

ОТЗЫВ

официального оппонента директора центра научных исследований и разработок Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов», доктора фармацевтических наук Потаниной Ольги Георгиевны по диссертации **Коробко Валентины Михайловны** на тему **«Разработка и стандартизация нитроксидсодержащего ранозаживляющего препарата»**, представленной в диссертационный совет Д 208.085.06 при государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

1. Актуальность выполненного исследования

Разработка новых лекарственных средств, принцип действия которых заключается в генерации монооксида азота - фактора регуляции сердечно-сосудистой и эндотелиальной системы в организме человека, выполняющего роль специфического гормона, является важнейшей проблемой фармации.

В настоящее время арсенал NO-высвобождающих лекарственных средств непрерывно расширяется: от известного сосудорасширяющего нитроглицерина, газообразного монооксида азота, используемого при лечении воспалительных процессов, гнойных и ожоговых ран (Ванин А.Ф., 2008) до нитрозильных комплексов железа с различными азот- и серосодержащими лигандами для лечения онкологических заболеваний (Алдошин С.М., 2011).

Механизм генерации монооксида азота, как правило, связан с каталитическим действием ионов железа либо в составе синтетических комплексов, либо входящих в состав важнейших металлопротеинов, например, цитохрома с.

Особое место в ряду этого класса соединений занимают биологически активные вещества, содержащие стабильные радикалы, такие как ТЕМПО (2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил радикал). В комбинации с известными нестероидными противовоспалительными средствами (НПВС) производные ТЕМПО проявляют высокие противовоспалительные свойства, превышающие таковые для исходных НПВС, противоопухолевые и антитромбоцитные действия, при этом, не влияя на слизистую желудка (М. Qandil, 2012).

Важно также отметить способность производных ТЕМПО выполнять роль супероксиддисмутазы, являясь биомиметиком последней и участвуя как в реакциях окисления, так и восстановления с органическими субстратами.

Учитывая вышеизложенное, диссертационная работа Коробко Валентины Михайловны, посвященная изучению свойств нитроксидных и нитроксид-высвобождающих соединений, а также их комбинации с цитохромом *c* для разработки новых ранозаживляющих лекарственных средств, является **важной и актуальной**.

Задачи, выполняемые в диссертационном исследовании Коробко В.М., а именно: биомиметические исследования NO радикальной и антиоксидантной активности бис-нитроксидного метанофуллерена по отношению к цитохрому *c*, ксимедону, дигирокверцетину и аскорбиновой кислоте, подтверждение этих эффектов в эксперименте на крысах, выбор NO-высвобождающих компонентов из класса антибактериальных нитропрепаратов, разработка состава и нормативной документации ранозаживляющего порошка, являются **необходимыми, важными и соответствуют поставленной цели** в диссертационной работе.

Диссертационная работа Коробко В.М. выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России (номер государственной регистрации 01201063248) по

научной проблеме «Разработка и исследование новых лекарственных средств на основе природных и синтетических веществ».

2. Новизна исследования и полученных результатов, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна результатов диссертационной работы Коробко В.М. заключается в следующем:

1). Экспериментально (крысы) и теоретически (электронная спектроскопия, тензиометрия) обосновано использование бис-нитроксидного метанофуллерена в качестве биомиметика супероксиддисмутазы на примере его реакций с известными антиоксидантами - цитохромом с, дигирокверцетином, ксимедоном и аскорбиновой кислотой. Предложена биомиметическая модель антиоксидантной активности лекарственных веществ на основе адсорбционных слоев на силикагеле и ленгмюровских монослоев бис-нитроксидного метанофуллерена на межфазных границах вода-воздух, кварц-воздух.

2). Впервые разработаны оптимальные составы ранозаживляющих препаратов на основе нитросоединений и цитохрома с, экспериментально (крысы) доказаны вазодилататорные и репаратные свойства.

3). Впервые разработаны и валидированы методики установления подлинности и количественного определения 5-нитрофурала и натрия аскорбата с использованием УФ-спектроскопии и ВЭЖ-хроматографии, количественного определения железа в цитохроме с и цинка в цинке оксида в предлагаемой лекарственной форме.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, базируется на обширном экспериментальном материале, использовании хроматографических (высокоэффективная хроматография), спектральных методов (электронная спектроскопия, атомно-абсорбционная спектрофотометрия, ЭПР-

спектроскопия), а также методов установления фармакологической активности в эксперименте на крысах. Коробко В.М. в своей работе использовала известные методики по определению антиоксидантной активности исследуемых объектов, такие как хемилюминесцентный метод, определение активности супероксиддисмутазы, каталазы, а также первичных продуктов перекисного окисления липидов.

Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных.

3. Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования

Результаты проведенных Коробко В.М. исследований имеют несомненное научно-практическое значение, которые в дальнейшем могут быть использованы в научном, учебном процессе, а также на фармацевтических предприятиях ОАО «Нижфарм», ЗАО «Интелфарм», ОАО «Татхимфармпрепараты», ООО «ЭРАФАРМ» и ряде других.

На основании проведенных исследований разработан проект фармакопейной статьи на ранозаживляющий препарат в форме порошка «Фууроцит».

Результаты проведенных исследований позволили создать методологическую базу для подходов к разработке новых противоожоговых препаратов с вазодилаторной активностью, а также расширить возможности использования различных NO-донирующих соединений как компонентов новых противоожоговых лекарственных средств.

4. Оценка содержания диссертации

Диссертация включает введение, четыре главы, выводы, список использованных источников, приложения. Работа изложена на 149 страницах машинописного текста, содержит 24 таблицы, 48 рисунков, 5 схем. Список использованных источников состоит из 160 литературных ссылок.

Во введении обоснована актуальность работы, сформулирована цель и поставлены задачи, охарактеризованы научная новизна, практическая ценность, внедрение результатов исследования, личный вклад автора и степень апробации работы.

В первой главе приведен обзор литературы. После каждого раздела приведены выводы, которые обобщают материал и позволяют выбрать направление дальнейшего исследования. Он начинается с описания физико-химических свойств монооксида азота, его ферментативного и неферментативного синтеза и путей метаболизма в организме. Рассмотрена генерация монооксида азота из нитрозильных комплексов, NO-нестероидных противовоспалительных средств и их возможное применение в медицине. Показано, что близкими к монооксиду азота физико-химическими свойствами обладают нитроксильные радикалы – ТЕМПО и его производные, проявляющие антиоксидантную активность в различных средах. Представлены фармакологические свойства монооксида азота и NO-донирующих соединений.

Автором систематизирован материал по терапевтическим свойствам монооксида азота и NO-содержащих препаратов, которые приведены в таблице. Такой прием наглядно демонстрирует широкий спектр проработанных источников литературы и разнообразие эффектов, проявляемых монооксидом азота и NO-содержащим препаратами.

В обзорепредставлен широкий спектр аналитических методов качественного и количественного определения монооксида азота и его метаболитов. Из современных методов анализа подробно обсуждены применение ЭПР-спектроскопии, хемилюминесцентного и спектрофотометрического метода с использованием реактива Грисса.

Вторая глава - «Объекты, методы и аналитические методики исследования», содержит восемь разделов. В них приведены материалы и

приборы, использованные в экспериментальной работе. Подробно изложены методики биомиметического исследования взаимодействия бис-нитроксидного метанофуллерена с цитохромом *c*, методики идентификации и количественного определения 5-нитрофурала, цитохрома *c*, цинка оксида и натрия аскорбата в составе порошка, а также исследование эффективности действия ранозаживляющего препарата на процессы заживления ожоговых ран у крыс.

Третья глава посвящена изучению взаимодействия нитроксидного фрагмента биологически активных веществ с цитохромом *c* в окисленной форме (cytc^{3+}), используя бис-нитроксидный малонатный метанофуллерен как модель нитроксид-генерирующих веществ и монооксида азота. Исследована антиоксидантная активность бис-нитроксидного метанофуллерена в присутствии биологически активных веществ, а также доказано образование нитрозильных комплексов цитохрома *c* в присутствии нитросоединений (натрия нитрит, 5-нитрофурал, метронидазол, нитроксолин).

В четвертой главе «Разработка и стандартизация нового ранозаживляющего препарата» обоснованы компоненты составов ранозаживляющих препаратов в виде комбинированной лекарственной формы и в виде порошка, приведены аналитические методы определения компонентов порошка с подробной схемой пробоподготовки, а также методы установления подлинности и количественного определения активных компонентов в лекарственной форме «Фуроцит». Освещены разработанные нормы качества и валидационные характеристики методик определения 5-нитрофурала, цитохрома *c*, натрия аскорбата и цинка оксида в порошке, которые составляют основу спецификации и фармакопейной статьи на противоожоговый порошок «Фуроцит», приведенной в приложении 1. В этой

главе подробно изложены результаты определения вазодилататорных и репаратных свойств ранозаживляющего препарата.

Выводы диссертации сформулированы корректно и соответствуют поставленным целям и задачам.

Приложения включают в себя фармакопейную статью на предложенный состав порошка «Фуросит», акты внедрения результатов диссертационной работы.

По теме диссертации опубликовано 10 работ, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Данные диссертации используются в практической работе государственным автономным учреждением здравоохранения Нижегородской области «Нижегородский областной центр по контролю качества и сертификации лекарственных средств» (система по контролю качества препаратов), а также в учебном процессе на кафедре фармацевтической химии и фармакогнозии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в учебном процессе государственного бюджетного образовательного учреждения среднего профессионального образования Нижегородской области «Нижегородский медицинский базовый колледж».

Вопросы и замечания:

1. Монооксид азота представляет собой радикал, чрезвычайно быстро окисляющийся на воздухе. Требуется пояснения по поводу стабилизации системы в процессе исследования взаимодействия монооксида азота, натрия нитрита с цитохромом с методом электронной спектроскопией (раздел 3.1, стр. 67).

2. Чем объясняется выбор органических кислот при исследовании натрия нитрита с цитохромом *c*, а также регулирования значения pH в этих исследованиях?

3. Выбор условий пробоподготовки для идентификации и количественного определения действующих веществ противоожогового порошка требует пояснений. Почему была выбрана смесь растворителей ацетонитрил:фосфатно-буферный раствор для осаждения крахмала и цинка оксида?

4. Имеются замечания по техническому оформлению диссертационной работы. Так, например, подписи ТЕМПО и его производных под формулами выполнены то на английском языке, то на русском (глава 1, раздел 1.4, стр. 39, 40), «точка», отражающая радикальную природу соединения обозначена по-разному (на атоме азота, атоме кислорода, между атомами кислорода и азота).

5. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат достаточно полно и правильно отражает содержание диссертационной работы.

6. Заключение о соответствии диссертации требованиям настоящего Положения

Таким образом, диссертационная работа Коробко Валентины Михайловны на тему «Разработка и стандартизация нитроксидсодержащего ранозаживляющего препарата», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной задачи современной фармации по разработке ранозаживляющих препаратов на основе нитросоединений и железосодержащего белка, эффективность

которых показана в эксперименте на крысах и разработке проекта фармакопейной статьи на предложенный порошок «Фуросит».

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Коробко Валентины Михайловны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Официальный оппонент:

Директор Центра научных исследований и разработок Центра коллективного пользования (научно-образовательного центра) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» (РУДН), доктор фармацевтических наук (14.04.02. – фармацевтическая химия, фармакогнозия)



О.Г. Потанина

Подпись Потаниной Ольги Георгиевны
заверяю Ученый секретарь Ученого совета
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
профессионального образования «Российский
университет дружбы народов», профессор



В. М. Савчин

Контактные данные:

Потанина Ольга Георгиевна

Адрес: 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая д. 8/2

Тел.: 8-495-787-38-03, доб. 20-93

e-mail: Mycroly@mail.ru