



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный  
химико-фармацевтический университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)

Профессора Попова ул., д.14, лит. А  
Санкт-Петербург, 197376  
Телефон (812) 499-39-00. Факс: (812) 499-39-03  
E-mail: rectorat.main@pharminnotech.com

ОКПО 00481985, ОГРН 1037828029007  
ИНН 7813045875, КПП 781301001

№ 28-1692 от 11.10.2019

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный  
химико-фармацевтический университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, доктор  
фармацевтических наук, профессор



И.А. Наркевич

» октября 2019 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

О научно-практической значимости диссертационной работы Сабирзянова Дениса Робертовича на тему «Разработка хроматографических методик для стандартизации субстанции бромокаина, его трансдермальной лекарственной формы и проведения биоаналитических исследований», представленной в диссертационный совет Д 208.068.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

#### **Актуальность темы исследования.**

Основной задачей государственной программы «Фарма-2020» является разработка инновационных лекарственных препаратов отечественного производства в том числе и в виде новых современных лекарственных форм. Анестетики, как фармако-терапевтическая группа лекарственных средств, находят применение в различных медицинских направлениях, приемах и манипуляциях: хирургия, стоматология, гинекология, местное обезболивание и др. Для синтезированного в Пермской государственной фармацевтической академии по руководством хорошо известного в фармацевтических кругах Панцуркина В.И. анилокаина (непатентованное наименование – бромокаин) доказана высокая поверхностная, инфильтрационная и проводниковая анестезирующая активность. Ряд лекарственных форм с анилокаином (инъекционные растворы, растворы для наружного применения, перевязочные средства) в свое время нашли применение в

медицинской практике. Однако методы стандартизации, предложенные во временной фармакопейной статье, не отвечают современным аналитическим требованиям относительно чувствительности, экспрессности и точности.

В «Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» (г. Москва) впервые разработана первая отечественная трансдермальная терапевтическая система местного анестетика (бромokaина) на основе биосовместимой микроэмульсионной композиции, для которой необходимо разработать методики анализа.

Поэтому основной задачей является разработка аналитических методик с использованием современных хроматографических методов для стандартизации субстанции бромokaина, его трансдермальной лекарственной формы, а также разработка высокочувствительных методик определения бромokaина в биологических объектах для проведения фармакокинетических исследований.

Указанное определяет **актуальность и перспективность** темы диссертации Сабирзянова Д.Р., которая посвящена разработке и валидационной оценке хроматографических аналитических методик для стандартизации субстанции и трансдермальной лекарственной формы бромokaина и его определения в биологических объектах.

#### **Соответствие работы паспорту научной специальности.**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, а 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.

#### **Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов**

Диссертантом разработан и валидирован ряд хроматографических аналитических методик: методика определения остаточных органических растворителей в субстанции бромokaина методом ГЖХ на капиллярных колонках, методики для стандартизации субстанции бромokaина и трансдермальной лекарственной формы по показателям «Количественное определение» и «Родственные примеси»

Автором подобраны оптимальные условия определения бромokaина и его идентифицированных (2-броманилина и N-(2-бромфенил)акриламида) и



неидентифицированных «родственных» примесей методом ВЭЖХ.

Оптимизированы условия определения бромакаина в плазме крови методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием, а также предложен эффективный способ пробоподготовки плазмы крови к последующему хроматографическому анализу на основе экстракции бромакаина из биожидкости после предварительного осаждения белков ацетонитрилом.

**Теоретическая и научно-практическая значимость работы, возможные конкретные пути их использования.**

На основании проведённых исследований разработаны и валидированы хроматографические методики для стандартизации субстанции бромакаина по показателям «Остаточные органические растворители», «Родственные примеси» и «Количественное определение». Методики включены в проект НД на субстанцию бромакаина. 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 бромакаина в трансдермальных терапевтических формах включены в проект НД «ТТС бромакаина, терапевтическая система трансдермальная, 0,05(0,10)» (акты внедрения от 17 февраля 2015 г, АНО «ИМБИИТ»).

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

Разработанные методики определения бромакаина 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.).

### **Личный вклад автора в проведённое исследование**

Личный вклад автора состоит в постановке задач и проведении исследований с последующим комплексным анализом полученных результатов. Автор лично участвовал в постановке эксперимента, включая разработку методик, анализ и статистическую обработку полученных данных, подготовку материалов к публикации, написании диссертации.

### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций.**

Рассмотрев материалы диссертационной работы можно констатировать, что работа Сабирзянова Д.Р. выполнена на достаточно высоком научном и методическом уровне. Для получения результатов автор использует современные (хроматографические) 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.

Основные положения исследования доложены на Всероссийских и региональных конференциях.

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ из них 3 статьи в изданиях перечня ВАК. Содержание автореферата и печатных работ соответствуют материалам диссертации. Достоверность результатов и выводов возражений не вызывает.

### **Оценка содержания диссертации, её завершенность.**

Диссертационная работа Сабирзянова Дениса Робертовича изложена на 144 страницах компьютерного набора, включает 53 таблицы, 28 рисунков и 7 страниц приложения. Библиографический список включает 162 наименования, из них – 67 источников зарубежной литературы. Следует отметить, что представленная в диссертации литература современная. Работа состоит из введения, обзора литературы, пяти глав экспериментальной части, общих выводов, списка литературы, приложения.

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

**Во введении** диссертантом обоснована актуальность темы, определены цель и



задачи исследования, сформулирована научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, определены положения, выносимые на защиту, соответствие диссертации паспорту специальности, приведена информация о личном участии диссертанта, степени достоверности и апробации результатов, публикациях, структуре и объёме диссертации.

**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 (ТТС) как современной лекарственной формы.

**Во второй главе** представлена характеристика объектов и реагентов для проведения испытаний, используемых приборов и оборудования.

**Третья глава** посвящена описанию эксперимента по выбору оптимальных условий качественного и количественного определения остаточного органического растворителя – ацетона в субстанции бромокаина методом ГЖХ/ПВД на капиллярных колонках с использованием внутреннего стандарта пропанола-1. Также приведена валидационная оценка разрабатываемой методики с указаниями пределов приемлемости.

**Четвертая глава** включает в себя результаты разработки методик анализа субстанции бромокаина по показателям «Родственные примеси» и «Количественное определение» методом ВЭЖХ. Предложены условия пробоподготовки, а также хроматографические условия определения действующего вещества для количественного определения и определения родственных примесей. По результатам разработки были проанализированы серийные образцы субстанции и предложены нормы содержания примесей. Разработанные методики провалидированы в соответствии с современными требованиями.

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

**Шестая глава** посвящена разработке методик определения бромокаина в биологических объектах (плазме крови, органах лабораторных животных) методом микроколоночной ВЭЖХ для исследования фармакокинетики. Предложен эффективный

способ пробоподготовки крови. Проведена валидационная оценка разработанной биоаналитической методики.

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

В приложении представлены материалы апробации и внедрения.

Оценивая диссертационную работу Д.Р. Сабирзянов в целом, следует отметить, что она является завершённым научным исследованием, в котором автор продемонстрировал системный подход, умение использовать широкий спектр современных методов анализа и грамотно интерпретировать полученные результаты. Диссертационная работа написана хорошим научным языком и характеризуется достаточно лаконичным, четким построением предложений, логичностью построения эксперимента и его изложения, обоснованностью выводов.

Положительно оценивая результаты диссертационного исследования в целом, следует задать некоторые вопросы и сделать замечания по содержанию и оформлению работы:

**по главе 1.**

1. На наш взгляд несколько избыточным является предоставление широко известной и общедоступной информации такой как: формулы и наименования местных анестетиков (таб. 1.21), характеристика термина и механизма действия группы местных анестетиков (стр. 12), методов ИК-, УФ- спектрофотометрии (стр. 16 и 17), характеристика ТТС, как лекарственной формы ( стр. 33), а также изложение в свободной трактовке текста ОФС «Фармацевтические субстанции» (весь раздел 1.4).

2. Несколько диссонирует использование различных названий (торгового и международного непатентованного) анализируемого лекарственного средства по тексту диссертации (анилокаин - бромokaин). Диссертанту следовало бы использовать одно наименование, предпочтительно, вынесенное в название темы.

**по главе 2:**

3. Насколько целесообразными являются исследования серии 10.02.1988 (даже с учетом указания «использование только для анализа родственных примесей») если согласно ОФС «Стабильность и сроки годности ЛС» для ЛС не рекомендуется устанавливать срок годности более 5 лет.

**по главе 3:**

4. С какой целью автором разработана и валидирована методика определение ООР ацетона в субстанции, если учитывать, что данный органический растворитель относится



к 3 классу токсичности и, как совершенно верно утверждает автор, согласно требованиям ГФ допускается не проводить персонифицированную идентификацию растворителей этого класса и их количественную оценку, если их содержание находится в пределах до 0,5% (что и доказано автором). Насколько это экономически целесообразно?

5. Почему для методики «Определения остаточного содержания органических растворителей» (а это примесь), автором не определен обязательный валидационный критерий «Предел количественного определения»?

6. Почему автором не проведено изучение устойчивости аналитических методик, которое хоть и допустимо изучать при необходимости, но всегда проводится для новых методик на стадии их разработки?

**по главе 4:**

7. Для методики определения «Родственных примесей» и «Количественного определения» в субстанции бромакаина автором рекомендована аналитическая длина волны 210 нм. Поясните выбор данного значения, ведь известно, что данная полоса не является характеристической, т.к. большая часть веществ имеют поглощение в этой области (в т.ч. и ряд растворителей).

Однако приведенные замечания не носят принципиального характера и не уменьшают научной и практической ценности диссертационной работы.

**Заключение.**

Диссертационная работа Сабирзянова Дениса Робертовича на тему «Разработка хроматографических методик для стандартизации субстанции бромакаина, его трансдермальной лекарственной формы и проведения биоаналитических исследований», представленная на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук, является самостоятельной законченной, в рамках поставленных задач, научно-квалификационной работой по актуальной теме, результаты которой имеют существенное значение для развития фармацевтической науки и практики.

По актуальности, научной новизне, научно-практической значимости, достоверности полученных результатов и опубликованию основных положений в печати диссертационная работа Сабирзянова Дениса Робертовича соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с учетом изменений, внесенных в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), 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.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании кафедры фармацевтической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 2 от 02.10.2019).

Профессор кафедры фармацевтической химии  
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,  
доктор фармацевтических наук  
(15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия),  
доцент

Тернинко Инна Ивановна

Профессор кафедры фармацевтической химии  
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,  
доктор фармацевтических наук  
(15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия),  
профессор

*В. Кукин* Куклин Владимир Николаевич

«02» октября 2019 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Адрес: 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

Сайт организации: <http://www.spcpu.ru/>

тел. рабочий: +7(812) 499-39-00 (добавочный 3300, 3301)

E-mail: [inna.terninko@pharminnotech.com](mailto:inna.terninko@pharminnotech.com)

Телефон рабочий: +7 (812) 499-39-00 (добавочный 4080)

E-mail: [kuklin-prof@yandex.ru](mailto:kuklin-prof@yandex.ru)

Подпись руки *Тернинко И.И.*

удостоверяю *02.10.2019*

Начальник отдела документации *Prof.* Павлюк И.Е.

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

Подпись руки *Куклин В.Н.*

удостоверяю *02.10.2019*

Начальник отдела документации *Prof.* Павлюк И.Е.

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России