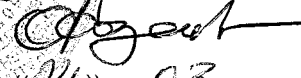


УТВЕРЖДАЮ

Проректор по науке и инновациям
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Воронежский государственный
университет», д.х.н., доцент

 Козадеров О.А.
«24» 03 2021 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы Терехова Романа Петровича на тему *«Влияние фазового состояния на физико-химические, технологические и биофармацевтические параметры дигидрокверцетина»*, представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия – в диссертационный совет ДСУ 208.002.01 на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет).

Актуальность темы диссертации

Одной из важнейших проблем современной фармацевтической науки является повышение биологической доступности малорастворимых субстанций. Сложности, связанные с увеличением концентрации действующего вещества в органах-мишенях, остаются критической проблемой в реализации фармакологических эффектов многих перспективных соединений. Одним из таких объектов является биофлавоноид дигидрокверцетин, обладающий биологической активностью, которая была продемонстрирована ранее в ходе многочисленных доклинических испытаний.

Сравнительно молодым направлением оптимизации характеристик малорастворимых фармацевтических субстанций является фазовая модификация. Данный подход обеспечивает возможность изменения физико-

химических и функциональных свойств вещества без помощи вспомогательных соединений. Этот факт позволяет минимизировать нежелательные фармакологические явления. Однако полученные новые объекты требуют комплексного изучения с позиций химической и биомедицинской науки.

Работа Терехова Р.П. направлена на решение именно этих вопросов, поэтому актуальность диссертационного исследования не вызывает сомнений.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки

Диссертация Терехова Р.П. выполнена в рамках комплексной темы «Разработка подходов к анализу, стандартизации, оценке качества, и сертификации биологически активных соединений синтетического и природного происхождения, лекарственных препаратов, медицинских изделий (технологические и экологические аспекты)».

Новизна исследования и полученных результатов

В соответствии с современной концепцией разработки новых лекарственных препаратов в трансляционном формате, применены методы молекулярного моделирования для осуществления направленного синтеза фазовых модификаций дигидрокверцетина с заданными свойствами: микротрубчатой, микросфероидной, микроволокнистой.

Досконально описана природа новой псевдополиморфной формы сесквикристаллогидрата дигидрокверцетина при помощи системного подхода с привлечением современных методов анализа, включая рентгеновскую порошковую дифрактометрию при различных температурах и синхронный термический анализ с масс-спектрометрией.

На примере полученных объектов доказано влияние фазового состояния вещества на его физико-химические, технологические и биофармацевтические параметры.

Предложен и масштабирован на продукты химического и биотехнологического производства инновационный метод оценки качества фармацевтических субстанций на базе интеллектуальных технологий путем измерения их фрактальной размерности.

Научная новизна результатов подтверждается наличием патента «Способ получения микротрубок дигидрокверцетина» (патент РФ № 2640413 от 09.01.2018, заявка № 2017123364 от 03.07.2017).

Значимость полученных автором результатов для науки и практики

Результаты проведенного исследования представляют значительный интерес как с теоретической, так и с практической точек зрения, поскольку содержат обоснование возможности использования фазовой модификации как инструмента оптимизации функциональных свойств фармацевтических субстанций. Это было продемонстрировано путем системного анализа, предложенного диссертантом, и в ходе доклинических испытаний *ex vivo* и *in vivo*. Разработан автоматизированный метод контроля качества фармацевтических субстанций на базе интеллектуальных технологий, который может использоваться для непрерывного мониторинга на фармацевтическом производстве.

Результаты диссертационного исследования внедрены на АО «Аметис» (наработана экспериментальная партия микросфероидной формы дигидрокверцетина), в НИИ трансляционной медицины РНИМУ имени Н.И. Пирогова (используются в доклинических исследованиях природных соединений с антиоксидантной активностью) и в образовательном процессе на кафедре химии Сеченовского университета.

Личный вклад автора

Диссертант принимал непосредственное участие при формулировании концепции диссертационного исследования, выполненного в трансляционном формате и включающем этапы молекулярного дизайна *in silico*, синтеза объектов исследования и описания их при помощи спектральных, рентгенодифракционных и термических методов *in vitro*, оценки токсикологических и биофармацевтических параметров *ex vivo* и изучения ранозаживляющей активности *in vivo*. Автору принадлежит ведущая роль в валидации количественных аналитических методик на базе методов УФ-спектроскопии, ВЭЖХ и фрактальной геометрии. Тереховым Р.П. осуществлен сбор и критический анализ экспериментальных данных, обобщены и статистически обработаны результаты исследований. Личный вклад диссертанта также является определяющим на этапе обсуждения результатов в ходе докладов на конференциях всероссийского и международного уровня (в том числе на иностранном языке) и в научных публикациях в отечественных и зарубежных журналах.

Рекомендации по применению результатов и выводов диссертационной работы

Практические рекомендации заключаются в том, что микротрубчатая, микросфероидная и микроволокнистая формы дигидрокверцетина могут производиться на предприятиях химико-фармацевтической промышленности.

Продолжение исследования полученных новых фазовых модификаций для данного биофлавоноида является перспективным при разработке новых лекарственных препаратов с противовоспалительной, регенеративной, противовирусной, нейропротективной фармакологической активностью.

Характеристика публикаций автора

Основное содержание диссертационного исследования отражено в 31 научной публикации, в том числе в 12 статьях в журналах, входящих в международные базы данных и перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, а также в патенте «Способ получения микротрубок дигидрокверцетина» (патент РФ № 2640413 от 09.01.2018).

Содержание и структура диссертации

Диссертация Терехова Р.П. построена в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и оформление» и состоит из введения, литературного обзора, глав, посвященных, обсуждению результатов, экспериментальной части, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложений. Общий объем диссертации составляет 173 страницы машинописного текста. В работе содержится 63 рисунка и 27 таблиц. Библиографический указатель включает 186 источников, из них 148 – на иностранном языке.

Во **введении** автор обосновал актуальность темы диссертационного исследования, сформулировал его цель и задачи. Этот раздел в полной мере решает задачу ознакомления с основными положениями, научной новизной, практической значимостью полученных результатов, их апробацией и имеющимися публикациями.

Глава 1 представляет собой обзор на тему «Фазовые модификации флавоноидов» и состоит из трех подразделов, описывающих современные подходы к оптимизации свойств флавоноидов путем изменения их фазового состояния, методы их анализа. Проведенный автором информационно-аналитический поиск позволил установить, что до настоящего времени

отсутствовали примеры системного изучения влияния фазового состояния на характеристики дигидрокверцетина.

Глава 2 содержит результаты исследований методами молекулярного моделирования и супрамолекулярного синтеза по разработке способа получения фазовых модификаций дигидрокверцетина. В ходе компьютерных расчетов показано влияние компонентов твердой фазы и предсказаны ее характеристики. Эмпирически осуществлен подбор оптимальных внешних условий с учетом свойств конечных продуктов. Результаты синтеза хорошо согласуются с данными исследований *in silico*.

В **главе 3** приведены результаты системного изучения полученных объектов. Результаты УФ- и ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии подтверждают сохранение исходной молекулярной структуры дигидрокверцетина. Методом ЯМР ^1H и УВЭЖХ осуществлен анализ примесных компонентов фазовых модификаций флавоноида. Структура объектов описана при помощи сканирующей электронной микроскопии, а размер частиц определен путем лазерной дифракции света. Степень кристалличности фазовых модификаций изучена посредством рентгеновской порошковой дифракции. Для микротрубок дигидрокверцетина установлено строение кристаллической ячейки при помощи рентгеноструктурного анализа – полученные данные размещены в международной кристаллографической базе данных в Кембридже. Используя дифференциальную сканирующую калориметрию и термогравиметрический анализ, а также рентгенофазовый анализ при различных температурах, исследованы фазовые переходы в модификациях флаванолола. Методом синхронного термического анализа с масс-спектрометрией установлена роль мочевины в структуре твердой фазы микротрубок. Кроме того, в главе описаны некоторые критически важные физико-химические параметры синтезированных объектов, такие как растворимость в воде при комнатной температуре и сорбционные свойства.

В **главе 4** описана разработка и валидация автоматизированного метода неразрушающего контроля качества лиофилизатов фармацевтических

субстанций путем фрактального анализа. Отдельное внимание уделено теоретическому обоснованию наблюдаемых взаимосвязей между фрактальной размерностью вещества и его физико-химическими свойствами. На примере бинарных монофазных композиций дигидрокверцетина с различными коформерами представлено использование данного аналитического подхода по отношению к объекту с «малой молекулой» и имеются данные о масштабировании метода на биотехнологический препарат «Бифидумбактерин».

В главе 5 автор приводит информацию по разработке методики и результаты сравнения фазовых модификаций дигидрокверцетина по показателю проницаемости через монослой культуры клеток MDCK. Выбор оптимальных методик базировался на изучении большого объема литературных источников. Полученные данные послужили основой для взвешенного характеристики исследуемых объектов в соответствии с Биофармацевтической классификацией соединений. Кроме того, большое внимание уделяется влиянию фазового состояния на цитотоксические свойства.

В главе 6 представлены результаты сопоставительного анализа по оценке влияния фазового состояния дигидрокверцетина на функциональные свойства вещества: фармацевтико-технологические характеристики и ранозаживляющие свойства. Таким образом, автор логически завершает ранее заявленный трансляционный формат диссертационного исследования и обеспечивает задел для дальнейшего внедрения полученных им объектов в практику клинического применения.

В главе 7 приведено описание объектов, материалов и методик, использованных в работе. При проведении исследования соблюдены требования к точности количественного определения и воспроизводимости внешних условий. Автор использовал международную систему единиц СИ в соответствии с ГОСТ 8.417-2002 «Государственная система обеспечения единства измерений. Единицы величин» и действующее издание Государственной фармакопеи. В работе применены современные

фармакопейные методы исследования и аналитические подходы, пока не вошедшие в нормативную документацию фармацевтической отрасли.

Заключение и выводы, сделанные автором на основании полученных результатов собственных экспериментальных исследований, согласуются с поставленными задачами и целями и в полной мере отражают основные итоги проделанной работы.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

В качестве несомненного достоинства работы следует отметить ее логичность и последовательность. Методы супрамолекулярного синтеза, примененные для получения фазовых модификаций дигидрокверцетина, были выбраны на основании результатов молекулярного моделирования, а дальнейшее изучение функциональных свойств новых объектов обусловлено результатами физико-химического анализа. Автором проделан большой объем экспериментальной работы. У соискателя сформированы навыки работы с базовыми инструментальными методами. Диссертация написана современным научным литературным языком, четко структурирована и содержит хорошую визуальную доказательную базу в виде хроматограмм, спектров, микрофотографий в виде рисунков. Весь иллюстративный материал оформлен грамотно и четко и содержит соответствующий комментарий.

Автор разработал системный подход к описанию строения фазовых модификаций дигидрокверцетина. Следует отметить возможность применения разработанного подхода в изучении полиморфизма фармацевтических субстанций и поиска наиболее эффективных и безопасных форм.

В тоже время к работе имеются отдельные вопросы и замечания.

1. При выполнении обзора научных публикаций автор подробно описал методику литературного поиска, что не характерно для отечественных диссертационных работ. Какова цель столь скрупулезного подхода?

2. В подавляющем большинстве диссертационных работ раздел «Материалы и методы» идет непосредственно после литературного анализа

перед описанием результатов исследования. Это позволяет читателю заранее ознакомиться с условиями, при которых получены экспериментальные данные, и убедиться в их достоверности. Однако в диссертации Терехова Р.П. этот раздел помещен почти в самом конце перед выводами. Чем обусловлено такое решение?

3. Неоспоримым достоинством работы является применение современных комплексных методов. Однако не является ли их использование избыточным, и можно ли было ограничиться более узким спектром аналитических подходов?

Перечисленные замечания не являются принципиальными и не снижают значимость и общую положительную оценку работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Терехова Р.П. на тему «Влияние фазового состояния на физико-химические, технологические и биофармацевтические параметры дигидрокверцетина» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по оптимизации физико-химических, фармацевтико-технологических и биофармацевтических параметров дигидрокверцетина, имеющей существенное значение для разработки новых фитопрепаратов. По актуальности и важности темы, глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности полученных результатов и выводов диссертационная работа «Влияние фазового состояния на физико-химические, технологические и биофармацевтические параметры дигидрокверцетина» 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 диссертациям на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук, а ее автор – Терехов Р.П. – заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв о научно-практической значимости диссертационной работы Терехова Романа Петровича обсужден на заседании кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», протокол № 1501-12 от 23.03.2021г.

Отзыв подготовил:

Заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», доктор фармацевтических наук (14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор



Сливкин Алексей Иванович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», 394006, Воронеж, Университетская площадь, д. 1, тел. +7 (473) 220-75-21, e-mail: office@main.vsu.ru, web-сайт: <http://www.vsu.ru>.

Подпись Сливкина Алексея Ивановича заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», кандидат экономических наук, доцент



Васильева К.Н.