

ОТЗЫВ

официального оппонента профессора кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, профессора Шорманова Владимира Камбулатовича по диссертации Коробко Валентины Михайловны на тему «Разработка и стандартизация нитроксидсодержащего ранозаживляющего препарата», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

1. Актуальность выполненного исследования

В настоящее время большой интерес вызывает монооксид азота – универсальный регулятор разнообразных биологических и физиологических процессов, в том числе эндотелиальной релаксации сосудов, транскрипции генов, передачи нервных сигналов, агрегации тромбоцитов. За последние тридцать лет было доказано, что монооксид азота оказывает положительное действие на раневой и воспалительный процесс, усиливая секрецию цитокинов, индуцируя фагоцитоз бактерий и некротического детрита нейтрофилами и макрофагами. За счёт указанных свойств, монооксид азота представляет интерес как компонент новых лекарственных средств.

Особый интерес вызывают лекарственные средства – «депо» монооксида азота, содержащие NO-донирующий фрагмент. К ним относятся органические нитриты и нитраты, генерирующие NO под действием ферментов; нитрозильные железосодержащие комплексы, обладающие кардиопротекторной и противоопухолевой активностью; группа NO-НПВС, превосходящая свойства исходного НПВС, и обладающая противоопухолевым, обезболивающим, антитромбоцитным действиями без негативного влияния на слизистую желудка.

Взаимодействие NO с металлопротеинами, например с цитохромом *c*, имеет особый интерес, поскольку образуются нитрозильные комплексы. Цитохром *c* обладает антиоксидантными и антигипоксантами свойствами, что

обусловлено его уникальными биокаталитическими функциями переносчика электронов при фотосинтезе, дыхании. Учитывая вышеизложенное, следует ожидать расширение фармакологического спектра действия и усиление биологической активности цитохрома *c* за счет способности железопорфиринового гема металлопротеина к комплексообразованию с монооксидом азота.

В диссертационной работе Коробко В.М. предложен состав ранозаживляющего препарата вазодилаторного, антиоксидантного, антимикробного действия с NO-донирующим компонентом из класса нитропрепаратов с антигипоксантом-цитохромом *c*.

С учётом вышеизложенного можно отметить, что диссертационная работа Коробко В.М., посвященная исследованию взаимодействия NO-содержащих соединений с биологически активными веществами, является важной и актуальной.

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:

- Впервые предложена лабораторная методика оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ по результатам их реакции с бис-нитроксидным метанофуллереном в присутствии цитохрома *c*. Результаты этой методики подтверждены в эксперименте на крысах по увеличению активности супероксиддисмутазы и каталазы.

- Доказано образование нитрозильных комплексов цитохрома *c* (Fe^{2+}) в реакции нитропрепаратов (5-нитрофуранов, метронидазола, нитроксолина, нитрита натрия) с цитохромом *c* (Fe^{3+}) в присутствии аскорбиновой кислоты или ее соли.

- Впервые разработаны составы новых противожоговых препаратов, содержащих в качестве действующих веществ нитросоединение, цитохром *c* и

натрия аскорбат. Показана высокая эффективность препарата в форме порошка с 5-нитрофуралом *in vivo* в эксперименте на крысах.

• Разработаны методики идентификации и количественного определения: 5-нитрофунала (ВЭЖ-хроматография), цитохрома с (электронная спектроскопия, атомно-абсорбционная спектроскопия), натрия аскорбата (ВЭЖ-хроматография), цинка оксида (атомно-абсорбционная спектроскопия), удовлетворяющие требованиям правильности, линейности, воспроизводимости и сходимости.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, базируется на обширном экспериментальном материале, использовании современных общепринятых методов анализа (UV-vis спектроскопия, тензиометрические измерения, ЭПР-спектроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография, атомно-абсорбционная спектрофотометрия, биохемилюминесцентный анализ), обеспечивающих разностороннее исследование взаимодействия биологически активных веществ с NO-содержащими соединениями, обоснование выбора методик качественного и количественного анализа компонентов состава предложенного ранозаживляющего препарата на основе нитропрепарата и металлопротеина.

Достоверность результатов также подтверждена математической обработкой данных на персональном компьютере Intel ® Core (TM) i3 CPU в среде Windows XP с использованием программы Microsoft Office Excel 2007, статистического пакета Statistica 7.0 фирмы STATSOFT.

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

Комбинации NO-генерирующего соединения (натрия нитрита, 5-нитрофунала) и цитохрома с могут быть предложены как компоненты новых лекарственных средств с вазодилатирующим, антиоксидантным, антимикробным и репаративным эффектами. Высокая осмотическая активность и хорошая растворимость натрия нитрита, цитохрома с как депо монооксида

азота позволяют использовать их для приготовления таких лекарственных форм как растворы и гели. Разработанный препарат и проект фармакопейной статьи на новый ранозаживляющий препарат «Фуруцит» позволяет предположить его использование в фармацевтической промышленности.

Тема диссертационного исследования Коробко В.М. открывает широкие перспективы для дальнейших исследований по получению новых лекарственных форм с различными нитросоединениями с широким спектром фармакологического воздействия и исследованию их медико-биологических свойств.

4. Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя, включающего 50 отечественных и 110 зарубежных источников и приложения. Работа иллюстрирована 16 таблицами, 29 рисунками и 19 схемами.

Во **введении** обоснована актуальность разработки лекарственных средств на основе нитрозильных комплексов цитохрома с, полученных под действием NO-содержащих ЛВ. Рассматривается степень разработки темы, сформулированы цель и задачи исследования, отмечена новизна и практическая значимость полученных результатов, положений, выносимые на защиту.

В **первой главе** подробно рассмотрены физико-химические свойства и медико-биологическая активность рассматриваемых соединений – монооксида азота, нитрозильных комплексов, NO-нестероидных противовоспалительных соединений, производных ТЕМПО, основанные на результатах обзора исследований последних лет. Автор сопоставляет полноту и достоверность имеющихся данных, а также преимущества и недостатки предлагаемых методов анализа веществ.

Во **второй главе** представлена характеристика объектов и методов исследования.

В **третьей главе** даётся подробное описание проведенных исследований по биомиметическому окислительно-восстановительному взаимодействию нитроксидных соединений с биологически активными веществами. Наличие взаимодействия доказано широким спектром инструментальных методов (электронная спектроскопия, тензиометрические измерения, ЭПР-спектроскопия). В главе приведен анализ улучшения антиоксидантных свойств ксимедона под действием бис-нитроксидного малонатного метанофуллерена в эксперименте на крысах.

Четвёртая глава включает обоснование выбора вспомогательных компонентов для новой лекарственной формы на основе нитропрепарата с цитохромом *c*, содержит лабораторную схему её приготовления. На разработанный состав противоожогового порошка «Фуоцит» разработана пробоподготовка и предложены методики анализа компонентов порошка, нормы качества и валидационные характеристики методик. В главе также приведена оценка вазодилатирующих свойств ранозаживляющего препарата «Фуоцит» в эксперименте на крысах.

Заключение содержит итоги работы, выводы, а также рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования.

Приложение включает в себя фармакопейную статью на предложенный состав порошка «Фуоцит», 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 учреждения «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. Образование продукта окисления бис-нитроксидного малонатного метанофуллерена до N-оксоаммониевого иона в присутствии цитохрома *c* доказывалось методом ЭПР-спектроскопии и тензиометрическими исследованиями на монослоях. Желательно было бы более аргументировано обосновать образование N-оксоаммониевого иона бис-нитроксидного малонатного метанофуллерена с привлечением других методов.

2. Взаимодействие ксимедона с бис-нитроксидным метанофуллереном тензиометрическим методом π -А изотерм было изучено с привлечением двух параметров – молекулярной площади A_0 фуллерена и модуля сжимаемости C_s (рис. 3.12, стр. 87). Однако не понятно, почему при обсуждении результатов величина модуля сжимаемости не привлекалась.

3. В работе изучены две лекарственные формы: первая комбинированная «гель+порошок» и вторая – порошок. Необходимо было более подробно обосновать выбор лекарственной формы в виде порошка.

4. В приложении 1 приведен состав порошка в массовых процентах и указана ссылка на нормативный документ, в соответствии с которым проводился анализ 5-нитрофура, натрия аскорбата, цинка оксида. Для цитохрома *c* ошибочно указан источник покупки реагента вместо ссылки на фармакопейную статью. Кроме того, желательно было бы указать ссылки на отечественный нормативный документ, а не на Британскую фармакопею.

5. По тексту радикал ТЕМПО обозначается по-разному: в ряде случаев «точка», обозначающая радикал, ставится на атоме азота, иногда посередине связи «азот-кислород» (глава 1, глава 3, стр. 41).

6. Недостаточно подробно описаны эксперименты по определению антиоксидантной активности бис-нитроксидного метанофуллерена в его смеси с дигидрокверцетином (раздел 3.3.2, стр. 81).

7. Имеются замечания по оформлению диссертации, так, например, по тексту встречаются не общепринятые сокращения (стр. 63, глава 3 – ОВР); Не всегда ясно, о каких комплексах идет речь: нитрозо-, нитроксильные, нитроксидные. В главе 4 при описании состава комбинированной лекарственной формы не указана концентрация спирта этилового, использованного при приготовлении.

5. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат диссертации полностью соответствует ее содержанию, отражает структуру и положения, выносимые на защиту. Выводы в автореферате и диссертации совпадают.

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 получению и изучению взаимодействия NO-содержащих соединений с природными и синтетическими соединениями; разработке состава ранозаживляющего препарата на основе нитропрепарата и металлопротеина – цитохрома с, эффективность которого доказана в эксперименте на крысах и разработке проекта фармакопейной статьи на предложенный ранозаживляющий препарат.

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

*Профессор кафедры фармацевтической,
токсикологической и аналитической химии
государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего профессионального
образования «Курский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3
тел. 8-(4712) 58-13-23,
e-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru
доктор фармацевтических наук
(15.00.02 - фармацевтическая химия и фармакогнозия),
профессор*

Шорманов

Шорманов Владимир Камбулатович

« 5 » мая 2016 г.

Подпись Владимира Камбулатовича Шорманова удостоверяю — начальник
управления персоналом и кадровой работы Курского государственного медицинского
университета Наталья Николаевна Сорокина.

