

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора
Тринеевой Ольги Валерьевны
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
на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук
по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Актуальность избранной темы

Современный фармацевтический рынок характеризуется повышенным интересом к лекарственным растительным препаратам, повсеместное применение которых обусловлено их хорошей биосовместимостью и доступностью. Среди фармацевтических субстанций растительного происхождения особого внимания заслуживают флавоноиды, являющиеся эссенциальной частью комплекса биологически активных веществ многих лекарственных растений, что связано с широкой палитрой фармакологического действия этой группы соединений. Флаванол дигидрокверцетин, выделяемый из древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и лиственницы даурской (*Larix dahurica* Turcz.), производится в Российской Федерации в промышленных масштабах в виде фармацевтической субстанции (ФС 000388-270812), а также входит в состав разнообразных биологически активных добавок к пище.

По литературным данным, дигидрокверцетин характеризуется широким спектром фармакологической активности, в том числе препятствует агрегации β -амилоида, что свидетельствует о возможности его потенциального использования для лечения болезни Альцгеймера. Однако низкая растворимость этого флавоноида в воде при комнатной температуре ограничивает дальнейшую разработку лекарственных препаратов на его основе. Хорошо зарекомендовавшим себя подходом к повышению растворимости является получение композиций с различными коформерами.

В последнее время развивается направление использования аминокислот в синтезе таких композиций. Диссертационное исследование, выполненное Панковым Д.И., нацелено на разработку водорастворимой композиции на основе дигидрокверцетина и протеиногенной аминокислоты глицин, которая также способна, как и дигидрокверцетин, влиять на различные звенья биохимических механизмов нейродегенеративных заболеваний. Таким образом, можно ожидать потенцирования фармакологических эффектов флавоноида и аминокислоты, следовательно, разработка композиции дигидрокверцетин-глицин как основы лекарственного средства, которое будет востребовано на рынке, особенно лицами пожилого возраста, является актуальной задачей.

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

Диссертационная работа Панкова Д.И. выполнена на высоком научно-методическом уровне. Исследованию предшествовал информационный поиск, который включал не только опубликованные статьи по композициям флавоноидов с аминокислотами, но и обширную патентную базу, состоящую из 33 документов, описывающих различные способы получения дигидрокверцетина, что свидетельствует о тщательной проработке литературных источников. Результаты подтверждены значительным объемом экспериментальных данных, полученных с использованием современных физико-химических методов (сканирующая электронная микроскопия, рентгеновская порошковая дифрактометрия, дифференциальная сканирующая калориметрия, термогравиметрия, поляриметрия, спектрометрия в инфракрасной области, спектроскопия ядерного магнитного резонанса) и обработанных с помощью статистических инструментов.

Общие выводы грамотно сформулированы, полностью отражают положения, выносимые на защиту и соответствуют поставленной цели и сформулированным задачам. Практические рекомендации и перспективы

дальнейшей разработки темы отражают выполнение всех поставленных задач.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность результатов обеспечивается продуманной методологией исследования, включающей аналитический, теоретический, экспериментальный и обобщающий этапы.

Впервые получена монофазная композиция дигидрокверцетин-глицин 1:5 (м/м). Благодаря использованию методов, адекватных поставленной цели (ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС), автору впервые удалось установить факт самопроизвольной изомеризации ДКВ во время хранения его водных растворов при комнатной температуре, который имеет важное практическое значение с учетом перспективы разработки лекарственной формы для парентерального введения на основе композиции. Все эксперименты в работе выполнены на современной сертифицированном оборудовании в многократной повторности, обработаны статистически в программе Microsoft® Excel®.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Учитывая стереохимическое строение ДКВ, важным теоретическим аспектом работы является ее фрагмент по оптимизации условий хроматографического разделения посредством использования колонки с фенильным сорбентом с последующей идентификацией σ -диастереомеров дигидрокверцетина. Кроме стереоизомеров ДКВ в образце, который был получен методом распылительной сушки при температуре входящего воздуха 180 °С, Панков Д.И. впервые разделил и идентифицировал σ -диастереомеры дигидрокемпферола – флаванонола, родственного дигидрокверцетину. σ -Диастереомеризации не только дигидрокверцетина, но и дигидрокемпферола способствовали условия распылительной сушки.

Практический аспект заключается в разработке и валидации методик количественного определения базовых компонентов композиции –

дигидрокверцетина и глицина. Эти методики в дальнейшем могут быть использованы для анализа лекарственных средств и БАД, содержащих флавоноиды и аминокислоты.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Выполненная диссертационная работа соответствует формуле специальности 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», а именно направлениям исследований паспорта научной специальности:

1. Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ;
2. Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств;
3. Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Результаты диссертационной работы всесторонне и полно освещены в открытой печати. Автором опубликовано 27 работ, из них 7 научных статей опубликовано в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, из них 3 в Q1. 4 научные публикации в журналах, включенных в Перечень ВАК, 16 публикаций – в сборниках конференций и симпозиумов. Диссертант неоднократно докладывал основные результаты работы на конференциях различного уровня, в том числе на английском языке: Международной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии – 2023» (г. Москва, 2023), Международной конференции «The 4th China-Russia International Symposium for Young Scholars» (г. Гуанчжоу, 2023), Международном съезде «Фитофарм 2024» (г. Санкт-Петербург, 2024), XVIII

конгрессе «Разработка и регистрация лекарственных средств» (г. Москва, 2025). Необходимо отметить хорошее владение автором английским языком, на котором в списке литературы, приведенном в автореферате, напечатаны 7 статей и 3 тезисов.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа напечатана на 182 страницах, очень хорошо визуализирована (в работе – 97 рисунков), результаты исследований подвергнуты глубокому анализу и систематизированы в 35 таблицах. Диссертантом проанализирован большой объем научной литературы, список библиографических источников включает 257 публикаций, из них 212 на английском языке. Диссертация имеет классическую структуру и состоит из введения, обзора литературы (Глава 1), описания материалов и методов (Глава 2) и 5 экспериментальных глав, посвященных обсуждению результатов. По окончании каждой главы сформулированы выводы. Диссертация заканчивается заключением, общими выводами, практическими рекомендациями, перспективами дальнейшей разработки темы и 3 приложениями.

Во введении освещены все рекомендуемые ГОСТ Р 7.0.11-2011 фрагменты, в частности актуальность исследования, цель и задачи диссертационной работы, раскрыта её научная новизна, теоретическая и практическая значимость; в положениях, выносимых на защиту отражены основные результаты.

В главе 1 представлен подробный обзор литературных источников по композициям флавоноидов и аминокислот, как исходных компонентов твердофазных систем. Обзор разделен на три части, в двух первых уделяется пристальное внимание вопросам строения и биологической активности исходных компонентов. В третьей части обзора раскрываются методы получения кокристаллических и коаморфных композиций флавоноидов и аминокислот, подходы к их физико-химической характеристике и оценке

биологической активности. Крайне интересен тот факт, что ахиральная аминокислота глицин в твердом агрегатном состоянии проявляет свойства хирального объекта, что немаловажно с точки зрения супрамолекулярной химии композиций, содержащих флаванолы. Из анализа данных этой главы сделан вывод об актуальности разработки композиции ДКВ-глицин.

В главе 2 собраны объекты исследования, материалы и методы. Указано программное обеспечение, использованное для оцифровки графических данных и обработки результатов экспериментов. Важно отметить подробное изложение всех процедур, что позволяет полностью повторить эксперимент.

Глава 3 содержит описание подходов к получению композиции дигидрокверцетина с глицином с применением методов инженерии кристаллов. Соискателем были использованы суспендирование, механоактивация, кристаллизация на границе раздела фаз, распылительная сушка и лиофилизация, но только последний из них был оценен как перспективный для масштабирования и наработки продукта.

Глава 4 посвящена стереохимическим особенностям компонентов и их фазовым переходам в процессе получения композиции. Эта глава является теоретически значимой. Автор работы впервые обнаружил самопроизвольную σ -диастереомеризацию ДКВ при хранении водных растворов при комнатной температуре и изучил кинетику этой химической реакции, используя хроматографические и хироптические методы анализа. Кроме того, было подтверждено, что при лиофилизации формируется γ -полиморфная модификация глицина, кристаллы которой являются хиральными.

В главе 5 представлена характеристика композиции ДКВ и глицина микроскопическими, дифракционными, спектральными и термическими методами анализа. На основании различий в физико-химических свойствах композиции и исходных веществ соискателем сделан обоснованный вывод о формировании новой твердой фазы.

В главе 6 приведена разработка и валидация методик контроля качества композиции дигидрокверцетин-глицин, которые могут быть включены в

разделы «Свойства», «Идентификация», «Испытания» и «Количественное определение» проекта нормативной документации на фармацевтическую субстанцию.

Глава 7 содержит оценку нейропротекторной активности и безопасности полученной композиции методами *in silico* и *in vitro*. Соискателем проведен скрининг связывания ДКВ с мишенями, участвующими в развитии нейродегенеративных заболеваний. Этот эксперимент послужил основанием для формулировки гипотезы о наиболее вероятных механизмах нейропротекторного действия флавоноида. Путем сравнения цитотоксичности композиции ДКВ-глицин с фармацевтической субстанцией ДКВ, показана высокая безопасность полученного продукта.

Необходимо подчеркнуть, что все выводы по главам, общие выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы отражают выполнение поставленных задач.

В разделе «Приложения» содержатся: 2 акта внедрения результатов диссертационного исследования в образовательный процесс на кафедре химии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова и в работу отдела контроля качества ООО «Робиос», а также сведения о патентах РФ, связанных с различными способами получения дигидрокверцетина. На наш взгляд, это крайне важная таблица, поскольку в настоящее время выпуск дигидрокверцетина налажен несколькими производителями и в зависимости от способа получения может меняться диастереомерный состав мажорного флавоноида.

Важной информацией, приведенной в диссертационной работе, является список специфических терминов, связанных с особенностями супрамолекулярного синтеза на основе хиральных компонентов.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствуют положениям и выводам диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Эксперимент в диссертационной работе Панкова Дениса Игоревича выполнен тщательно, очень подробно описан в главе Материалы и методы и, при необходимости, может быть легко воспроизведен. Диссертация написана грамотным научным языком с уместным использованием терминологии, хорошо иллюстрирована рисунками с элементами сопоставительного анализа и таблицами. Выводы сформулированы на основании обработки значительного объема экспериментальных данных.

При характеристике композиции и разработке методик контроля ее качества использован весь современный арсенал физико-химических методов (спектроскопия ядерного магнитного резонанса, спектрометрия в инфракрасной области, сканирующая электронная микроскопия, рентгеновская порошковая дифрактометрия, дифференциальная сканирующая калориметрия, термогравиметрия, высокоэффективная жидкостная хроматография со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием, поляриметрия), дополненный методами анализа биологической активности *in silico* и *in vivo*.

Отмечая несомненно хорошее впечатление от работы, и оценивая ее положительно, следует обсудить некоторые вопросы и замечания, возникшие при рассмотрении работы.

Вопросы по содержанию:

1. В работе на модели культуры клеток человека разных видов исследована острая токсичность разработанной композиции. К какому классу токсичности можно ее отнести? Есть ли литературные данные о хронической токсичности исследуемых фармацевтических субстанций, использованных автором для составления композиции?
2. Учитывалось ли правило «пяти» Липинского при составлении прогноза возможных для ДКВ мишеней при проявлении нейропротекторного действия при использовании онлайн сервиса PASS?

3. Зачем при оценке безопасности разработанной субстанции ДКВ-глицин, наряду с нормируемыми тяжелыми металлами и мышьяком, проводили определение никеля? В разработанный проект спецификации показатель не вошел.
4. Проводились ли автором исследования стабильности разработанной субстанции ДКВ-глицин, на основании которых рекомендован срок хранения в 2 года?
5. Автором в качестве перспективы дальнейшего получения на основе разработанной композиции ДКВ-глицин лекарственной формы, предложен «лиофилизат для приготовления раствора для инфузионного введения», где апробирован и рекомендован растворитель (водный раствор гидроксида натрия с концентрацией 2,3 мг/мл). Как предполагается решать проблему эимеризации ДКВ из транс-изомера в цис-, содержание которого является критически важным показателем качества субстанции?

Замечания по оформлению:

1. В работе встречаются отдельные опечатки, неудачные фразы и стилистические неточности.
2. При описании объектов исследования было бы уместным привести серии и сроки годности анализируемых в работе субстанций и БАД.
3. С точки зрения оппонента, объем Главы 1 «Обзор литературы» следовало бы сократить в части общеизвестных данных об истории открытия, способах выделения и структурных формулах биофлавоноидов и аминокислот.

Высказанные замечания и пожелания не носят принципиального характера, легко устранимы, а вопросы носят уточняющий характер, и не снижают 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 разработке и стандартизации композиции флавоноида дигидрокверцетина и аминокислоты глицина. 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 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023 г., приказом №0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Панков Денис Игоревич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Доктор фармацевтических наук, профессор,
заведующий кафедрой фармацевтической
химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО

«Воронежский государственный университет»  Тринеева О.В.

Адрес: 394018, г. Воронеж, Университетская площадь, дом 1.

Тел.: +7 (951) 549-43-32

E-mail: trineevaov@mail.ru

Подпись Тринеевой Ольги Валерьевны заверяю:
Учёный секретарь ФГБОУ ВО «ВГУ»

 Лопаета М.А.

«22» мая 2026 г

