

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

ведущего научного сотрудника кафедры химической кинетики химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктора фармацевтических наук Кондакова Сергея Эмильевича (15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела, 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия) 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 проблемы

Одной из проблем современной фармации является получение лекарственных препаратов из растительного сырья, спрос на которые со стороны потребителей увеличивается год от года. В отношении технологии индивидуальных растительных лекарственных препаратов существует множество нерешенных вопросов, самыми актуальными из которых являются выделение и стандартизация биологически активных веществ и выбор оптимальных лекарственных форм на их основе. Учитывая широкое разнообразие строения биологически активных соединений, выделяемых из растительного сырья, создание какой-либо обобщающей методологии в отношении их выделения, исследования и производства представляет собой непростую задачу. Все это и формирует соответствующую проблему.

В связи с этим выбранная автором тема актуальна как в общем плане, так и в конкретных уточненных задачах: получение и стандартизация индивидуальных природных соединений и конкретных лекарственных форм на их основе.

Новизна исследований и полученных результатов, их достоверность

В работе впервые поставлен вопрос о целостной технологии каротиноидов: от получения и стабилизации индивидуальных соединений до создания их лекарственных форм. На экстракционном разделении каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов показана возможность использования «некаротиноидоносного» сырья.

Ряд новых показателей зафиксирован при разработке технологии микрокапсулирования, которую автор рассматривает как стабилизирующий фактор для сохранения полученных субстанций.

Новизна и достоверность проведенных А.Г.Курегян исследований подтверждена внешней оценкой - двумя патентами РФ.

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

Обоснованность и достоверность основных положений и выводов представленной докторской диссертационной работы базируется на большом по объему экспериментальном материале по технологии получения каротиноидов, с применением сочетаний различных физико-химических методов анализа.

Основные положения диссертационной работы научно обоснованы, все заключения отражают результаты работы.

Общее заключение совпадает с задачами исследования и успешно их решает.

Работа написана профессионально.

Теоретическая составляющая работы может быть использована, при условии ее адаптации, для планирования работ по технологии выделения других природных биологически активных веществ из растительного сырья.

Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования

Практическая значимость работы представлена подробно.

Спектрофотометрические методики количественного определения 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 ТСХ-анализа 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 аналитического 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).

Использование результатов работы, с точки зрения оппонента, наиболее перспективно в следующих направлениях:

- Расширение номенклатуры отечественных природных лекарственных средств, содержащих индивидуальные каротиноиды.
- Внедрение результатов работы в технологические нормативные документы для существующих лекарственных средств, содержащих индивидуальные каротиноиды.
- Продолжение разработки методических материалов по материалам работы для их использования в учебном процессе по фармацевтическим специальностям высших и средних специальных учебных заведений.

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 3, 6 паспорта специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Соответствие публикаций требованиям ВАК РФ

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

Оценка содержания и структуры диссертации

Диссертационная работа изложена традиционно, включает 379 страниц машинописного текста в компьютерном наборе и состоит из введения, списка использованных сокращений, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (6 глав), общего заключения, списка литературы, приложений.

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

Введение включает актуальность проблемы, цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, сведения об апробации, внедрении результатов диссертационной работы, личном вкладе автора, соответствии исследования паспортам специальностей, положения, выносимые на защиту.

В *главе первой* (обзор литературы) приведены современные данные о социально-медицинской значимости каротиноидов, нормах потребления и их содержании в природных источниках. Диссертантом проводится критическая оценка технологических приемов, используемых при получении каротиноидов. Автор систематизировал литературные данные о технологических методах выделения и анализа каротиноидов. Материал представлен с учетом специфичности и информативности методов анализа. В обзоре литературы подробно охарактеризовано микрокапсулирование лекарственных средств и его цели. Сделан вывод о том, что микрокапсулирование пока не применяется в процессе получения субстанций каротиноидов и ЛФ на их основе. Уделено внимание функциональному моделированию производственно ориентированных систем.

Обзор содержит элементы критического анализа, поэтому заключение по обзору литературы позволяет автору формулировать проблематику диссертационного исследования, проводить выбор модельных каротиноидов и определять экспериментальную стратегию.

Постановка проблемы показывает актуальность, перспективность, и практическую значимость диссертационного исследования.

Вторая глава «Объекты, материалы и методы исследования» включает описание объектов, оборудования, реактивов и материалов исследования, методов, методик и условий проведения испытаний. Часть из них описана в литературе и утверждена ГФ, часть является оригинальной.

Третья глава «Теоретическое и экспериментальное обоснование технологии получения индивидуальных каротиноидов». Диссертант строит

эксперимент и излагает его результаты в соответствии с алгоритмом разработки технологии получения субстанций каротиноидов и дизайном исследования.

В данной главе изложен и обоснован выбор модельных индивидуальных каротиноидов, а также и отечественных сырьевых источников. Экспериментально и последовательно проводится выбор оптимальных параметров влажности, режима сушки, типа измельчения исходного сырья. Следует отметить, что за основу автор берет, в первую очередь, физико-химические особенности выделяемых индивидуальных каротиноидов и функциональные особенности исходного сырья.

Значительный объем главы приходится на описание и анализ эксперимента по выбору условий экстракции каротиноидов. Завершается эта часть эксперимента обобщенным способом получения каротиноидов, новизна которого подтверждена патентом РФ №2648452 «Способ получения индивидуальных каротиноидов».

Впервые применительно к каротиноидам проведена оптимизация процесса получения индивидуальных каротиноидов методом математического планирования эксперимента для каждого из четырех модельных объектов. Этот материал, возможно, упростит процесс масштабирования разработанной технологии.

Поскольку каротиноиды по ряду химических свойств похожи на хлорофиллы, автор проводит детализацию способа получения каротиноидов в присутствии хлорофиллов (патент РФ №2659165 «Способ разделения каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов листьев крапивы двудомной»).

Достоинством главы является рассмотрение технологических аспектов получения каротиноидов из другого природного сырья – сырья животного происхождения. С использованием разработанных ранее подходов диссертант приводит обоснования для изменения в схему получения таких каротиноидов на примере астаксантина.

В завершении главы сформулировано заключение и дана общая технологическая схема получения индивидуальных каротиноидов.

Глава четвертая – «Разработка методологии аналитического сопровождения технологии получения фармацевтических субстанций каротиноидов». Эта глава является связывающей между технологией получения индивидуальных каротиноидов и их стабилизацией с последующим выбором оптимальной лекарственной формы. В главе излагается экспериментальный материал, касающийся идентификации полученных каротиноидов: β -каротина, ликопина, лютеина, астаксантина. Эксперимент проводился с использованием физико-химических методов: спектроскопии ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии и УФ-спектрофотометрии. Автор использует в работе и хроматографические методы, в частности, ВЭЖХ, ГЖХ, и ТСХ. Количественное определение субстанций каротиноидов проведено спектрофотометрически и методом ВЭЖХ с применением стандартных образцов.

В ходе изложения экспериментального материала и его обсуждения автор детализирует базовые показатели и нормы качества для каротиноидов на примере выбранных модельных объектов. Результирующим фрагментом этой главы является предложенная автором методология аналитического сопровождения технологии получения каротиноидов на примере β -каротина, ликопина, лютеина и астаксантина.

В пятой главе «Разработка технологии стабилизации субстанций каротиноидов и получение лекарственной формы на их основе» диссертантом ставится и решается частная технологическая задача – стабилизация индивидуальных каротиноидов. В работе приведены результаты по получению микрокапсул для четырех модельных субстанций каротиноидов несколькими способами. Автор теоретически и экспериментально обосновывает диспергирование в несмешивающейся жидкости как оптимальный способ микрокапсулирования каротиноидов.

Логичным продолжением является обоснование технологии и выбор лекарственной формы для стабилизированных субстанций каротиноидов, в качестве которой автором выбраны капсулы. Глава содержит технологическую схему и ее описание, результаты анализа и стандартизации капсул с четырьмя индивидуальными каротиноидами, завершается заключением.

Глава шестая «Совершенствование способов анализа и технологии лекарственных средств, содержащих каротиноиды» демонстрирует прикладное и практическое значение работы. В этой главе автором апробируются предложенные по результатам эксперимента технологические и аналитические подходы применительно к зарегистрированному в РФ лекарственному средству – облепиховому маслу.

В условиях «слепого» эксперимента образцы облепихового масла были исследованы несколькими методами. Полученный экспериментальный материал позволил диссертанту разработать соответствующие рекомендации производителю и оформить их документально. Материалы анализа образцов облепихового масла включены в разделы фармакопейной статьи предприятия ЗАО «ВИФИТЕХ»: «Облепиховое масло, масло для приема внутрь, местного и наружного применения».

Глава семь – «Совмещенная методология изучения каротиноидов и создания лекарственных средств на их основе в нотации IDEF0» является теоретическим фрагментом исследования, который объединяет и технологическую, и аналитическую линию работы. Представленная автором методология основана на систематизации экспериментального и теоретического материалов в стандарте IDEF0, более принятом для описания бизнес - процессов с использованием графического языка (графической нотации). Для фармацевтической отрасли такие разработки не являются характерными.

Заключение логично вытекает из результатов эксперимента, свидетельствует о достижении поставленной цели и выполнении поставленных диссертантом задач.

Список литературы включает 376 (из них 127 иностранных) источников. Список составлен в порядке цитирования источников.

Диссертация включает раздел «*Приложения*», в котором приведены материалы, подтверждающие внедрение.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

В автореферате работы изложены все основные этапы исследования. Содержание автореферата полностью отражает основные положения и выводы диссертационной работы.

Замечания, вопросы и предложения по содержанию и оформлению работы

Отмечая положительное впечатление от работы, необходимо задать вопросы по моментам, которые кажутся спорными или недостаточно полно отражены в тексте.

Теоретическая составляющая работы заключается в создании обобщенной методологической схемы в нотации IDEF0, которая по предположению авторов может быть реализована с целью изучения других природных биологически активных веществ на примере каротиноидов.

Известно, что методология IDEF0 (Icam DEFinition), как часть методологии SADT (Structured Analysis and Design Technique – методология структурного анализа и проектирования), представляет собой совокупность методов, правил и процедур, предназначенных для построения функциональной модели системы и была изначально разработана в качестве федерального стандарта США на разработку программного обеспечения, но нашла широкое применение для описания бизнес-процессов с использованием простого формального и наглядного графического языка (графической нотации). Благодаря наглядности, IDEF0 рекомендована для использования Госстандартом РФ в отечественных госструктурах при описании функционального аспекта информационных и бизнес систем.

Из обсуждаемой в работе «Совмещенной методологии изучения каротиноидов и создания лекарственных средств на их основе в нотации IDEF0» непонятно, какая совокупность методов, правил и процедур была использована для построения функциональной модели системы в области изучения (аналитика), а какая в области создания (технология) лекарственных средств на основе каротиноидов?

В чем был смысл создания объединенной модели, и в чем преимущество предлагаемого подхода по сравнению с традиционным описанием процессов отдельно? Какие преимущества имеет предлагаемый подход по сравнению с

требованиями изложенными в ICH Q8 «Фармацевтическая разработка» (ICH Q8 – Pharmaceutical development)?

На рисунках 4.1 – 4.4 приводятся ЯМР спектры субстанций бета - каротина, ликопина, лютеина и астаксантина только для протонов. Почему? Спектр С-ЯМР мог бы дать дополнительную информацию о структуре полиеновых цепей. Линии интегрального сигнала на спектрах нет. Отнесение сигналов протонов в соединениях проводится обычно не только по положению и форме сигнала выраженной в м.д., но и по интегральной интенсивности сигнала, которая дает о количестве протонов с одинаковым расщеплением. Почему? Из текста непонятно, какие субстанции исследовались: стандартные или полученные в работе?

В разделе 4.2, посвященном идентификации каротиноидов методом масс-спектрометрии, приведены масс спектры соответствующих образцов, из трех лабораторных серий. Из описания прибора, на котором снимались спектры (стр.60) видно, что это хромато масс-спектрометр. Почему автор не приводит хроматограммы и расшифровки масс спектров для остальных примесных соединений образцов, а приводит хроматограммы отдельно? Каков процент примесных соединений в конечных субстанциях и что они из себя представляют химически?

В разделе «микрокапсулирование» все данные в таблицах приведены в виде действительных чисел. Внизу имеется сноска - среднее значение по результатам нескольких измерений. В научной литературе принято указывать ошибку измерения в формате +/- ошибка. Из-за этого приведенные данные не выглядят убедительно.

Аналогичное замечание и к другим представленным данным, например, по факторам удерживания, при осуществлении ТСХ. К сожалению, в работе не приведено ни одной фотографии пластины ТСХ с полученными результатами, что не позволяет оценить аккуратность выполнения процедуры и возможные ошибки. По какой границе или точке рассчитывался фактор удерживания? Центр пятна? Верхняя граница? Как учитывался размер пятна? Какова ошибка определения фактора удерживания?

Указанные замечания не снижают значимости проведенных исследований.

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

Диссертационная работа Курегян Анны Гургеновны «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 законченным, научно-квалификационным исследованием, в котором поставлена и решена важная для фармацевтической

науки и практики проблема разработки технологии получения (выделения) и стандартизации отечественных природных каротиноидов и создания на их основе технологических процессов производства оригинальных лекарственных форм.

По актуальности, теоретической и практической значимости, степени апробации и обоснованности выводов диссертационная работа Курегян Анны Гургеновны соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от 28.08.2017 г., с учетом изменений, внесенных в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 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:

ведущий научный сотрудник кафедры химической кинетики, химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктор фармацевтических наук (15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела, 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия)

Кондаков Сергей Эмильевич

119991, г. Москва, Ленинские горы, д.

1, стр. 3, лаб. 129

Телефон: +7 (495) 939-18-14

E-mail: kse@excite.chem.msu.ru

