

ОТЗЫВ

официального оппонента заведующего кафедрой фармацевтического анализа федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, доцента Белоусова Михаила Валерьевича по диссертации Сабирзянова Дениса Робертовича на тему: «Разработка хроматографических методик для стандартизации субстанции бромокаина, его трансдермальной лекарственной формы и проведения биоаналитических исследований», представленной на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Актуальность выполненного исследования.

Создание отечественных высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов – одна из важнейших задач российского здравоохранения. В современной медицинской практике местные анестетики используются в различных областях медицины.

В Пермской государственной фармацевтической академии синтезирован местный анестетик из группы замещенных амидов – анилокаин (непатентованное наименование – бромокаин), проявляющий высокую поверхностную, инфильтрационную и проводниковую анестезию. Клинические исследования анилокаина доказали его высокую эффективность в различных областях медицины. Ряд лекарственных форм с анилокаином (инъекционные растворы, растворы для наружного применения, перевязочные средства) доведены до медицинского применения. В «Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» (г. Москва) впервые разработана первая отечественная трансдермальная терапевтическая система местного анестетика (бромокаина) на основе биосовместимой микроэмульсионной композиции.

Поэтому разработка аналитических методик для стандартизации субстанции бромокаина, а также лекарственных форм на его основе является актуальной. Кроме того, перспектива внедрения в медицинскую и ветеринарную практику лекарственных препаратов бромокаина определяет необходимость разработки высокочувствительных методик его определения в биологических объектах для проведения фармакокинетических исследований.

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность.

Разработана методика определения остаточных органических

растворителей в субстанции бромокаина методом ГЖХ на капиллярных колонках.

Установлены оптимальные условия определения бромокаина, идентифицированных (2-броманилина и N-(2-бромфенил)акриламида) и неидентифицированных «родственных» примесей методом ВЭЖХ.

На основе метода ВЭЖХ разработаны методики для стандартизации субстанции бромокаина и трансдермальной лекарственной формы по показателям «Количественное определение» и «Родственные примеси».

Проведена оптимизация условий определения бромокаина в плазме крови методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием.

Разработан эффективный способ пробоподготовки плазмы крови к последующему хроматографическому анализу на основе экстракции бромокаина из биожидкости после предварительного осаждения белков ацетонитрилом.

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 диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно п. 3 – разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления; п. 4 – разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы.

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

Диссертационная работа Сабирзянова Д.Р. выполнена на достаточно высоком научном уровне. Для получения результатов автор использует современные методы анализа. Результаты экспериментальных исследований отвечают поставленным задачам, получены на поверенном оборудовании, при этом используются современные методы сбора и обработки информации.

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

свидетельствуют о достижении цели исследования.

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

На основании проведённых исследований разработаны и валидированы хроматографические методики для стандартизации субстанции бромокаина по показателям «Остаточные органические растворители», «Родственные примеси» и «Количественное определение». Методики включены в проект НД на субстанцию бромокаина. Апробация предлагаемых методик с положительным результатом была проведена в химической лаборатории Отдела контроля качества ФКП «Армавирская биофабрика» на трёх сериях субстанции (акт апробации от 20 февраля 2017 г).

Разработанные методики на основе метода ВЭЖХ для оценки «родственных» примесей и количественного определения бромокаина в трансдермальных терапевтических формах включены в проект НД «ГТС бромокаина, терапевтическая система трансдермальная, 0,05(0,10)» (акты внедрения от 17 февраля 2015 г, АНО «ИМБИИТ»).

Методики количественного определения бромокаина в плазме крови, тканях и органах лабораторных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии использованы при проведении доклинических фармакокинетических исследований образцов микроэмульсионной трансдермальной терапевтической системы бромокаина (акты внедрения от 17 февраля 2015 г, АНО «ИМБИИТ»).

Разработанные методики определения бромокаина с использованием газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии используются в учебном процессе Пермской государственной фармацевтической академии при обучении студентов на дисциплине по выбору «Методы инструментальной хроматографии в анализе лекарственных и наркотических средств» (акт внедрения от 09.10.2018 г.), а также на цикле повышения квалификации для преподавателей вузов и колледжей химического профиля «Стандартизация, подтверждение соответствия и контроль качества лекарственных средств» (акт внедрения от 12.12.2018 г.)

Оценка содержания диссертации.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, пяти глав экспериментальной части, общих выводов, списка литературы, приложения. Работа изложена на 144 страницах машинописного текста, включает 53 таблицы, 28 рисунков и 7 страниц приложения. Библиографический список включает 162 наименования, из них – 67 источников зарубежной литературы.

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 объёме диссертации, о количестве собственных публикаций по теме исследования, о личном участии автора, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В первой главе дана общая оценка состояния и перспектив внедрения бромокаина в медицинскую и ветеринарную практику, а также сформулированы современные требования к стандартизации фармацевтических субстанций. Описаны методы анализа бромокаина и анестетиков родственной структуры в фармацевтических субстанциях, лекарственных препаратах и биологических объектах. Представлена характеристика трансдермальных терапевтических систем как современной лекарственной формы.

В конце Главы 1 представлены выводы по главе.

Вторая глава включает описание объектов исследования (используемые в эксперименте субстанции, лекарственные формы и биологические объекты), оборудования, приготовление модельных смесей и реагентов.

В третьей главе представлены результаты эксперимента по выбору оптимальных условий количественного определения остаточного органического растворителя – ацетона в субстанции методом ГЖХ/ПВД на капиллярных колонках с использованием внутреннего стандарта пропанола-1. Также приведена валидационная оценка разрабатываемой методики с указаниями пределов приемлемости.

В конце Главы 3 представлены краткие выводы по главе.

Четвертая глава включает в себя результаты разработки методик анализа по показателям «Родственные примеси» и «Количественное определение» в субстанции бромокаина методом ВЭЖХ с последующей валидацией разработанных методик.

В конце Главы 4 представлены краткие выводы по главе.

В пятой главе показаны варианты пробоподготовки ТТС бромокаина с учётом растворимости для количественного определения и определения родственных примесей. Кроме того, приводятся результаты разработки и валидации методик количественного определения и определения родственных примесей в трансдермальной терапевтической системе бромокаина 0,05 г и 0,10 г.

В конце Главы 5 представлены краткие выводы по главе.

В **шестой главе** предложены: эффективный способ экстракции бромокаина хлороформом после предварительного осаждения белков плазмы ацетонитрилом, разработка и валидация методик определения бромокаина в биологических объектах методом микроколоночной ВЭЖХ для исследования фармакокинетики.

В конце Главы 6 представлены краткие выводы по главе.

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

При общей положительной оценке работы Сабирзянова Дениса Робертовича следует сделать несколько замечаний и задать вопросы:

1. Почему для количественного определения бромокаина автор не использовал общепринятый метод бромометрического титрования?
2. Каким образом учитывали и устраняли погрешность ввода образца в систему при определении линейности аналитического сигнала бромокаина методом абсолютной калибровки?
3. Чем обусловлен выбор внутреннего стандарта при количественном определении ацетона методом ГЖХ/ПВД?
4. Линейность методики предполагает изучение аналитического сигнала в зависимости от содержания определяемого компонента в пробе, однако в тексте диссертации не приведено обоснование исследованного диапазона концентраций ацетона?
5. Чем обусловлен выбор уровня концентрации ацетона (1000 ppm) при определении прецизионности методики количественного определения остаточных органических растворителей и почему методика валидирована по данному показателю только на одном уровне содержания ацетона?
6. Почему в качестве модификатора подвижной фазы при разработке методики анализа субстанции бромокаина не использован метанол, из которого готовят растворы образцов?
7. Известно, что аналит является ионогенным соединением основного типа, чем обусловлен выбор значений pH подвижной фазы более 5?
8. С чем можно связать явление уменьшения времени удерживания бромокаина и отсутствия такового для примесных веществ только в результате изменения pH раствора?

Таким образом, диссертационная работа Сабирзянова Дениса Робертовича на тему «Разработка хроматографических методик для стандартизации субстанции бромокаина, его трансдермальной лекарственной формы и проведения биоаналитических исследований», 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 задач по разработке методик анализа на субстанцию бромокаина, его трансдермальную лекарственную форму и по разработке методик анализа фармакологически активного вещества в биологических объектах для фармакокинетических исследований. Диссертационная работа Сабирзянова Дениса Робертовича соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Сабирзянов Денис Робертович заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой фармацевтического анализа федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук (15.00.02 - фармацевтическая химия и фармакогнозия; 14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология), доцент

Белоусов Михаил Валерьевич

Адрес: 634050, Сибирский федеральный округ, Томская область, г. Томск, Московский тракт, д. 2
Телефон: +7 913 8251771
e-mail: mvb63@mail.ru

