

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора химических наук, профессора Мельниковой Нины Борисовны на диссертационную работу Казымовой Илахи Вагиф кызы на тему: «Стандартизация и контроль качества лекарственных средств разной степени дисперсности методами статического и динамического рассеяния света», представленной на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность исследования

Растворимость активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) и лекарственных средств (ЛС) является их ключевой характеристикой в фармацевтической химии, определяющей биодоступность, биоусвояемость и фармакологическую активность ЛС. В особенности это касается наноразмерных систем доставки и БАВ ультрамикрорегетерогенной природы, а также выявления нужных полиморфов в синтезе АФИ. В свою очередь, растворимость и проникание определяются целым комплексом физико-химических свойств (ионизацией, водородным связыванием, размером и формой частиц, липофильностью, распределением заряда), внутренне связанных между собой. При этом оценка дисперсности – размера частиц, при установлении растворимости является важным элементом стандартизации лекарственных средств.

Исторически для определения размера частиц используются такие методы, как эксклюзионная хроматография, оптическая микроскопия, ситовой анализ, требующие большого количества образцов и времени выполнения анализа.

В диссертационной работе Казымовой Илахи Вагиф кызы анализируются дисперсные системы ЛС методами динамического (DLS) и малоуглового статического рассеяния лазерного света (LALLS) – методами, которые, несмотря на свою высокую информативность, не являются доминирующими на сегодняшний день по сравнению с прямыми методами – оптической микроскопией и ситовым анализом. Однако для ряда сложных объектов – ЛС, обладающих неудовлетворительной растворимостью и гетерогенностью по составу, анализ дисперсности методами DLS и LALLS, не требующими

калибровки, будет альтернативным методом в контроле качества и стандартизации ЛС. Казымова Илаха Вагиф кызы изучила возможность стандартизации и контроля качества ЛС трех проблемных групп субстанций – с фторхинолоновыми антибиотиками, м-РНК и ДНК-содержащими иммунобиологическими вакцинами, и с гумусовыми кислотами, применяя к этим сложным системам методы DLS и LALLS.

В связи с вышеизложенным, поставленная цель диссертационного исследования – разработка новых подходов к стандартизации и контролю дисперсности лекарственных средств, биологически активных веществ и тестовых препаратов различной природы и фармакологического применения методами DLS и LALLS – является актуальной. Поставленные в работе задачи: (а) разработка и валидация методики определения скорости растворения синтетических антибиотиков на примере моксифлоксацина гидрохлорида $Mxf \cdot HCl$ методом LALLS для исследований *in vitro*; (б) оценка возможности оригинального способа модификации АФИ для улучшения растворимости малорастворимых АФИ при исследовании *нормального* кинетического изотопного эффекта (нКИЭ) методом LALLS; (в) разработка подходов к стандартизации, контролю качества и анализу биологической активности дисперсных природных гуминовых и фульвовых кислот; (г) обоснование метода DLS в контроле дисперсности и коллоидной стабильности частиц м-РНК и ДНК-содержащих иммунобиологических вакцин, позволяют автору достичь указанной цели.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

1. Обоснование кинетического подхода к оценке растворимости моксифлоксацина гидрохлорида с использованием оригинальной LALLS методики. Определены валидационные показатели методики: прецизионность, повторяемость, внутрилабораторная воспроизводимость, линейность и аналитическая область применения.

2. Выявление нормального кинетического изотопного эффекта в воде, обедненной по дейтерию на примере $Mxf \cdot HCl$ методом LALLS и возможности солюбилизации малорастворимых АФИ.

3. Разработка подходов к стандартизации и контролю качества гуминовых и фульвовых кислот с использованием методов: LALLS, ИК-Фурье, УФ-СФ, СПФЛ, РФА, микроскопии СЭМ, ОМ, Digital-M, поляриметрии.

4. Оценка индивидуальной и комбинированной токсичности образцов гуминовых и фульвовых кислот методом Spirotox по концентрационной и температурной зависимости гибели клеточного биосенсора. Установление взаимосвязи между размерами гуминовых и фульвовых кислот и эффективностью интернализации наночастиц гуминовых и фульвовых кислот клетками.

5. Разработка комплексного подхода к контролю качества м-РНК и ДНК-содержащих вакцин с использованием DLS-метода дисперсных и электрокинетических свойств и определения иммуногенности/реактогенности вакцин.

Теоретическая и практическая значимость

Значение результатов диссертации для науки и практики, возможные конкретные пути их использования, состоит в разработке методологических рекомендаций, включающих новые положения и этапы контроля качества и стандартизации ЛС и БАВ разной природы; в выявлении нормального кинетического изотопного эффекта в воде; в обосновании необходимости контроля наночастиц в м-РНК и ДНК-содержащих иммунобиологических вакцинах с целью определения их иммуногенности/реактогенности, в также во внедрении методик в лабораторный практикум учебного процесса кафедры фармацевтической и токсикологической химии медицинского института ФГАОУ ВО «РУДН».

Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточном для статистической обработки количестве результатов, полученных с использованием современных методов исследования.

Соответствие паспорту специальности. Диссертационная работа соответствует формуле специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) и конкретно пунктам 3, 4 и 6 паспорта специальности: пункт 3 – Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления, пункт 4 – Разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы, пункт 6 – Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, 3-х глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, включающего 23 отечественных и 139 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 28 рисунками.

Во введении диссертационной работы показана актуальность темы исследования, в нём описаны цель и задачи, продемонстрирована научная новизна, степень разработанности темы, теоретическая и практическая значимость исследования, её методология и подходы. Кроме того, во введении изложены положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов исследования, а также публикации и личный вклад автора. **Литературный обзор** содержит описание стандартных методов определения размера частиц, являющегося важным параметром, определяющим механизм интернализации клеток.

Во второй главе представлено описание объектов, материалов и методов исследования, представлены метод «малоголового рассеяния лазерного света»

(LALLS) с помощью которого было исследовано объёмное и численное распределение частиц по размеру.

В третьей главе приведено описание апробации и валидации оригинальной LALLS методики кинетической оценки растворения моксифлоксацина гидрохлорида по показателям повторяемости, внутрилабораторной воспроизводимости, линейности и аналитической области применения в фармацевтическом анализе ЛС группы фторхинолонов. Показано, что в воде, обедненной по изотопу H_1^2 (D) наблюдается n КИЭ по растворителю при исследовании растворения $Mxf \cdot HCl$ методом LALLS, разработаны подходы к стандартизации и контролю качества гуминовых и фульвовых кислот, морфологических и структурных особенностей с использованием основных методов: LALLS, ИК-Фурье, УФ-СФ, СПФЛ, РФА, а также дополнительных: микроскопии СЭМ, ОМ, Digital-M, проанализирована дисперсность и электрокинетическая стабильность частиц нанодиапазона методом DLS, биологическая активность – методом *Spirotox*, проведены DLS-исследования дисперсных и электрокинетических свойств частиц в м-РНК и ДНК-содержащих вакцин с целью стандартизации нанообъектов и определения их иммуногенности/реактогенности.

В заключении диссертационной работы сформулированы чёткие выводы, характеризующие результаты проведённого исследования. Выводы соответствуют поставленным задачам.

Текст диссертации написан с применением специальной терминологии, главы логически связаны.

Работа Казымовой Илахи Вагиф кызы является ценным научным трудом, однако, вместе с тем имеется ряд замечаний и предложений. Считаю необходимым указать некоторые из них:

1. В экспериментальной части желательно было предоставить более подробную характеристику гумусовых кислот (кем предоставлены образцы, ТУ предприятия, ГОСТ, физико-химические характеристики, представленные в сертификате), которые изучали в работе (Компания Vima Vita (ООО «Система-

БиоТехнологии», РФ)?). Был предоставлен концентрат гуминовых кислот и экстракт фульвокислоты? Какова была исходная концентрация гуминовых кислот? К подписям к рисунку 3 и 4 необходимо было добавить литературные ссылки на источники рисунков, поскольку в литературе огромное количество предполагаемых структур для как для гуминовых кислот, так и для фульвовых кислот.

2. Для идентификации гумусовых кислот желательно было изучить их твердотельные ^{13}C -ЯМР-спектры (CP-MAS), позволяющие в сочетании с Фурье-ИК-спектрами более однозначно оценить структурные особенности.

3. К стр. 76, Таблица 11. По тексту следует, что значение PDI варьируется от 0,38 до 1,00 и зависит как от природы дисперсий, так и от концентраций. А Таблица 11 состоит только из двух строк без указания концентраций, и численные данные соответствуют только значениям PDI – 0,38-0,39. Фраза «исходя из табличных данных, при разбавлении раствора ФК наблюдается не только уменьшение диаметра частиц, но и увеличение абсолютного значения отрицательного ζ -потенциала» требует подтверждения данными в таблице.

4. Требуется дополнительного пояснения рисунок 20(б); если состав элемента достигает 60%, то о каких процентах идет речь? Зависимость концентрации определяемого элемента относительно чего? Вероятно, 100% это сумма всех микроэлементов. Кроме того, желательно было указать массовое отношение содержания углерода к кислороду, по которому и различают фульвовые и гуминовые кислоты.

5. В тексте встречаются опечатки, неудачные выражения (например, стр. 65, рис. 17 на оси абсцисс должно быть $\text{C} \cdot 10^6$ моль/л, а не $\text{C} \cdot 10^{-6}$ моль/л; правильно использовать термин «среда» вместо «растворитель» в случае с гумусовыми кислотами; не всегда правильно представлены числовые значения – слишком много знаков после запятой; и др.).

Перечисленные вопросы, замечания, пожелания имеют уточняющий и дискуссионный характер и не снижают ценности диссертационной работы.

По теме диссертации опубликовано 11 публикаций, среди которых 9 статей в журналах, индексируемых в международных базах цитирования (Scopus, WoS и CAS), 2 статьи в изданиях, рекомендуемых ВАК, а также 6 тезисов докладов конференций: IX Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация - потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2019 г.); XXI Международном конгрессе "Здоровье и образование в XXI веке" (Москва, 2019 г); Третьей всероссийской конференции «Физика водных растворов» ИОФ им. А.М. Прохорова РАН (Москва, 2020 г); XVIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов” (Москва, 2021 г.); Четвертой всероссийской конференции «Физика водных растворов» ИОФ им. А.М. Прохорова РАН (Москва, 2021); Пятой всероссийской конференции «Физика водных растворов» ИОФ им. А.М. Прохорова РАН (Москва, 2022).

Полученные автором результаты могут быть использованы для внедрения в фармацевтическую промышленность и для контроля качества АФИ.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью согласуется с основными положениями и общими выводами диссертации и соответствует требованиям государственных стандартов. Научные положения, изложенные в диссертационной работе, соответствуют паспорту специальности «3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия».

Заключение о соответствии диссертации требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней»

Диссертационное исследование Казымовой Илахи Вагиф кызы на тему: «Стандартизация и контроль качества лекарственных средств разной степени дисперсности методами статического и динамического рассеяния света», представленной на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук

