

РЕЦЕНЗИЯ

на диссертационную работу Жунусовой Майры Абыловны по теме: «Фармацевтическая разработка лекарственных средств из растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.», представленную на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D074800 – Технология фармацевтического производства

1. Актуальность темы исследования

В Республике Казахстан реализуются такие Государственные и отраслевые программы, как Стратегия «Казахстан 2050», Концепция по вхождению Казахстана в число 30-ти самых развитых государств мира, Стратегический план развития Республики Казахстан до 2025 года, Государственная программа инфраструктурного развития «Нурлы жол» на 2015-2019 годы, Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан "Денсаулық" на 2016 – 2019 годы, одними из целевых задач которых являются повышение эффективности использования ресурсов и совершенствование инфраструктуры отрасли, обеспечение изученности территории Казахстана с оценкой прогнозных ресурсов, в том числе увеличение числа наименований лекарственных препаратов из отечественного растительного сырья, развитие отечественной фармацевтической промышленности, строительство новых производственных площадок, а также внесение вклада в удовлетворение потребностей государства в лекарственных препаратах, путем реорганизации имеющихся производств. Создание лекарственных средств из лекарственного растительного сырья является актуальной тенденцией современной фармации, не уступают по фармакологической эффективности синтетическим средствам и, как правило, являются более безопасными.

В связи с этим одной из актуальных задач современной технологии фармацевтического производства является разработка новых лекарственных препаратов на основе сырьевых ресурсов Республики Казахстан, в том числе растительного происхождения.

С целью реализации поставленных задач в этом направлении необходимо проводить полномасштабные исследования по рациональному использованию местного природного сырья.

Разнообразие флоры Казахстана, изучение перспективных источников биологически активных веществ, их стандартизация и внедрение в официальную медицину с целью снижения зависимости от импортных препаратов является одним из основных стратегических направлений Казахстана в этой области и требует дополнительных глубоких исследований с помощью современных научных методик.

Учитывая вышесказанное, проведение исследований полиморфных растений из семейства *Dipsacaceae*, рода *Scabiosa* с целью их внедрения в медицинскую практику и разработки новых лекарственных средств на их основе является актуальной задачей и соответствует требованиям

современной фармацевтической науки.

2. Научные результаты в рамках требований к диссертациям

Диссертационная работа Жунусовой Майры Абыловны является завершенным научным трудом, оформленным в соответствии с требованиями к оформлению диссертации, изложенным на 139 страницах машинописного текста в компьютерном наборе, иллюстрированным 47 таблицами и 63 рисунками, содержит список использованной литературы, включающий 175 литературных источников и состоит из введения, обзора литературы, раздела, посвященного описанию материалов и методам исследования, пяти разделов собственных исследований, выводов, заключения и практических рекомендаций.

В введении автором обоснована актуальность темы научной работы, определены цели и задачи исследований, научная новизна результатов исследования, отражены основные положения, выносимые на защиту, практическая значимость работы.

В первой главе диссертантом представлен подробный анализ современного состояния и перспективы развития исследований растений семейства *Dipsacaceae*, обзор растений флоры Казахстана данного семейства, обладающего широким спектром биологической активности (антиоксидантной, антирадикальной, антимикробной, цитотоксической и др.). Жунусовой М.А. проведен анализ данных отечественных и зарубежных исследователей растений из семейства *Dipsacaceae*, рода *Scabiosa* по их общей характеристике, ареалу их произрастания, фитохимическому составу и фармакологической активности. Автором по данным литературного обзора отмечен ряд преимуществ препаратов на основе лекарственных растений перед синтетическими лекарственными препаратами, такие как, низкая токсичность и широкий диапазон их терапевтического действия, а так же низкая вероятность возникновения побочных эффектов и осложнений, описаны исследования химического состава, биологической активности выделенных компонентов из дикорастущих растений, что обуславливает внедрение их в практическое применение в медицине и открывают новые возможности в разработке новых лекарственных средств на основе возобновляемых растительных ресурсов.

С целью обоснования выбора оптимального способа выделения компонентов из растительного сырья автором представлен обзор традиционных и современных методов выделения СКФЭ (сверхкритическая флюидная экстракция), субкритическая экстракция растворителями, ускоренная экстракция жидкими растворителями, ультразвуковая и микроволновая экстракция (СВЧ, ВЧ и др.) и в сравнительном аспекте представлены данные, обуславливающие их преимущества и недостатки. Обосновано преимущество углекислотной экстракции как безальтернативного метода получения продуктов, достоинством которого являются высокая экстракционная способность, скорость извлечения, избирательность.

При выборе метода извлечения БАВ из растительного сырья внимание автора привлекла экстракция сжиженным газом, пищевой жидкой углекислотой в режиме докритической экстракции как метод получения универсальных CO_2 – экстрактов с представлением его преимуществ и обоснования выбора данного метода в научной работе.

Анализ литературных данных по исследованию условий произрастания, изучению компонентного состава и биологической активности выделенных веществ из растений семейства *Dipsacaceae*, показал, что разработка лекарственных средств из растений семейства *Dipsacaceae* является перспективным направлением фармацевтической технологии.

Во второй главе Жунусовой М.А. описаны материалы и объекты исследований, препараты сравнения и стандартные образцы, тест-объекты, использованные для проведения научных исследований, в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Республики Казахстан, Международной фармакопеи, Европейской и Британской фармакопей, Фармакопеи США, Государственной Фармакопеи СССР XI, АНД РК и других нормативных документов, действующих на территории Республики Казахстан.

В третьей главе диссертации приведены результаты фармакогностического изучения травы *Scabiosa ochroleuca*, *Scabiosa isetensis*, произрастающей в Карагандинской области, их урожайность и сырьевые запасы на территории Центрального Казахстана, технологическая схема заготовки растений, изучены макро- и микроскопические особенности растений. Автором установлено, что сырье обоих видов скабиозы хорошо идентифицируется по ряду морфологических показателей: форма и размер соцветий, цвет и тип ветвления стеблей, форма и цвет листьев, форма чашелистиков, форма, цвет и размер цветков; проведено изучение анатомического строения частей растений, выявлены особенности строения эпидермиса и поперечного среза и установлены диагностические признаки исследуемых видов сырья.

Научную ценность представляет проведенная автором работа по фитохимическому составу растительного сырья скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой. Установлено, что общее количество макро-, микро- и ультрамикроэлементов составляет 59 элементов, наличие терпеноидов и сесквитерпенового лактона α -сантонина, при этом количественное содержание α -сантонина в сырье скабиозы исетской в 2,2 раза больше, чем в сырье скабиозы бледно-желтой. Изучен минеральный состав исследуемых видов растительного сырья.

Диссертантом определены параметры качества, разработан проект АНД РК, регламентирующие качество лекарственного растительного сырья скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской в соответствии с требованиями ГФ РК.

Исследования по определению срока хранения растительного сырья проводили методом долгосрочных испытаний на трех сериях сырья, на основании которых установлен срок хранения ЛРС скабиозы бледно-желтой

и скабиозы исетской, соответствующий 18 месяцам при температуре $18 \pm 2^\circ\text{C}$; влажности $60 \pm 5\%$. Образцы сырья подвергались проверке по показателям качества в соответствии с АНД РК на сырье.

Четвертая глава посвящена получению углекислотных экстрактов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. методом докритической углекислотной экстракции на базе ТОО «Фито-Аромат» и последующим изучением полученных экстрактов, основанном на выборе параметров углекислотной экстракции, исследовании компонентного состава углекислотных экстрактов *Scabiosa ochroleuca* L., *Scabiosa isetensis* L. с помощью современных инструментальных методов анализа (хромато-масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии, УФ-спектрофотометрии, ВЭЖХ). Полученные автором данные по исследованию экстрактов подтверждают о присутствии в них карбоновых кислот и эфиров, жирных кислот, терпеноидов, спиртов, их производных, антиоксидантов, которые могут быть взяты за основу при дальнейшей разработке лекарственных форм.

Проведены исследования на присутствие тяжелых металлов (цинк, кадмий, свинец, медь) в углекислотных экстрактах *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. методом инверсионной вольтамперометрии, которые показали, что в изучаемом растительном сырье их содержание не превышает пределы допустимых норм.

На основе анализа термического разложения углекислотных экстрактов методом термогравиметрии (TGA) и дифференциального сканирующего калориметра с целью изучения стабильности углекислотных экстрактов скабиозы исетской и скабиозы бледно-желтой установлено, что температурный интервал от начала деструкции до полного выгорания образцов находится в диапазоне от 52°C до 369°C и подтверждает возможность хранения углекислотных экстрактов в естественных условиях.

В пятой главе диссертантом представлен технологический процесс производства углекислотного экстракта скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской, полученного в докритических условиях на базе ТОО «Фито-Аромат» в соответствии с требованиями GMP (Надлежащая производственная практика). На основании полученных результатов разработаны проекты опытно-промышленных регламентов на производство CO_2 -экстрактов скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca*) и скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis*), что несомненно подтверждает ценность данного исследования.

В шестой главе на основании спецификации качества Жунусовой М.А. разработаны проекты АНД РК на субстанции CO_2 – экстрактов скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca*) и скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis*), регламентирующие перечень показателей качества и их регламентируемые нормы с применением ИК-, УФ-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии, ТСХ, ВЭЖХ, минерального анализа золы, качественных реакций в соответствии с требованиями ГФ РК, а также на основании проведенных долгосрочных испытаний установлен срок хранения для каждого вида углекислотных экстрактов.

Седьмая глава посвящена изучению биологической активности *in vitro* углекислотных экстрактов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. Согласно представленному обзору литературы данное направление исследований является весьма перспективным и дает предпосылки для дальнейших исследований в плане разработки лекарственных форм на основе углекислотного экстракта скабиозы и применения их в технологии лекарств и фармацевтической промышленности, расширив номенклатуру лекарственных средств на основе отечественного сырья растительного происхождения.

Автором проведены исследования цитотоксичности указанных углекислотных экстрактов на разных тест-объектах, их токсичности, антимикробной и антимикотической активности, антирадикальной активности CO₂-экстрактов, а также исследование суммарной антиоксидантной активности экстрактов из вторичного сырья углекислотной экстракции скабиозы бледно-желтой методом инверсионной вольтамперометрии.

По результатам исследования биологической активности углекислотных экстрактов автором установлено, что активность экстрактов обусловлена синергетическим эффектом (ингибируя или наоборот усиливая действие отдельных веществ).

Таким образом, все главы диссертации логически связаны между собой и завершается заключением, в котором отражена суть основной части настоящего научного исследования.

Диссертация Жунусовой М.А. по целям и задачам, по самому дизайну исследования и полученным результатам полностью соответствует требованиям, предъявляемым к PhD диссертациям по специальности 6D074800- «Технология фармацевтического производства».

3. Степень обоснованности и достоверности результатов, выводов и заключения, сформулированных в диссертации

Высокую степень обоснованности и достоверности результатов, выводов и заключения подтверждают результаты диссертационной работы, полученные с использованием инновационных методов научных исследований (химические, физические, физико-химические, фармакогностические, фармако-технологические, биологические, микробиологические, фармакопейные и нефармакопейные, статистические), с применением современного оборудования (атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой, ИК-спектроскопии, УФ-спектрофотометрии, хромато-масс-спектрометрии, ТСХ, ВЭЖХ, ГХ), доказательной базы экспериментальных исследований, методик статистической обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий. Полученные фактические экспериментальные данные подтверждены наглядным материалом в виде 47 таблиц и 63 рисунков. На основании полученных результатов действуют 2 охранных документа (патенты на изобретение). Выводы и заключение,

сформулированные соискателем, полностью отражают полученные научные результаты, а решение поставленных задач подтверждают достижение цели.

4. Степень новизны каждого научного результата, выводов и заключения, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе Жунусовой М.А. впервые проведена полномасштабная оценка сырьевых запасов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области; разработана технология заготовки указанных видов растительного сырья; в результате фармакогностического исследования сырья определены макроскопические и микроскопические особенности растения *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Впервые получены углекислотные экстракты из *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.; исследован компонентный состав углекислотных экстрактов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.

Автором впервые разработана технология производства углекислотных экстрактов *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L., на основании полученных результатов разработаны проекты опытно-промышленных регламентов на производство углекислотных экстрактов.

На основании проведенных экспериментов по исследованию биологической активности *in vitro* установлено, что экстракты *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. обладают высокой противомикробной и цитотоксической активностью и безопасны. Новизна научной работы подтверждена 2 действующими охранными документами:

1) Патент на изобретение №33430, МПК А61К 36/35 (2006.01), А61К 133/00 (2006.01), А61К 31/04 (2006.01), В01D 11/00 (2006.01). «Способ получения CO₂-экстракта из *Scabiosa ochroleuca* (L.) обладающего противомикробной активностью». - №2017/0665.1; заявл. 11.08.2017; опубл. 01.02.2019;

2) Патент на изобретение №33431, МПК А61К 36/35 (2006.01), А61К 133/00 (2006.01), А61К 31/04 (2006.01), В01D 11/00 (2006.01). «Способ получения CO₂-экстракта из *Scabiosa isetensis* (L.), обладающего цитотоксической активностью». - №2017/0666.1; заявл. 11.08.2017; опубл. 01.02.2019.

Таким образом, работа содержит достаточную степень новизны основных результатов и выводов, сформулированных в диссертации.

5. Оценка внутреннего единства полученных результатов

Поставленные цели и задачи соответствуют полученным результатам и выводам исследования, а актуальность и научная новизна, практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, объединены высокой степенью внутреннего единства полученных результатов. Структура и объем научной работы, методы анализа и исследования адекватны поставленной цели и логично связаны между собой.

6. Направленность полученных результатов на решение соответствующей актуальной проблемы

Результаты комплексных исследований Жунусовой М.А. с целью разработки и стандартизации новых лекарственных средств, обладающих значительной фармакологической активностью из отечественного растительного сырья «Скабиоза бледно-желтая трава», «Скабиоза исетская трава», широко применяющиеся в традиционной медицине и располагающие достаточными запасами на территории Казахстана, разработка нормативной документации на сырье и углекислотные экстракты скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской являются начальным этапом к решению одной из основных задач Государственной программы индустриально-инновационного развития Республики Казахстан на 2015-2019 годы в развитии фармацевтической промышленности – импортозамещения фармацевтической и медицинской продукции на базе современных технологий в соответствии с международными стандартами GMP.

В этой связи научная работа Жунусовой М.А. носит актуальный характер.

Автором в результате проведенных исследований определены сырьевые запасы *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. на территории Карагандинской области. На основании полученных результатов рекомендовано лекарственное растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. в качестве лекарственного средства.

Разработана рациональная технология получения углекислотных экстрактов скабиозы бледно-желтой и скабиозы исетской для дальнейшей разработки лекарственных форм. Результаты проведенного исследования направлены на практическое использование, что подтверждается действующими патентами на изобретение:

- №33430, МПК А61К 36/35 (2006.01), А61К 133/00 (2006.01), А61К 31/04 (2006.01), В01D 11/00 (2006.01). «Способ получения CO₂-экстракта из *Scabiosa ochroleuca* (L.) обладающего противомикробной активностью». - №2017/0665.1; заявл. 11.08.2017; опубл. 01.02.2019;

- №33431, МПК А61К 36/35 (2006.01), А61К 133/00 (2006.01), А61К 31/04 (2006.01), В01D 11/00 (2006.01). «Способ получения CO₂-экстракта из *Scabiosa isetensis* (L.), обладающего цитотоксической активностью». - №2017/0666.1; заявл. 11.08.2017; опубл. 01.02.2019.

Разработаны проекты АНД РК на вышеуказанные виды сырья, а также субстанции «Скабиозы бледно-желтой экстракт углекислотный», «Скабиозы исетской экстракт углекислотный».

Диссертантом представлены проекты опытно-промышленного регламента на:

- производство CO₂ - экстракта скабиозы исетской (*Scabiosa isetensis*), полученного в докритических условиях;

- производство CO₂ - экстракта скабиозы бледно-желтой (*Scabiosa ochroleuca*), полученного в докритических условиях.

Результаты научно-исследовательской работы:

а) по фармакогностическому изучению надземных органов *Scabiosa isetensis* и *Scabiosa ochroleuca* внедрены в учебный процесс кафедры ботаники по дисциплине «Фармакогнозия» для студентов специальности 5В070100 – «Биотехнология»;

б) по подбору оптимальных условий (температура, давление) экстрагирования с достижением максимального выхода экстракта внедрены в ТОО «Фито-Аромат».

В целом, полученные автором результаты являются значительным научным вкладом в систему отечественного фармацевтического производства лекарственных препаратов на растительной основе.

7. Подтверждение опубликования основных положений, результатов, выводов и заключения диссертации

По материалам диссертации опубликовано 21 научных работ, в том числе получены 2 патента РК на изобретение. Основные положения, результаты, выводы и заключения подтверждены научными работами в изданиях, опубликованных в журналах, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (3 статьи), в зарубежном научном издании, входящем в международные базы данных Web of Science Core Collection (Clarivate Analytics) и Scopus (1 статья).

8. Недостатки по содержанию и оформлению диссертации

Наряду с достоинствами диссертационной работы Жунусовой М.А., имеются следующие замечания и рекомендации по оформлению данной работы:

- в разделе «ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ» использованы некоторые некорректные сокращения, не являющиеся общепринятыми (сокращенное название на латинском, а расшифровка на русском), например:

ASE – ускоренная экстракция жидкими растворителями

DSC – метод дифференциального сканирующего калориметра

DTG – скорость потери массы

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

SB – углекислотный экстракт скабиозы бледно-желтой

SBw – отход углекислотной экстракции скабиозы исетской

SI – углекислотный экстракт скабиозы исетской

SIw – отход углекислотной экстракции скабиозы исетской

SVD – алгоритм сингулярного разложения

TGA – метод термogrавиметрии

TG – термические кривые потери массы;

- в Введении рекомендуется ссылаться на актуальную версию Стратегического плана развития Республики Казахстан 2025;

- в разделе 2 «Материалы и методы» на стр. 36 название подраздела указано некорректно («Препараты сравнения»), учитывая, что в перечне

имеются не только препараты, но РСО, СО, реагенты, сырье;

- в разделе 2 «Материалы и методы» на стр. 37 (далее по всему тексту, при необходимости) следует ссылаться на актуальные версии ведущих фармакопей ЕФ 9.0, ФСША 41, например, указано:

• *Бутилгидроксианизол*. $C_{11}H_{16}O_2$. (Mr 180,3). 144233 [25013-16-5] (Ph.Eur., 7.0, 2010, Vol.2, p.1531);

• *Дактиномицин*. *Актиномицин D*. $C_{62}H_{86}N_{12}O_{16}$. (Mr 1255,42) [50-76-0]. (USP 35, Official Monographs, 2012, p.2803).

- в разделе 3, стр. 63, 64, подраздел 3.5 Определение параметров качества на растительное сырье *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L. в таблице 7, 8, 9, 10 «Результаты товароведческого анализа травы скабиозы бледно-желтой скабиозы исетской» не отражены данные по тяжелым металлам и мышьяку, что требует обоснования;

- в разделе 3, стр. 64 необходимо корректно указывать регламентируемые нормы и гармонизировать с фармакопейными требованиями по оформлению: принято писать «не более» вместо знака «<», например, в тексте указано:

Тяжелые металлы. Кадмия – <0,01 мг/кг, свинца – 1,33 мг/кг, ртути – 0,003053 мг/кг (ГФ РК, т. 3, 2.4.27).

- в разделе 3, стр. 66, 68 в таблицах 11, 12 – Спецификация качества травы *Scabiosa ochroleuca* L., – Спецификация качества травы *Scabiosa isetensis* L. следует заменить наименование графы «нормируемые отклонения» на «регламентируемые нормы» и так по всему тексту диссертации;

- целесообразно раздел 5 «Разработка технологии производства углекислотных экстрактов из *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.», а также разработку СП и аналитического нормативного документа по качеству на растительное сырье и экстракты, полученные в докритических условиях, подтвердить данными по валидации или верификации;

- уместно было бы дополнить диссертационную работу полными версиями АНД РК;

- титульный лист АНД РК следует привести в соответствие с требованиями приказа №754: наименование ЛРС, название производящего растения, название семейства, время сбора или фаза вегетации

- следует указывать сокращенное название аналитического нормативного документа в Республике Казахстан в соответствии с требованиями приказа №754 - АНД РК;

- в тексте встречаются опечатки и стилистические неточности на страницах: 7, 10, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 46, 47, 63, 64, 65, 66, 68, 67, 69, 70, 73, 111, 123, 124, 125, 127.

Вопросы:

1. Соблюдались ли требования международного стандарта при сборе и заготовке сырья?

2. Планируется ли в дальнейшем разработка проектов промышленных регламентов на производство углекислотных экстрактов с

соблюдением ПРАВИЛ надлежащей практики выращивания, сбора, обработки и хранения исходного сырья растительного происхождения (УТВЕРЖДЕНЫ Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 26 января 2018 г. № 15)

3. В чем новизна при разработке АНД РК на сырье и экстракт, если были использованы фармакопейные методики?

4. Имеются данные по валидации производственного процесса и аналитических методик, а также данные верификации (в случае использования фармакопейных методик)?

Однако следует отметить, что вышеуказанные рекомендации и замечания и возникшие вопросы в ходе рецензирования, не носят принципиального характера, не снижают научного и практического значения диссертационной работы и легко устранимы.

9. Заключение

Диссертационная работа PhD докторанта Жунусовой Майры Абыловны по теме: «Фармацевтическая разработка лекарственных средств из растительного сырья *Scabiosa ochroleuca* L. и *Scabiosa isetensis* L.», представленная на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D074800 – «Технология фармацевтического производства», представляет собой самостоятельно выполненный на высоком уровне квалифицированный, законченный научный труд, с внедрением в практическую фармацию новых видов отечественного сырья.

По поставленной цели, задачам, объему, научной новизне, практической значимости, а также полученным результатам научная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D074800 – «Технология фармацевтического производства», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора философии.

Рецензент, координатор Центра
по созданию ГФ РК и Фармакопеи ЕАЭС
РГП на ПХВ НЦЭС и МИ,
к.фарм.н.

Р.А.Калелова



Статус
Калелова Р.А.
Судебное Р.О.
Снег ? мам.