

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора РАН
Зилфикарова Ифрата Назимовича на диссертационную работу
Панкова Дениса Игоревича на тему «Разработка состава и методик контроля
качества композиции на основе дигидрокверцетина и глицина»,
представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО
«Первый Московский государственный медицинский университет имени
И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата
фармацевтических наук по специальности
3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы исследования

Растительное сырье представляет собой богатейший источник биологически активных веществ (БАВ). По мере становления фармацевтической науки и развития селективных методов выделения и очистки БАВ, наблюдается постепенное увеличение таких лекарственных средств природного происхождения, фармакологическая активность которых обусловлена не суммой БАВ, а индивидуальными компонентами. Разработка многих современных лекарственных препаратов, в настоящее время получаемых синтетическим путем, начиналась с изучения биохимических свойств таких продуктов метаболизма растений, как алкалоиды, флавоноиды, терпеноиды, кумарины. Поиск новых подходов, имеющих перспективу для разработки лекарственных средств природного происхождения, продолжается и до настоящего времени. Одним из таких подходов является инженерия кристаллов, направленная на модификацию физико-химических свойств флавоноидов.

В группе природных соединений важное место принадлежит флавоноидам: они синтезируются только в растениях, но характеризуются широким спектром биологического действия на организм человека. Среди флавоноидов лидерские позиции занимает флаванол дигидрокверцетин, который производится в промышленных масштабах на территории Российской Федерации. Дигидрокверцетин, наряду с другими полезными биологическими эффектами, способен замедлять когнитивную дисфункцию при деменции, в том числе, вызванной болезнью Альцгеймера. Он ингибирует образование фибрилл β -амилоида, защищает нейроны, улучшает мозговой кровоток.

Диссертационная работа Панкова Д.И. связана с супрамолекулярным синтезом композиции дигидрокверцетина и протеиногенной α -аминокислоты

глицин, которая регулирует активность с-Jun N-терминальных киназ и тем самым предотвращает дегенерацию нервной ткани. Выбранная автором в качестве коформера аминокислота, не только способствует повышению растворимости дигидрокверцетина, но и проявляет сопряженный с ним биологический эффект. Разработка такой композиции, может способствовать потенцированию нейропротекторных свойств компонентов и улучшению фармако-технологических характеристик дигидрокверцетина. Все изложенное, с учетом фактора постепенного прироста возрастного населения, особенно в крупных промышленно-развитых регионах, позволяет считать тему диссертационной работы актуальной.

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

Перед выполнением экспериментальной работы соискателем был проведен анализ опубликованной научной информации по получению и характеристике кокристаллических и коаморфных композиций флавоноидов с аминокислотами, который послужил надежной методологической базой диссертационного исследования. Объем и качество экспериментальных данных, полученных на современном оборудовании и обработанных методами математической статистики, позволили диссертанту сформулировать обоснованные выводы и практические рекомендации, логично вытекающие из результатов эксперимента. В ходе выполнения диссертационной работы автор проводит сопоставительный анализ и подтверждает собственные выводы данными из литературных источников. Диссертант неоднократно докладывал основные результаты работы на конференциях различного уровня: 6-ой Российской конференции по медицинской химии «МЕДХИМ 2024», Менделеевском съезде по общей и прикладной химии, Всероссийской конференции «Современные достижения фармацевтических наук», Международном съезде «Фитофарм 2024», XII Всероссийском симпозиуме с международным участием «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты».

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Работа Панкова Д.И. содержит большой объем полученных результатов, достоверность которых подтверждается многократным повторением экспериментов и их статистической обработкой. Используемые в работе методы супрамолекулярного синтеза, а также физико-химические инструментальные методы анализа адекватны поставленным задачам. Важный фрагмент работы был выполнен одним из самых точных и селективных на сегодняшний день методом

высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим способами детектирования. В работе использовалось современное сертифицированное оборудование и приборы, внесенные в Государственный реестр средств измерений.

Научная новизна исследования состоит в получении и характеристике новой монофазной композиции дигидрокверцетин-глицин. Впервые установлен факт самопроизвольной необратимой изомеризации дигидрокверцетина в растворах, содержащих воду, при комнатной температуре; разделены *цис-транс*-изомеры дигидрокверцетина и дигидрокемпферола; проанализирован стереоизомерный состав промышленных партий дигидрокверцетина, выпускаемых различными производителями; показано влияние технологических условий на содержание σ -диастереомеров, демонстрирующее, что распылительная сушка способствует повышению содержания *цис*-изомера; установлено, что стерилизация образца потоком быстрых электронов не влияет на диастереомерный состав дигидрокверцетина.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученный диссертантом продукт дигидрокверцетин-глицин расширяет фундаментальные представления в области инженерии кристаллов, так как является новой супрамолекулярной композицией, состоящей из флавоноида и аминокислоты, которые объединены водородными связями. Исследованиями *ex vivo* на культурах клеток эпителия пупочной вены человека HUVEC и почек человека HEK 293 выявлена меньшая цитотоксичность композиции по сравнению с исходным флавоноидом.

В ходе предварительного исследования свойств исходных компонентов автором был установлен факт самопроизвольной σ -диастереомеризации дигидрокверцетина в растворителе, содержащем воду. Изучение кинетических параметров этой реакции важны для понимания химического поведения флаванолола в растворе, что позволит прогнозировать стабильность действующего вещества в лекарственной форме «лиофилизат для приготовления раствора для инфузионного введения».

Разработанные и валидированные методики количественного определения базовых компонентов композиции — дигидрокверцетина методом ВЭЖХ-УФ и глицина — методом спектрофотометрии после предварительной дериватизации нингидрином важны с практической точки зрения. Предлагаемые соискателем подходы к анализу композиции являются

основой при составлении нормативной документации на фармацевтическую субстанцию.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно пунктам 1, 2 и 3 паспорта научной специальности.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Результаты диссертационной работы не только широко обсуждались на конференциях и симпозиумах, но и полно освещены в открытой печати. Соискателем по теме диссертации опубликовано 27 печатных работ, среди которых 7 научных статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 4 научные публикации в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России, 16 тезисов в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Структура и содержание диссертации

Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста, включая список литературы. Работа состоит из введения, обзора литературы (Глава 1), шести глав, посвящённых экспериментальным исследованиям, обсуждению результатов и формулированию выводов к каждой главе (Главы 2-7), заключения, которое включает в себя общие выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и условных обозначений, список литературы (всего 257 источников, из них – 212 иностранных), 3 приложения. Диссертация содержит 90 рисунков и 37 таблиц.

Во введении отражены все необходимые разделы в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления». Диссертантом четко сформулированы цели и задачи работы, определены положения, выносимые на защиту, описана актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, в виде рисунка визуализирован дизайн исследования, отражающий суть и этапы работы.

Глава 1 (литературный обзор) написана в соответствии с рекомендациями международного стандарта PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), который способен обеспечить полноту и точность представления результатов по анализируемой проблеме. В обзоре на тему «Композиции флавоноидов и аминокислот:

синтез, биологическая активность и аналитические подходы» автор в виде PRISMA-диаграммы демонстрирует этапы поиска и отбора публикаций, указывает используемые базы данных научной литературы и критерии включения и исключения исследований. Литературный обзор хорошо структурирован, отражает стереохимические особенности объектов исследования, имеет самостоятельное значение и может быть рекомендован к опубликованию в открытой печати.

Глава 2 (Материалы и методы) включает перечень объектов исследования, реагентов, оборудования, использованного при проведении исследовательской работы. В этой главе уделяется большое внимание описанию базовых методов экспериментальной работы и методик анализа.

Глава 3 связана с оптимизацией способа получения композиции дигидрокверцетин-глицин, используя подходы супрамолекулярного синтеза. Важно отметить, что в этой главе автор описывает не только удачные эксперименты, но и делится отрицательным результатом, анализируя возможные допущенные ошибки, что представляет практический интерес для исследователей в области модификации физико-химических свойств флавоноидов путем инженерии кристаллов.

В *главе 4* представлены исследования, связанные со стереохимическими особенностями компонентов композиции. В ней приведены результаты изучения σ -диастереомеризации дигидрокверцетина методами ВЭЖХ и поляриметрии, а также хирального полиморфизма кристаллов глицина. Эта глава в диссертационной работе является ключевой в теоретическом плане.

В *главе 5* автор приводит комплексную характеристику композиции дигидрокверцетина и глицина, полученную методами микроскопического, спектрального, дифракционного и термического анализа. В этой главе соискатель подробно и убедительно демонстрирует получение новой твердой фазы.

В *главе 6* автор приводит практико-ориентированные исследования по разработке и валидации методик контроля качества полученной композиции, которые могут быть использованы при подготовке нормативной документации на фармацевтическую субстанцию дигидрокверцетин-глицин. Методика количественного определения диастереомеров дигидрокверцетина, разработанная на базе метода ВЭЖХ, нашла практическое применение в анализе промышленных партий этого флаванолола.

Глава 7 посвящена биологической активности полученной композиции. В первой части этой главы рассмотрены возможные механизмы нейропротекторного действия дигидрокверцетина. По результатам эксперимента, описанного во второй части, можно предварительно

охарактеризовать разрабатываемое лекарственное средство как безопасное, что является необходимым критерием целесообразности продолжения разработки.

После каждой главы в диссертационной работе приведены выводы, обоснованные полученными результатами.

Общие выводы полностью отражают содержание положений, выносимых на защиту и соответствуют поставленной цели и сформулированным задачам.

Выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы отражают выполнение всех поставленных задач.

В приложениях размещены акты внедрения результатов диссертационного исследования и таблица с систематизацией способов получения дигидрокверцетина, охраняемых патентами на территории Российской Федерации.

В конце диссертации приведены специфические термины, связанные с методологией инженерии кристаллов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат полностью соответствует основным положениям и выводам, изложенным в диссертации. Текст автореферата изложен лаконично, но целиком передает ее смысл и формирует полное представление о большом объеме выполненной работы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

В диссертационной работе Панкова Д.И. комплексно и убедительно решена задача разработки композиции дигидрокверцетин-глицин. Существенным достоинством работы является гармоничное сочетание теоретической и практической значимости проведенных исследований. Материал диссертационной работы логично выстроен, изложен грамотным языком на основе научной терминологии. Выводы сформулированы компактно, но полностью отражают достижение цели работы и выполнение поставленных задач.

При изучении работы возник ряд вопросов, которые требуют обсуждения и пояснения:

1. Радиационную стерилизацию чаще всего проводят путем γ -облучения. Почему для стерилизации фармацевтической субстанции был выбран метод облучения потоком быстрых электронов?

2. Из представленных в диссертации данных и сделанного вывода (стр. 104) не понятно, влияет ли использованный способ стерилизации на диастереомерный состав дигидрокверцетина. Исследовалось ли воздействие потока электронов на субстанцию в ходе выполнения диссертации или выводы об отсутствии такого влияния основаны на опубликованных ранее данных?

3. При обозначении стереоизомеров дигидрокверцетина соискатель, наряду с обозначением центров хиральности по *R,S*-системе, применяет *цис-транс*-номенклатуру. По правилам этой номенклатуры название стереоизомерам дается, исходя из взаимного расположения одинаковых заместителей относительно плоскости. Кольцо С дигидрокверцетина плоским не является. Можно ли тогда применять *цис-транс*-номенклатуру для ДКВ?

4. В проекте нормативной документации на субстанцию дигидрокверцетин-глицин в формуле приводится соотношение 1 : 5, которое по форме записи является отношением количеств компонентов, выраженных в молях. Это вызывает противоречие с методикой получения на с. 60, из которой видно, что исходные вещества были взяты с соотношением 1 : 5 по массе. Какая формула в проекте НД могла бы точнее отражать структуру субстанции ДКВ-глицин?

5. Можно ли на основании литературных данных говорить о биологическом синергизме дигидрокверцетина и глицина в композиции или возможно предполагать только аддитивность эффекта?

В работе иногда встречаются стилистические погрешности и опечатки, которых немного, и они не отражаются на общем позитивном восприятии текста диссертации. Возникшие вопросы и сделанные замечания не носят принципиального характера и не влияют на положительную оценку работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Панкова Дениса Игоревича на тему «Разработка состава и методик контроля качества композиции на основе дигидрокверцетина и глицина» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований

осуществлено решение научно-практической задачи по фармацевтической разработке композиции дигидрокверцетин-глицин, ее анализу и стандартизации.

По актуальности, степени научной новизны, теоретической и практической значимости, диссертационная работа соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 г. (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023 г., приказом №0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Панков Денис Игоревич, заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Главный научный сотрудник отдела химии и технологии природных соединений Центра химии и фармацевтической технологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР, 117216, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1; тел.: +7(495)388-55-09, e-mail: vilarnii@mail.ru), доктор фармацевтических наук (специальность 15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор РАН



Зилфикаров Ифрат Назимович

Подпись И.Н. Зилфикарова заверяю.
Зав. отделом кадров ФГБНУ ВИЛАР



Т.Г. Силаева

«29» мая 2026 г.