

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора фармацевтических наук, профессора

Молоховой Елены Игоревны на диссертационную работу

Рудь Натальи Каремовны на тему: «Разработка технологии лекарственных средств из семян чернушки посевной и нормирование их качества», представленную в диссертационный совет Д 208.088.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств

### **Актуальность темы исследования**

Один из векторов развития инновационного производства фитопрепаратов – это создание лекарственных средств на основе растений, широко используемых в народной медицине, пищевой и косметической промышленности. Так, многие пряно-ароматические растения содержат ряд высокоэффективных биологически активных веществ с различной фармакологической активностью. Многие из них, такие, как чернушка посевная, куркума, имбирь, артишок, кунжут, пажитник и др., уже давно применяются в научной медицине многих стран и входят в их Фармакопеи (Европейская, США, Британская Травяная, Китайская и др.). На основе этого сырья создан целый ряд эффективных лекарственных препаратов, однако в нашей стране они применяются в качестве биологически активной добавки к пище.

Семена чернушки посевной издревле используются в народной медицине многих стран мира, прежде всего, в качестве гепатопротекторного и желчегонного средства. Принимая это во внимание, представляется перспективным и обоснованным создать из этого растительного сырья лекарственное средство для лечения патологий гепатобилиарной системы.

Широкий спектр применения семян чернушки посевной обусловлен уникальным составом содержащихся в ней биологически активных веществ, таких как эссенциальные жирные кислоты и тимохинон, обладающих выраженным антиоксидантным и гепатопротекторным действием. Кроме того, в состав входят другие биологически активные вещества: аминокислоты, фенольные соединения, органические кислоты, обладающие, преимущественно, гепатопротекторным и желчегонным свойствами. Единственным продуктом переработки семян чернушки посевной является жирное масло («Масло черного тмина», «Масло нигеллы»). Используемая для его производства технология холодного отжима позволяет сосредоточить в готовом продукте лишь гидрофобные группы биологически активных веществ (БАВ), в частности, жирные кислоты. Что же касается полярных БАВ, то они остаются в шроте невостребованными. Более того, один из главных активных компонентов чернушки – тимохинон, обнаруживается в масле лишь в минорном количестве. Получение из семян чернушки посевной фармацевтической субстанции и создание на ее основе с учетом химического состава и возможной области медицинского применения подходящей лекарственной формы являются актуальными исследованиями в области технологии получения лекарств.

#### **Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с темой научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России «Создание оригинальных и модернизация применяемых в медицине суммарных фитопрепаратов на основе методологии выявления действующих веществ» (№ государственной регистрации 01201250744).

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Анализ содержания и положений, выносимых на защиту, позволяет сделать вывод, что диссертационная работа Натальи Каремовны Рудь соответствует паспорту научной специальности 14.04.01 – технология получения

лекарств, а именно: пункту 3 – разработка технологий получения субстанции и готовых лекарственных форм, пункту 4 – исследования по изучению особенностей технологии получения готовых лекарственных форм из различных видов субстанций, сырья и вспомогательных веществ и пункту 6 – исследование биофармацевтических аспектов в технологии получения лекарственных средств, их дизайн и изучение факторов, влияющих на биодоступность.

### **Общая характеристика диссертационной работы, ее завершенность**

Диссертационная работа изложена на 180 страницах текста компьютерного набора и состоит из обзора литературы, 4-х глав собственных исследований, общих выводов, заключения, списка литературы, включающего 209 источников, в том числе 87 иностранных; содержит 40 таблиц, 25 рисунков. В приложении диссертации представлены материалы, подтверждающие степень внедрения полученных результатов: титульные листы нормативной документации на чернушку посевной семени, внедренной в работу ООО ПКФ «Фитофарм» г. Краснодара ( акт 12.01.2015 г.) и «Чернушки посевной экстракта углекислотный сверхкритический» и «Чернушки посевной экстракта углекислотного сверхкритического капсулы 250 мг» (акты внедрения ООО НИЦ ЭР «ГОРО» г. Ростов – на Дону от 20.12.2018г и 24.01.2019г), а также акты апробации методов стандартизации разработанных лекарственных средств от ГБУ КК «Фармацевтический центр», г. Краснодара (акт от 3.02.2015 г.). По результатам исследований разработан лабораторный регламент на производство «Чернушки посевной экстракта сверхкритического углекислотного» (15.01.2015г), апробированный в условиях научно-исследовательского центра экологических ресурсов «ГОРО» (акт апробации 19.02.2019г). Технология и методы оценки качества мягкой капсулированной формы со сверхкритическим углекислотным экстрактом из чернушки посевной семян апробированы в условиях ООО «Интехпроект», г. Санкт-Петербург (акт апробации 28.03.2019г).

Материалы диссертационного исследования используются в учебном процессе на кафедре фармации ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России (акт

внедрения от 11.05.2015г), кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России по направлению подготовки 18.03.01 –Химическая технология - Производство готовых лекарственных средств», квалификация – прикладной бакалавриат (акт внедрения от 31.05.2019г).

Во введении обоснована актуальность темы исследования, указана степень ее разработанности, поставлены цель и обозначены задачи, показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, приведены методология и методы исследования, изложены положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора.

В **первой главе** «Современное состояние исследований в области химии, фармакологии и применения чернушки посевной» - литературный обзор, приведены сведения о результатах исследований фитохимического состава чернушки посевной, о применении в народной и научной медицине. Автором показано состояние изученности фармакологии чернушки посевной. Исходя из данных литературы, автором установлено, что для успешной реализации задачи по внедрению в медицинскую практику лекарственных средств на основе чернушки посевной семян, необходимо решить вопросы стандартизацией их качества как потенциального лекарственного растительного сырья и разработкой рациональных технологий фармацевтической субстанции и лекарственной формы. К недостаткам обзора следует отнести слабую освещенность вопроса о возможностях использования сверхкритической углекислотной экстракции как способа выделения комплекса биологических активных веществ из лекарственного растительного сырья.

Во **второй главе** описаны использованные в работе материалы и методы исследования. Перечислены лекарственные и вспомогательные вещества, отвечающие требованиям нормативной документации. Охарактеризованы методы определения физических, физико-химических,

химических, биологических и технологических свойств объектов исследования. Представлен дизайн исследования.

При изучении качественного и количественного состава биологически активных веществ в растительном сырье, полученных извлечений из чернушки посевной семян и разработанных лекарственных средств использованы методики газожидкостной хроматографии, УФ-спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии, капиллярного электрофореза и другие.

Статистическую обработку экспериментальных данных проведена с использованием стандартных компьютерных программ Excel в соответствии с требованиями ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента».

**В третьей главе** «Фитохимическое исследование и нормирование качества семян чернушки посевной» осуществлен фитохимический анализ семян чернушки посевной в отношении основных гидрофобных и гидрофильных групп БАВ. Впервые применен метод капиллярного электрофореза для количественного определения тимохинона как одного из действующих веществ в семенах чернушки посевной.

Установлено суммарное содержание каротиноидов в семенах чернушки посевной, которое варьировало от 1,83 мг% до 2,02 мг%, а также суммы хлорофиллов – от 5,62 мг% до 5,93 мг%. Уточнен состав свободных и гидролизуемых аминокислот в семенах чернушки посевной. При этом показано, что среди свободных аминокислот наибольшее количество приходится на долю глицина и пролина, а среди гидролизуемых аминокислот – на долю кислоты аспарагиновой. Исследование качественного состава фенольных соединений семян чернушки позволило выявить наличие флавоноидного гликозида – рутина и фенолкарбоновых кислот - хлорогеновой, кофейной, прокатеховой и галловой. Изучен количественный состав органических кислот, среди которых в преобладающем количестве представлены аскорбиновая и оротовая кислоты.

Анализ состава минеральных компонентов семян чернушки посевной показал, что в ряду макроэлементов в количественном отношении преобладает калий, а в ряду микроэлементов – цинк.

Автором разработаны основные показатели и нормы качества чернушки посевной семян с учетом направленности действия разрабатываемых лекарственных средств из данного сырья. В связи с переходом в гидрофобную фракцию жирных кислот, вносящих определенный вклад в обеспечение их фармакологического действия, сырье дополнительно контролируется по показателю «Экстрактивные вещества, извлекаемые хлороформом». Проведено исследование стабильности семян чернушки посевной, в ходе которого для цельного сырья установлен срок их годности 2 года.

**В четвертой главе** «Разработка технологии получения фармацевтической субстанции из семян чернушки посевной сверхкритической углекислотной экстракцией» автором показаны преимущества и обоснована целесообразность использования для получения фармацевтической субстанции из чернушки посевной семян сверхкритической углекислотной экстракции, разработана целенаправленная технология, ориентированная на комплекс основных действующих веществ – жирные кислоты и тимохинон. При изучении химического состава фармацевтической субстанции - сверхкритического углекислотного экстракта - автором установлено, что содержание тимохинона варьирует от 3,68 до 4,12%, это более чем в 20 раз превышало количество этого вещества в коммерческом продукте из семян чернушки посевной – «Масле черного тмина». Кроме того, показано, что полученный углекислотный экстракт выгодно отличается наличием в составе отсутствующих в масле гидрофильных групп БАВ (фенольных соединений, аминокислот, органических кислот и минеральных веществ).

В диссертационной работе Натальей Каремовой Рудь проведены исследования антиоксидантной активности *in vitro* разработанной фармацевтической субстанции из семян чернушки посевной посредством определения ее восстановительной емкости. Установлено, что сверхкритический углекис-

слотный экстракт чернушки по восстановительной емкости значительно превосходит (в 7 раз) коммерческий продукт «Масло черного тмина», что также подтверждает обоснованность выбора технологии сверхкритических флюидов для получения извлечений из чернушки посевной семян. Предложены показатели и нормы качества полученного экстракта. Подлинность фармацевтической субстанции рекомендовано определять по наличию жирных кислот и тимохинона, как главных действующих соединений, обеспечивающих ее антиоксидантные, гепатопротекторные и желчегонные свойства. Установлен срок годности сверхкритического углекислотного экстракта чернушки – 2,0 года, при условии его хранения в прохладном и защищенном от света месте.

В пятой главе «Разработка состава и технологии получения капсулированной лекарственной формы сверхкритического углекислотного экстракта чернушки посевной и нормирование ее качества» автором диссертационной работы обоснован наиболее рациональный вид лекарственной формы для сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной – мягкие желатиновые капсулы и капельный способ их получения. Изучено влияние различных температурных режимов на реологические свойства сверхкритического углекислотного экстракта из семян чернушки посевной. С учетом технологических, физико-химических критериев и результатов реологических исследований разработан состав оболочки мягкой капсулированной лекарственной формы сверхкритического углекислотного экстракта из чернушки посевной семян. Проведено нормирование качества полученных мягких капсул, в результате чего предложены показатели и нормы их качества, среди которых основными являются: «Содержание тимохинона» не менее 0,008г; «Кислотное число» – не более 24,0 мг КОН/г; «Распадаемость» - не более 20 минут; «Растворение» - не менее 70% действующего вещества, перешедшего в раствор за 45 минут. Результаты изучения стабильности капсул с СУЭЧП в процессе хранения в прохладном и защищенном от света месте, помещенные в полимерных банках с плотно закрываемыми пробками из по-

лиэтилена, показали, что основные показатели их качества оставались неизменными в течение срока наблюдения - 1,5 лет.

Обобщая вышесказанное, хотелось бы подчеркнуть, что диссертантом Натальей Каремовной Рудь проведен большой объем приоритетных исследований, которые можно рассматривать в качестве завершенной работы по разработке технологии и стандартизации лекарственных средств на основе экстракта углекислотного сверхкритического из чернушки посевной семян.

### **Научная новизна полученных результатов**

Научная новизна диссертации Рудь Натальи Каремовны включает технологический комплекс работ по обоснованию создания лекарственных средств из чернушки посевной семян.

В работе установлено, что оптимальной фармацевтической субстанцией из семян чернушки посевной является сверхкритический углекислотный экстракт, который содержит комплекс гидрофобных БАВ с более высоким содержанием основного действующего вещества – тимохинона и некоторых полярных веществ.

Определены рациональные технологические режимы сверхкритической углекислотной экстракции для извлечения действующих БАВ из чернушки посевной семян.

С учетом технологических особенностей фармацевтической субстанции разработан состав и способ получения мягких капсул, содержащий сверхкритический углекислотный экстракт из семян чернушки посевной.

Для количественного определения тимохинона автором впервые использован метод капиллярного электрофореза, характеризующийся экспрессностью и практическим отсутствием потребности в применении дорогостоящих и высокотоксичных растворителей. Способ определения тимохинона методом капиллярного электрофореза защищен патентом на изобретение (№2571499 от 21.10.2015г).



## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные результаты по обоснованию разработки состава и технологии лекарственных средств на основе экстракта углекислотного сверхкритического семян чернушки посевной расширяют знания в области технологии сверхкритических флюидных фитоэкстрактов, процесса и особенностей диффузии разных по полярности БАВ при углекислотной экстракции. На примере технологии фармацевтической субстанции из чернушки посевной семян показана возможность использования сверхкритической углекислотной экстракции для получения фитопрепаратов, сочетающих в себе разнополярные БАВ, предложен перечень показателей для их стандартизации.

Проведенные фитохимические исследования семян чернушки посевной, заготовленных на юге России, в сравнительной оценке с импортируемым сырьем, выявили их сопоставимость по составу ценных БАВ и возможность использования отечественного сырья для получения лекарственных средств.

Предложена и валидирована электрофоретическая методика количественного определения тимохинона в сырье и в лекарственных средствах из чернушки посевной.

По результатам исследований разработан лабораторный регламент на производство «Чернушки посевной экстракта сверхкритического углекислотного», проекты нормативной документации «Чернушки посевной экстракт углекислотный сверхкритический» и «Чернушки посевной экстракта углекислотного сверхкритического капсулы 250 мг»

Технология сверхкритического углекислотного экстракта семян чернушки посевной апробирована в условиях научно-исследовательского центра экологических ресурсов «ГОРО». Технология и методы оценки качества мягкой капсулированной формы со сверхкритическим углекислотным экстрактом из семян чернушки посевной апробированы в условиях ООО «ИНТЕХПРОЕКТ».

Материалы диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармации ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

**Степень обоснованности и достоверности научных результатов, положений и выводов диссертации**

Анализ диссертационной работы Рудь Натальи Каремовны показывает, что все разделы выполнены на современном научном уровне, подтверждены экспериментальными данными. Положения и выводы научно обоснованы и достоверны. Используются современные физические, физико-химические, технологические и биофармацевтические методы анализа, а при обработке результатов - методы математической статистики. Достоверность полученных результатов определяется воспроизводимостью данных, использованием современных методов исследования, большим объемом используемой информации.

Основные результаты диссертационной работы доложены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 45-летию фармацевтического факультета КГМУ (Курск, 2011г); 1-ой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва, 2013г); II международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом» (Новосибирск, 2015г); X Международной научно-практической конференции: «Теоретические и практические аспекты развития научной мысли: Медицинские науки, Фармацевтические науки, Ветеринарные науки, Биологические науки, Химические науки» (Москва, 2015г).

**Публикации по работе**

По результатам диссертационного исследования опубликовано 12 работ, в том числе 6 – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

## **Рекомендации по использованию диссертации для науки и практики**

Теоретические положения и экспериментальные подходы, сформулированные в диссертации Н.К.Рудь, целесообразно использовать в исследованиях лабораторий R&D при разработке составов и технологий лекарственных препаратов на основе экстрактов углекислотных сверхкритических в виде мягких желатиновых капсул и на производстве, а также в учебном процессе ВУЗов фармацевтического профиля.

## **Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации**

Оценивая работу Рудь Натальи Каремовны, в целом, хотелось бы отметить целостность проведенных исследований, последовательность и логичность изложения материала. Полученные в диссертационной работе Рудь Н.К. результаты достоверны и выводы аргументированы. Положительно оценивая результаты диссертационного исследования в целом, следует отметить некоторые вопросы и замечания:

1. В перечне показателей качества семян чернушки посевной и полученного из них сверхкритического экстракта отсутствуют какие-либо, отражающие содержание гидрофильных БАВ, что снижает ценность проведенных диссертантом исследований по изучению этих веществ.

2. Чем обусловлено изучение при разработке состава желатиновой оболочки реологических свойств в диапазоне температур от 45° и 70° С?

3. В состав желатиновой массы диссертантом в качестве консерванта введен нипагин. С учетом антимикробного действия тимохинона, было бы целесообразным сравнить микробиологические показатели капсул, полученных с добавлением нипагина и без него.

4. При проведении исследований по получению сверхкритического экстракта семян чернушки посевной и мягких желатиновых капсул на их основе диссертантом не выявлены критические стадии технологических процессов.

5. Как диссертант объясняет снижение срока годности углекислотного

экстракта чернушки посевной семян в мягких желатиновых капсулах до 1,5 лет?

В тексте диссертации встречаются повторы, ссылки на учебную литературу и недоступные электронные источники. Отмеченные недостатки и высказанные замечания не снижают качества и ценности проведенных исследований и не уменьшают положительной оценки диссертационной работы Рудь Н.К. Автореферат полностью отражает содержание диссертации Рудь Натальи Каремовны.

### **Заключение**

Диссертационная работа Рудь Натальи Каремовны на тему: «Разработка технологии лекарственных средств из семян чернушки посевной и нормирование их качества», представленная на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств, является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи по разработке технологии фармацевтической субстанции из семян чернушки посевной с использованием сверхкритической углекислотной экстракции и ее лекарственной формы, имеющей существенное значение для фармацевтического производства оригинальных лекарственных средств.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов, полноте изложения материалов диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Рудь Наталья Каремовна, заслуживает прису-

ждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности  
14.04.01 – технология получения лекарств.

Профессор кафедры промышленной  
технологии лекарств с курсом биотехнологии  
ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России,  
доктор фармацевтических наук  
(14.04.01 – технология получения лекарств),  
профессор

Молохова Елена Игоревна

Контактные данные:

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования «Пермская государственная  
фармацевтическая академия» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации  
Россия, 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2  
Тел.: (342) 233-55-01, (342)2825842  
E-mail: profmol17@ gmail.com.

9 сентября 2019 г.

Подпись  
закрыл:

*Молоховой Е.И.*

(нач. отдела кадров)

