сходимость, воспроизводимость.

**Шестая глава** содержит результаты изучения с помощью инструментальных методов анализа состава БАВ, извлекаемых из экспериментальной растительной композиции с использованием в качестве экстрагента 50 %-ого раствора ГЭР разработанного состава и 70 %-ого этилового спирта. Диссертант приводит сравнительный анализ их экстрагирующей способности на модельной растительной композиции. При этом Прожогой Ю.Э. использован метод ультраэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией для демонстрации обширного спектра полифенольных соединений в составе извлечений. Диссертантом показано, что у каждого экстрагента имеются преимущества по эффективности экстракции индивидуальных БАВ. Так, 50 %-ый водный раствор ГЭР способен извлечь из модельной растительной композиции большее количество хлорогеновой кислоты, рутина, лавандулифолиозида, вербаскозида и кемпферол-3-глюкуронида, чем спирт этиловый 70%, тогда как 70 %-ый этиловый спирт более эффективен для экстракции гиперозида, кверцетин-3-глюкозида, лютеолин-7-глюкозида, розмариновой кислоты и кемпферол-3-(6'-оксаил)-глюкозида.

## **Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации**

Стоит отметить, что автор подробно и логично изложил структуру исследования и описал полученные результаты. В конце каждой главы диссертационной работы представлены выводы. Заключение диссертации сформировано в соответствии с целями и задачами исследования. Содержание автореферата согласуется с текстом диссертации.

При ознакомлении с рукописью диссертации и авторефератом возникли следующие вопросы и замечания:

1. Почему в качестве объекта исследования была выбрана модельная композиция лекарственного растительного сырья, а не один растительный объект, содержащий достаточный для проведения экспериментальных исследований набор БАВ?
2. Почему в качестве экстрагента сравнения был выбран спирт этиловый 70%?
3. В исследовании показано, что многокомпонентная растительная композиция содержит широкий спектр БАВ. На чем основан выбор количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин как критерия эффективности экстракции?
4. Почему в качестве метода количественного определения флавоноидных соединений в пересчете на рутин был использован метод дифференциальной УФ-спектроскопии, а не ВЭЖХ?
5. Возможно ли использование в производстве лекарственных средств растворителей, в качестве экстрагентов, не имеющих нормативного документа, регламентирующего их качество?
6. В ряде случаев обращает на себя внимание использование терминов, которые устарели, например, вода дистиллированная, вес и др.

Вместе с тем, приведенные вопросы и замечания не снижают научную значимость работы и носят дискуссионный характер.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать заключение, что диссертационная работа Прожогой Юлии Эдуардовны на тему: «Глубокие эвтектические растворители как альтернативные экстрагенты биологически активных веществ из растительной композиции» является законченным научным исследованием, имеющим существенное значение для развития фармацевтической науки и практики. В работе решена важная научная задача по исследованию глубоких эвтектических растворителей как нового класса соединений и изучению возможности экстракции БАВ из многокомпонентного растительного сырья с применением ГЭР в качестве экстрагентов.

По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа Прожогойной Юлии Эдуардовны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Прожогойна Юлия Эдуардовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств.

Официальный оппонент

Директор по науке Акционерного общества «Научно-производственное объединение по иммунобиологическим препаратам «Микроген»,  
доктор фармацевтических наук  
(14.04.01 – технология получения лекарств.  
14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),  
профессор

Адрес: 115088. Российская Федерация, г. Москва. 1-я Дубровская ул., д. 15, стр. 2

Телефон: +7 (495) 790-77-73

Адрес электронной почты: info@microgen.ru

«10» августа 2023 г. *Е.И. Саканян* Саканян Елена Ивановна

Подпись Е.И. Саканян заверяю:

Начальник Управления по работе с персоналом

АО «НПО» «МИКРОГЕН»

Ханина Наталья Юрьевна

