

## ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующего кафедрой фармации института дополнительного профессионального образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, профессора Катаева Валерия Алексеевича на диссертационную работу Власова Сергея Сергеевича по теме: «Синтез и контроль качества системы доставки доксорубина на основе микрочастиц Fe(0)», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

### *Актуальность выполненного исследования.*

В настоящее время, химиотерапия является одним из основных и наиболее эффективных методов борьбы с онкологическими заболеваниями, однако, существенным ограничением использования данного подхода является высокая токсичность используемых препаратов. Среди существующих на сегодняшний день возможных способов снижения возникающих побочных действий эффективным является использование тераностических систем, которые помимо целевой доставки химиотерапевтического агента позволяют проводить оценку индивидуального терапевтического отклика и, вследствие чего, применять индивидуальные режимы лечения.

Обзор имеющихся на сегодняшний день тераностических систем доставки показал, что одним из возможных вариантов является использование нано- и микроразмерных частиц на основе магнитных материалов, среди которых, ноль-валентное железо представляет большой интерес, благодаря таким преимуществам как доступность, низкая

токсичность и высокое значение магнитной сатурации. Однако использование микроразмерных носителей является более предпочтительным по сравнению с наноразмерными, за счет меньшей подверженности экстравазации частиц, а также положительному влиянию на обнаруживаемый контраст, что обуславливает перспективность создания систем доставки с их использованием.

Среди представленных в литературе способов получения микрочастиц ноль-валентного железа, наиболее широкое применение находят химические методы, благодаря достаточно высокой доступности и простоте, однако, в связи с высокой токсичностью реагентов, а также низкой степенью изученности влияния параметров синтеза на размер частиц, разработка новых экономичных способов синтеза с возможностью получения частиц заданного размера, по-прежнему, остается актуальной проблемой, требующей своего дальнейшего решения.

Стандартизация тераностических систем доставки лекарственных препаратов также является сложной и нетривиальной задачей, поскольку для получения достоверных и точных результатов, используемые методики должны быть валидированы и обладать высокой правильностью и специфичностью при совместном присутствии компонентов, входящих в состав системы. Таким образом, разработка методик количественного определения для анализа многокомпонентных систем доставки лекарственных препаратов является актуальной задачей на сегодняшний день.

***Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность.***

Новизна представленной диссертационной работы заключается в разработке новой методики синтеза носителя на основе микрочастиц ноль-валентного железа, а также их конъюгата с доксорубицином. В работе исследовано влияние параметров синтеза на размер микрочастиц Fe(0), при их получении методом восстановления Fe<sup>3+</sup> боргидридом натрия и

последующей стабилизации 4-карбоксивензилдиазония тозилатом. Автором изучено высвобождение доксорубина из полученного конъюгата под воздействием ультразвукового излучения и различных значений рН среды, а также исследованы МРТ-контрастные свойства полученного носителя (in vivo). В ходе исследования определены показатели качества конъюгата, а также предложен проект нормативной документации на лекарственную форму «Конъюгат Fe-CS-ДОКС» лиофилизат для приготовления суспензии для внутривенного введения.

***Степень обоснованности и достоверности полученных результатов, положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.***

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных автором в диссертационной работе, основывается на использовании современных методов анализа. Научные положения и выводы обоснованы, достоверны и логически вытекают из представленных экспериментальных данных.

Основные результаты диссертационной работы доложены на всероссийских и международных конференциях.

По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 2 статьи в журналах из перечня ВАК, 1 патент Российской Федерации и 8 тезисов докладов на различных конференциях.

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

Полученные автором результаты внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтического анализа ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России и кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

***Соответствие диссертации паспорту научной специальности.***

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно, области исследований, соответствующей п. 2 – формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств и п. 3 – разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

#### ***Оценка содержания диссертации.***

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, выводов по каждой из глав, заключения по работе, списка сокращений и списка литературы, включающего в себя 202 отечественных и зарубежных источника. Диссертационная работа изложена на 116 страницах, содержит 28 таблиц и 34 рисунка.

#### ***Анализ диссертации по главам.***

**Во введении** изложена актуальность темы исследования, определены цель и задачи, представлены данные о научной новизне, практической значимости, сформулированы положения, выносимые на защиту, отражена степень разработанности темы.

**Глава 1** (стр. 10-33). Обзор литературы содержит данные о химиотерапии, как основного метода лечения онкологических заболеваний, дано определение тераностики. В разделе 1.2. подробно описаны имеющиеся на сегодняшний день системы доставки лекарственных средств, охарактеризованы внешние и внутренние факторы, влияющие на скорость высвобождения полезной загрузки из системы. Подробно описаны способы получения микро- и наноразмерных частиц ноль-валентного железа с их преимуществами и недостатками. Разделы 1.3 и 1.4. посвящены обоснованию выбора компонентов, входящих в состав разработанной системы и описанию методик их количественного определения соответственно. Обзор

заканчивается выводами, совершенно логично вытекающими из представленного материала.

**Глава 2** (стр. 34-42) посвящена описанию оборудования, материалов и методов исследования, использованных в работе. В данном разделе представлены методики изучения контрастных свойств полученных микрочастиц, определения емкости загрузки доксорубицина и изучения его высвобождения при различных значениях pH. Также описаны методики определения оптимальных параметров синтеза носителя и его конъюгата с доксорубицином.

**В главе 3** (стр. 43-81) представлены результаты исследования влияния параметров синтеза микрочастиц Fe-COOH на их размер. Важно отметить, что использование систем доставки, на основе микрочастиц сопровождается высоким риском нецелевой эмболизации, в связи с этим для проведения безопасной и эффективной терапии необходимо подобрать такие условия синтеза, при которых обеспечивается узкий диапазон распределения размеров, от 1 до 10 мкм. В ходе проведенных автором исследований, данная задача была решена, а содержание целевой фракции микрочастиц Fe-COOH составляло более 91%. В последующем изучено влияние параметров синтеза носителя Fe-CS (микрочастицы Fe-COOH и хитозан), а также конъюгат Fe-CS-ДОКС (микрочастицы Fe-COOH и хитозан и доксорубицин) на емкость загрузки доксорубицина. В ходе выполненных экспериментальных исследований автором предложена однореакторная методика синтеза системы доставки с высоким содержанием доксорубицина, равным 0,9 мг/мг. Подводя промежуточный итог, хотелось бы отметить достаточный объем проведенных экспериментов, а также их тщательность и результативность. Следующий этап исследований включал в себя разработку методик количественного определения компонентов, входящих в состав конъюгата. Необходимо отметить сложность данной задачи, в связи с многокомпонентным составом исследуемого объекта и, соответственно, их мешающем влиянии. Предложенный алгоритм пробоподготовки

демонстрирует знания автора в области стандартизации многокомпонентных систем, а результаты валидации представленных методик подтверждают возможность их дальнейшего применения в фармацевтическом анализе. Установленные в ходе экспериментов показатели качества конъюгата Fe-CS-ДОКС (микрочастицы Fe-COOH и хитозан и доксорубин) легли в основу проекта нормативной документации. Глава завершается выводами.

**Глава 4** (стр. 82-88) посвящена исследованию тераностических свойств разработанного конъюгата Fe-CS-ДОКС, включает в себя изучение высвобождения доксорубина под воздействием ультразвукового излучения и различных значений pH, а также изучение контрастных свойств носителя в МРТ-исследовании. Результаты проведенного исследования подтверждают высокую чувствительность конъюгата к внешним и внутренним стимулирующим воздействиям, а также избирательное накопление носителя по периферии опухоли, в печени и селезенке, что представляется перспективным для дальнейшего использования разработанной СДЛС в диагностике и лечении онкологических заболеваний.

**Заключение.** Выводы логичны и аргументированы, соответствуют задачам исследования. Диссертационная работа выполнена на современном научном уровне, материал диссертации хорошо иллюстрирован и изложен лаконичным языком.

В конце работы приводится список литературы.

При изучении диссертационной работы (автореферата) возникли следующие вопросы и замечания:

1) В разделе 1.1. диссертации не приведены химиотерапевтические средства в онкологии, их классификация, современные и эффективные лекарственные препараты, и их возможные побочные действия.

2) Чем обусловлен выбор исходного субстрата ( $\text{FeCl}_3$ ) для получения микрочастиц  $\text{Fe}(0)$ ? Известны ли в литературе альтернативные варианты? И, если да, в чем конкурентные преимущества выбранного субстрата?

3) При определении оптимальных параметров методик получения, например, Fe-CS (концентрация, скорость подачи раствора  $\text{NaBH}_4$ , концентрация 4-КБДТ, время синтеза и стабилизации микрочастиц) за основу приняты исходные параметры. А на основании каких исследований были обоснованы исходные параметры синтеза?

4) Проводилось ли исследование влияния температуры и pH среды, использование органических растворителей при разработке и определении оптимальных параметров этапов синтеза микрочастиц Fe-CS и конъюгата Fe-CS-ДОКС?

5) При доказательстве строения микрочастиц Fe-COOH автором используется только данные ИК-спектра. Этого не достаточно. В частности, как доказано присоединение карбоксифенильных радикалов к поверхности микрочастиц и рост органического слоя за счет взаимодействия с остатками бензойной кислоты на поверхности микрочастиц Fe(0)?

6) В ходе проведения подготовки проб конъюгата для количественного определения составляющих его компонентов автор отмечает, что доксорубицин подвергается гидролизу и переходит в доксорубицинон. Проводилась ли оценка степени конверсии доксорубицина при подготовке и каким образом?

7) Количественное определение доксорубицина в конъюгате Fe-CS-ДОКС проводится методом ВЭЖХ с использованием стандартного образца. В то же время при изучении кинетики высвобождения доксорубицина под воздействием низкочастотного УЗ излучения концентрацию высвободившегося доксорубицина определяли по калибровочному графику методом УФ-спектроскопии. Какой из методов и на основании каких данных является основным для определенных этапов исследования?

8) Проводилась ли оценка валидационных параметров методики количественного определения натрия трифосфата?

9) Автором планируется дальнейшее применение конъюгата Fe-CS-ДОКС в виде лиофилизата для приготовления суспензии для внутривенного

введения. В работе не приведены параметры лиофильной сушки и не разработан показатель «Вода или потеря в массе при высушивании», не обоснован срок годности, условия хранения.

10) Каким способом проводили стерилизацию разработанного лекарственного препарата? Проводили ли оценку ее влияния на структурные и биологические свойства конъюгата Fe-CS-ДОКС?

11) В диссертационной работе встречаются многочисленные опечатки, орфографические и пунктуационные ошибки, неудачные выражения (раздел 1.4.), таблицы 7 и 12 и 24.

В тоже время указанные замечания и вопросы могут быть расценены, скорее, как дискуссионные, не имеющие принципиального характера и не снижающие ценности диссертационной работы.

***Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации.***

Содержание автореферата соответствует материалам, основным положениям и выводам диссертации.

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

Таким образом, диссертационная работа Власова Сергея Сергеевича на тему: «Синтез и контроль качества системы доставки доксорубицина на основе микрочастиц Fe(0)», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, представляет собой законченную научно-квалификационную работу, посвященную решению актуальной научной задачи – разработке новой система доставки доксорубицина, а также методики ее стандартизации.

Диссертационная работа Власова Сергея Сергеевича отвечает требованиям п. п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от 1.10.2018 г.), предъявляемым к

кандидатским диссертациям, а ее автор - Власов Сергей Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой фармации института дополнительного профессионального образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, профессор



Катаев Валерий Алексеевич

«4» декабря 2019 г.

Подпись доктора фармацевтических наук, профессора Катаева Валерия Алексеевича заверяю:

Ученый секретарь ученого совета, д.фарм.н., доц.  С.А.Мещерякова

Место работы: Катаев Валерий Алексеевич федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: Россия, 450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3, тел. (347) 272-11-60;

E-mail: rectorat@bashgmu.ru.