

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Хамама Зина на тему «Разработка, стандартизация и изучение биологической активности плёнки спермицидного действия, на основе сапонинов *Styrax officinalis* L.», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств в Диссертационный Совет Д 208.040.09 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Актуальность избранной темы

Диссертация Хамама Зина посвящена актуальной проблеме - разработке плёнки спермицидного действия, на основе сапонинов *Styrax officinalis* L.

Растения являются источником многих фармацевтических субстанций с высокой биологической активностью. Объектом исследования явилось растение произрастающее в Сирии - стиракс лекарственный (*Styrax officinalis* L.), который нуждается в детальном изучении.

До постановки соискателем диссертационной работы отсутствовали какие-либо фармакогностические данные о *Styrax officinalis* L. растущем в Сирии. Также объектом научных исследований не были лекарственные формы на основе сапонинов стиракса.

Поэтому разработка, стандартизация и изучение биологической активности плёнки спермицидного действия, на основе сапонинов *Styrax officinalis* L. является актуальным неаучным исследованием.

Цель исследования заключалась в разработке состава и технологии вагинальных спермицидных плёнок с экстрактом стиракса лекарственного (ВСПЭС) и фармакогностическом изучении нового вида растительного сырья «стиракса лекарственного околоплодники».

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

Степень обоснованности научных положений, проведенных исследований подтверждается использованием в качестве теоретической и методологической базы научных трудов ученых U. Zehavi, M. Levy, R. Segal (1986), которые посвятили работу «Fungistatic activity of Saponin A from *Styrax officinalis* L. on plant pathogens» исследованию фармакологического действия сапонинов *Styrax officinalis* L..

Результаты исследования, выводы и практические рекомендации основаны на достаточном количестве экспериментальных исследований разработанных экстрактов и пленок лекарственных.

Научные положения, сформулированные в диссертации

Научные положения основаны на принятой автором методологии исследования, заключающейся в фармакогностическом изучении нового вида растительного сырья «стиракса лекарственного околоплодники», получении экстракта сухого и разработке состава и технологии вагинальных спермицидных плёнок.

Исследования отвечают современным требованиям фармацевтической технологии, что позволяет считать полученные данные убедительными, а научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, вполне обоснованными.

Достоверность полученных результатов и научная новизна. Достоверность проведенных результатов исследований подтверждается необходимым числом экспериментов по оценке факторов, влияющих на экстрагирование лекарственного растительного сырья «стиракса лекарственного околоплодники», а также экспериментальных составов пленок лекарственных.

При проведении экспериментальных работ использованы: комплекс современных физико-химических методов исследования и

сертифицированное оборудование. Методами статистической обработки установлена воспроизводимость и правильность результатов исследований. Результаты, полученные различными независимыми методами, хорошо согласуются между собой и взаимно дополняют друг друга. Выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованы и логичны. Анализ полученных результатов и выводов диссертационной работы показывает, что они отличаются новизной и достоверностью.

Новизна полученных результатов подтверждает заявка на изобретение № 2018111180 от 29.03.2018 «Композиция спермицидного действия для вагинального применения, содержащая тритерпеноидные сапонины из *Styrax officinalis* L.».

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Основными результатами, определяющими научную значимость проделанной работы, являются следующие положения:

- выявлены диагностические признаки в анатомическом строении тканей плодов стиракса лекарственного на основании макроскопического и микроскопического анализа и получены объективные данные этих признаков в виде оригинальных микрофотографий.

- впервые плоды стиракса лекарственного изучены с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Результаты этих исследований иллюстрированы оригинальными микрофотографиями.

- разработаны состав и технология вагинальных пленок спермицидного действия содержащих сапонины (ВСПЭС), выделенные из околоплодников стиракса лекарственного (*Styrax officinalis* L.), произрастающего на территории Сирии.

- выделен целевой фрагмент метаболома плодов стиракса лекарственного, содержащий сумму сапонинов и изучен с использованием МС, ТСХ, ПМР, УФ.

- выявлена спермицидная активность сухого экстракта из околоплодников стиракса лекарственного, произрастающего в Сирии.

- впервые установлена специфическая активность тритерпеноидных сапонинов из околоплодников стиракса лекарственного в опытах *in silico* и проведена компьютерная оценка плейотропного действия на основе зависимостей (структура-активность).

Представленный в диссертации экспериментально-практический материал по изучению технологических характеристик экстрактов сухих и обоснованию выбора составов и способов получения пленок лекарственных, можно использовать в качестве теоретической базы для создания новых лекарственных форм стиракса лекарственного (*Styrax officinalis* L.).

Практическая значимость работы определяется комплексом технологических и аналитических исследований:

- морфологические и анатомические характеристики растительного сырья устанавливались методами микроскопии. Изучение состава полученного сухого экстракта и готовой лекарственной формы проводилось с помощью УФ-спектрофотометрии, ТСХ, ВЭЖХ. Подлинность и количественное содержание действующих веществ определялось методом ЯМР.

- проведена сравнительная экспериментальная оценка модельных составов вагинальных пленок, содержащих СЭСЛ.

- для оценки качества лекарственных пленок использованы современные методы анализа и показатели качества, регламентированные ГФ XIII издания РФ (микробиологическая чистота, рН, влажность и др.).

- для определения технологических показателей модифицированы методики пробоподготовки (время дезинтеграции пленки, время растворения пленки, тест однородности дозирования и высвобождение биологически активных веществ в опытах *in vitro*).

- разработана технологическая схема получения экстракта сухого стиракса лекарственного.

- разработана технологическая схема получения пленок спермицидного действия с экстрактом сухим стиракса лекарственного.

- составлены проекты НД «Околоплодники стиракса лекарственного», «Стиракса лекарственного экстракт сухой» и «Вагинальные пленки «ВСПЭС».

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры общей фармацевтической и биомедицинской технологии РУДН: «Разработка состава и технологии изготовления биорастворимых лекарственных полимерных пленок с растительным экстрактом» (Акт об использовании в учебном процессе от 10.01.18) и «Методика выделения и очистки сапонинов из лекарственного растительного сырья (ЛРС)» (Акт внедрения от 15.01.18). Разработка состава и технологии изготовления биорастворимых лекарственных полимерных пленок с растительным экстрактом внедрены в ЦКП (НОЦ) РУДН (Акт внедрения от 24.01.18).

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Работа построена по классическому принципу и включает в себя введение, обзор литературы, четыре экспериментальные главы, выводы, списка цитируемой литературы, включающего 158 источников, в том числе 146 иностранных, 11 приложений. Диссертационная работа изложена на 217 страницах компьютерного текста, содержит 62 рисунка и 46 таблиц.

Во введении, согласно требованиям, отражены актуальность темы, цель и задачи исследования, практическая значимость и научная новизна работы.

В главе 1 приведены исходные теоретические вопросы, необходимые для выполнения научной работы. Приводится справка о контрацепция на Ближнем Востоке и в том числе среди сирийских женщин.

Описываются свойства и действие сапонинов: классификация, химическое строение и свойства. Перечисляется ассортимент спермицидов и спермицидных препаратов на российском фармацевтическом рынке. Приводится характеристика вагинальной системы доставки в фармации. Соискатель обосновывает выбор объектов исследования – стиракса лекарственного (*Styrax officinalis L.*), как источника сапонинов.

В экспериментальной части (**глава 2. Материалы и методы исследования**) описываются критерии оптимального выбора объектов и методов исследования. Для разработки и изучения лекарственных форм спермицидного действия в качестве активной фармацевтической субстанции выбрана сумма сапонинов стиракса лекарственного сухого экстракта. Вспомогательные вещества для разработки новых дозированных лекарственных форм с сапонинами стиракса представлены различными ингредиентами, разрешенными для фармацевтического использования и выпускаемые предприятиями фармацевтической отрасли. Приведены использованные в работе современные методики анализа при разработке лекарственных форм и всестороннее изучении активности *in silico*, *in vitro* и *in vivo*.

В главе 3 «**Фармакогностическое изучение сырья «околоплодники стиракса лекарственного» и разработка методов контроля его качества**» соискатель проводит макроскопический и микроскопический анализ растительного сырья плодов и околоплодников стиракса лекарственного. Выявляет диагностически значимые признаки в анатомическом строении, позволяющие устанавливать подлинность сырья. Результаты проиллюстрированы оригинальными микрофотографиями.

С помощью сканирующей электронной микроскопии изучены и иллюстрированы оригинальными микрофотографиями плоды стиракса лекарственного. Показаны особенности архитектуры поверхности околоплодника и поперечного среза через экзокарп, мезокарп и эндокарп,

диагностические признаки семени и семенной кожуры. В околоплодниках стиракса лекарственного установлено наличие сапонинов, что подтверждено качественными реакциями.

Изучены показатели сырья «околоплодники стиракса лекарственного» в соответствии с требованиями ГФ XIII: влажность – не более 4,5 %, общая зола – не более 1,0 %, зола нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 0,1 %.

Установлен фракционный состав сухих измельченных околоплодников стиракса лекарственного и предложены нормы для контроля измельченности: частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм не более 20%, размером более 2 мм, не более 15%.

Разработан проект НД на изученное сырье «Околоплодники стиракса лекарственного» по ряду показателей: внешние признаки, микроскопические признаки, определение основных групп биологически активных веществ, влажность, зола общая, зола не растворимая в 10% растворе HCl, измельченность, коэффициент водопоглощения, количественное определение экстрактивных веществ.

В главе 4 «Разработка методики выделения и изучение экстракта стиракса лекарственного» подробно обсуждаются подходы к разработке методики выделения сухого экстракта из околоплодников стиракса лекарственного. Соискателем установлены основные технологические характеристики: оптимальный выход сухого экстракта достигается при размере частиц от 2,5 до 0,25 мм, оптимальным растворителем является чистый метанол или более безопасный, но менее технологичный 70% спирт, оптимальное количество циклов экстракции 8-10 и время 6-7 часов.

Изучением химического состава СЭСЛ с помощью методов УФ, ВЭЖХ, МС и ЯМР спектроскопии, подтверждено присутствие 28% суммы сапонинов.

Предложена стандартизация СЭСЛ по показателям: внешний вид и микроскопические признаки СЭСЛ, растворимость, подлинность, сыпучесть и количественное определение содержания сапонинов в СЭСЛ, на основе полученных результатов разработан проект НД на ЛС «Стиракса лекарственного экстракт сухой (СЭСЛ)»

Определены биологические свойства СЭСЛ: методом *in silico* установлена потенция биологических активности сапонинов стиракса лекарственного, по компьютерному моделированию фармакологической активности БАС стиракса лекарственного показали перспективность использования данных соединений для разработки лекарственных форм спермицидного действия.

Установлена в результате проведённых исследований методом *in vitro* спермицидная активность СЭСЛ. При использовании 0,025 г СЭСЛ активность была максимальной уже в момент смешивания.

Методом *in vitro* установлена антимикробная активность СЭСЛ, что позволяет предположить наличие потенциальной эффективности в отношении сопутствующих заболеваний половых путей при использовании его в составе вагинальных форм контрацептивного действия.

В главе 5. «Разработка состава, технологии и стандартизация спермицидной пленки на основе сухого экстракта стиракса лекарственного» соискатель обосновывает состав биорастворимых лекарственных полимерных вагинальных пленок 25 см² с 25 мг сухого экстракта стиракса лекарственного (около 3% сапонинов стиракса) на основе ПВС, карбопола 980 и глицерина.

Приведено обоснование показателей и нормы качества препарата «Вагинальные спермицидные пленки с сапонидами стиракса», с использованием методик ЯМР, ТСХ и УФ определения подлинности и количественного содержания сапонинов стиракса А, В и С в ЛФ. Приведены результаты валидации разработанных методик качественного и

количественного анализа ВСПЭС. Установлена стабильность разработанных пленок по всем исследуемым показателям качества, что позволило установить срок годности 24 месяца в упаковке - буфлен.

Исследование специфической активности и биологической безвредности лекарственной формы на основе сапонинов *Styrax officinalis* L. в геле *in vivo* на лабораторных животных (крысы) показало, что 1,5% гель сухого экстракта стиракса лекарственного проявляет спермицидную активность при местном применении и не обладает местно-раздражающим действием.

Работа построена логично, выводы по главам и общие выводы полностью соответствуют проведенным исследованиям. Практические рекомендации четко сформулированы и представляются практически значимыми для использования в фармацевтической технологии. Резюмирую, можно заключить, что поставленные соискателем задачи решены.

При рассмотрении работы возникли следующие **вопросы и замечания:**

- При представлении результатов выход СЭСЛ в пересчете на абсолютно - сухое сырье % в таблице 4.2. надо было привести средние значения с отклонениями.
- Не приведено обоснование последовательной обработки густого экстракта стиракса лекарственного этилацетатом (1:10 масс/объем) и н-бутанолом (1:30 масс/объем).
- В таблице 5.1. представлены не «модельные составы пленок», а составы полимерных растворов без фармацевтической субстанции (основы).
- В таблице 5.3. представлен не «состав вагинальной спермицидной пленки с экстрактом стиракса», а состав полимерного раствора с экстрактом стиракса лекарственного сухим.

- Количественное содержание суммы сапонинов стиракса (ССС), высвобождаемого из пленки соискатель проводил при контакте со средой высвобождения 0,001 М раствором уксусной кислоты рН 3,5-4,5, однако в таблице 4.9. – Результаты определения растворимости СЭСЛ при (20± 2)°С такого растворителя нет.
- Представленные проекты НД «Околоплодники стиракса лекарственного», «Стиракса лекарственного экстракт сухой» и «Вагинальные пленки «ВСПЭС» не отвечают современным требованиям к оформлению НД.
- Встречаются неудачные выражения «Проведена валидация разработанных методик качественного и количественного анализа ВСПЭС в процессе хранения в естественных условиях».

Высказанные замечания и вопросы не принципиальны и не снижают ценности диссертационной работы. Результаты исследований статистически достоверны, убедительны и достаточно хорошо апробированы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Заключение

Таким образом, диссертация Хамама Зина на тему «Разработка, стандартизация и изучение биологической активности плёнки спермицидного действия, на основе сапонинов *Styrax officinalis* L.», представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, выполненную на высоком теоретическом и экспериментальном уровне, в которой содержится решение актуальной задачи по разработке состава и технологии плёнки спермицидного действия на основе сухого экстракта из околоплодников стиракса лекарственного, имеющей существенное значение для развития фармацевтической науки и практики, как для России, так и для Сирийской Арабской Республики.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, практической значимости, достоверности полученных результатов, уровню

апробации и опубликованию основных положений в печати соответствует требованиям п. 9 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденное Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, а ее автор, Хамама Зина, заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности: 14.04.01 – технология получения лекарств.

Официальный оппонент:

доктор фармацевтических наук (15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела), профессор, заместитель директора по инновационной деятельности, главный научный сотрудник лаборатории готовых лекарственных форм ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»
«27» ноября 2018 г.

Алексеев Константин Викторович

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,
125315, г. Москва, Балтийская улица, д.8;
Тел.: +7(499)151-18-81 e-mail: <http://www.academpharm.ru/>

Подпись Алексеева К.В. заверяю:

Ученый секретарь ФГНБУ

«НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»

Кандидат биологических наук

Крайнева Валентина Александровна

