

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата фармацевтических наук **Кривых Максима Андреевича** на диссертационную работу **Турецкого Евгения Александровича** «Создание стандартного образца водного раствора фуллерена», представленную в Диссертационный совет ДСУ 208.002.01 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы исследования

Фуллерен – аллотропная модификация углерода, открытая в конце XX века – является перспективным объектом для разработки лекарственных средств, в связи с его противовирусным, противовоспалительным и противоаллергическим свойствами. Его медицинское применение, однако, требует применения водных растворов, содержащих либо химически модифицированные фуллерены, либо наноразмерные частицы немодифицированных фуллеренов. Стандартизация последних сильно затруднена физико-химическими свойствами таких дисперсий, а также сравнительной новизной использования нанодисперсий в медицине. Диссертация Турецкого Е.А. описывает новый способ получения водной дисперсии немодифицированного фуллерена, а также подходы к его стандартизации. Существенная часть работы посвящена изучению структуры и свойств наночастиц фуллерена в водных дисперсиях. Помимо этого, в работе было произведено определение хронической токсичности при внутрибрюшинном введении мышам, а также изучена дифференциальная токсичность водного раствора фуллерена для тканей млекопитающих *in vitro*. Данные исследования позволяют сделать заключение о биологической безопасности дисперсии, полученной описанным в диссертации методом.

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

Диссертационную работу Турецкого Е.А. характеризует высокий научно-методический уровень выполнения. Научные положения, выводы и практические рекомендации, изложенные в работе, подтверждены и обоснованы значительным массивом полученных в ходе работы экспериментальных данных, использованием современных экспериментальных методов исследования, тщательностью в планировании экспериментов и последовательностью изложения результатов. Для обработки данных использовалось программное обеспечение Agilent Cary Win UV, Microsoft excel, STATISTICA 10.

Выводы и содержание диссертации находятся в соответствии с современным уровнем описания предмета работы в научной и научно-технической литературе. Выводы диссертационной работы полностью соответствуют поставленной цели и задачам, логично следуют из полученных автором результатов.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследований

Тщательный учёт результатов экспериментов, использование современных физико-химических методов и основательный подход к планированию исследования, подкреплённый полноценным обзором современных научных публикаций по теме исследования позволяют сделать вывод о достоверности представленных в работе экспериментальных данных.

Научная новизна работы заключается в том, что в ней впервые:

- разработан способ получения водного раствора фуллерена с применением тангенциальной ультрафильтрации для очистки от органического растворителя, изучено взаимодействие частиц фуллерена с различными материалами мембран;
- изучены физико-химические свойства растворов фуллеренов, стабилизированных различными неионогенными ПАВ и проведён их сравнительный анализ;
- впервые предложена процедура контроля качества водного раствора

фуллерена для биомедицинского применения, включающая качественное и количественное определение фуллерена в растворе, а также анализ размеров частиц и их поверхностного заряда;

– экспериментально показана биологическая безопасность водного раствора фуллерена *in vitro* и *in vivo* при хроническом введении;

По материалам диссертационной работы опубликовано 7 печатных научных работ, включая 1 статью в издании, включённом в перечень ВАК Минобрнауки России, 1 - в издании, включённом в базу данных Scopus и Web of Science. Получен патент на изобретение «Способ получения высококонцентрированного водного раствора фуллерена» № 2679257, приоритет от 17.01.2018, что подтверждает новизну, изобретательский уровень и промышленную применимость созданного технического решения.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Автором были получены ранее не описанные в литературе данные о структуре частиц фуллерена в водных растворах, позволяющие, в частности, выдвинуть предположения о механизмах их стабилизации в водной среде. Изучено продолжительное по времени (30 дней) воздействие наночастиц фуллерена на организм млекопитающих.

Практическая значимость работы заключается в возможности использования разработанных в ходе исследования методик для серийного производства и стандартизации водного раствора фуллерена. Установленная в ходе работы безопасность водного раствора фуллерена для млекопитающих позволяет использовать его для дальнейших разработок фармацевтических и косметических средств.

Содержание и структура диссертации

Материал диссертации изложен научным языком с соблюдением стилистической целостности. Работа изложена на 100 страницах машинописного текста, содержит 3 таблицы и 35 рисунков. Работа состоит из введения, обзора

литературы, описания материалов и методов, глав результатов собственных исследований (глава 3 и 4), каждая из которых является логическим продолжением предыдущей, заключения, содержащего общие выводы, и списка литературы, включающего 112 наименований на иностранных языках.

Введение содержит сведения об актуальности, и степени разработанности темы исследования, научной новизне, теоретической и практической значимости и методологии описанной в диссертации научной работы. Описанные сведения позволяют оценить целесообразность поставленных цели и задач, а также значимость результатов работы для современной фармацевтической науки.

Первая глава представляет собой всесторонний и комплексный анализ существующей научной литературы, посвящённой теме исследования. Глава разделена на три подраздела: первый описывает результаты существующих экспериментов по изучению биологического действия фуллеренов и их производных; второй рассматривает основные стратегии, используемые для получения водорастворимых форм фуллерена; третья глава содержит сведения о современных физико-химических методах, которые применяются в анализе водных растворов фуллерена. Содержимое главы позволяет оценить актуальность создания препарата на основе фуллерена, а также заключить, что выбор методов и методик, использованных в работе, является научно-обоснованным.

Вторая глава диссертации описывает использованные в ходе исследования методы и материалы. Помимо описания аналитических методик, использованных в контроле качества водного раствора фуллерена, раздел содержит подробное описание разработанного в ходе работы способа получения водного раствора фуллерена, а также подробное описание культур клеток и животных моделей, использованных в биологических исследованиях.

Третья глава описывает полученные в ходе работы результаты. Часть главы, посвящённая разработке способа получения водного раствора фуллерена методом ультрафильтрации, включает данные о взаимодействии фуллерена с различными стабилизаторами и материалами мембран. В главе описаны результаты исследования полученного водного раствора фуллерена различными методами

фармацевтического анализа, а также методами, предложенными для изучения структуры частиц фуллерена в растворах. Эти данные составляют основу норм, установленных для показателей качества водного раствора фуллерена. Помимо этого, в главе описаны результаты исследования токсичности водного раствора фуллерена *in vivo* и *in vitro*.

Четвёртая глава содержит сведения о допустимых нормах показателей качества и методах их определения, включенных в разработанную спецификацию на стандартный образец водного раствора фуллерена, а также информацию об установлении его срока годности.

Заключение включает в себя общие выводы и практические рекомендации.

Каждая глава представляет собой завершённый этап научно-исследовательской работы и содержит промежуточные выводы. Общие выводы диссертации соответствуют поставленным задачам.

Диссертация выполнена на высоком профессиональном уровне. Содержание автореферата и публикаций автора отражает содержание диссертационной работы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Работа, в целом, заслуживает положительной оценки, однако имеется несколько замечаний и вопросов:

1. При исследовании хронической токсичности какое количество животных составляло экспериментальную и контрольную группы, на чем основывался выбор тест-дозы (500 мкл раствора фуллерена с концентрацией 400 мкг/мл)?

2. Какое назначение у разработанного стандартного образца и что является аттестованной величиной?

3. В таблице 3 фактические результаты содержания специфической примеси для серий 1-3 указаны в размерности «мкг/мл», в то же время допустимые пределы значений по данному показателю указаны в редакции «мг/мл», что является некорректным. Пояснить различия в полученных результатах при измерении размера частиц для разных серий, а также полученное стандартное отклонение для серии 2 (уточнить количество исследований).

4. При установлении сроков годности водного раствора уточнить временные точки исследований, учитывались ли положения ГФ РФ ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств»? Проводились ли исследования фотостабильности?

5. На стр. 83 при обсуждении результатов изучения стабильности указаны значения по показателю «Размер частиц», однако, не конкретизировано, для какой из трех серий получены данные результаты?

6. Уточнить форму выпуска стандартного образца водного раствора фуллерена (первичная упаковка, объем заполнения) и размер изготовленных серий 1-3?

7. На чем был основан выбор показателей качества в предложенной спецификации на стандартный образец водного раствора фуллерена (пояснить отсутствие показателей извлекаемый объем, микробиологическая чистота и других в зависимости от предполагаемого применения лекарственного средства)?

8. Общее замечание по всему тексту диссертации: при указании полученных результатов (среднее значение и стандартное отклонение) отсутствует информация о количестве исследований (n).

Все вышеперечисленные замечания, в целом, не носят принципиального характера, не снижают ценность проделанной работы и не оказывают существенного влияния на представленные результаты исследований и положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Турецкого Евгения Александровича на тему «Создание стандартного образца водного раствора фуллерена» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на современном научном и методическом уровне, содержащей решение актуальной задачи по разработке способа получения водного раствора фуллерена и разработке подходов к его стандартизации.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Турецкого Евгения Александровича соответствует требованиям пункта 16 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первом МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), утвержденного приказом ректора № 0094/Р от 31.01.2020, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Турецкий Е.А., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

кандидат фармацевтических наук
(14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),
заместитель начальника управления экспертизы противобактериальных МИБП
Центра экспертизы и контроля МИБП
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России



Кривых Максим Андреевич

Федерального государственного бюджетного учреждения
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
127051, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2
Тел.: 8 (495) 625-43-48
E-mail: krivykh@expmed.ru

Подпись Кривых Максима Андреевича «заверяю»

Заместитель генерального директора по экспертизе ЛС
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор



Меркулов В.А.

«01» 10 2021 г.