

ОТЗЫВ

официального оппонента Ремезовой Ирины Петровны на диссертационную работу Сабирзянова Дениса Робертовича на тему: «Разработка хроматографических методик для стандартизации субстанции бромокаина, его трансдермальной лекарственной формы и проведения биоаналитических исследований», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в диссертационный совет Д 208.068.02 при ФГОУ ВО ПГФА Минздрава России

Актуальность избранной темы

Местный анестетик бромокаин, синтезированный в Пермской государственной фармацевтической академии под руководством профессора Панцуркина В.И., в ходе клинических исследований показал высокую эффективность в различных областях медицинской и ветеринарной практики. Создаются новые лекарственные формы на его основе. Поэтому необходимо усовершенствовать аналитические методики для стандартизации субстанции бромокаина в соответствии с современными требованиями, а также лекарственных форм на его основе. Проведение фармакокинетических исследований бромокаина определяет необходимость разработки современных биоаналитических методик его анализа.

Поэтому тема диссертации является, несомненно, актуальной, а проведенные исследования – своевременными.

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

Диссертационная работа Сабирзянова Дениса Робертовича выполнена на современном уровне с использованием современных физико-химических

методов анализа и компьютерных программ. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов базируется на фактическом материале (результатах экспериментальных исследований и их статистико-математических характеристиках) и не вызывают сомнений. Задачи, поставленные диссертантом в соответствии с целью работы, полностью согласуются с выводами автора и подтверждаются результатами проведенных исследований.

Автореферат отражает основные положения и выводы диссертации.

Достоверность и новизна исследований, полученных результатов

Автором впервые разработана методика определения остаточных органических растворителей в субстанции бромокаина методом ГЖХ.

Предложены оптимальные условия определения бромокаина и «родственных» примесей методом ВЭЖХ. На основании результатов валидации и исследования серийных субстанций бромокаина предложены нормы содержания в субстанции «родственных» примесей.

Предложена оценка трансдермальной терапевтической системы (ТТС), содержащих бромокаин, по показателям «Родственные примеси» и «Количественное определение».

Предложен способ пробоподготовки образцов плазмы к анализу бромокаина. Разработаны условия определения бромокаина в плазме крови методом микроколоночной ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектором. Изучена стабильность бромокаина в плазме крови. На модельных пробах установлено, что степень экстракции бромокаина из кожи, печени и почек составляет более 70%.

Исследована фармакокинетика микроэмульсионной ТТС бромокаина на лабораторных животных (кроликах и крысах). Разработанные методики применимы для количественного определения бромокаина на этапе доклинических и клинических фармакокинетических исследований препаратов бромокаина.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Выполненные исследования имеют теоретическое и практическое значение. Впервые разработаны и валидированы методики стандартизации субстанции бромокаина по показателям «Остаточные органические растворители», «Родственные примеси» и «Количественное определение», которые включены в проект НД.

Впервые разработаны и валидированы методики стандартизации ТТС, содержащих бромокаин по показателям «Родственные примеси» и «Количественное определение», которые включены в проект НД.

Проведена апробация методики стандартизации субстанции бромокаина по показателям «Остаточные органические растворители», «Родственные примеси» и «Количественное определение» в лаборатории отдела контроля качества ФПК «Армавирская биофабрика» (акт апробации от 20.02.2017 г.).

Методики стандартизации ТТС, содержащих бромокаин, по показателям «Родственные примеси» и «Количественное определение» внедрены в проект НД «ТТС бромокаина, терапевтическая система трансдермальная, 0,05 (0,10)» в автономной некоммерческой организации (АНО) «ИМБИИТ» (акт внедрения от 17.02.2015 г.). С помощью методик количественного определения бромокаина в плазме, тканях и органах лабораторных животных проведены доклинические фармакокинетические исследования образцов микроэмульсионной ТТС (акт внедрения от 17.02.2015 г. в АНО «ИМБИИТ»).

Результаты исследований диссертанта используются в учебном процессе Пермской государственной фармацевтической академии при обучении студентов (акт внедрения от 09.10.2018 г.) и на цикле повышения квалификации для преподавателей ВУЗов и колледжей химического профиля (акт внедрения от 12.12.2018 г.).

Структура диссертационной работы

Представленная диссертационная работа построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части (6 глав), общих выводов, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 28 рисунками и 53 таблицами. Список литературы включает 162 источника, из них 67 на иностранных языках. В приложение включены акты внедрения результатов научных исследований и акты апробации контроля качества.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, определены цель и задачи исследования, сформулирована научная новизна, представлена практическая значимость и внедрение результатов работы, методология и методы диссертационного исследования, апробация работы, объем и структура работы, личный вклад автора и публикации, описана связь темы диссертации с проблемным планом фармацевтических наук, приведена информация о соответствии диссертации паспорту научной специальности, публикациях, определены положения, выносимые на защиту.

В главе 1 (обзор литературы) описаны современное состояние и перспективы внедрения в медицинскую и ветеринарную практику бромокаина, методы анализа амидных анестетиков в лекарственных средствах и биоаналитических исследованиях, методы анализа бромокаина.

Автор делает вывод о том, что данные литературы, касающиеся клинических исследований, свидетельствуют о перспективности применения бромокаина в медицинской практике. Лекарственные средства на основе бромокаина требуют разработки методов анализа на современном уровне. Представляет также интерес разработка методик изолирования и определения бромокаина в биологических объектах для фармакокинетических исследований. Обзор литературы изложен на современном уровне и соответствует теме исследования. Ссылки на литературные источники достоверны.

Глава 2 содержит сведения об объектах исследования, реактивах и методах исследования: условия проведения анализа методом ВЭЖХ, ГЖХ, титриметрического метода, описаны статистические методы.

В **третьей главе** предложены оптимальные условия газохроматографического анализа, позволяющие разделить хроматографические пики ацетона, внутреннего стандарта от пиков летучих продуктов деградации бромокаина. Предложен современный вариант парофазной экстракции для анализа методом ГЖХ, позволяющий избежать загрязнения хроматографической колонки нелетучими компонентами. Проведена валидационная оценка разработанной методики.

Глава 4 посвящена выбору условий определения бромокаина и «родственных» примесей методов ВЭЖХ на обращено-фазной колонке Zorbax SB-C18. Проведена валидация методики количественного определения идентифицированных «родственных» примесей по показателям специфичность, линейность, правильность и прецизионность. С помощью предложенной методики проведен анализ субстанций бромокаина по показателю «Родственные примеси». Разработана методика количественного определения бромокаина в субстанции методом ВЭЖХ. Установлено, что предлагаемая методика не уступает методике экстракционного титрования, включенной во временную фармакопейную статью, и может использоваться в качестве альтернативной.

В **главе 5** представлены результаты по выбору условий пробоподготовки ТТС к хроматографическому исследованию при оценке показателей «Количественное определение» и «Родственные примеси». Проведенная валидация подтвердила пригодность разработанных методик заявленному назначению.

Глава 6 посвящена разработке методик определения бромокаина в биологических объектах (плазме крови, органах лабораторных животных) методом ВЭЖХ для фармакокинетических целей. Предложен эффективный способ пробоподготовки плазмы крови к последующему

хроматографическому анализу. Разработана методика определения бромокаина в плазме крови, проведена ее валидация. Изучена стабильность бромокаина в образцах плазмы крови.

Изучена эффективность извлечения бромокаина из органов и тканей лабораторных животных (кожа, почки, печень). Разработанные методики использованы при исследовании фармакикинетики микроэмульсионной ТТС бромокаина на лабораторных животных (кроликах, крысах).

Общие выводы по диссертационному исследованию подкреплены убедительными и обоснованными результатами собственных исследований и соответствуют поставленным задачам.

Вопросы и замечания по содержанию и оформлению диссертации

В целом положительно оценивая выполненное исследование, следует высказать некоторые замечания, пожелания и задать вопросы:

1. Почему не описана аналитическая область валидируемой методики анализа ацетона в субстанции бромокаина методом ГЖХ, хотя это требования ГФ IV и из представленных данных это можно сделать? Не приведено значение доверительного интервала (таблица 3.3), трудно оценить значения, принимаемые за истинные. Коэффициент корреляции (r) определяется расчетным путем, а не из уравнения графика. В таблице 3.6 приведены результаты определения ацетона в серийных образцах субстанции бромокаина без статистических данных.

2. При разработке методики анализа «родственных» примесей в субстанции бромокаина была выбрана аналитическая длина волны 210 нм. Обычно при таком значении наблюдается большая ошибка определения. Может быть, целесообразнее было бы увеличить концентрацию аналитов и выбрать область 245 нм?

3. Почему автор проводит сравнение разработанной ВЭЖХ методики анализа бромокаина в субстанции с методикой экстракционного титрования по воспроизводимости (сходимости) (стр. 78), а не по относительной ошибке определения?

4. Поясните, почему для доказательства линейности методики количественного определения бромокаина в ТТС используется область концентраций 50-150% от номинального значения, а не 80-120%, как рекомендует ГФ IV.

5. Обоснуйте выбранные интервалы значений бромокаина 0,05%; 0,1%; 0,25% и 0,5% при оценке правильности методики определения примесей бромокаина в ТТС (таблица 5.2.3 и 5.2.4.).

6. Поясните исследование определенных видов стабильности бромокаина в биологических образцах (стр. 105).

В тексте диссертации присутствуют отдельные грамматические и пунктуационные ошибки, которые представляются случайными, а также некоторые стилистически неудачные выражения. Эти недостатки, впрочем, не касаются научной идеи диссертации, её основных положений и выводов, поэтому не снижают общего научно-теоретического и практического уровня данной работы.

Заключение

Таким образом, диссертация Сабирзянова Дениса Робертовича на тему: «Разработка хроматографических методик для стандартизации субстанции бромокаина, его трансдермальной лекарственной формы и проведения биоаналитических исследований» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по разработке методик для стандартизации субстанции бромокаина, его трансдермальной лекарственной формы и проведения фармакокинетических исследований с использованием высокоэффективных хроматографических методов, имеющей существенное значение для специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, что соответствует требованиям п. п. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (в редакции Постановления

Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), а ее автор, Сабирзянов Денис Робертович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Доктор фармацевтических наук (14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцент, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ремезова Ирина Петровна

357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина 11,
Тел. (8793)39-10-87, e-mail: i.p.remezova@pmedpharm.ru

