

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

заведующего кафедрой фармацевтической, аналитической и токсикологической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидата фармацевтических наук, доцента Лукша Елены Александровны на диссертационную работу Булгаковой Евгении Александровны «Разработка биоаналитических методик для исследования фармакокинетики биологически активного соединения – производного 3-гидрокси-3-пирролин-2-она», представленную в диссертационный совет Д 208.068.02 при ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

### **Актуальность выполненного исследования.**

Актуальность производства отечественных субстанций, в сложившихся условиях позиционирования Российской Федерации на мировом фармацевтическом рынке, не вызывает сомнения. Вопросы и проблемы, связанные с необходимостью увеличения доли отечественных лекарственных средств нашли свое отражение на государственном уровне и предельно четко изложены в стратегии развития фармацевтической промышленности России «ФАРМА-2020».

Современные требования к качеству фармацевтических субстанций в глобальном масштабе, предполагают обязательное изучение фармакокинетики лекарственного средства на этапе доклинического изучения. Целью исследования фармакокинетики вещества является, прежде всего, количественная характеристика процессов всасывания, распределения и элиминации. Количественная характеристика, в свою очередь, предполагает разработку и применение валидированных методик обнаружения вещества в биологических жидкостях.

Автором работы Евгенией Александровной Булгаковой, совершенно обоснованно, в качестве объекта исследования предложено новое вещество из группы рацетамов, синтезированное в Пермской государственной фармацевтической академии и рекомендованное для доклинических исследований как перспективного вещества-кандидата, обладающего ноотропной активностью. Раскрыта важность биоаналитического этапа при проведении фармакокинетических исследований.

Следовательно, теоретическое обоснование к подходам практической реализации темы исследования «Разработка биоаналитических методик для исследования фармакокинетики биологически активного соединения – производного 3-гидрокси-3-пирролин-2-она» является актуальной задачей.

**Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Содержание диссертационной работы соответствует основным направлениям научных исследований ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (номер государственной регистрации темы 01.9.50 007417).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследования специальности, указанным в пункте 4 паспорта научной специальности «фармацевтическая химия, фармакогнозия», а именно: разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы.

**Оценка содержания диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, шести глав экспериментальной части, общих выводов, списка литературы, приложения. Работа представлена на 162 страницах машинописного текста, включает 35 таблиц, 46 рисунков и 7 страниц приложения. Библиографический список включает 147 наименований, из них – 85 источников зарубежной литературы (57,8 %).

Содержание работы соответствует цели исследования и отражает последовательность выполнения поставленных автором задач.

**Введение** содержит факты, логично доказывающие актуальность темы, и определяющие цель и задачи исследования; во введении представлена научная новизна и практическая значимость работы, перечислены сведения об апробации диссертации, обосновано соответствие исследования паспорту специальности, приведена информация о структуре и объеме диссертации, о количестве собственных публикаций по теме исследования, о личном участии автора, сформулированы положения, выносимые на защиту.

**В первой главе** обобщены сведения по характеристике ноотропных средств в историческом, фармакологическом и фармацевтическом аспектах.

Раскрыто значение понятия «ноотропная концепция», «ноотропный препарат», представлена общепринятая классификация ноотропных средств, приведены сведения о рекомендациях по применению ноотропных средств в соответствии с МКБ-10, приведены структурные формулы типичных представителей рацетамов.

Обобщены сведения об особенностях фармакокинетики наиболее изученных ноотропных средств группы рацетамов: пирацетама, оксирацетама, фенотропила, прамирацетама, нефирацетама, анирацетама, ролзирацетама, фазорацетама, с указанием структурных формул их метаболитов.

Представлена характеристика объекта исследования: биологически активного соединения 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-

гидроксипропил)-3-пирролин-2-он (КОН-1), синтезированного в Пермской государственной фармацевтической академии.

На основе литературного материала систематизированы основные сведения о подходах к разработке методик биоаналитического этапа исследований фармакокинетики ноотропов, обоснован выбор современных аналитических методов идентификации и количественного определения ноотропных средств, представлены нормативно-регламентированные валидационные характеристики аналитических методик.

В конце Главы 1 представлены выводы по главе.

**Во второй главе** приведена характеристика объектов и методов исследования. Объектами исследования являлись: субстанция КОН-1, субстанция пиретама, субстанция фенотропила, биологические объекты. Подробно описано приготовление стандартных растворов и модельных смесей субстанций и биологических объектов.

**В третьей главе** представлены результаты исследований по выбору условий хроматографического определения исследуемой субстанции методом ВЭЖХ-УФ.

Обоснована необходимость введения в состав подвижной фазы модификаторов.

Представлены результаты, на основании которых были выбраны хроматографические условия, обеспечивающие высокую селективность определения вещества КОН-1 в биологических жидкостях (плазма крови и моча).

В конце Главы 3 представлены краткие выводы по главе и ссылка на собственную публикацию автора, отражающую результаты проведенных исследований.

**В четвертой главе** обоснована и проведена разработка биоаналитического этапа исследования, направленного на выбор наиболее оптимальных условий изолирования (извлечения) вещества КОН-1 из различных биологических объектов. Последовательно и методично описаны теоретические предпосылки выбора конкретной методики и представлены конкретные практические результаты.

В конце Главы 4 представлены краткие выводы по главе и ссылка на собственные публикации автора, отражающие результаты проведенных исследований.

**В пятой главе** представлены эмпирические данные результатов по разработке методик количественного определения КОН-1 в биологических жидкостях методом ВЭЖХ-УФ. Приведена валидационная оценка наиболее рациональных методик с указаниями пределов приемлемости.

В конце Главы 5 представлены краткие выводы по главе и ссылка на собственные публикации автора, отражающие результаты проведенных исследований.

**В шестой главе** представлены эмпирические данные результатов по разработке методики количественного определения КОН-1 в плазме крови

современным гибридным методом ВЭЖХ-МС. Обоснована разработка подбора оптимального состава подвижной фазы с учетом специфики метода ВЭЖХ-МС.

Для разработанной методики проведена оценка валидационных характеристик с указаниями пределов приемлемости.

В конце Главы 6 представлены краткие выводы по главе и ссылка на собственную публикацию автора, отражающую результаты проведенных исследований.

**В седьмой главе** представлены результаты исследования фармакокинетики вещества КОН-1 с применением разработанных методик. указано, что изучение фармакокинетики было проведено на лабораторных крысах и кроликах. Полученные результаты позволили определить основные фармакокинетические параметры КОН-1.

В конце Главы 7 представлены краткие выводы по главе и ссылка на собственные публикации автора, отражающие результаты проведенных исследований.

**Общие выводы**, приведенные в работе, соответствуют поставленным задачам и свидетельствуют о достижении цели исследования.

#### **Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность.**

Современными методами ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС/МС впервые осуществлена разработка аналитических методик по количественной оценке, закономерностям процесса ионизации, условиям детектирования оригинального вещества 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-он (КОН-1).

Впервые представлены валидационные характеристики разработанных методик количественного определения вещества КОН-1 и установлены оптимальные условия выделения вещества из биологических объектов.

Впервые проведено фармакокинетическое исследование вещества КОН-1 на лабораторных животных с указанием фармакокинетических параметров.

Таким образом, в рамках сформулированной цели работы и при решении поставленных задач исследования получены новые факты, что является свидетельством научной новизны.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Методология исследования в работе Булгаковой Евгении Александровны основана на комплексе оценки физических, химических, физико-химических и биологических методов, выполненных на современной экспериментальной базе, позволяющей получать достоверные результаты. Экспериментальной части исследования предшествует теоретическое обоснование.

К достоинствам работы следует отнести выполнение значительного объема экспериментальных работ по количественной оценке вещества в биологических объектах. Также следует указать, что разработанная на модельных объектах методика была применена для решения задачи по изучению фармакокинетики вещества КОН-1 на реальных лабораторных животных.

Положения, вынесенные на защиту, научно обоснованы, экспериментально подтверждены и отражают общий план диссертационного исследования. Выводы соответствуют поставленным задачам и свидетельствуют о достижении цели исследования.

**Автореферат** отражает основные положения и выводы диссертации.

Основные результаты диссертационного исследования представлены в материалах международных, российских и региональных научно-практических конференциях, форумах и конгрессах, изложены в 9 опубликованных научных работах, в числе которых три статьи - в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК для публикации материалов диссертационных исследований и внесенных в соответствующий Перечень.

#### **Теоретическая и практическая значимость полученных результатов и рекомендации по их использованию.**

Теоретическая значимость диссертационной работы состоит в обосновании и разработке методик, определяющих последовательность выполнения исследований фармакокинетики перспективного вещества КОН-1, обладающего ноотропной активностью.

Практическая значимость работы состоит в том, что на основании теоретических предпосылок, автор разработал, провел валидационную оценку и апробацию методик при определении вещества КОН-1 в биологических объектах, что позволило предложить применение указанных методик при изучении фармакокинетики вещества на доклиническом и клиническом этапе.

Методика количественного определения биологически активного соединения КОН-1 в плазме крови методом ВЭЖХ-МС/МС с положительной оценкой апробирована в лаборатории физико-химических методов анализа ООО «Парма Клиникал», г. Пермь (Акт апробации от 19.12.2017 г.)

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры токсикологической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России и используются при проведении практического занятия «Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-селективным детектированием (ВЭЖХ-МС) в анализе лекарственных средств, доклинических фармакокинетических исследованиях новых биологически активных соединений, синтезированных в Пермской фармацевтической академии, и определении биоэквивалентности» цикла повышения квалификации в рамках программ дополнительного профессионального образования «Стандартизация,

подтверждение соответствия и контроль качества лекарственных средств» для преподавателей кафедр фармацевтических вузов и училищ химического, технологического профиля, фармакогнозии и ботаники, проводимого на базе Регионального испытательного центра «Фарматест» и кафедры токсикологической химии ПГФА (Акт внедрения научных достижений в учебный процесс от 20.12.2017 г.)

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Материалы работы используются в учебном процессе при проведении лекционных и практических занятий со студентами, обучающимися по специальности «Фармация» (Акт о внедрении результатов диссертационной работы от 29.05.2018 г.).

#### **Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы.**

Дизайн диссертационного исследования и структура изложения материала последовательны и логичны. В конце каждого раздела работы приведены лаконичные выводы, кратко формулирующие сущность полученных результатов. В целом, при положительной оценке всего исследования, возникает ряд вопросов, предложений и замечаний к содержанию и оформлению работы:

1. В Главе 2 не приведены математические формулы, в соответствии с которыми осуществляли расчет количества исследуемого вещества КОН-1.

2. В Главе 2 следовало более детально описать методы статистической обработки результатов исследования, а именно:

- как проводилась проверка результатов на нормальность распределения,

- что обозначают символы SD, RSD.

Также в работе следовало унифицировать символ, обозначающий среднюю величину: данный параметр обозначен и, как  $\bar{x}$  и как  $X_{cp}$ .

3. Следует подобрать более корректное определение словосочетанию «внутренние органы, отобранные до введения субстанции».

4. Стр. 93 (Глава 5) - Почему автор не использовал методику проведения валидации по ОФС.1.0012.15, представленной в Государственной Фармакопее XIII издания?

Указанные замечания и поставленные вопросы не снижают общей теоретической и практической ценности работы.

Таким образом, диссертационная работа Булгаковой Евгении Александровны на тему «Разработка биоаналитических методик для исследования фармакокинетики биологически активного соединения – производного 3-гидрокси-3-пирролин-2-она», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований, предложено решение важной задачи по разработке методик анализа фармакологически активных веществ в биологических объектах для фармакокинетических исследований. Диссертационная работа Булгаковой Евгении Александровны соответствует требованиям пунктов 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Булгакова Евгения Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Официальный оппонент:**

заведующий кафедрой фармацевтической,  
аналитической и токсикологической химии  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения  
высшего образования

«Омский государственный  
медицинский университет»

Министерства здравоохранения

Российской Федерации,

кандидат фармацевтических наук

(15.00.02 – фармацевтическая химия,  
фармакогнозия)

доцент

Лукша Елена Александровна

Адрес: 644099, Сибирский Федеральный округ,

Омская область, г. Омск,

ул. Ленина, 12.

Телефон: (3812) 370-360

e-mail: [farmchemistry@rambler.ru](mailto:farmchemistry@rambler.ru)

09.10.2018 г.

Подпись Лукша Е.А.  
заверяю специалист по печати

Министерства 9.10.2018

