

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу **Калеты Алёны Алексеевны**

«Природные глубокие эвтектические растворители в технологии экстрагирования аралии маньчжурской (*Aralia mandshurica*)»,

представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств (фармацевтические науки)

Актуальность темы исследований

Большое количество лекарственных препаратов на фармацевтическом рынке представлено средствами растительного происхождения. Растения являются традиционным источником биологически активных веществ для лечения и профилактики различных заболеваний. Технология получения суммарных извлечений и индивидуальных компонентов включает в себя процесс экстракции с использованием органических растворителей. Однако такие растворители являются токсичными, летучими, легковоспламеняющимися веществами.

На сегодняшний день вопрос замены токсичных растворителей на потенциально безопасные растворители для извлечения биологически активных веществ из растительного сырья остается открытым и находится на начальном этапе решения. В 2011 году открыт новый класс «зеленых» экстрагентов, так называемых «природных глубоких эвтектических растворителей» (Natural Deep Eutectic Solvents, NADES). Большое количество исследований подтверждают, что они повышают эффективность извлечения флавоноидов, алкалоидов, антоцианов, сапонинов и других по сравнению с традиционными растворителями.

Сырье аралии маньчжурской является многообещающим источником действующих веществ, которые оказывают гипогликемическое, кардиопротективное, антиаритмическое, гиполипидемическое действие и т.д. Клинически подтверждено адаптогенное действие.

Исходя из вышесказанного, исследование замены этилового спирта на природные глубокие эвтектические растворители в технологии

экстрагирования аралии маньчжурской, которое легло в основу диссертации, имеет несомненную актуальность.

Целью исследования являлось изучение особенностей применения природных глубоких эвтектических растворителей для получения извлечения из корней аралии маньчжурской.

Научная новизна исследования

NADES впервые были использованы для извлечения биологически активных веществ аралии маньчжурской. На основании экспериментальных результатов проведено сравнение экстрагирующей способности природных глубоких эвтектических растворителей и традиционных растворителей (воды, этилового спирта). Доказано, что NADES при мацерации способны извлекать тритерпеновые сапонины из сырья аралии, в некоторых случаях относительное содержание превышало содержание в воде и этиловом спирте. Для интенсификации процесса извлечения действующих веществ был предложен подход совместного использования NADES с использованием виброкавитационного гомогенизатора. Виброкавитационная экстракция показала самую высокую эффективность извлечения по сравнению с мацерацией и ультразвуковым методом.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа Калеты Алёны Алексеевны соответствует паспорту научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, 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

Диссертационное исследование направлено на изучение потенциала NADES для экстракции биологически активных веществ аралии

маньчжурской, что открывает новые перспективы для разработки технологий извлечения БАВ в соответствии с принципами «зеленой» химии.

В ходе работы было установлено, что наиболее быстрым и экологичным методом получения NADES является микроволновая обработка путем оценки энергозатрат, доказана эффективность природных глубоких эвтектических растворителей для извлечения тритерпеновых сапонинов из корней аралии при сравнении с извлекающей способностью воды и спирта. Автором разработан и валидирован метод ВЭЖХ для последующей оценки качества извлечений. На основании дисперсионного анализа установлены закономерности влияния различных факторов на процесс извлечения суммы сапонинов из растительного сырья с применением мацерации и ультразвуковой экстракции. На основании сравнения метаболомных профилей доказано, что виброкавитационная экстракция является наиболее эффективным методом по сравнению с мацерацией и ультразвуковой обработкой. Теоретически обоснована эффективность совместного применения виброкавитационного гомогенизатора и природных глубоких эвтектических растворителей для интенсификации извлечения биологически активных веществ из сырья аралии маньчжурской.

Результаты исследования были успешно внедрены в работу кафедр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, методика экстракции с использованием ультразвуковой обработки и NADES была апробирована в научно-исследовательской группе биохимии и технологии гидробионтов лаборатории зообентоса Мурманского морского биологического института Российской академии наук (ММБИ РАН).

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики

Результаты диссертационной работы Калеты А.А. представляют интерес для фармации и могут послужить основой для дальнейшей разработки технологии лекарственных растительных препаратов с использованием природных глубоких эвтектических растворителей. Полученные данные могут использоваться в учебном процессе студентов фармацевтических ВУЗов.

Личный вклад автора

Все сведения, представленные в диссертации, а также методы исследования и прочие стадии научной работы — от поиска и анализа источников до эксперимента, обработки данных и их анализа — выполнены лично автором. Автор диссертации внёс значительный вклад в формулирование научных выводов и их освещение. Степень участия автора составляет не менее 90%.

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

Анализ работы соискателя показывает, что научные положения, выводы основаны на глубоком анализе теоретического и эмпирического материала. Достоверность полученных результатов определяется воспроизводимостью, использованием современных методов анализа, методов статистической обработки, применением поверенного и аттестованного оборудования и средств измерения.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, среди которых 2 статьи в изданиях, включенных в международные базы Scopus и Web of Science.

Общая характеристика диссертационной работы

Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, четырех глав экспериментальной части, заключения, списка литературы, включающего 177 источников (из которых 142 источника зарубежной литературы), приложений, содержит 35 рисунков и 25 таблиц, Объем работы составил 202 страницы машинописного текста.

Во введении изложены актуальность, степень разработанности темы исследования, цели и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, степень достоверности и апробация результатов исследования, основные положения, выносимые на защиту, связь задач исследовательской работы с планом фармацевтических наук, соответствие диссертации паспорту научной

специальности, личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов.

В первой главе приведены ботаническое описание аралии маньчжурской, химический состав, экспериментально установленная фармакологическая активность соединений, рассмотрены препараты на основе данного растения. Обсуждены методы и основные аспекты теории экстрагирования лекарственного растительного сырья. Охарактеризованы природные глубокие эвтектические растворители как новый класс «зеленых» экстрагентов.

Во второй главе приведены характеристика объекта исследования, использованные в исследовании реактивы, оборудование, методы физико-химического анализа.

В третьей главе приведены характеристика полученных природных глубоких эвтектических растворителей, содержатся результаты сравнения трех методов приготовления NADES: нагревания с перемешиванием, ультразвуковой и микроволновой обработки с помощью оценки энергозатрат. В качестве наиболее энергоэффективного метода выбрана микроволновая обработка.

Четвертая глава включает результаты эксперимента по изучению экстрагирующей способности природных глубоких эвтектических растворителей для извлечения тритерпеновых сапонинов из корней аралии. С применением ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией проводилось оценка содержания соединений в извлечениях с NADES и сравнение с содержанием в извлечениях с традиционными экстрагентами – водой и спиртом.

В пятой главе представлены результаты разработки валидации ВЭЖХ для качественного и количественного анализа тритерпеновых сапонинов. Освещены результаты дисперсионного анализа с применением мацерации и ультразвуковой экстракции и установлены закономерности влияния различных факторов на процесс извлечения суммы сапонинов из растительного сырья. Варьируя состав NADES, метод экстракции,

температуру и время процесса, можно целенаправленно повысить содержание тритерпеновых сапонинов в NADES извлечениях.

В шестой главе приведены результаты сравнения методов интенсификации процесса экстракции биологически активных веществ из сырья аралии с применением NADES, а также состава растворителей. В качестве инструмента оценки содержания веществ в извлечениях использован современный метод – нецелевой анализ метаболомного профиля.

В заключении диссертации отражены основные результаты исследования, соответствующие поставленным задачам.

Завершают работу список сокращений, список литературы и приложения (характеристика тритерпеновых сапонинов, выделенных из аралии маньчжурской, структура-активность тритерпеновых сапонинов, выделенных из аралии маньчжурской, структурные формулы тритерпеновых сапонинов, идентифицированные тритерпеновые сапонины в корнях аралии маньчжурской при помощи обращеннофазовой ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии и квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометром с электроспреей ионизацией при использовании SWATH метода, акты внедрения и апробации).

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Структура диссертации является логичной и последовательной, выводы и заключение полностью соответствуют проведенным исследованиям. Работа хорошо иллюстрирована. Однако при рассмотрении работы возникли вопросы и замечания.

Вопросы:

1. Чем обоснован выбор компонентов для получения ПГЭР, которые использованы в работе?

2. В таблице 11 сорбит в составе НД10 обозначен как донор водородных связей, а в составе НД12, НД13, НД14 – как акцептор водородных связей. Чем это объясняется?

3. Почему в качестве метода количественной оценки был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, а не метод УФ-спектрометрии?

Замечания:

1. На рисунке 24 некорректно указание приготовленных растворителей в левой части: кажется, что данные составы использовали совместно и экстрагировали сырье аралии, однако в дальнейшем описании наоборот.

2. Опечатка на странице 55 указана орбитальная ионная ловушка, вместо орбитальной.

3. Для лучшей визуализации результатов, представленных на рисунках 28 и 32, можно указать идентифицированные соединения, как на рисунке 13.

Указанные вопросы и замечания не носят принципиального характера, являются лишь уточняющими и не снижают ценности проведенного исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что диссертационная работа **Калеты Алёны Алексеевны** на тему: «Природные глубокие эвтектические растворители в технологии экстрагирования аралии маньчжурской (*Aralia mandshurica*)» является законченным научным исследованием, имеющим существенное значение для развития фармацевтической науки и практики.

В диссертации решена важная научная задача, состоящая в разработке и повышении эффективности экстракции биологически активных веществ из корней аралии маньчжурской с использованием природных глубоких эвтектических растворителей. По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа **Калеты Алёны Алексеевны** 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 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786, от 25.01.2024 г. № 62, 16.10.2024 г. № 1382), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, **Калета Алёна Алексеевна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств.


ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ

Начальник научно-производственного участка
Медицинского научно-образовательного института
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный университет
имени М. В. Ломоносова», доктор фармацевтических наук
(14.04.01 – технология получения лекарств), доцент


Абрамович Римма Александровна

05.03.2025 г.

Подпись Абрамович Р.А. заверяю
Ученый секретарь Ученого совета
МНОИ Московского государственного
университета имени М.В. Ломоносова
(МГУ), доктор медицинских наук, профессор


Орлова Яна Артуровна

Медицинский научно-образовательный институт
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова (МГУ),
Почтовый адрес: 119991, Российская Федерация, город Москва, Ломоносовский
проспект, дом 27, корпус 10.
Телефон: +7 (916) 694-50-49
e-mail: abramovichra@my.msu.ru

