

ОТЗЫВ

официального оппонента старшего научного сотрудника научно-исследовательской части федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный научно-исследовательский университет» кандидата фармацевтических наук Пучниной Светланы Владимировны по диссертации Федоровой Татьяны Викторовны на тему: «Технологические аспекты разработки поликомпонентного пробиотика на основе метаболитов производственных штаммов лакто- и бифидобактерий», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств

Актуальность выполненного исследования

Микрофлора кишечника является важным компонентом в единой системе поддержания гомеостаза организма человека. Благодаря наличию сложной и разветвленной системы кооперации между населяющими макроорганизм популяциями, микрозэкологическая система человека выступает как единое целое, согласованно работающее в интересах всей системы и организма хозяина, в котором она локализована. Нормофлора макроорганизма выполняет ряд важных функций: обеспечивает колонизационную резистентность, принимает участие в процессах пищеварения, обмена веществ и функционировании иммунной системы. Всё это подчеркивает её значимость для организма человека и необходимость коррекции микробиоценозов при дисбиотических состояниях. При этом в настоящее время для коррекции дисбиотических состояний, сопровождающихся нарушением количественного и качественного состава нормофлоры, на российском фармацевтическом рынке преобладают пробиотические препараты клеточного и бесклеточного состава зарубежного производства. При этом бесклеточные пробиотики считаются наиболее перспективными

Таким образом, диссертационная работа Федоровой Татьяны Викторовны, посвященная разработке отечественного поликомпонентного пробиотика на основе метаболитов производственных штаммов лакто- и бифидобактерий, является актуальной.

Научная новизна в работе присутствует, заключается в том, что предложен и реализован комплексный методологический подход к созданию поликомпонентных метаболитных пробиотиков.

Автором впервые разработан состав и технология поликомпонентного пробиотика на основе метаболитов *Lactobacillus plantarum* 8Р-А3, *Lactobacillus acidophilus* К₃Ш₂₄ и *Bifidobacterium bifidum* 1, обладающего

доказанной пробиотической и антибактериальной активностью в отношении условно-патогенных микроорганизмов.

Впервые предложен метод исследования влияния вспомогательных веществ на представителей индигенной и условно-патогенной микрофлоры макроорганизма, используемых в составе метабиотиков, заключающийся в измерении угнетения биолюминесценции тест-штамма *E. coli* lum+.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов заключается в предложении и обосновании пригодности ультрафильтрации в половолоконном аппаратном оформлении в качестве технологической основы получения экзометаболитных комплексов производственных штаммов лакто- и бифидобактерий.

Автором предприняты шаги к расширению ассортимента современных отечественных лекарственных средств, предназначенных для коррекции дисбиотических состояний.

Материалы исследования внедрены в учебный процесс на кафедре промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии Пермской государственной фармацевтической академии. На основании полученных данных разработаны проекты нормативной документации на метабиотики «Микростим-лакто» и «Хилабикс».

Степень обоснованности и достоверности научных результатов, положений и выводов диссертации

Достоверность полученных результатов достигается благодаря использованию Федоровой Татьяной Викторовной современных методов, позволяющих получать воспроизводимые и однозначные результаты. Исследования проведены на высоком научном уровне. Осуществлена статистическая обработка полученных данных, количество представленного экспериментального материала является достаточным. Выводы по результатам исследований соответствуют поставленным задачам. Все положения, выносимые на защиту, научно обоснованы.

Результаты исследований представлены на конференциях различного уровня (например, Всероссийской конференции «Биомедицинская инженерия и биотехнология» (Курск, март 2011); X Съезде эпидемиологов, микробиологов паразитологов «Итоги и перспективы обеспечения эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации» (Москва, апрель 2012); 17-м Международном Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2015» (Санкт-Петербург, май 2015), и других).

По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, из них 5 в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.04.01 – технология получения лекарств, а именно пункту 3 – разработка технологий получения субстанции и готовых лекарственных форм; пункту 4 – исследования по изучению особенностей технологии получения готовых лекарственных форм из различных видов субстанций, сырья и вспомогательных веществ.

Общая характеристика диссертационной работы

Работа изложена на 128 страницах машинописного текста, иллюстрирована 28 таблицами и 30 рисунками (из них 22 в приложении), состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав экспериментальных исследований, выводов, списка литературы, включающего 145 источников, из них 114 отечественных и 31 иностранных авторов.

Во *введении* обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость работы, представлены основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава содержит анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации. Представлена характеристика нормальной микрофлоры человека, рассмотрены ее состав и функции. Проанализирована структура современного рынка пробиотических лекарственных средств и биологически активных добавок. Рассмотрены основные технологические приемы получения бесклеточных пробиотиков.

Вторая глава включает описание объектов, материалов, физико-химических, технологических и микробиологических методов исследования, а также используемых приемов статистической обработки данных.

Третья глава посвящена выделению метаболитных комплексов из культуральных жидкостей лакто- и бифидобактерий.

Предложены и обоснованы марки разделительных аппаратов для ультрафильтрации на полых волокнах для получения метаболитных комплексов (рассмотрены аппараты четырех марок ВПУ-15ПА, ВПУ-100ПС, ВПУ-300ПС). Исследованы физико-химические и биологические показатели ультрафильтратов культуральных жидкостей лакто- и бифидобактерий.

Автором проведен скрининг экзометаболитных фракций пробиотических бактерий штаммов *L. plantarum* 8P-A3, *L. acidophilus* K₃Ш₂₄ и *B. bifidum* 1, в результате чего определена эффективность их влияния на индигенную и условно-патогенную микрофлору в зависимости от номинальной отсекаемой молекулярной массы.

В ходе проведения экспериментов Федоровой Татьяной Викторовной установлены метаболитные фракции с преобладающим антимикробным влиянием на условно-патогенные микроорганизмы и с выраженной

пробиотической активностью. Выявлено, что величина показателя кислотности культур и ультрафильтратов лактобактерий была выше, чем у бифидобактерий, что свидетельствует о более высоком антагонистическом потенциале. Показано более выраженное пробиотическое действие фракций 15 кДа и 100 кДа по сравнению с фракцией 300 кДа.

Четвертая глава - «Оптимизация состава и формы выпуска метаболитного монопрепарата «Микростим».

Данный препарат, представляющий собой низкомолекулярные метаболиты лактобактерий штамма *Lactobacillus plantarum* 8Р-А3, был разработан в 2005 году в Пермском НПО «Биомед», однако нуждался в оптимизации, в связи с неприятным вкусом и неудобной для потребителя формой выпуска (в стеклянных флаконах по 10-20 мл).

Неприятный вкус является следствием используемых в производстве питательных сред, автором предложено провести коррекцию органолептических свойств путем введения дополнительных вспомогательных веществ, таких как подсластители и ароматизаторы.

Рассмотрены различные варианты подсластителей - сахара рафинада, лактозы, фруктозы и др. Введение в составы ароматизатора способствовало маскировке неприятного запаха и изменяло вкус с сильносоленого на солоноватый. Включение в состав композиций консерванта сорбата калия не отражалось на физико-химических и органолептических параметрах препарата. Было установлено, что при содержании данного консерванта в количестве 0,3 г/л, составы быстро подвергались контаминации при применении, но увеличение концентрации консерванта до 1,1 г/л обеспечивало более длительное сохранение микробиологической чистоты экспериментальных составов при моделировании процесса вскрытия упаковки.

В результате исследований для оптимизации лекарственного препарата «Микростим», включая коррекцию органолептических свойств, Федоровой Татьяной Викторовной предложено использовать ароматизатор карамель (0,1 мл/л) и сорбат калия (3,6 мл/л).

По результатам оптимизации метаболитного монопробиотика, получившего наименование «Микростим-лакто», был составлен соответствующий проект нормативной документации.

Пятая глава посвящена разработке комплексного метабиотика «Хилабикс».

Федоровой Татьяной Викторовной разработан метаболитный пробиотик «Хилабикс», обладающий выраженной пробиотической и доказанной антибактериальной активностью, позволяющих расширить арсенал отечественных пробиотиков.

По результатам проведенных исследований активности метаболитных фракций предварительно предложено два варианта композиции Хилабикс 15 и Хилабикс 100, идентичных по составу вспомогательных веществ:

Хилабикс 15:

- УФ КЖ L. plantarum 8Р-А3 15 кДа 2 части;
- УФ КЖ L. acidophilus К₃Ш₂₄ 15 кДа 1 часть;
- УФ КЖ B. bifidum 1 15 кДа 1 часть;
- Раствор сорбата калия 30% 3,6 мл/л;
- Ароматизатор карамель и.н. 0,1 мл/л.

Хилабикс 100:

- УФ КЖ L. plantarum 8Р-А3 100 кДа 2 части
- УФ КЖ L. acidophilus К₃Ш₂₄ 100 кДа 1 часть
- УФ КЖ B. bifidum 1 100 кДа 1 часть
- Раствор сорбата калия 30% 3,6 мл/л
- Ароматизатор карамель и.н. 0,1 мл/л

Автором отмечено, что окончательный выбор состава лекарственного препарата возможен после проведения доклинических исследований.

Разработанная технология метабиотиков является универсальной и может быть применена для получения препарата на основе активной экзометаболитной фракции любого производственного пробиотического штамма.

Выводы диссертационной работы обоснованы и соответствуют основным положениям, выносимым на защиту.

Замечания, предложения и вопросы по содержанию и оформлению работы

В целом работа Федоровой Татьяны Викторовны представляет собой завершенное исследование, однако считаю необходимым указать на некоторые недостатки:

1. По тексту диссертации встречаются неудачные выражения и опечатки, например, на стр. 31, 47, 60, 61, 85.
2. Стр. 64. – каким образом (по какой методике) проводили определение вкуса лекарственной формы?
3. Стр. 69, 70, 82, 83 – представленные технологические схемы не соответствуют ОСТ 64-02-003-2002 «Продукция медицинской промышленности. Технологические регламенты производства. Содержание, порядок разработки, согласования и утверждения».
4. Стр. 77 – Таблица 20 «УФ спектры образцов» – приведены не УФ-спектры, а диапазон рабочей длины волны при проведении спектрофотометрии.

5. Стр. 111 – в списке приводятся сокращения, которые отсутствуют в тексте диссертационной работы – «ВВ – вспомогательное вещество», «СОИ – стандартные операционные инструкции», сокращение «СФМ» используется для двух разных словосочетаний.

Указанные замечания не имеют принципиального значения и не снижают достоинства и значимости проведенных исследований.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Федоровой Татьяны Викторовны на тему: «Технологические аспекты разработки поликомпонентного пробиотика на основе метаболитов производственных штаммов лакто- и бифидобактерий», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств, является завершенной научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармацевтической технологии по изучению, совершенствованию и созданию поликомпонентных пробиотических лекарственных средств метаболитного типа.

Диссертационная работа Федоровой Татьяны Викторовны соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Федорова Татьяна Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

Официальный оппонент:

Старший научный сотрудник научно-исследовательской части федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный научно-исследовательский университет», кандидат фармацевтических наук (14.04.01 – технология получения лекарств)

 Пучнина Светлана Владимировна

614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15, тел: +7(342)2396435, +79197062166
Сайт: <http://www.psu.ru> / Электронная почта: puchtinav@yandex.ru

4 декабря 2017 года

