

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

профессора кафедры фармации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук (15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела, 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия) профессора Федосеевой Людмилы Михайловны на диссертацию Курегян Анны Гургеновны на тему «Теоретическое и экспериментальное обоснование получения индивидуальных каротиноидов и создание на их основе лекарственных средств», представленную на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.04.01 – технология получения лекарств, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования.

Приоритетным направлением фармацевтической отрасли является необходимость создания новых лекарственных препаратов на основе биологически активных веществ растительного происхождения. Кроме этого утверждение «дорожной карты» по направлению «Healthnet» на период с 2017 до 2035 гг. открывает перспективу импорта отечественных лекарственных средств природного происхождения, в частности, индивидуальных соединений и препаратов на их основе.

Следует отметить, что каротиноиды являются биологически активными веществами, определяющими здоровье человека. Снижение уровня их содержания в организме в течение длительного времени приводит к различным патологиям. В последнее десятилетие проявляется научный интерес к окислительному стрессу как «пусковому механизму» многих патологических состояний. Каротиноиды проявляют антиоксидантные свойства и фактически являются основой для проявления фармакологической активности соединений данного класса.

При этом на российском фармацевтическом рынке список лекарственных средств, содержащих сумму каротиноидов, ограничен, хотя они эволюционно биохимически близки организму человека, поступают только с пищевыми продуктами или лекарственными средствами. В настоящее время каротиноиды получают синтетическим и микробиологическим способом, являются в подавляющем большинстве смесью изомеров или суммой каротиноидов. Препятствует широкому использованию каротиноидов низкая стабильность.

Возросшие требования к эффективности, безопасности и качеству лекарственных средств определяют ход исследований для получения индивидуальных природных соединений и лекарственных форм из них, поэтому разработка научно-методологических подходов является актуальным направлением диссертационных исследований.

Связь задач с проблемным планом фармацевтических наук.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, тема утверждена на заседании Ученого совета протокол №12 от 13 апреля 2016 г., Протокол №7 с изменениями от 17 января 2018 г.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Научные положения диссертации соответствуют формулам специальностей 14.04.01 – технология получения лекарств и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальностей, конкретно пунктам 1, 3, 4 паспорта специальности 14.04.01 – технология получения лекарств и пунктам 1, 2, 3, 6 паспорта специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Оценка содержания диссертации.

Диссертационная работа изложена традиционно и состоит из введения, списка использованных сокращений, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (6 глав), заключения, приложений, списка литературы, включающего 376 источников, из них 127 иностранных.

Работа изложена на 379 страницах машинописного текста, содержит 81 рисунок и 76 таблиц.

Содержание работы соответствует цели исследования и отражает последовательность выполнения поставленных автором задач.

Во введении представлена актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены сведения об апробации, внедрении результатов диссертационной работы, личном вкладе автора, соответствии исследования паспортам специальностей, приведены положения, выносимые на защиту.

Глава первая содержит современные сведения о социально-медицинской значимости каротиноидов, структурных особенностях, нормах потребления и содержании в различных природных источниках. Описаны современные сведения по фармакологической активности каротиноидов, уделено внимание взаимосвязи химического строения и фармакологического действия. В обзоре литературы приводится критический анализ технологических подходов к получению каротиноидов методами микробиологического или химического синтеза, а также экстракцией из лекарственного

растительного сырья. Описаны экстракционные методы и дана оценка влияния различных факторов на процесс экстракции и получения готового продукта.

В диссертационной работе структурированы опубликованные в научной литературе данные по состоянию и перспективам анализа каротиноидов, учитывая информативность, доказательность и специфичность методов анализа. Показана возможность использования методов ЯМР, масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии, спектрофотометрии в УФ и видимой областях, а также вариантов хроматографических методов для анализа и стандартизации субстанций каротиноидов и лекарственных форм.

Отмечено, что в настоящее время микрокапсулирование не применяется в процессе получения субстанций каротиноидов и лекарственных форм на их основе, а лишь частично используется для обогащения β -каротином функциональных продуктов питания.

Представлено функциональное моделирование производственно ориентированных систем, в частности, нотации IDEF0 и ее применению в медицине и фармации. Ратификация в РФ стандарта для нотации IDEF0 позволяет автору сделать вывод о возможности использовать этот графический язык для разработки совмещенной методологии изучения каротиноидов и создания лекарственных форм на их основе.

Обзор литературы содержит необходимую информацию и элементы критического анализа. Заключение по обзору литературы позволило сформулировать цели и задачи диссертационного исследования, провести выбор модельных каротиноидов и определить экспериментальную стратегию.

Постановка проблемы подчеркивает актуальность и перспективность диссертационного исследования, а также всего научно-методического направления в целом.

Во второй главе приведено описание объектов, оборудования, реактивов и материалов исследования, методов, методик и условия проведения исследований.

Представлен раздел «Дизайн и теоретическая модель исследования в нотации IDEF0». Приводится традиционный общий дизайн диссертационного исследования и оригинальное предварительное моделирование экспериментального модуля дизайна исследования в нотации IDEF0, что, по мнению автора, позволит теоретически обосновать, детализировать и логически выстроить эксперимент, спрогнозировать его результат, структурировать получаемые данные, выявить связи между его технологическим и аналитическим фрагментами работы.

Третья глава посвящена теоретическому и экспериментальному обоснованию технологии выделения индивидуальных каротиноидов. Эксперимент предваряет алгоритм

разработки технологии получения субстанций каротиноидов, в соответствии с которым и начальным дизайном исследования в нотации IDEF0, был проведен и представлен основной технологический фрагмент работы.

В данной главе автор проводит выбор индивидуальных каротиноидов и сырьевых источников для их получения. Далее диссертант обосновывает влажность, режим сушки, тип измельчения исходного сырья и проводит выбор экстрагентов, выбор факторов определяется особенностями исходного сырья и физико-химическими свойствами получаемых индивидуальных каротиноидов.

Представлены данные по выбору условий экстракции для разработки способа получения каротиноидов. Методом математического планирования эксперимента проведена оптимизация процесса получения индивидуальных каротиноидов. В результате разработана технология получения индивидуальных каротиноидов из лекарственного растительного сырья и сырья животного происхождения.

В четвертой главе представлены данные по разработке методологии для технологии получения и идентификации фармацевтических субстанций каротиноидов. Проводится подтверждение структуры полученных индивидуальных каротиноидов β -каротина, ликопина, лютеина, астаксантина методами спектроскопии ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии и УФ-спектрофотометрии и хроматографическими методами (ВЭЖХ, ГЖХ, и ТСХ). Использование специфичных физико-химических методов дает возможность идентифицировать выделенные соединения.

Количественное определение субстанций каротиноидов проведено спектрофотометрически и методом ВЭЖХ с применением стандартных образцов.

Для проведения стандартизации каротиноидов определены показатели качества и их нормы.

Результатом структурирования полученного экспериментального материала и имеющихся опубликованных данных является методология аналитического сопровождения получения и изучения каротиноидов на примере β -каротина, ликопина, лютеина и астаксантина. В основу представленной модели положено оптимальное сочетанное использование методов анализа каротиноидов.

Пятая глава посвящена разработке технологии стабилизации субстанций каротиноидов и получения лекарственной формы на их основе. Стабилизация липофильного, фоточувствительного и термолабильного класса соединений, а также получение лекарственной формы с каротиноидами - важная задача.

В качестве модельного подхода соискателем выбран метод микрокапсулирования. В работе представлены результаты по микрокапсулированию каротиноидов несколькими способами, при этом дано теоретическое и экспериментальное обоснование диспергированию в несмешивающейся жидкости. Необходимо отметить, что задача по «технологической защите» субстанций каротиноидов решена, что подтвердили результаты установления стабильности полученных субстанций.

Разработана технология получения капсулы на базе стабилизированных субстанций каротиноидов, проведена их стандартизация.

Глава шестая содержит данные по совершенствованию способов анализа и технологии получения лекарственных средств, содержащих каротиноиды. Разработанные в процессе исследования химико-технологические методики применены и апробированы на образцах масла облепихового разных заводов-производителей.

В седьмой главе представлена совмещенная методология изучения каротиноидов и создания лекарственных средств на их основе в нотации IDEF0, которая основана на систематизации полученного экспериментального материала с применением технологий структурного анализа и проектирования – SADT (нотации IDEF0). Полученные результаты можно признать легитимными, так как основные положения данной технологии и инженерного метода проектирования закреплены в национальном стандарте РФ. Достоинством предложенной концепции является возможность комплексно прогнозировать результаты технологических и аналитических разработок.

В *заключении* представлены выводы, основанные на результатах проведенных исследований и перспективы их использования.

Научная новизна исследований и полученных результатов, их достоверность.

Научная новизна исследования и полученных результатов заключается в том, что предложены оптимальные технологические решения, касающиеся получения индивидуальных каротиноидов природного происхождения.

Осуществлено построение математической модели выделения индивидуальных каротиноидов для оптимизации технологии их получения. Проведена конкретизация предложенного технологического подхода применительно к особенностям сырьевых источников, заключающаяся в экстракционном разделении каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов. Научная новизна технологии получения субстанций каротиноидов подтверждена патентами Российской Федерации «Способ получения индивидуальных каротиноидов» (патент РФ №2648452) и «Способ разделения каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов листьев крапивы двудомной» (патент РФ №2659165).

Проведено обобщение и систематизированы подходы к анализу каротиноидов и лекарственных форм на их основе. Научную новизну характеризует обоснование условий и принципов стабилизации субстанций каротиноидов и технологии получения их лекарственных форм. Адекватность предложенных аналитических приемов подтверждена в процессе анализа уже зарегистрированного в Российской Федерации препарата, содержащего каротиноиды.

Для фармацевтической промышленности сконструирована и представлена методологическая концепция получения природных субстанций каротиноидов, технологии их лекарственных форм и аналитического сопровождения этих процессов в нотации IDEF0.

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

Достоверность полученных результатов достигнута благодаря использованию современных технологических, химических, физико-химических, математических методов, позволяющих получать воспроизводимые и достоверные результаты. Все данные обработаны математически и являются статистически достоверными.

Выводы и рекомендации логичны, вытекают из экспериментального материала диссертации, соответствуют цели и задачам исследования.

Значимость результатов исследований для науки и практики, возможные пути их применения.

Теоретическая значимость диссертационного исследования заключается в том, что предложенная автором технологическая концепция экстракционного получения индивидуальных каротиноидов обеспечивает получение субстанций индивидуальных каротиноидов из сырья растительного и животного происхождения (патент РФ №2648452, патент РФ №2659165).

Построенная математическая модель оптимизации технологии получения каротиноидов (на примере β -каротина, ликопина, лютеина, астаксантина) способствует ее масштабированию и адаптации к производственным условиям.

Системные методы анализа соединений группы каротиноидов является методологической основой аналитического сопровождения технологии получения субстанций каротиноидов и их стандартизации.

Предложенная методология изучения каротиноидов, получения субстанций каротиноидов, лекарственных форм на их основе и аналитическое сопровождение этих процессов в нотации IDEF0 позволяют формировать дизайн исследования этой группы БАВ.

Практическая значимость заключается в том, что спектрофотометрические методики количественного определения содержания биологически активных веществ облепихового масла включены в фармакопейную статью предприятия ЗАО «Вифитех» «Облепиховое масло. Масло для приема внутрь, местного и наружного применения» (НД № ЛП 002408-210314).

Методики определения подлинности каротиноидов методом спектрофотометрии апробированы в условиях предприятия ЗАО «Вифитех» и рекомендованы для внесения в проект Изменений № 1, раздел «Подлинность» к НД № ЛП 002408-210314 «Облепиховое масло, масло для приема внутрь, местного и наружного применения» (акт внедрения от 18.01.2018).

Методики проведения тонкослойной хроматографии каротиноидов облепихового масла апробированы в условиях предприятия ЗАО «Вифитех» и рекомендованы для внесения в проект Изменений № 1, раздел «Подлинность» к НД № ЛП 002408-210314 «Облепиховое масло, масло для приема внутрь, местного и наружного применения» (акт внедрения от 18.01.2018).

Сравнительный «слепой» анализ образцов облепихового масла позволил провести выбор образца с оптимальной технологией получения (акт внедрения от 18.01.2018).

Результаты разработки технологии получения микрокапсул оформлены в виде лабораторного регламента. Основная технологическая стадия производства апробирована в условиях предприятия ООО «Витаукт-пром» (акт апробации от 18.12.2018).

Результаты аналитического изучения каротиноидов методами ТСХ и ВЭЖХ включены в учебное пособие «Хроматографические методы в анализе лекарственных средств», рекомендованное УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов фармацевтических вузов и фармацевтических факультетов, обучающихся по специальности «фармация» (письмо №40/05.05-20 от 30.12.2014). Пособие используется в учебном процессе (акты внедрения от 01.03.2018, г. Екатеринбург; от 14.05.2018, г. Москва; от 21.05.2018, г. Пятигорск).

Результаты изучения каротиноидов методом ИК-спектроскопии включены в учебное пособие «Спектроскопия в инфракрасной области и ее использование в фармацевтическом анализе», рекомендованное УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов фармацевтических вузов и фармацевтических факультетов, обучающихся по специальности «фармация» (письмо №355/05.05-20 от 08.10.2014). Пособие используется в учебном процессе (акт внедрения от 23.04.2019, г. Пятигорск).

Соответствие публикаций требованиям ВАК РФ

Основные теоретические и экспериментальные результаты исследования отражены в 35 печатных работах. Список опубликованных работ включает 2 патента РФ и 17 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Замечания, вопросы и предложения по содержанию и оформлению работы:

Материал, представленный в диссертационной работе, изложен последовательно, аргументировано и логично, однако при прочтении возникли следующие замечания и вопросы:

- Для определения доброкачественности лекарственного растительного сырья определены влажность, зола общая и зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, но нет определения экстрактивных веществ и количественного содержания каротиноидов, которые необходимы, на наш взгляд, в ходе работы для расчета выхода экстракта и т. д.;
- Какое лекарственное сырье используете для изучения влияния факторов на процесс экстракции (рисунок 3.3), как определяли выход;
- Для процесса омыления и очистки от сопутствующих веществ не указано обоснование использования 4% раствора натрия гидрокарбоната в течение 15 мин, как проводили контроль;
- На рисунках 3.4, 3.5, 3.6 – данные разобрать не представляется возможным – очень мелкий шрифт;
- Для установления подлинности каротиноидов не указаны условия проведения тонкослойной хроматографии, в каких системах проводили разделение? Заключение, что тонкослойная хроматография более специфична, чем спектрофотометрия. На каком основании, валидация методик в работе не представлена;
- В таблице 6.11 содержание суммы каротиноидов – в % или мг/%;
- Для анализа образцов облепихового масла какие системы растворителей использовали для проведения тонкослойной хроматографии, указано «подвижная фаза 1-4»;
- В диссертационной работе не представлена валидация методик.

Указанные замечания не носят принципиального характера и не снижают ценности проведенного исследования, достоверности и несомненных достоинств данной диссертационной работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»

Таким образом, диссертационная работа Курегян Анны Гургеновны на тему «Теоретическое и экспериментальное обоснование получения индивидуальных каротиноидов и создание на их основе лекарственных средств», представленная на

соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.04.01 – технология получения лекарств, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная проблема фармацевтической науки и практики по разработке технологии получения индивидуальных каротиноидов, лекарственных препаратов на их основе, установлению показателей качества и стандартизации. Диссертационная работа Курегян Анны Гургеновны соответствует требованиям пунктов 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства от 21.04.2016 года №335), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Курегян Анна Гургеновна заслуживает присуждения учёной степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.04.01 – технология получения лекарств, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

профессор кафедры фармации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

доктор фармацевтических наук (15.00.01 – технология лекарств и

организация фармацевтического дела, 15.00.02 – фармацевтическая химия

и фармакогнозия), профессор

Федосеева Людмила Михайловна

28 февраля 2020 г.

Адрес:

656038, Алтайский край, г. Барнаул, проспект Ленина, д. 40

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения

Российской Федерации

Телефон: +7 (3852) 566-893

E-mail: ludmila@agmu.ru

Подпись профессора Федосеевой Людмилы Михайловны заверяю:

