

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации **Куркина Владимира Александровича** на диссертационную работу **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.

### **Актуальность выполняемого исследования**

В настоящее время арсенал медицины постоянно пополняется новыми синтетическими лекарственными средствами, однако фитопрепараты по-прежнему занимают значительную часть фармацевтического рынка. По последним данным их доля составляет свыше 30% среди оригинальных лекарственных препаратов. Популярность фитотерапии объясняется тем, что лекарственные средства растительного происхождения обладают широким диапазоном лечебных свойств и вызывают меньше побочных эффектов по сравнению с синтетическими препаратами.

Научное сообщество уделяет все больше внимания природным антиоксидантам полифенольной природы семейства флавоноидов, повсеместно распространенным в растительном мире. Разнообразная биологическая активность биофлавоноидов, сочетающаяся с безопасностью применения, является весомым аргументом для разработки фитопрепаратов на их основе.

Особый интерес в группе биофлавоноидов вызывает флаванол дигидрокверцетин. Он является мажорным флавоноидным компонентом

комлевой части древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и лиственницы даурской (*Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr., синоним *Larix dahurica* Turcz.). Создание фитопрепарата «Диквертин» на его основе стало возможным благодаря комплексным научно-исследовательским работам, выполненным под руководством профессора Н. А. Тюкавкиной. На территории Российской Федерации зарегистрирована фармацевтическая субстанция этого биофлавоноида и налажено ее промышленное производство. В последнее время в научной литературе сообщается о селективном воздействии дигидрокверцетина на различные патологически значимые биологические мишени.

Наравне с другими агликонами флавоноидов, дигидрокверцетин характеризуется низкой растворимостью в воде при комнатной температуре, что, по мнению многих исследователей, напрямую связано с его ограниченной биологической доступностью. Для некоторых представителей семейства флавоноидов (кверцетин, лютеолин, байкалеин и др.) описаны отдельные эксперименты по изменению физико-химических характеристик путем модификации структуры твердой фазы вещества.

Все вышесказанное обуславливает необходимость проверки возможности оптимизации биофармацевтических параметров дигидрокверцетина при помощи изменения его фазового состояния. В своей диссертации Терехов Р.П. решает именно эту задачу – им выполнен дизайн, синтез и системный анализ новых форм данного биофлавоноида. Таким образом, актуальность исследования сомнений не вызывает.

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

Диссертационная работа Терехова Р. П. выполнена на высоком научном уровне с использованием современных методов анализа. Автором обработан большой объем актуальной научной литературы, посвященной теме исследования. Научные положения и выводы диссертации базируются

на достаточном количестве экспериментов. При выполнении работы использованы спектральные, хроматографические, рентгенодифракционные, термические, хемоинформатические, фармацевтико-технологические, биофармацевтические и биологические методы анализа. Проведена статистическая обработка результатов. Материалы диссертационной работы неоднократно докладывались на конференциях всероссийского и международного уровня, а ее результаты опубликованы в журналах из списка Высшей аттестационной комиссии и в изданиях, индексируемых в международных базах данных SCOPUS и Web of Science. Таким образом, обоснованность научных положений, рекомендаций и выводов диссертации Терехова Р.П. несомненна.

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

В диссертационной работе Терехова Р.П. использовано сертифицированное оборудование, а разработанные аналитические методики - валидированы. Достоверность полученных результатов подтверждена большим объемом собственных экспериментальных данных, полученных с применением современных физико-химических методов, адекватных поставленным целям и задачам.

Оппонируемая работа отличается скрупулезным выполнением исследований. Так, для установления роли мочевины в строении одной из синтезированных модификаций дигидрокверцетина, был использован синхронный термический анализ с масс-спектрометрией. На основании результатов этого комплексного метода был сделан вывод, что молекулы карбамида являются «гостем» во внутренних полостях твердой фазы флаванонола.

На базе эксперимента по молекулярному моделированию *in silico*, автором были сформулированы принципы, позволяющие направленно изменять фазовое строение дигидрокверцетина. В результате поисковых

исследований были синтезированы три новые фазовые модификации данного биофлавоноида: микротрубчатая, микросфероидная и микроволокнистая.

Для всестороннего описания полученных форм дигидрокверцетина разработан и реализован системный подход к исследованию их фазового строения, включающий комплекс спектральных, хроматографических, микроскопических, рентгенографических, термических и физико-химических методов анализа, как фармакопейных, так и не вошедших в Государственную фармакопею Российской Федерации. Установлено, что микросфероидная и микроволокнистая модификации дигидрокверцетина являются не идентичными аморфными формами по отношению к исходной фармацевтической субстанции. В то же время, микротрубки характеризовались кристаллогидратным строением и потому были признаны псевдополиморфной модификацией дигидрокверцетина. Для новых форм флаванолола наблюдали повышенную растворимость в воде при комнатной температуре, улучшенные фармацевтико-технологические параметры, модифицированную проницаемость и более выраженную фармакологическую эффективность по сравнению с фармацевтической субстанцией.

Интересным фрагментом диссертационной работы Терехова Р.П. является разработанный им метод фрактального анализа для автоматизированного неразрушающего контроля качества лиофилизированных фармацевтических субстанций. Специфическое микроскопическое строение волокнистой формы дигидрокверцетина позволило сформулировать гипотезу о наличии взаимосвязи между их морфологией и показателями качества, что было подтверждено экспериментально с привлечением современных интеллектуальных технологий. Этот метод может послужить полезным инструментом для цифровизации химико-фармацевтического анализа на производствах в рамках четвертой промышленной революции.

Научная новизна полученных результатов защищена патентом Российской Федерации.

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

Диссертационная работа Терехова Р. П. вносит существенный вклад в решение такой важной для фармации задачи, как экспериментальное и теоретическое обоснование методических подходов к оптимизации свойств дигидрокверцетина посредством изменения их фазового состояния. Данные изучения биофармацевтических свойств фазовых модификаций в условиях *ex vivo* и итоги оценки их ранозаживляющей активности в эксперименте *in vivo* могут послужить научной основой для дальнейшей трансляции результатов этого фундаментального исследования в реальную клиническую практику.

В качестве теоретической значимости следует отметить глубокий анализ современной научной литературы и предложенный на основе этого системный анализ фазовых модификаций фармацевтических субстанций, реализованный на примере синтезированных им новых форм дигидрокверцетина.

Значение диссертационной работы Терехова Р.П. для практической фармации подтверждено актами внедрения в производство инновационной фармацевтической компании АО «Аметис» и в научно-исследовательскую деятельность НИИ трансляционной медицины РНИМУ имени Н.И. Пирогова. Несомненной заслугой автора стало использование результатов диссертации в образовательном процессе студентов-провизоров на кафедре химии Института фармации имени А.П. Нелюбина Сеченовского университета.

### **Содержание и структура диссертации**

Диссертация изложена на 173 страницах машинописного текста, снабжена 27 таблицами и проиллюстрирована 63 рисунками. Работа структурирована и включает введение, обзор литературы, результаты

собственных экспериментальных исследований, которые изложены в пяти главах, экспериментальную часть, общие выводы, список сокращений и условных обозначений и приложений. Список литературы состоит 186 источников, в том числе 148 – на иностранном языке,

Во **введении** обозначена актуальность исследования, сформулированы цели и задачи работы, приведены данные о степени разработанности темы, раскрыта ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены основные положения, выносимые на защиту. Имеются данные по апробации работы на конференциях и по публикационной активности автора. Классическое содержание введения дополнено удобной визуализацией дизайна исследования, позволяющей оценить весь масштаб проделанной работы в трансляционном формате.

В **первой главе** представлен всесторонний обзор литературы по вопросам получения и изучения фазовых модификаций флавоноидов. Автором проведен анализ тенденций в данной области науки, реализованный в соответствии с международными рекомендациями PRISMA. Рассмотрение фундаментальных законов и прикладных аспектов позволяют рекомендовать данный материал в качестве учебного руководства для начинающих исследователей в области фазовой модификации фармацевтических субстанций.

**Вторая глава** посвящена молекулярному дизайну строения фазовых модификаций дигидрокверцетина и описанию результатов поисковых исследований, направленных на синтез новых форм данного биофлавоноида. Привлечение современных компьютерных методов анализа позволило рационализировать исследовательский процесс и реализовать концепцию трансляционного подхода к получению и изучению фазовых модификаций объекта данной диссертационной работы.

В **третьей главе** приведены результаты системного исследования полученных фазовых модификаций дигидрокверцетина. Интересно отметить, что данный подход включал не только фармакопейные методы, но и более

сложные инструментальные подходы, такие как ультравысокоэффективная жидкостная хроматография в тандеме с масс-спектрометрическим детектированием, сканирующая электронная микроскопия, рентгеноструктурный анализ, синхронный термический анализ с масс-спектрометрией, рентгеновская порошковая дифрактометрия при различных температурах *in situ*. Иногда применение метода требовало модификации методики эксперимента: таким образом был разработан седиментационный метод определения растворимости дигидрокверцетина и адаптирован метод Киплинга для оценки сорбционных свойств фазовых модификаций флаванолола. Благодаря вышеперечисленным аналитическим подходам был определён точный состав новых форм биофлавоноида, описана морфология их частиц, установлена природа твердой фазы, описаны характерные физико-химические особенности.

В **четвертой главе** авторам описаны процесс разработки метода фрактального анализа фармацевтических субстанций, сочетающего простоту пробоподготовки, экспрессность получения результатов и высокую чувствительность к показателям качества объекта. Методика валидирована по показателям специфичность, предел обнаружения, правильность, сходимость, устойчивость. В конце главы представлены результаты валидации этого инновационного подхода в виде таблицы.

**Пятая глава** посвящена дизайну эксперимента *ex vivo* для оценки биофармацевтических характеристик фазовых модификаций дигидрокверцетина и результаты отнесения по Биофармацевтической классификации соединений.

В **шестой главе** обсуждены результаты оценки влияния фазового состояния дигидрокверцетина на фармацевтико-технологические параметры таблеток для рассасывания и таблетлируемых масс на базе его различных форм. Микросфероидная модификация биофлавоноида обладала значимыми преимуществами по сравнению с исходной субстанцией. Также описаны итоги изучения ранозаживляющих свойств на модели ожога IIIA степени у

крыс, которые указывают на перспективность трубчатой формы флаванонола в качестве основы для регенерирующих лекарственных препаратов.

В **седьмой главе** описаны объекты исследования и подробные методики, примененные в диссертационной работе, которые позволят воспроизвести результаты проведенных экспериментов.

В **заключении** отражены обобщенные результаты решения круга вопросов, обозначенных в задачах исследования. Представлены практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

В **приложениях** приведены копии патента Российской Федерации, актов внедрения результатов исследования и выписки из протокола заседания Локального этического комитета Сеченовского университета.

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

Хотелось бы отметить высокий профессионализм и педантизм автора, проявляющийся в детальном и всестороннем исследовании природы фазовых модификаций дигидрохверцетина. Каждая глава сопровождается подробными выводами. В структуре диссертации прослеживается единый логический подход. Общие выводы хорошо согласуются с поставленными задачами и соответствуют цели работы.

Несмотря на общую положительную оценку диссертации Терехова Р. П. имеется ряд вопросов и замечаний:

1. В главе 3 при описании дизайна и синтеза фазовых модификаций дигидрохверцетина, в качестве растворителей автор использовал только воду и этанол. Почему не рассматривались другие растворители?

2. Согласно ОФС.1.2.1.0009.15 «Оптическая микроскопия» для проведения микроскопического исследования рекомендуется использование иммерсионной жидкости. При проведении фрактального анализа такой подход мог способствовать улучшению качества изображения. Почему автор не воспользовался рекомендациями Государственной фармакопеи?



3. Растворимость является специфическим показателем качества фармацевтической субстанции. Каким образом может происходить изменение этого параметра в ходе супрамолекулярного синтеза, если структура действующего вещества остаётся неизменной?

4. При изучении природы фазовых модификаций дигидрохверцетина фигурирует четыре формы: исходная, микротрубчатая, микросфероидная и микроволокнистая. Однако в дальнейшем, при описании функциональных свойств исследование ведется только на одном из новых объектов: фармацевтико-технологические свойства - на микросферах, а противовоспалительные свойства - на микротрубках. Чем был обоснован такой выбор?

Все вышеперечисленные замечания и пожелания, 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.

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

Содержание автореферата полностью отражает основные положения и выводы диссертации. Диссертационная работа Терехова Р. П., полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, диссертационная работа Терехова Р.П. на тему «Влияние фазового состояния на физико-химические, технологические и биофармацевтические параметры дигидрохверцетина» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлено решение крупной

задачи современной фармации по оптимизации биофармацевтических и фармакологических свойств природного флаванолола дигидрохверцетина.

Диссертационная работа Терехова Р. П. не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации и полностью 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, а ее автор, Терехов Р. П., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заведующий кафедрой фармакогнозии  
с ботаникой и основами фитотерапии  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Самарский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор фармацевтических наук  
(15.00.02 - фармацевтическая химия и фармакогнозия),  
профессор

 Владимир Александрович Куркин

«25» марта 2021 г.

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Самарский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Адрес: 443099, Российская Федерация, г. Самара, ул. Чапаевская, 89  
Тел.: +7 (840) 332-16-34  
e-mail: info@samsmu.ru

