

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу Веницкой Елены Александровны «Идентификация и хроматографическое определение фитокомпонентов фенольной природы в экстрактах некоторых лекарственных растений семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*)», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия (химические науки).

Актуальность темы диссертационной 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. Решению данных **актуальных** задач посвящена диссертационная работа Е.А. Веницкой.

Контроль качества и стабильности лекарственного растительного материала (ЛРС) семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*), препаратов на их основе является важной аналитической задачей в отраслях, использующих получаемые из растений химические вещества и материалы. В состав экстрактов этих растений и препаратов на их основе входят биологически активные вещества – фитокомпоненты фенольной природы (ФС), синтезируемые по шикиматному пути (Запрометов М.Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 271 с.; Bogolitsyn K.G., Gusakova M.A., Krasikova A.A. Molecular self-organization of wood lignin – carbohydrate matrix//Planta.2021.Vol.254. DOI: [10.1007/s0003675https://elibrary.ru/item.asp?id=46917926](https://doi.org/10.1007/s0003675https://elibrary.ru/item.asp?id=46917926)), принадлежащие различным классам и обуславливающие фармакологическую активность лекарственного растительного сырья. Состав и концентрация указанных ФС повышают ценность лекарственных растений и являются показателем его качества.

Диссертационная работа Веницкой Елены Александровны посвящена разработке селективных экстракционных методов выделения, идентификации и хроматографического определения фитокомпонентов фенольной природы, обуславливающих биологическую активность некоторых лекарственных растений семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*). Полученные данные позволили соискателю установить влияние географических и морфологических факторов на концентрацию ФС в экстрактах исследуемых лекарственных растений. Диссертационная работа выполнена в рамках реализации проекта РФФИ № 20-33-90045 с использованием научного оборудования ЦКП «Эколого-аналитический центр» Кубанского госуниверситета, что также подтверждает важность и актуальность проведенных исследований.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе

Автором выполнен значительный по объему, грамотно, логично спланированный и тщательно выполненный эксперимент с применением современных методов физико-химического анализа. Объем проведенных теоретических и экспериментальных исследований в полной мере позволил соискателю обосновать выносимые на защиту положения, которые соответствуют цели и задачам диссертационного исследования, имеют научную новизну, теоретически и экспериментально обоснованы. Выводы по диссертационной работе следуют из представленных результатов, обоснованы, логичны и представляются достоверными.

Объем и структура диссертационной работы

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, общих выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Материал диссертации изложен на 174 страницах машинописного текста, содержит 45 рисунков и 36 таблиц, в списке цитируемой литературы 202 источника.

Во *введении* обоснована актуальность и практическая значимость, сформулированы цели и задачи диссертационного исследования, научная новизна и положения, выносимые на защиту.

В *обзоре литературы* проведена классификация и обобщены основные способы экстракции ФС из ЛРС семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*). Проанализированы литературные

данные по идентификации и хроматографическому определению ФС в экстрактах эхинацеи пурпурной, зверобоя продырявленного и клевера лугового, сформулированы основные проблемы, связанные с их идентификацией в экстрактах исследуемых растений. Показана целесообразность использования твердофазной экстракции для идентификации и расширения компонентного состава растений, а также необходимость установления фальсификации растительного материала и препаратов на его основе.

В экспериментальной части указаны объекты исследования, реактивы и материалы, основное и вспомогательное научное оборудование, способы экстракции фитокомпонентов, а также условия их хроматографического определения в экстрактах растений семейств Зверобойные, Астровые и Бобовые.

В работе можно отметить хорошо спланированные исследования с методической точки зрения. Соискателем подробно изучена экстракция фитокомпонентов фенольной природы растительных материалов семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*) различными современными экстракционными системами. Доказано, что субкритическая экстракция и фармакопейный способ оказались наиболее эффективными способами при извлечении ФС из эхинацеи пурпурной, клевера лугового и зверобоя продырявленного, а по суммарному содержанию анализов в экстрактах микроволновая экстракция ФС сопоставима с субкритической, а в отношении ряда индивидуальных соединений показала максимальные степени их извлечения.

Разработанные методики извлечения фенольных соединений позволили автору диссертационной работы установить влияние географических (высота произрастания растения над уровнем моря) и морфологических (морфологическая часть растения) факторов на содержание ФС в водно-спиртовых экстрактах лекарственных растений. На примере эхинацеи пурпурной показано, что с увеличением высоты произрастания ЛРС над уровнем моря повышается концентрация ФС в водно-спиртовых экстрактах. А на примере клевера лугового установлено, что наибольшее накопление изофлавоноидов в водно-спиртовом экстракте данного растения наблюдается в соцветиях растения. Весьма оригинальным представляется предложенный Виночкой Е.А. показатель качества и подлинности ЛРС семейства Астровые и препаратов на его основе, который основан на соотношении цикориевой и кафтаровой кислот.

Значительная часть работы посвящена оптимизации твердофазной экстракции ФС из водных и водно-спиртовых экстрактов лекарственных

растений сорбентами различной природы и расчету их основных характеристик по отношению к этим анализам. Соискателем рассчитаны сорбционные характеристики (объемы «до проскока», удерживания и насыщения, динамические емкости сорбентов и степени извлечения анализов) сорбентов различной природы (Strata C18-E, Strata X, Oasis HLB, Supelclean ENVI-Carb) по отношению к ФС, содержащимся в водном экстракте зверобоя продырявленного. Оценена возможность применения углеродных сорбентов для извлечения и концентрирования фенолкарбоновых кислот, флавоноидов и флороглюцинолов из водных и водно-спиртовых экстрактов зверобоя продырявленного. Предложен оригинальный подход к десорбции перечисленных соединений с углеродного сорбента в субкритических условиях смесью метанол:ацетонитрил:изопропиловый спирт (90:5:5).

Отмечу использование в работе совокупности современных хроматографических методов анализа – ВЭЖХ-ДМД-МС и ГХ-МС. Соискателем разработана оригинальная методика ГХ-МС определения ФС с использованием твердофазной аналитической дериватизации в водных экстрактах лекарственных растений. Оптимизированы условия проведения твердофазной аналитической дериватизации ФС: сорбент – Strata C18-E, дериватизирующий агент – N, O-бис (триметилсилил) трифторацетамид, температура инкубации сорбента – 50-60°C, время инкубации сорбента – 30 минут. С использованием разработанной методики в водных экстрактах зверобоя продырявленного идентифицированы 24 соединения.

Научная новизна

Научная новизна диссертационного исследования заключается в том, что соискателем разработаны методики идентификации и хроматографического определения ФС в водных и водно-спиртовых экстрактах ЛРС семейств Зверобойные (зверобой продырявленный), Астровые (эхинацея пурпурная) и Бобовые (клевер луговой) в условиях различных способов их извлечения. Получены основные сорбционные характеристики сорбентов различной природы для твердофазной экстракции ФС из водных и водно-спиртовых экстрактов изученных лекарственных растений. Предложен показатель качества и подлинности растительного материала по составу экстрактов ЛРС семейства Астровые и препаратов на его основе. Выявлена зависимость содержания ФС в ЛРС семейств Астровые и Бобовые от ряда географических и морфологических факторов.

Достоверность

Достоверность представленных Виночкой Е.А. результатов исследований обусловлена значительным объемом экспериментальных данных, научных положений и выводов, значимостью выборки анализируемого материала, использованием комплекса современных методов анализа при идентификации и определении ФС в экстрактах растений семейств *Hypericaceae*, *Asteraceae* и *Fabaceae* и статистической обработки полученных данных, согласованностью теоретически ожидаемых и экспериментально полученных данных.

Практическая значимость результатов работы

Практическая значимость диссертационного исследования не вызывает сомнений. Оптимизированы условия извлечения ФС из ЛРС при их экстракции растворителем, ультразвуковой, микроволновой и субкритической экстракции, а также твердофазной экстракции с применением сорбентов различной природы. Установлены условия хроматографического определения и идентификации ФС в водных и водно-спиртовых экстрактах ЛРС и элюатах различного состава.

Апробация работы

Результаты диссертационной работы обсуждены на III – IV Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием (Краснодар, 2017, 2020 гг.), V - VI Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием (Краснодар, 2018, 2021 гг.), II – III Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2015, 2019 гг.), XXI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019 г.), IV Всероссийской молодежной научной конференции с международным участием «Экологобезопасные и ресурсосберегающие технологии и материалы» (Улан-Удэ, 2020 г.), XXVII международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2020» (Москва, 2020), VI Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Ростов-на-Дону, 2021 г.), XII международной конференции молодых ученых по химии «Менделеев 2021» (Санкт-Петербург, 2021 г.).

По результатам исследований опубликованы 10 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых в

международных базах данных Web of Science и Scopus, а также 10 тезисов докладов в материалах научных конференций.

Соответствие диссертационной работы заявленной научной специальности

Диссертационная работа Веницкой Елены Александровны по научной концепции, содержанию и результатам реализованной области исследований соответствует пунктам 2, 4, 7 и 14 паспорта научной специальности 1.4.2 – Аналитическая химия (химические науки).

Значение результатов диссертационной работы для науки и производства

Полученный в диссертационной работе Веницкой Елены Александровны теоретический и экспериментальный материал представляет значительный вклад в развитие научного направления поиска новых биологически активных природных фармсубстанций для вопросов здоровьесбережения.

Результаты исследований представляют несомненный интерес для специалистов научно-исследовательских организаций и высших учебных заведений, работающих в области фармацевтической и аналитической химии растительных материалов, и найдут отражение в теоретических курсах и лабораторных практикумах при обучении бакалавров и магистрантов, а также специалистов, повышающих квалификацию в области контроля качества лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертационной работы

Содержание автореферата в полной мере отражает основные разделы и выводы диссертационной работы.

Замечания по диссертационной работе

Характеризуя диссертацию Веницкой Елены Александровны необходимо отметить, что она представляет собой завершенную квалификационную научную работу. Достоверность полученных соискателем результатов не вызывает сомнений.

Вместе с тем, к работе имеются замечания, требующие пояснений, но принципиально не влияющие на общую положительную оценку.

1. В разделе 3.1 оценивается эффективность извлечения фенольных соединений различными методами, при этом в качестве референтного значения используется содержание целевых компонентов в экстракте, полученном в соответствии с фармакопейной методикой. Почему автор не использует исчерпывающую экстракцию сырья органическим растворителем (например, 96% этанолом) для оценки реального содержания аналитов, по отношению к которому можно определять степень извлечения различными методами?

2. В разделе 3.4 при обсуждении различий между октадецилсиликагелевым и полимерными сорбентами желательнее учитывать не только их химическую природу, но также совершенно различную сорбционную емкость. Полимерные сорбенты по емкости могут на порядок превосходить сорбенты С18, поскольку сорбция протекает не на поверхности частиц, а и в их объеме за счет диффузии аналитов в полимерную фазу. Обратной стороной такой специфики полимерных материалов является более медленная десорбция, а также влияние времени контакта сорбента с аналитом, определяющее глубину проникновения последнего в полимерную фазу.

3. Стр. 142. Наблюдаемые автором триплеты в масс-спектрах ТМС производных обусловлены не только изотопным распределением кремния, но также (и, возможно в большей степени) наличием изотопа ^{13}C .

4. Известно, что факторы окружающей среды в значительной степени оказывают прямое или косвенное влияние на процессы метаболизма и накопления ФС. К основным факторам относятся среднегодовое количество осадков, средняя температура периода вегетации, продолжительность безморозного периода, продолжительность и интенсивность солнечного воздействия, pH, органическое вещество и доступный калий почвы. Несмотря на существование генетического контроля, экспрессии генов и генотипов содержание ФС в растениях может также варьироваться из-за сезонных и суточных колебаний, а также внутри- и межрастительных и межвидовых особенностей. Данные факторы, а не только уровень произрастания, необходимо принимать во внимание при анализе формирования компонентного химического состава растительных объектов. Однако, хотя автором диссертационной работы сформулированы задачи изучения влияния географических и морфологических факторов на концентрацию ФС в экстрактах исследуемых лекарственных растений, данному вопросу не было уделено должного внимания в обзоре литературы, а в положениях, выносимых на защиту, он вообще отсутствует.

5. Используя в качестве одного из основных методов экстракции-сверхкритическую флюидную экстракцию, необходимо четко соотносить используемые условия экстракции с критическими параметрами состояния экстрагента (К. Bogolitsyn. Modern supercritical fluid technologies for the processing of plant biocomposites: theory and practice. Pure and Applied Chemistry.

– 2018.- Vol.90, - pp. 1679-1683. doi:10.1515/pac-2018-0404; К. Боголицын и др. – Сверхкритические флюиды: теория и практика, 2015, т.10, №1, с.61.) и аргументировать отношение выбранных параметров к «субкритическим» или «сверхкритическим».

Заключение

Отмеченные недостатки не снижают достоинств и уровень диссертационной работы, не подвергают сомнению основные выводы, сделанные соискателем. По объему, качеству выполненных теоретических и экспериментальных исследований, уровню и научной новизне, актуальности и значимости полученных результатов в области аналитической химии растительного сырья и материалов на их основе, диссертационная работа Веницкой Елены Александровны «Идентификация и хроматографическое определение фитокомпонентов фенольной природы в экстрактах некоторых лекарственных растений семейств Зверобойные (*Hypericaceae*), Астровые (*Asteraceae*) и Бобовые (*Fabaceae*)» соответствует требованиям п. 9-13 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (в редакции от 11.09.2021 г.), представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия (химические науки).

Доктор хим. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ,
зав. кафедрой теоретической и прикладной химии
ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный
университет им. М.В. Ломоносова»
Боголицын Константин Григорьевич

Почтовый адрес 163002, Архангельск, Наб. Северной Двины. 17,
Северный (Арктический) федеральный университет им.
М.В. Ломоносова, кафедра теоретической и прикладной
химии
Телефон: +7 (8182) 21-61-62, +7 (8182) 21-89-48
e-mail: k.bogolitsin@narfu.ru


Боголицын К.Г.

Подпись *Боголицын К.Г.*
ученый секретарь ученого совета САФУ
Е.Б. Раменская
" *сентября* 2022г.