

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 исследования

С древних времён и на протяжении многих столетий человечество активно применяет растения в фармацевтической промышленности, поскольку они являются источником разнообразных ценных соединений, обладающих фармакологическими свойствами. Растения содержат множество биологически активных веществ, способных оказывать терапевтическое воздействие на организм человека и способствовать укреплению здоровья. Они представляют собой богатый источник природных компонентов, которые используются для производства лекарственных препаратов. Основным способом получения веществ из растительного сырья является экстракция с помощью различных органических растворителей.

Этанол, метанол, водно-ацетоновые растворы, углеводороды и другие органические растворители являются токсичными, взрыво- и пожароопасными, кроме того, наносят урон окружающей среде, так как не способны к биodeградации. Поэтому появилась необходимость в новых, безопасных и в то же время эффективных растворителях, пригодных для использования в фармации. На сегодняшний день такой альтернативой становятся природные глубокие эвтектические растворители (Natural Deep Eutectic Solvents, NADES), которые повышают эффективность биологически активных веществ из различного растительного сырья. Они являются биodeградируемыми, безопасными, стабильными, их производство доступно и легко осуществимо. Изучение природных глубоких эвтектических растворителей, их уникальных характеристик и возможностей применения в процессе экстракции биологически активных веществ из растительного сырья – новое и стремительно развивающееся направление современной науки.

Объектом исследования являются корни аралии маньчжурской – растение, которое является адаптогеном с клинически доказанной эффективностью. Адаптогены — это группа биологически активных веществ природного или синтетического происхождения, которые способствуют повышению неспецифической сопротивляемости организма к широкому спектру вредных воздействий физической, химической и биологической природы. Они помогают организму адаптироваться к стрессовым условиям, способствуют укреплению иммунной системы, улучшению общего состояния здоровья и повышению работоспособности.

Резюмируя сказанное, тема диссертационной работы Калеты Алёны Алексеевны представляет интерес для современной науки. Исследование в рамках данной тематики отвечает актуальным запросам научного сообщества.

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

Научная новизна исследования заключается в том, что

– Доказана возможность применения природных глубоких эвтектических растворителей для извлечения биологически активных веществ из корней аралии маньчжурской.

– Проведено изучение извлекающей способности природных глубоких эвтектических растворителей по сравнению с традиционными экстрагентами – водой и спиртом.

– Впервые виброкавитационная экстракция совместно с использованием природных глубоких эвтектических растворителей была применена для интенсификации процесса извлечения биологически активных веществ корней аралии маньчжурской. Использование данного метода доказано повысило выход биологически активных веществ из корней аралии.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту 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 состоит в обосновании возможности извлечения биологически активных веществ из корней аралии с помощью природных глубоких эвтектических растворителей. По результатам экспериментов установлен наиболее быстрый и экологичный метод получения NADES. Доказана эффективность природных глубоких эвтектических растворителей для извлечения тритерпеновых сапонинов из корней аралии при сравнении с извлекающей способностью воды и спирта.

В ходе работы разработан и валидирован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для оценки качественного и количественного состава извлечений.

Установлены закономерности влияния различных факторов на процесс извлечения суммы сапонинов из растительного сырья на основании дисперсионного анализа результатов экспериментов с применением мацерации и ультразвуковой экстракции.

Установлено, что виброкавитационная экстракция является наиболее предпочтительным 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.

Практическая значимость подтверждается тем, что методика проведения экстракции с использованием природных глубоких эвтектических растворителей была апробирована в лаборатории ММБИ РАН. Результаты, полученные при выполнении диссертационного исследования, внедрены в научно-исследовательский процесс кафедры технологии лекарственных форм, кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики

Диссертационная работа Калеты Алёны Алексеевны содержит результаты экспериментов, выводы и положения, разносторонние подходы, которые целесообразно внедрить в исследовательские лаборатории, занимающиеся разработкой технологий получения растительных извлечений, в учебный процесс фармацевтических ВУЗов.

Автору следует обратить внимание на физико-химические свойства растворителей, которые оказывают влияние на процесс экстракции, токсичность и безопасность получаемых извлечений. Следующим этапом необходим подбор лекарственной формы и вспомогательных веществ для получения готового лекарственного средства.

Личный вклад автора

Автор принимал личное участие во всех экспериментах, анализировал полученные результаты, совместно с соавторами научных публикаций осуществлял написание статей, готовил доклады для научных конференций. Доля личного участия в общем объеме работ составляет не менее 90%.

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

Научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в работе, подтверждены и обоснованы полученными в ходе работы экспериментальными данными, использованием современных методов исследования, аттестованных и поверенных приборов и оборудования, корреляцией полученных данных с информацией в доступной научно-технической литературе.

Обоснованность и достоверность полученных результатов обеспечивается однородной и представительной выборкой результатов экспериментов, позволяющей судить о сходимости и воспроизводимости представленных данных.

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. Основные положения и результаты работы доложены и обсуждены на научных конференциях международного и регионального уровней.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертация Калеты Алёны Алексеевны изложена на 202 страницах, иллюстрирована 35 рисунками и 25 таблицами, состоит из введения, глав обзора литературы, описания материалов и методов, экспериментальной части (3-6), заключения и списка литературы, включающего 177 источников (из которых 142 источника зарубежной литературы), 3 приложения.

Введение содержит сведения об актуальности и степени разработанности темы исследования, научной новизне, теоретической и практической значимости работы, методологии и методах исследования. Описанные сведения позволяют оценить целесообразность поставленных цели и задач, а также научную и практическую значимость результатов работы для современной фармацевтической науки и практики.

В **обзоре литературы** (глава 1) представлен анализ научной литературы, посвященной теме исследования. В главе приведено ботаническое описание аралии маньчжурской, химический состав, фармакологическая активность, лекарственные препараты на основе растения. Описан процесс экстракции БАВ из растительного сырья, его стадии, схематическое представление процесса, факторы, влияющие на экстрагирование, рассмотрены современные методы экстракции. Отдельный раздел

посвящен описанию нового класса экстрагентов – природных глубоких эвтектических растворителей, их характеристике, методам приготовления, физико-химическим свойствам.

Вторая глава описывает используемые в работе объект, реактивы, оборудование, методы физико-химического анализа. Стоит отметить, что планирование и описание проведенных экспериментов описано в основной части. Все результаты измерений обрабатывали в соответствии с подходами, описанными в ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» ГФ РФ XV издания. В качестве программного обеспечения для статистической обработки результатов экспериментов использовали GraphPad Prism, Microsoft Excel, Metaboanalyst 5.0, STATGRAPHICS (Centurion XV, США).

Третья глава посвящена оценке энергоэффективности трех методов приготовления NADES: нагревания с перемешиванием, ультразвуковой и микроволновой обработки. Приведено схематическое изображение эксперимента. Для оценки ресурсосберегающей энергетики используется расчет энергозатрат процессов. Согласно расчету наиболее предпочтительным является метод приготовления NADES с помощью микроволновой обработки.

Четвертая глава включает описание эксперимента по изучению пригодности природных глубоких эвтектических растворителей для извлечения тритерпеновых сапонинов из корней аралии, результаты и обсуждение. На основании таргетного анализа и обращенно-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии и квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометром с электроспрей ионизацией проводилась идентификация соединений, сравнение относительных количеств соединений в извлечениях с водой, спиртом, NADES.

Пятая глава содержит содержание и результаты эксперимента по изучению влияния состава растворителей, метода и условий экстракции на выход тритерпеновых сапонинов, валидация методики высокоэффективной жидкостной хроматографии для оценки качественного и количественного состава извлечений. выбрали качественные факторы: тип NADES, метод экстракции. Количественными факторами были температура экстракции и время экстракции. Выходным параметром служило содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на аралозид А в полученном NADES извлечении.

В шестой главе приведены результаты сравнения методов интенсификации для повышения выхода БАВ из аралии на основании нетаргетного анализа метаболомных профилей извлечений. Описаны идентифицированные соединения и их фармакологические эффекты, расчеты энергопотребления процесса экстракции при различных методах.

В заключении представлены общие выводы к работе, которые соответствуют цели и задачам исследования.

В приложениях представлены характеристика и структурные формулы тритерпеновых сапонинов, выделенных из аралии маньчжурской, идентифицированные тритерпеновые сапонины в корнях аралии маньчжурской, акты внедрения и апробации.

Содержание опубликованных работ и автореферата соответствует содержанию диссертации.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Диссертация Калеты Алёны Алексеевны в целом заслуживает положительной оценки, отличается логичной и четкой структурой и последовательностью

изложения материала. Исследование написано научным языком, его легко читать и понимать благодаря грамотному изложению и наличию графиков и таблиц.

Вместе с тем, при изучении автореферата и рукописи диссертации возникли следующие вопросы и замечания:

1. В главе 1 (обзор литературы) отсутствует информация о методах и экстрагентах, которые на сегодняшний день применяются в процессе извлечения БАВ из корней аралии.
2. Не указаны параметры ультразвукового воздействия (Гц) и микроволновой обработки (Стр. 58.) С какой целью проводили термостатирование?
3. Как определяли энергетические затраты каждого из 3 методов? В описании метода Б время УЗ экстракции составляет 15 минут, в таблице №12 – 4 часа? В выводах к таблице указано, что время растворения ГЭР с помощью микроволновой обработки уменьшается с 4 часов до 4 минут?
4. Чем обусловлен выбор соотношения 1:40, выбор в качестве экстрагента спирта этилового 96%? Какая концентрация использована в настойке аралии, полученной традиционным методом?
5. В таблице №11 представлена информация о том, что НД 4 - вязкая гомогенная жидкость. На стр. 73 указано, что наиболее высокая извлекающая способность у НД 4? Как объясните его эффективность при определенной вязкости?
6. На стр. 75 указано, что растворители NADES были эффективны для извлечения одиннадцати сапонинов, однако на рисунке 14 указаны только 8 соединений.
7. Стр. 88. Раннее информация о мацерации не приводилась. Одним из лимитирующих факторов экстракции БАВ является вязкость растворителя. Почему содержание тритерпеновых сапонинов при температуре ультразвуковой экстракции 60°C ниже, чем содержание сапонинов при температуре 45°C, однако вязкость растворителя при второй температуре значительно больше и это приводило бы к уменьшению количества сапонинов в извлечении?
8. Подтверждено ли на сегодняшний день, что готовые природные глубокие эвтектические растворители являются нетоксичными?

Вопросы и замечания уточняющего характера и не влияют на общую положительную оценку исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать заключение, 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 нового класса «зеленых» 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

