

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

**доктора фармацевтических наук, доцента Суслиной Светланы Николаевны на диссертационную работу Ануровой Марии Николаевны на тему: «Теоретические и экспериментальные основы разработки гидрофильных мягких лекарственных форм с биотехнологическими субстанциями», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальностям 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, 1.5.6. Биотехнология**

### **Актуальность темы исследования**

В ближайшие годы ключевым фактором развития глобального фармацевтического сектора станет биотехнологическая отрасль. Биотехнологии – это не только сфера активной разработки передовых лекарственных препаратов, но и возможность сократить совокупные расходы более чем на 290 миллиардов долларов к 2027 году благодаря созданию новых биоаналогов. Биотехнологические лекарственные препараты занимают все большую долю на фармацевтическом рынке и демонстрируют стабильный рост. Они часто являются единственным или наиболее эффективным вариантом лечения сложных заболеваний, таких как онкологические, аутоиммунные заболевания, наследственные болезни и инфекции. Российский фармацевтический рынок в последнее десятилетие демонстрирует активное развитие, чему способствуют политика импортозамещения и поддержка отечественной промышленности. Направления инновационных разработок российских компаний соответствуют мировым тенденциям, включая биотехнологические лекарственные средства.

Актуальность разработки лекарственных форм биотехнологических лекарственных средств чрезвычайно высока. Биотехнологические лекарственные средства, как правило, представляют собой крупные и сложные молекулы (белки, пептиды, нуклеиновые кислоты), что делает их более чувствительными к воздействию окружающей среды и технологическим процессам, чем традиционные химические препараты. Они могут быть нестабильными при хранении, требовать особых условий транспортировки и введения. Иммуногенность является важным фактором, который необходимо учитывать при разработке лекарственной формы.

Многие биотехнологические лекарственные средства плохо абсорбируются при пероральном приеме из-за деградации в желудочно-кишечном тракте и низкой

проницаемости через клеточные мембраны. Разработка эффективных систем доставки, в том числе в виде гидрофильных мягких лекарственных форм имеет решающее значение для обеспечения терапевтического эффекта и снижения побочных эффектов.

Гели, благодаря своей способности удерживать большое количество воды и биосовместимости, представляют собой перспективную платформу для доставки биотехнологических лекарственных средств. Они могут быть разработаны таким образом, чтобы защищать лекарственные вещества от деградации в желудочно-кишечном тракте, контролировать их высвобождение и улучшать их проникновение через эпителиальные барьеры. Кроме того, возможна разработка гелей, реагирующих на внешние стимулы, такие как pH, температура или свет. Эти лекарственные формы могут высвобождать лекарственные вещества в ответ на специфические условия в желудочно-кишечном тракте, или, например, вблизи опухолевой ткани или в областях с повышенным воспалением. Это позволяет достичь целевой доставки лекарств и минимизировать системное воздействие.

Разработка эффективных систем доставки на основе гидрофильных мягких лекарственных форм требует тщательного выбора материалов, оптимизации технологического процесса и проведения всесторонних исследований *in vitro* и *in vivo*. Разработка лекарственных форм биотехнологических лекарственных средств является важной и перспективной областью фармацевтической науки и технологии, требующей создания общих методологических подходов. Улучшение стабильности, доставки, биодоступности и удобства применения биотехнологических лекарственных средств позволяет повысить эффективность лечения, снизить побочные эффекты и улучшить качество жизни пациентов.

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

Диссертационную работу Ануровой Марии Николаевны характеризует высокий научно-методический уровень ее выполнения. В работе используется комплексный подход к исследованию, включающий в себя как теоретические, так и эмпирические методы. Научные положения, выводы и практические рекомендации, представленные в работе, обоснованы и подтверждены достаточным объемом проведенных исследований с применением высокотехнологичных и специфических методов анализа и современного сертифицированного оборудования.

Особое внимание уделено обоснованности и достоверности полученных результатов. Автор демонстрирует умение грамотно интерпретировать данные, выявлять закономерности и делать обоснованные выводы. Результаты исследования представлены в

четкой и наглядной форме, с использованием таблиц, графиков и других иллюстративных материалов.

Научные положения и выводы диссертационной работы полностью соответствуют поставленной цели и задачам, четко аргументированы и логично следуют из полученных автором результатов.

### **Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования**

Автор собрал достаточный массив эмпирических данных, обеспечив соответствие выборки изучаемым объектам. Использование актуальных исследовательских подходов гарантирует надежность и обоснованность итоговых выводов. Статистический анализ подтвердил воспроизводимость и правильность полученных в ходе работы результатов.

Научная новизна диссертационной работы Ануровой М.Н. заключается прежде всего в разработке и обосновании методологии фармацевтической разработки гидрофильных мягких лекарственных форм с биотехнологическими субстанциями, представляющими собой вирусы и белки. Автором впервые установлены реологические оптимумы гелей для дерматологического, офтальмологического, стоматологического и вагинального применения. Также диссертантом разработаны составы лекарственных форм с коктейлями бактериофагов различных комбинаций, представляющими собой вагинальный термореверсивный и пероральный гели. Получен состав нового дерматологического антибактериального геля с рекомбинантным эндолизином LysECD7-SMAP, в рамках комплексных исследований показана его безопасность и стабильность. Преимущество разработанной лекарственной формы эндолизинов подтверждено двумя патентами РФ. Впервые разработаны оригинальные комбинированные гидрофильные мягкие лекарственные формы с интерфероном альфа-2b для офтальмологического, наружного и местного применения. Показана возможность масштабирования разработанной технологии на промышленную площадку.

### **Значимость полученных результатов для науки и практики**

Значимость диссертационного исследования для науки заключается в систематизации гелеобразующих веществ, что позволило создать научно обоснованные подходы к выбору вспомогательных веществ при разработке гидрофильных мягких лекарственных форм. Такой подход учитывает физико-химические характеристики активных фармацевтических ингредиентов и требуемый профиль качества конечного продукта.

Установленные оптимальные реологические параметры гидрофильных мягких лекарственных форм для различных способов введения служат основой для разработки, анализа и обоснования структурно-механических свойств данного вида лекарственных форм с лекарственными веществами любой природы.

Определены характеристики качества гидрофильных мягких лекарственных форм с учетом путей введения, подчеркивающие необходимость оценки ряда показателей, выходящих за рамки фармакопейных требований. К таким показателям относятся органолептические свойства, осмотическая и адсорбционная активность, способность к намазыванию и биоадгезивные характеристики.

Практическая значимость исследования подтверждается разработкой конкретных составов и технологий получения гелей для лечения инфекционных заболеваний, ран и ожогов, а также для офтальмологического применения. Полученные результаты могут быть использованы фармацевтическими компаниями для разработки и внедрения в производство новых эффективных и безопасных лекарственных препаратов.

Внедрение результатов работы подтверждено 5 актами, полученными от ООО ПФК «АЛИУМ», АО «Биннофарм», Научно-методического центра по изучению и идентификации бактериофагов (ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора) и в образовательном процессе кафедр фармацевтической технологии и биотехнологии Института Фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Исследования по созданию лекарственных форм эндолизинов осуществлялись в рамках государственного контракта №0373100122119000013 от 15.05.2019 с ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, получены два патента.

#### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, пунктам 1, 2, 3, 4 и паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология, пунктам 9, 10, 12, 25.

#### **Полнота освещения результатов диссертации**

Диссертантом в рамках работы представлено в 47 публикациях, в том числе 8 научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой

степени доктора наук; 10 статей в изданиях, индексируемых в международных базах (Scopus, PubMed, Springer), 12 – иные публикации по результатам исследования, 1 монография, 2 патента, 14 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций

### **Структура и содержание диссертации**

Структура диссертации : Текст диссертации написан в классическом стиле, изложен на 470 страницах, иллюстрирован 84 рисунками и 116 таблицами, состоит из введения, шести глав, выводов, списка литературы и приложений. Список литературы включает 445 источника, в том числе 87 отечественных и 358 иностранных. Работа изложена последовательно, логично, написана хорошим научным языком.

**В первой главе** содержится исчерпывающий анализ отечественной и зарубежной литературы, отражающий современное состояние проблемы разработки состава и технологии гидрофильных мягких лекарственных форм. Представлена подробная классификация и характеристика современных гелеобразователей. Отдельный раздел посвящен особенностям разработки лекарственных форм биотехнологических субстанций и обоснование выбора объектов исследования. Приведено описание требований к гидрофильным мягким лекарственным формам в соответствии с фармакопеями РФ и ЕАЭС. Кроме того, в работе описаны не фармакопейные требования к данной лекарственной форме, обеспечивающие эффективность и комплаентность конкретного лекарственного препарата в контексте пути введения. Критический обзор опубликованных результатов исследований завершается заключением о необходимости разработки методологии создания гелей на основе биотехнологических субстанций. Так как, подходы к их разработке не гармонизированы.

**Во второй главе** «Материалы и методы» подробно описана методология исследований и материалы, использованные автором для решения поставленных в исследовании задач. Несомненным достоинством является скрупулезное, исчерпывающее описание методов анализа лекарственных форм. Объектами исследования диссертационной работы являются штаммы бактериофагов, активные в отношении антибиотикорезистентных патогенов и рекомбинантные белки: эндолизин LysECD7-SMAP и интерферон альфа-2b. В качестве вспомогательных веществ для разработки гидрофильных мягких лекарственных форм использовались вещества, разрешенные для фармацевтического применения, отечественного и иностранного производства, удовлетворяющие требованиям ГФ РФ и ГФ ЕАЭС. Исследование было выполнено с использованием современных методов, включая физико-химические, технологические,

микробиологические, иммунологические, генетические, биофармацевтические, биотехнологические и прочие методы анализа.

**Третья глава** посвящена разработке методологической концепции фармацевтической разработки гидрофильных мягких лекарственных форм с биотехнологическими субстанциями с учетом целевого профиля качества ЛП.

Автор проводит определение профилей качества гидрофильных мягких лекарственных форм для местного/дерматологического применения, для местного применения/для нанесения на раны и ожоги, офтальмологического, вагинального, назального, местного действия/для нанесения на слизистую оболочку ротовой полости и для приема внутрь, которые целесообразно учитывать при фармацевтической разработке лекарственных средств для данных путей введения.

В этой главе описано экспериментальное определение реологических оптимумов гидрофильных мягких лекарственных форм для различных способов применения: дерматологического, офтальмологического, стоматологического, вагинального и для нанесения на слизистую оболочку ротовой полости.

Автор приводит собственно методологию, в соответствии с которой описывает разработку пяти лекарственных препаратов, чему посвящены следующие главы. Методологическая концепция фармацевтической разработки гидрофильных мягких лекарственных форм с биотехнологическими субстанциями, состоит из следующих основных этапов: предварительные исследования, заключающиеся в изучении свойств ЛВ; фармацевтическая разработка, складывающаяся из определения целевого профиля качества ЛП, определения критических параметров качества ЛП, подбора способов стабилизации ЛВ в водном растворе, выбора гелеобразователя, выбора вспомогательных веществ, разработки технологии получения ЛФ, разработки методов и методик анализа входного контроля ЛВ и ВВ, полупродуктов и готовой ЛФ / валидации аналитических методик, разработки программы изучения стабильности ЛП, разработки НД на ЛП, оценке и обоснования уровня риска технологического процесса при масштабировании на производственную площадку; масштабирования и трансфера технологии.

**В четвертой главе** описана разработка составов и технологии получения двух «универсальных» ЛФ с коктейлями бактериофагов переменного или постоянного состава. Экспериментальные исследования продемонстрировали стабильность разработанных лекарственных форм с различными штаммовыми комбинациями бактериофагов. Обосновано применение комбинации гидроксипропилцеллюлозы Natrosol® 250 G PHARM (1,5%) и полоксамера Kolliphor® P 407 (20%) в качестве гелеобразователей для вагинального геля. Для перорального геля в качестве гелеобразователя используется

натрий-карбоксиметилцеллюлоза Vlanose™ СМС в 5% концентрации, а сорбитол в 15% концентрации выполняет роль загустителя, структурообразующего компонента и улучшает вкусовые качества.

Показано, что вагинальный гель с бактериофагами обладает оптимальными характеристиками для потребителя и терапевтическим эффектом благодаря термозависимому переходу из золя в гель при температуре  $32,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ . Время гелеобразования составляет  $8,5 \pm 1,0$  минуты, что обеспечивает удобство применения, а пластическая вязкость, равная 0,759, находится в пределах оптимального реологического диапазона. Кроме того, состав имеет выраженные адгезивные свойства: биоадгезия по силе отрыва составляет  $28,2 \pm 1,9$  Н, а по скорости стекания –  $23,8 \pm 2,6$  мм/мин.

Пероральный гель, предназначенный для лечения кишечных инфекций, характеризуется удовлетворительными органолептическими свойствами (вкус, запах, консистенция) и может быть использован пациентами различных возрастных групп и с разными физиологическими особенностями (дети, взрослые, пожилые, пациенты с дисфагией). Высвобождение бактериофагов при рН 4,5 и рН 6,8 превышает 80% за 30 минут. Изучены фармакокинетические параметры перорального геля, что подтвердило наличие системного действия разработанного лекарственного средства. Разработана технология производства гелей с бактериофагами и определены сроки их годности. Оценка рисков при масштабировании технологического процесса выявила низкую или среднюю степень этих рисков, что указывает на возможность воспроизведения разработанной технологии как в условиях внутрибольничной аптеки, так и на промышленном фармацевтическом производстве.

**Пятая глава** посвящена фармацевтической разработке дерматологического геля антибактериального действия с рекомбинантным эндолизином LysECD7-SMAP для лечения ран и ожогов. Показан процесс разработки состава геля бактерицидного действия с рекомбинантным эндолизином LysECD7-SMAP на основе гелеобразователя гидроксиэтилцеллюлозы марки Natrosol® 250 ННХ 250 1,0%, в качестве загустителя, структурообразователя и осмотически активного компонента использован полиэтиленгликоль 1500 1,5%. Экспериментально обосновано введение в состав ЛФ стабилизатора белковых молекул полисорбата 20 в концентрации 0,06 мг/г. Разработанный состав геля обладает требуемым значением рН  $7,3 \pm 0,1$ , удовлетворительными значениями осмотической ( $121 \pm 2,1\%$  через 244 часа) и адсорбционной активности ( $0,058 \pm 0,009$  мг), значением вязкости ( $0,168$  Па·с) удобным как для нанесения на раны ЛФ, так и возможным для введения через катетеры.

Описана в главе отработка технологии получения лекарственной формы в лабораторных условиях и оценка рисков масштабирования технологии. Показана стабильность разработанной лекарственной формы в течение 18 месяцев. Предварительные исследования, посвященные изучению безопасности геля с рекомбинантным белком LysECD7-SMAP, показали, что эндолизин в концентрации 20 мг/г не вызывает нарушений в работе внутренних органов и основных систем организма у подопытных животных. На протяжении всего периода испытаний не наблюдалось никаких отложенных реакций или нежелательных токсических эффектов, которые могли бы возникнуть при клиническом применении данного геля. Полученные результаты дают основания для продолжения исследований и потенциального использования геля на основе LysECD7-SMAP в клинической практике.

**В шестой главе** изложены данные по получению комбинированных лекарственных форм интерферона альфа-2 b в виде офтальмологического геля с даларгином и геля для наружного и местного применения с декспантенолом и лидокаином, обладающие многофакторным воздействием на патологические процессы. В качестве гелеобразователя в комбинированном офтальмологическом геле интерферона альфа-2b и даларгина использовали гидроксиэтилцеллюлозу марки Natrosol® 250 NHX PHARM концентрации 1,25%, в качестве стабилизаторов натрия хлорид 5,8%, натрия ацетат тригидрат 2,0% и ЭДТА в количестве 0,058%. Для получения комбинированного геля интерферона альфа-2b для наружного и местного применения гелеобразователем являлась гидроксиэтилцеллюлоза марки Natrosol® 250 NHX PHARM в концентрации 4,0%, загустителем и структурообразователем является ПЭГ 4000 4,0%, эмолиентом Kollcream® IPM 0,5%, консервантом метилпарагидроксибензоат в концентрации 0,75%, состав стабилизаторов тот же, что и в офтальмологическом геле. Полученный комбинированный офтальмологический гель интерферона альфа-2b и даларгина имеет низкое значение осмотической активности ( $83,34 \pm 3,0$  за 24 часа), вязкость, входящую в реологический оптимум для офтальмологических гелей (пластическая вязкость при  $0,135 \text{ Па} \cdot \text{с}$ ), высокие биоадгезивные свойства ( $118,6 \pm 2,9 \text{ Н}$ ) и удовлетворительные технологические, биофармацевтические и потребительские характеристики. Разработанный состав комбинированного геля интерферона альфа-2b для наружного и местного применения обладает оптимальными увлажняющими свойствами (степень увлажнения через 30 минут составляла  $33,2 \pm 0,6\%$ ), адсорбционной активностью –  $0,082 \pm 0,06 \text{ мг}$ , биоадгезией  $898,4 \pm 2,8 \text{ Н}$ , осмотической активностью ( $144,00 \pm 0,4\%$  за 24 часа), вязкостью (пластическая вязкость  $0,644 \text{ Па} \cdot \text{с}$ ), высокой тиксотропией и окклюзионными свойствами.

Показаны технологические схемы получения данных лекарственных форм и возможность трансфера разработанных технологий и их масштабирования, подобраны параметры процессов производства, определены стратегии внутрипроизводственного контроля и параметры качества готовых лекарственных форм. Изучена стабильность разработанных лекарственных форм в естественных условиях хранения, оценено влияние хранения ЛФ при комнатной температуре в течение 24 часов на стабильность лекарственных форм и влияние стресс-фактора на стабильность лекарственных форм. Срок годности гелей составил 2 года.

В **заключении** обсуждены результаты, выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы исследования.

Приложения содержат спецификации на разработанные лекарственные формы, таблицы изучения стабильности, патенты, акты о внедрении и решения этических комитетов на проведение исследований на животных.

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

Автореферат соответствует основным положениям и выводам диссертации, отражая ее структуру, методологию и ключевые результаты. Он предоставляет четкое и лаконичное изложение целей и задач исследования, а также обоснование научной новизны и практической значимости полученных результатов. Автореферат содержит достаточное количество информации для понимания логики исследования и оценки достоверности полученных результатов. В нем адекватно отражены ключевые этапы работы, включая анализ литературы, разработку методологии, проведение экспериментального исследования и интерпретацию полученных данных. Представленные в автореферате выводы соответствуют результатам диссертационной работы и подкреплены аргументами и доказательствами, полученными в ходе исследования. Они демонстрируют способность автора к анализу и обобщению научной информации, а также к формулированию обоснованных заключений. Автореферат оформлен в соответствии с установленными требованиями и стандартами, что обеспечивает его читабельность и понятность. Он является полноценным и информативным документом, позволяющим оценить вклад диссертации в развитие соответствующей научной области.

#### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

Несомненным достоинством рассматриваемой работы является практическая ориентированность в желании создать основу разработки лекарственных средств с

актуальными биотехнологическими субстанциями. Также заслуживает внимания ассортимент современных (производства США, Японии, Германии и др.) марок основных гидрофильных гелеобразователей для целей фармацевтической разработки, хотя возникает вопрос их доступности и наличия отечественных аналогов.

Однако, при ознакомлении с текстом возник ряд дискуссионных и требующих пояснения вопросов:

1. Чем обусловлена необходимость стерильности гелей для перорального и вагинального применения?
2. Вызывает сомнение критерий вязкости гелей для контроля качества готовых лекарственных средств, о котором говорится в разделе реологических исследований, при том, что в приведенных спецификациях на гель для вагинального применения этот показатель отсутствует, а для глазного геля присутствует в диапазоне 0,120-0,145 Па·с;
3. Требуется пояснения выбор скоростей сдвига при определении вязкости гелей 30 с<sup>-1</sup> и 300 с<sup>-1</sup>, а для глазных 1000 с<sup>-1</sup>, при данных скоростях сдвига происходит разрушение многих гелей и они «текут», а тиксотропность уже не видна;
4. Терминологически «коктейль бактериофагов» используется в научной литературе среди врачей, но насколько он приемлем для фармацевтической технологии. Коктейль бактериофагов - это готовая фармацевтическая субстанция? или промежуточный продукт на стадии производства? где требования к его качеству или спецификация?
5. Чем обусловлено признание критичности того или иного показателя качества, например в вагинальном геле, в частности бактериальные эндотоксины – критичный;
6. Диаграммы профилей качества нуждаются в пояснениях, на каком основании выявлен тот или иной уровень значимости?
7. Таблица 3.9. – нуждается в пояснениях, какова погрешность измерений динамической вязкости;
8. По тексту пластическая и динамическая вязкость – какая из них имеет технологическое значение...

К недостаткам работы можно отнести подмену понятий, так универсальные лекарственные формы по сути являются гелевыми основами для средств фаговой терапии. Хотелось бы видеть более четким изложение процессов производства/изготовления гелей с фаговой субстанцией – поскольку это новизна работы. Сомнительно использование воды для инъекций в гелях для наружного и местного применения, достаточно воды очищенной стерильной, как и получение их в

зоне А. По тексту работы можно встретить опечатки и неудачные выражения, которые, как и высказанные замечания не снижают научной и практической значимости диссертационной работы.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Ануровой Марии Николаевны на тему: «Теоретические и экспериментальные основы разработки гидрофильных мягких лекарственных форм с биотехнологическими субстанциями» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в развитии фармацевтической и биологической технологии и осуществлено решение крупной научной проблемы создания новых отечественных препаратов с улучшенными биофармацевтическими характеристиками, что соответствует требованиям п. 15 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Анурова Мария Николаевна заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям - 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, 1.5.6. Биотехнология.

### **Официальный оппонент:**

доктор фармацевтических (3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств), доцент

заведующий кафедрой общей фармацевтической и биомедицинской технологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»), 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Телефон: +7-903-742-44-62

Электронная почта: suslina-sn@rudn.ru

**Суслина Светлана Николаевна**

Подпись

Подпись доктора фармацевтических наук, доцента Суслиной С.Н. заверяю Ученый секретарь ученого совета медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

« 27 » августа



доцент, к.ф.н. Максимова Т.В.