

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию **Ровкиной Ксении Игоревны «Разработка и стандартизация активной фармацевтической субстанции гипополидемического действия на основе полисахаридов некоторых высших растений флоры Сибири»**, представленную в диссертационный совет Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы диссертации.

Одной из основных задач современной медицины является поиск и разработка эффективных и безопасных средств гипополидемической терапии, поскольку нарушение обмена липидов лежит в основе развития сердечнососудистых заболеваний и сочетанных с ними атеросклероза, гипертонической болезни, а также сахарного диабета 2 типа, неалкогольной жировой болезни печени – патологий, занимающих «лидирующие» позиции в структуре причин смертности. Большой практический интерес представляет скрининг новых гипополидемических средств, в том числе растительного происхождения, которые отличаются безопасностью, терапевтической эффективностью и относительной экономической доступностью.

Вышеизложенные аспекты рассмотрены в диссертационной работе Ровкиной Ксении Игоревны, которая посвящена получению и стандартизации новой растительной субстанции гипополидемического действия на основе растительных полисахаридов. Химическая структура этого класса соединений предполагает возможность наличия нескольких молекулярных механизмов гипополидемического действия, описанных в литературном обзоре, а используемое для получения субстанции растительное сырье имеет достаточную и легко возобновляемую сырьевую базу, что в совокупности позволяет сделать вывод о перспективности и актуальности выбранного направления исследования.

Научная новизна диссертационного исследования

В соответствии с поставленными задачами автором получены результаты, характеризующие научную новизну исследования состоящую в том, что соискателем впервые проведено сравнительное исследование гипополидемической активности полисахаридных комплексов ряда растений Сибири. Установлена структура полисахаридов листьев березы, обладающих

гиполипидемической активностью, алгоритмизирован и обоснован процесс их получения из растительного сырья. Впервые определены параметры стандартизации фармацевтической субстанции на основании установленной структуры полисахаридов листьев березы и разработана методика их количественного определения методом спектрофотометрии.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Диссертационная работа носит прикладной характер и имеет важное практическое значение с точки зрения получения отечественных растительных субстанций гиполипидемического профиля.

К практическим результатам можно прежде всего отнести получение субстанции полисахаридов листьев березы, а также установление ее химического состава, что легло в основу разработки подходов к стандартизации данной группы растительных БАВ.

Автором разработана аналитическая методика количественного определения действующего вещества в полисахаридах листьев березы с использованием метода спектрофотометрии, а проведенная валидационная оценка методики позволяет использовать ее во всех аналитических лабораториях.

Практическая значимость подтверждается разработкой проекта НД «Фармацевтическая субстанция L-рамнопиранозил-6-О-метил-D-галактуронана».

Результаты исследования внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую деятельность ряда кафедр «Сибирского государственного медицинского университета».

Предложенная методика количественного определения полисахаридов листьев березы использована для изучения стабильности субстанции на основе L-рамнопиранозил-6-О-метил-D-галактуронана, произведенного в Центра внедрения технологий СибГМУ, в рамках доклинических исследований, поддержанных грантом Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской».

Соответствие работы паспорту научной специальности.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Область и результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 2,3,6 паспорта специальности.

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

Результаты, представленные в экспериментальных исследованиях Ровкиной Ксении Игоревны, определяют целесообразность проведения

дальнейших доклинических исследований и обосновывают перспективность разработки гипополидемического препарата на основе полисахаридов березы.

Предложенные подходы к стандартизации растительных высокомолекулярных соединений создают основу для унификации критериев оценки качества данной группы БАВ.

Личный вклад автора.

Автору принадлежит ведущая роль в сборе и анализе данных литературы по теме диссертационной работы, проведении экспериментальных исследований и общении полученных результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от экспериментально-теоретической реализации поставленных задач до обсуждения результатов в научных публикациях.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных результатов.

После ознакомления с диссертационной работой можно сделать вывод, что методы исследования выбраны аргументированно и логично в соответствии с поставленными в диссертационной работе задачами. Все положения и выводы в работе Ровкиной К.И. обоснованы и подтверждены экспериментальными данными, представленными в т.ч. в виде диаграмм, схем и таблиц. Достоверность результатов, представленных в диссертации, не вызывает сомнений. При их получении использованы современные физико-химические (в т.ч. эксклюзионная хроматография, спектроскопия ЯМР и ГХ дериватов) и фармакологические методы исследования с использованием экспериментальных животных, а обработка проведена с применением адекватных методов статистического анализа.

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертационной работе являются обоснованными, аргументированы и логически вытекают из результатов комплексного анализа, представленного автором.

Публикации.

Результаты диссертации хорошо представлены в профильных изданиях. По материалам диссертации опубликовано 6 работ в журналах, рекомендованных ВАК. Оригинальность предпринятого исследования и полученных результатов подтверждается патентом на изобретение.

Автореферат диссертации раскрывает содержание работы, стилистически выдержан и информативен.

Оценка содержания диссертации.

Диссертация Ровкиной К.И. имеет классическое построение и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, описания полученных результатов и их обсуждения, приведенных в 3 главах диссертации, выводов, заключения, списка литературы и 3 приложений. Работа изложена на 134 страницах машинописного текста, иллюстрирована 21 рисунком и 18 таблицами. Библиографический указатель включает 198 источника, из них - 155 зарубежных.

Во введении автор обосновывает актуальность заявленной темы исследования, формулирует цель и задачи исследования, представляет основные положения, выносимые на защиту; приводит факты, подтверждающие научную новизну работы, ее практическую значимость, характеризует апробацию результатов и степень их внедрения.

Цель научного исследования сформулирована четко и заключается в разработке активной фармацевтической субстанции для профилактики и терапии атеросклероза на основании сравнительного исследования гипополидемической активности, состава и структуры полисахаридов некоторых высших растений флоры Сибири.

Обзор литературы в полном объеме отражает суть диссертационной работы. Автор дает исчерпывающее представление о современном состоянии проблемы существующих групп гипополидемических препаратов. Описана перспектива применения растительных полисахаридов в предупреждении и лечении дислипидемий с указанием возможных механизмов действия. Также автор сделал акцент на современных методах исследования и стандартизации полисахаридов. Информационный материал снабжен 2 таблицами и 2 рисунками, поясняющими суть рассматриваемых вопросов.

В главе 2 представлен широкий спектр современных методических приемов, которыми овладела Ровкина К.И. (моделирование гиперлипидемии *in vivo*, ферментативный гидролиз, ионообменная и эксклюзионная хроматография, УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопия и т.д.) и приведено подробное их описание. Приведена схема выделения полисахаридов из растительного сырья, что облегчает восприятие работы.

3 глава посвящена результатам собственных исследований диссертанта по сравнительной химической характеристике полисахаридных комплексов листьев березы, боярышника кроваво-красного и надземной части люцерны посевной и сравнительному исследованию их гипополидемической активности.

В 4 главе описана разработка оптимизированной методики получения полисахаридов листьев березы, а также представлена наглядная схема структурного анализа, согласно которой установлена структура L-рамнопиранозил-6-O-метил-D-галактуронана.

Результаты разработки подходов к стандартизации субстанции L-рамнопиранозил-6-О-метил-D-галактуронана описаны *в главе 5*. Приведены методики установления подлинности, определения посторонних примесей и количественного определения субстанции, а также результаты валидационной оценки.

В Приложения включены проект нормативной документации «Фармацевтическая субстанция L-рамнопиранозил-6-О-метил-D-галактуронана», отчет об исследовании стабильности и акты внедрения.

Результаты работы отражены в 5 выводах, которые изложены кратко, убедительно и отражают сущность проделанной работы.

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертационной работы, общая оценка диссертации.

К несомненным достоинствам работы можно отнести проведение широкого спектра фитохимических и аналитических исследований направленных на получение субстанции, накопление значительного массива экспериментальных данных и их обработку. Диссертация написана грамотным научным языком с использованием классической терминологии. Изложение материала последовательно, логично и взаимосвязано между собой. Большая часть результатов представлена в виде таблиц, рисунков и схем, что способствует лучшему восприятию информации. Основные положения Заключения диссертации и автореферата совпадают.

Положительно оценивая результаты диссертационного исследования в целом, следует задать некоторые вопросы и сделать замечания по содержанию и оформлению работы:

Замечания:

1. При расчете коэффициента полидисперсности (стр. 45) не совсем понятно, что автор принимает за среднечисловую молекулярную массу.

2. Оформление НД не соответствует требованиям «Руководства по экспертизе ЛС» (том 2) под ред. Миронова. Так, в «Спецификации» в разделе «Нормы» необходимо указывать конкретные значения (критерии приемлемости). Из раздела «Описание» необходимо убрать растворимость и т.д. Показатели «Мышьяк» и «Тяжелые металлы» являются количественными и необходимо указывать нормы содержания в диапазоне «...не более ...% или ppm» исходя из концентрации раствора СО.

3. В программе изучения стабильности не учтен параметр «Влажность» при хранении, что чрезвычайно важно тем более для растительных БАВ. И критерием подтверждения стабильности является только количественное содержание основного вещества. Несмотря на то, что это основной критерий, остальные изменяемые при хранении параметры (МБЧ, растворимость, описание, подлинность) являются также важными.

Вопросы:

4. При выделении ПСК использовали воду очищенную, подкисленную хлористоводородной кислотой до $\text{pH} = 4,0$ и при этом автор указывает, что это «общепринятый метод» и дает ссылку на патент авторов «Средство, обладающее иммуномодулирующей активностью» [157]. Почему автор считает собственный запатентованный метод общепринятым? С какой целью добавляли хлористоводородную кислоту (хотя такой способ выделения известен для «кислых» полисахаридов) если в дальнейшем автором было доказано, что вода очищенная с $\text{pH} 6,5-7$ более предпочтительный экстрагент и подкисление негативно скажется на выходе нейтральных сахаров? Почему не попробовали буферные растворы, н/р оксалатный, который классически [Шиповская А.Б. Методы выделения и физико-химические свойства природных полисахаридов] используется для выделения ПВ?

5. Почему при доказательстве валидационного параметра «Специфичность» не приведен спектр поглощения рамнозы в рекомендуемых условиях пробоподготовки (в виде антронного комплекса), так как по моему субъективному мнению доказательства того факта, что «... рамноза удаляется на стадии ультрафильтрации» не приведено. И как тогда согласуются рис. 19 и рис. 20 с выводами о специфичности методики относительно рамнозы?

6. Таблица 15 нуждается в пояснении, так как в ней не обозначены графы. Просьба пояснить, какой показатель автор имеет ввиду во втором столбце для критериев «повторяемость» и «воспроизводимость». Это значение RSD (СКО)? И почему не приведен доверительный интервал для «правильности»?

7. В расчетной формуле на стр. 82 введен коэффициент «3» пересчета на рамнозу. Поясните появление данного коэффициента. А также поясните отсутствие коэффициента разведения.

8. Не совсем понятно определение показателя «Линейность» (стр. 83). Так, исходя из текста, автор измерял оптическую плотность серии разведений субстанции L-рамнопиранозил-6-О-метил-D-галактуронана при 625 нм. Т.е. образование антронного комплекса проведено не было и т.о. методика, предложенная автором, не соблюдена. Поглощает ли раствор субстанции при данной длине волны? Или это механическая ошибка?

9. Почему в рамках валидационного исследования не установлен ПКО и не изучена робастность?

10. В НД приготовление раствора СО рамнозы исключает стадию получения деривата (антронного комплекса после окисления рамнозы). Почему?

Однако приведенные замечания не носят принципиального характера и не снижают научную и практическую значимость диссертационной работы и не влияют на ее общую положительную оценку

Заключение.

Учитывая вышеизложенное можно заключить, что диссертация Ровкиной Ксении Игоревны «Разработка и стандартизация активной фармацевтической субстанции гиполипидемического действия на основе полисахаридов некоторых высших растений флоры Сибири», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является самостоятельным завершенным научно-квалификационным исследованием, в котором поставлена и решена важная для фармацевтической науки задача по разработке гиполипидемических субстанций для профилактики атеросклероза на основе отечественного растительного сырья.

По актуальности научной новизне, уровню и объему проведенных исследований, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 28.08.2017), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Ровкина Ксения Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Начальник Испытательной лаборатории
(Центр контроля качества лекарственных средств)
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,
доктор фармацевтических наук
(15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия),
доцент

Тернинко Инна Ивановна

«03» декабря 2019 г.

Контрактные данные:
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России
197376, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, улица Профессора Попова, д. 14, литера А.

тел.: раб. (8125)499-39-00; моб. 8(981)774-86-85,

E-mail: inna.terninko@pharminnotech.com

удостоверяю

Начальник отдела документации

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

Павлюк И.Е.



Тернинко И.И.
03.12.2019
И.И. Тернинко