

## **Отзыв**

**Официального оппонента на диссертацию Балаевой Шамсият Абдулмеджидовны на тему «Идентификация и определение БАВ в плодах расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L Gaertn.), дикорастущей в различных почвенно-климатических зонах» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2.-Аналитическая химия.**

### **Актуальность работы.**

Одной из приоритетных задач в области химических исследований, определенных Программой фундаментальных научных исследований в РФ на долгосрочный период, является фундаментальное изучение природы живых организмов как основы разработки новых фармакологических веществ, лекарственных форм, методов лечения и профилактики социально значимых заболеваний. Последнее обусловлено значительным снижением эффективного действия большинства лекарственных синтетических и полусинтетических препаратов. Альтернативным решением данной задачи является поиск новых природных возобновляемых источников растительного сырья, химический компонентный состав которых содержит БАВ нового уровня биодоступности и стабильности. Данному требованию соответствует объект исследования-расторопша пятнистая-уникальный представитель семейства сложноцветных, источник единственного природного гепапротектора (флаволигнанов), жирного масла и протеиногенных аминокислот. Являясь достаточно привлекательным растительным объектом для получения лекарственных форм, с аналитической точки зрения (идентификация и определение БАВ) РП дикорастущая мало изучена. Поэтому определенная в диссертационной работе цель- характеристика фракционного и индивидуального компонентного химического состава РП и факторов, влияющих на их формирование, является несомненно актуальной как в научном, так и практическом плане.

### **Степень обоснованности научных исследований и выводов сформулированных в диссертации.**

Обоснованность и достоверность полученных данных и выводов основана на глубоком анализе публикаций по теме диссертационных исследований,

использовании современных методологических подходов «зеленой химии» и высокоинформативных методов анализа.

### **Научная новизна.**

Научная новизна диссертационной работы заключается в получении новых данных по индивидуальному и фракционному химическому составу плодов РП: жирно-кислотный и витаминный состав масла, флаволигнанов, углеводов, минеральной части. Разработан способ селективного извлечения жирного масла из плодов РП, основанный на сверхкритической флюидной экстракции растительного сырья. С целью оценки биологической, биохимической, диетологической и пищевой ценности плодов РП установлена вариативность содержания БАВ от почвенно-климатических условий произрастания.

### **Практическая значимость.**

На основе выполненных экспериментальных исследований дано обоснование дикорастущей в Дагестане расторопши пятнистой как перспективного растительного объекта, обладающего высокой пищевой ценностью и источника БАВ фармацевтического назначения. Предложен ДСК метод контроля подлинности жирного масла из плодов РП по теплофизическим свойствам.

### **Личный вклад соискателя.**

Автор принимала непосредственное участие во всех этапах работы от постановки цели и задач, планирования и выполнения экспериментальной работы, анализа полученных результатов, их интерпретации и обобщения в виде выводов, публикаций и докладов на конференциях.

### **Общая характеристика работы.**

Диссертация Балаевой Ш.А. содержит все необходимые разделы, отражающие суть проведенных исследований. По результатам работы опубликовано 7 статей в журналах перечня ВАК и 11 тезисов докладов на конференциях. Диссертация изложена на 145 страницах, содержит 33 таблицы и 22 рисунка, состоит из введения, обзора литературы, 5 разделов экспериментальной части, общих выводов и списка литературы из 190 наименований.

**Во введении** обоснована актуальность работы, сформулированы цель и задачи исследования.

**Обзор литературы.** Представлен анализ научных публикаций по исследованию и идентификации основных классов БАВ, содержащихся в плодах РП, их фармакологической активности, методам выделения компонентов из растительной матрицы.

**В главе 2** экспериментальной части описаны объекты исследования, оборудование, реактивы, материалы и методики исследования растительных материалов и продуктов на их основе.

**В главе 3.1** диссертационной работы представлены данные по содержанию основных фракций органических компонентов РП, произрастающих в различных природно-климатических и почвенных зонах Дагестана. Установлено, что содержание жирного масла и белка возрастает с понижением температуры воздуха, ростом количества атмосферных осадков и влажности почвы. В обратной зависимости от содержания жирного масла находится концентрация углеводов. Максимальное содержание флаволигнанов наблюдается в районах с наименьшим количеством осадков. Выявленные зависимости предопределили обоснованность постановки и решения следующих задач:

-разработка экстракционных методов селективного выделения фракций БАВ с сохранением их активных свойств;

-применение современных физико-химических методов анализа для идентификации индивидуального состава активных фракций БАВ.

Растительные объекты представляют собой сложную аналитическую нанобиокomпозитную матрицу, в которой процесс самоорганизации при биосинтезе основных компонентов образуется сложная химическая и капиллярно-пористая структура. Разделение ее на макро- и микро- уровнях с сохранением природной химической индивидуальности и свойств отдельных фракций компонентов является сложной научной и практической задачей, в большинстве своем, реализуемой на принципах «зеленой химии». Последние предусматривают использование экологически безопасных растворителей, современные приемы физического и химического воздействия (гомогенный и гетерогенный гидролитический катализ, автоклавной гидролиз, механохимическая активация, суб- и сверхкритическое флюидное состояние и т.д.). Наиболее перспективным способом переработки растительного сырья

является сверхкритическая флюидная экстракция (К. Bogolitsyn –Pure and Applied Chemistry, 2018, vol. 90, p. 1679; Сверхкритические флюиды: теория и практика, 2015, т. 10, №1, с. 61). Изменение плотности и сольватационной способности СКФ путем небольшого изменения температуры и давления в системе – одна из сильных сторон данной технологии. Кроме того, относительно низкая рабочая температура имеет преимущество для обработки термочувствительных фармацевтических компонентов. Среди доступных СКФ предпочтение отдается, как правило, сверхкритическому диоксиду углерода из-за его низкой вязкости, нетоксичности, умеренных критических параметров состояния, легкой доступности, экологичности. Поскольку эффективность СК экстракции зависит от плотности флюида, то вариация давления и температуры, а также продолжительности экстракции может приводить к исчерпывающему извлечению компонентов биомассы.

Автором в разделе 3.2 диссертации приведены результаты экстракционного извлечения жирного масла из плодов РП СКФЭ-СО<sub>2</sub>, определены оптимальные значения факторов (температура, давление, время) соответствующие максимальному выходу масла 26%. Полученные экстракты масел охарактеризованы ( глава 3.3) по химическим параметрам и жирно-кислотному составу (хромато-масс спектрометрия), определению содержания жирорастворимых витаминов- методом ВЭЖХ. Показано, что по общему содержанию ненасыщенных жирных кислот и йодному числу масло полученное из дагестанских образцов сопоставимо с маслом из плодов РП стран с жарким климатом. Так, основными компонентами масла являются линолевая и олеиновая кислоты, на долю которых приходится более 86% от содержания идентифицированных кислот. Из жирорастворимых витаминов обнаружен витамин Е.

Дополнительная важная аналитическая информация получена автором при анализе теплофизических свойств жирных кислот современными вариантами метода ДСК (раздел 3.4). Применение метода вторых производных при обработке суммарных профилей плавления позволили выявить и интерпретировать скрытые индивидуальные экзотермические максимумы, отнесенные к наличию пяти фракций триацилглицеринов. Получена и охарактеризована выборка данных по теплофизическим показателям масла дикорастущей РП Дагестана, установлен диапазон вариации этих показателей, показана возможность использования метода ДСК для контроля подлинности масла РП и его происхождения.

Таким образом, выполненные исследования подтверждают тот факт, что фазовые переходы растительного масла взаимосвязаны с определенным фракционным составом триацилглицеринов, который варьируется при изменении фенотипических факторов в широком диапазоне, но не случайным образом, а в соответствии с генотипом и природными закономерностями созревания растительного сырья.

Полифенолы (ПФ) растительных объектов, объединенные общностью путей биосинтеза, представляют собой особую группу компонентов, биологическая активность которых проявляется в повышении устойчивости растений к окислительным стрессам. Фундаментальный цикл «функциональная химическая природа-структура-свойства» ПФ наиболее четко выражен в антибактериальном, фунгицидном, противоопухолевом, антидиабетическом, иммуномоделирующем воздействиях фармсубстанций на их основе (например, K.Bogolitsyn and at. – J.Appl.Phycol. 2021;2020,v.32,p.4277;2019,v.31,p.3341). Поэтому представляет несомненный интерес содержание и индивидуальный состав флаволигнанов, проявляющих протопротекторные свойства. Так, в процессе этанольной экстракции определено общее содержание флаволигнанов в плодах РП, соответствующее 3,4-4,0%. Методами хроматографии (ВЭЖХ, хромато-масс спектрометрия) установлено, что основными компонентами данной фракции являются силикристин, силибин и силидианин. При этом содержание силидианина более чем в два раза выше содержания силибина. Это позволяет автору сделать заключение, что РП произрастающая в Дагестане относится к силидианиновой расе.

Одним из важнейших биохимических критериев пищевой ценности продуктов питания является содержание белка и незаменимых аминокислот, от содержания которых зависит их биологическая ценность. При этом, в зависимости от хеморасы, условий произрастания и возделывания качественный и количественный состав и содержание белка в растительном сырье может значительно меняться. В диссертационной работе содержание аминокислот в белке плодов РП определяли методом ионообменной хроматографии с постколоночной дериватизацией нингидрином (глава 3.6).

Общее содержание белка в плодах колеблется от 17,6 до 19,6% в сухом веществе. Автором установлено наличие в белках РП 18 аминокислот, в том числе триптофан, цистеин и пролин, о которых в литературных источниках информация отсутствовала. Выявлены симбатные и асимбатные изменения аминокислотного состава в белках в зависимости от природно-

климатических условий произрастания РП. Наиболее чувствителен ко всем фенотипическим факторам триптофан. По суммарному содержанию фенилаланина и тирозина белок РП превышает содержание идеального белка более чем в 2 раза.

Анализ содержания водорастворимых витаминов методом ВЭЖХ (раздел 3.7) показал, что в плодах РП обнаружено 9 витаминов группы В и аскорбиновая кислота. В наибольшем количестве во всех пробах содержатся: аскорбиновая, фолиевая, пантотеновая кислоты и биотин, содержание которых может обеспечить суточную потребность взрослого человека при употреблении в пищу 100 г шрота плодов РП. Содержание практически всех водорастворимых витаминов достаточно тесно коррелирует с гидротермическим коэффициентом.

Наряду с несомненными достоинствами диссертационной работы хотелось бы высказать ряд замечаний по аналитическим аспектам работы.

-Стр. 80 Чем обосновывается необходимость определения жирных кислот методом внутренней нормализации площадей пиков на хроматограммах при наличии стандартных образцов, по которым может быть получена градуировочная зависимость? При использовании описанного авторами подхода было бы разумнее применять метод газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием, для которого отклик аналитов пропорционален числу углеродных атомов.

-Стр. 81-84 Какова достоверность идентификации жирных кислот? Например, на стр. 82 масс-спектры метиллинолеата существенно отличаются в случае стандартного образца и масла расторопши, хотя и есть совпадение с библиотечным спектром.

-Стр. 97, разд. 3.5. Использование термина идентификация при отсутствии стандартных образцов флаволигнанов не вполне правомерно, правильнее говорить о предположительной идентификации. Для повышения надежности идентификации при отсутствии тандемных масс-спектров следовало выделить соответствующие хроматографические фракции и сделать их ГХ-МС анализ с предварительной дериватизацией аналитов.

-Стр. 87. В табл. 22 и 23 не указана погрешность определения, что не дает возможность обоснованно говорить о влиянии параметров экстракции или места произрастания на состав выделяемого масла. Результаты в табл. 23 должны быть получены не только проведением трех параллельных определений, но и анализом очень представительной выборки растений.

-Стр 91. 1й абзац. Погрешности определения витамина Е, приведенные в таблице 24, не позволяют делать вывод о лучшем извлечении ананта СК диоксидом углерода по сравнению с гексаном.

-В списке литературы практически не отражены зарубежные публикации о методах идентификации и определения БАВ в растительном сырье.

В целом, выполненные автором диссертационной работы исследования направлены на решение важной научной задачи- получение новых химических характеристик РП как перспективного возобновляемого растительного объекта Дагестана - источника биологически активных природных веществ, обладающих выраженными фармакологическими свойствами и пищевой ценностью.

Вопросы и замечания, высказанные в тексте отзыва, не меняют общей положительной оценки работы.

## **Заключение**

Диссертация Балаевой Шамсият Абдулмеджидовны на тему «Идентификация и определение БАВ в плодах расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L Gaertn.), дикорастущей в различных почвенно-климатических зонах» подготовленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2.-Аналитическая химия. соответствует требованиям п.9 «Положения» (см. П. 9 «Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013г. № 842 ред. От 01.10.2018 г), является законченной научно-квалификационной работой, в которой предложены новые решения актуальной научной задачи химии по поиску, идентификации, способам выделения и использования новых природных БАВ, а ее автор, Балаева Шамсият Абдулмеджидовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2.-Аналитическая химия

Официальный оппонент,

Боголицын Константин Григорьевич, доктор химических наук (докторская диссертация защищена по специальности 02.00.04 «Физическая химия» и 05.21.03 «Технология и оборудование химической переработки биомассы дерева, химия древесины»), профессор, зав. кафедрой теоретической и прикладной химии ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М. В. Ломоносова», заслуженный деятель науки РФ, член

