

## ОТЗЫВ

### ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармации  
ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский  
университет Минздрава России

**ПЕТРОВА АЛЕКСАНДРА ЮРЬЕВИЧА**

на диссертационную работу Липина Даниила Евгеньевича на тему:  
«РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЯГКИХ ЛЕКАРСТ-  
ВЕННЫХ ФОРМ, СОДЕРЖАЩИХ ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ *SERRATULA CO-  
RONATA L.*»,

представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук  
по специальности 14.04.01- технология получения лекарств

#### **Актуальность темы выполненной работы**

Одним из самых значительных достижений науки последнего времени является разработка технологий использования экдистероидов, синтезируемых растениями, в управлении процессами роста и развития различных организмов. Последнее открытие, добавляя новое содержимое к широко известным адаптогенным и иммуно-модулирующим эффектам экдистероид содержащих препаратов в классической, народной и нетрадиционной медицине, еще более поднимает значимость и актуальность его для здоровья человека.

Являясь лигандами для внутриклеточных и мембранных рецепторов, их управляющими элементами, экдистероиды обладают способностью изменять гомеостаз организма, воздействуя на рост, дифференциацию и запрограммированную смерть клеток, выработку специфических продуктов их метаболизма. Роль экдистероидов как лигандов состоит в переключении между двумя состояниями транскрипционного механизма генов по принципу включено -выключено, и/или в трансмембранной передаче сигналов внутриклеточным мишеням через каскад вторичных мессенджеров.

В практической медицине экдистероид содержащие составы используются для предупреждения болезней и поддержания иммунного статуса у здорового человека, занимают важное место в спортивной, космической и военной медицине, применяются при трансплантации человеческих органов и кожи.

Молекулы экистероидов, представляющие собой *группу полигидроксилированных стероидов*, участвуют в жизнедеятельности практически всех классов организмов, выполняя множественные функции.

Вопрос о роли их в живой природе до сих пор остается открытым. Дополнительно известно лишь то, что один из главных представителей экистероидов, *20-гидроксиэкизон*, является истинным гормоном линьки для членистоногих (насекомых и ракообразных).

В отношении млекопитающих, включая человека, эти вещества выполняют некоторую универсальную гормоноподобную роль, но не являются ими. Они скорее регулируют баланс гормонов и занимают место в иерархии биологически активных веществ область выше, чем последние.

Предложенное автором направление исследований по созданию мягких лекарственных форм и, в особенности мягких форм с липосомальными эмульсиями представляется важным и новым направлением в исследованиях практического применения экистероидов

#### **Соответствие диссертации заявленной научной специальности.**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.01 – технология получения лекарств. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3, 6 паспорта 14.04.01 – технология получения лекарств.

#### **Научная новизна исследований и полученных результатов**

Автором диссертационного исследования впервые показана возможность применения одного из экистероидов – субстанции серпистен для создания мягких лекарственных форм.

На основании комплекса проведенных экспериментальных исследований автором разработаны две мягких лекарственных формы – мазь серпистена и липосомальный гель, разработана технология производства препаратов, проведена оценка стабильности при хранении и стандартизация лекарственных форм с необходимым объемом валидации методик анализа. Безопасность и эффективность полученных готовых лекарственных форм доказана с применением биологиче-

ских методов. Безусловной научной новизной является создание стабильной в течение срока годности препарата липосомальной эмульсии и включение ее в состав геля.

#### **Практическая значимость.**

Проведенные полномасштабные исследования реологических свойств вспомогательных веществ и полученных композиций позволили разработать состав и технологию получения мягких форм с серпистеном, отвечающих требованиям государственной фармакопеи РФ. Технологические и биофармацевтические исследования позволили получить стабильный при хранении продукт, а на основе этих работ созданы технологические схемы производства нескольких композитных ЛФ. Изучение полученных таким образом мягких ЛФ позволило осуществить полноценную стандартизацию лекарственных форм с определением сроков годности и разработкой проектов нормативной документации, для включения в регистрационное досье на препараты. Результаты исследований нашли применение в учебном процессе по курсу «Промышленная технология» на базе ГБОУ ВПО Пермская ГФА. Технология полученных лекарственных форм апробирована на базе ОАО «Татхимфармпрепараты» г. Казань.

#### **Степень обоснованности и достоверности полученных результатов выводов.**

Диссертационная работа Липина Д.Е. выполнена на современном научном уровне с использованием современных методов анализа: технологических, физико-химических, биотехнологических, фармакологических.

Положения, выдвинутые в диссертации, научно обоснованы. Выводы согласуются с полученными результатами, логично вытекают из задач исследования. Диссертация оформлена в соответствии с основными требованиями ВАК, написана грамотно, профессиональным языком.

Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на Международных и Всероссийских научных конференциях (Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализаций» г.Пермь, 2011; XVI

Международном съезде «Фитофарм-2012», г. Санкт-Петербург, 2012; межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием «Современная фармация: образование, наука, бизнес», г. Тюмень, 2014 и др).

### **Структура диссертационной работы**

Диссертационная работа изложена на 187 страницах машинописного текста, содержит 42 рисунка и 38 таблиц, включает введение, обзор литературы, главу материалы и методы, три главы собственных исследований, список цитируемой литературы, содержащий 180 библиографических источников, из которых 82 на иностранных языках, заключение, выводы, приложения и акты внедрения, т.е. по своей структуре, внешнему оформлению отвечает формальным требованиям, предъявляемым к диссертационным работам. По материалам диссертационных исследований опубликовано 10 работ, из них 3 в журналах, рекомендованных ВАК.

### **Общая характеристика работы**

**В первой главе** автором проведен анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы. Проанализированы природные источники фитозкдистероидов, они систематизированы по доступности сырья, по накоплению целевого продукта, охарактеризован спектр доступных экдистероидов. Вторая часть обзора включает сведения о химической структуре, частью реакционной способности, технологии получения из природного растительного сырья и биологической активности экдистероидов и их комплексов с фосфолипидами. Последняя часть обзора посвящена методам получения мягких лекарственных форм и описанию доступного вспомогательного сырья – мазевых основ, гелевых полимеров и т.д.

**Вторая глава** традиционно включает описание объектов и методов исследований.

В главах экспериментальной части приводятся результаты собственных исследований. **В главе 3** проведены многофакторные и многосторонние исследова-

ния по разработке состава мази с серпистеном, ее оптимизации и стандартизации с определением сроков годности ЛФ. Важным моментом является подбор растворителя для введения действующего вещества в мазевую композицию, будучи плохо растворимым в основах веществом серпистен следует вводить или в виде мелкой суспензии, либо принудительно солюбилизовать перед введением. В первом случае задача упрощается, но ухудшается биодоступность препарата, во втором нужно провести дополнительные исследования по оптимизации состава мази. Автором был подобран оптимальный растворитель для субстанции и затем выбраны наиболее применяемые составы основ. При изучении вязкостных характеристик полученных мазей было выявлено, что все предложенные составы характеризуются способностью образовывать структурированную систему и на графике это видно в виде петли гистерезиса, отличием образцов является различные напряжения сдвига. Автором на основе сравнения с наиболее употребительными мазями рекомендован реологический оптимум в результате для дальнейшего изучения была выбрана дифильная система на основе вазелина и воды с различными добавками.

Поскольку углеводородные мази отличаются низкой доступностью автором были проведены эксперименты по оценке высвобождения серпистена из мази, где также оптимальной оказалась дифильная система. Выбранный на основании работы состав был в дальнейшем оптимизирован с применением планирования эксперимента по основным параметрам: стабильность, скорость высвобождения, рН и кислотное число. Разработана технологическая схема производства мази, предложен лабораторный регламент, прошедший апробацию в ОАО «Татхимфармпрепараты».

Третья часть главы посвящена разработке методов анализа, проекта нормативной документации и изучению стабильности лекарственной формы при хранении в течении стандартного срока годности. Выводы по главе отражают ее содержание.

**Глава 4**, посвящена разработке липосомальной эмульсии с включением серпистена, оценке ее стабильности и созданию лекарственной формы – геля с разработкой нормативной документации и стандартизацией.

Основной проблемой создания липосомальной ЛФ является разработка липосом такого состава, который обеспечивал бы стабильность эмульсии в течение всего срока годности ЛФ и стабильность такой эмульсии в составе лекарственного препарата. Не менее важным фактором является включение действующего вещества в липосомы в количествах необходимых для проявления терапевтического эффекта при стандартных объемах потребления ЛФ.

Автором подробно исследуется технология получения моноламеллярных липосом методом озвучивания, для чего определяются требования к исходным фосфолипидам (по степени ПОЛ), определяется состав пустых липосом и необходимый спектр добавок для их стабилизации. Проводится оценка технологии гомогенизации мультиламеллярных липосом. На основе полученных результатов проводятся исследования по введению в липосомы серпистена, уточняется их состав. В последующем проводят гомогенизацию полученной системы и получают вполне пригодные липосомы с весьма узким фракционным составом в области менее 100 нм.

Автором предложена методология оценки включения серпистена в состав липосом и возможности диффузии действующего вещества через мембрану с применением метода ВЭЖХ надосадочной жидкости после центрифугирования эмульсии. В процессе разработки предложен экспресс-метод оценки дисперсности системы с использованием стандартной УФ спектрофотометрии по светорассеянию и светопоглощению суммарно, определен интервал достоверных концентраций в котором соблюдается законе светопоглощения.

Итогом весьма объемного труда по липосомам стал гель на основе Карбопола для которого разработана необходимая нормативная документация (проект НД, лабораторный регламент, изучена стабильность ЛФ). Выводы по главе соответствуют ее содержанию.

**Глава 5** завершает проведенные технологические и физико-химические исследования оценкой безвредности и эффективности на биологических моделях. Автором изучено раздражающее действие при аппликациях на кожу кроликов субстанции и мягких лекарственных средств с серпистеном. В результате выявлено что серпистен и его лекарственные формы не обладает раздражающим действием при нанесении на кожу и слизистую оболочку глаз.

Другим аспектом исследований было изучение репаративной активности созданных лекарственных форм серпистена на модели асептической раны и ожоговой раны в сравнении с кремом «Актовегин». Показано, что эффективность ранозаживляющего действия лекарственных форм серпистена выше, чем традиционно используемых мазей на основе Актовегина.

Выводы логично вытекают из содержания работы и соответствуют задачам исследования.

Автореферат диссертационной работы отражает основное содержание диссертации.

При чтении диссертационной работы возникли некоторые замечания:

1. В тексте диссертационного исследования отмечены технические ошибки и неточности, в частности стр.60 абз. 2, раздел 4.3. Кроме того, желательно ссылки на литературные источники давать в тексте в одном стиле
2. На наш взгляд неудачно сформирован обзор первая часть - фармакогнозия, вторая химия и только третья часть технология.
3. Вызывает сомнение технология получения моноламеллярных липосом размером 50-90 нм с использованием только ультразвука, наверное, автором просто не раскрываются элементы ноу-хау, т.к. такие липосомы получают либо экстразией через прошивную мембрану, либо с использованием иных технологий с энергозатратным механическим воздействием.
4. Почему при стандартизации субстанции на соединение 20E в проекте НД не используется ИК спектр, ведь именно он наиболее достоверно свидетельствует о подлинности испытуемого образца.

5. Стр. 43 какой именно аэросил использовался. Есть АМ-300 и есть А-300, как впрочем и другие, и наконец, есть фармакопейный образец называется Полисорб.
6. Откуда взялась такая ФС на воду (стр.43). Что за ФС на гидроксид алюминия, такой нумерации никогда не было.
7. Стр.44 откуда взялась ФС 42-3072-09 на спирт этиловый – она включена в ГФ 12?
8. Раздел 1.2. называется химическая структура, биологическая активность, зачем тогда в ней стр.28- приводится технология получения серпистена, а на стр. 29 рис. 5 приводится технологическая схема производства, почему-то названная процессуальная, что это должно означать?
9. Стр. 46 Испаритель ротационный – лабораторный прибор, роторный вакуум-выпарной аппарат используется в промышленности.
10. С какой целью проводилась метрологическая обработка такого показателя как рН мазевых композиций, тем более что такая точность определения ни к чему.
11. Стр. 63 коль скоро графики строились как среднее значение трех повторов следовало бы на самих графиках указывать доверительный интервал по каждой точке.
12. Стр.75 ТП-3 Приготовление мазевой основы; стр. 76 тоже ТП-3 получение мази-ошибка? Описание раздела 3.5. не соответствует Технологической схеме на рис.12.
13. Стр.48 методика анализа серпистена в ГЛФ представлена в главе 3, в главе 3 стр.88 сказано методика анализа серпистена в мази изложена в главе 2 – а где она на самом деле?

14.

При рассмотрении диссертации возникли следующие вопросы:

1. При стандартизации мази серпистена Вы использовали для количественного определения метод УФ-спектрофотометрии, не проще ли было применить

ВЭЖХ с одновременным открытием примесей, подтверждением подлинности и количественным определением?

2. В настоящее время разрешена к медицинскому применению оригинальная титансодержащая основа «Тизоль» и в стадии клинического изучения «Силативит», особенностью этих основ является повышенный пенетрирующий эффект, как Вы считаете имеет смысл создать гель экдистероидов на данных основах?

3. Как Вы объясните, что при озвучивании у Вас получаются моноламеллярные липосомы с размером менее 100 нм?

4. Для стабилизации липосом в их форме вводят вещества повышающие микровязкость мембраны, такие как холестерин, ситостерин и т.д. Ваше соединение имеет очень близкую структуру и почему Вы считаете что основное содержание находится внутри липосом в воде, а не встраивается в саму БЛМ или не образует комплексы по аналогии с фитосомами?

5. Проводились ли какие-либо исследования микроструктуры липосом, как-то микроскопия (силовая, электронная или др.), изучение микровязкости мембран в зависимости от добавок и т.д.?

Отмеченные недостатки не существенно снижают качества исследований и не умаляют положительной оценки диссертационной работы.

Диссертационная работа Липина Даниила Евгеньевича «Разработка технологии и стандартизация мягких лекарственных форм, содержащих фитоэкдистероиды *Serratula coronata* L.» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по разработке технологии и стандартизации отечественных лекарственных средств регенерирующего действия, имеющая важное значение для фармации и медицины.

Диссертация по актуальности избранной темы, научной новизне, объему проведенных исследований, практической значимости, обоснованности и достоверности выводов соответствует требованиям п. 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ N 842 от 24.09.2013 г, предъявленным к кандидатским диссертациям, а ее автор, Липин

Даниил Евгеньевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

**Официальный оппонент:**

Заведующий кафедрой фармации  
ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава РФ,  
доктор фармацевтических наук  
(специальность 15.00.01-  
технология лекарств и организация  
фармацевтического дела). профес-  
сор,

Петров Александр Юрьевич

Подпись профессора д.ф.н. Петрова А.Ю.  
Начальник УК ГБОУ ВПО УГМУ Минзд

В.Д.Петренюк

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации  
(ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России)  
620028, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3  
Тел: 8 (343) 214-85-20, E-mail: [uniitmp@yandex.ru](mailto:uniitmp@yandex.ru)