

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доцента кафедры токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидата фармацевтических наук (15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия), доцента Карпенко Юлии Николаевны по диссертации Власова Сергея Сергеевича на тему «Синтез и контроль качества системы доставки доксорубицина на основе микрочастиц Fe(0)», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования

Использование химиотерапевтических средств для лечения онкологических заболеваний сопровождается серьезными побочными эффектами за счет их неспецифического воздействия на здоровые клетки организма. Применение систем направленной доставки лекарственных средств способно решить эту проблему за счет селективного накопления химиотерапевтических средств в опухоли, а также возможности их контролируемого высвобождения в целевом участке. В данном аспекте особый интерес для изучения представляют микроразмерные частицы на основе магнитных материалов, которые могут использоваться в качестве платформы для создания тераностических средств, способных визуализировать опухоли и оказывать терапевтическое воздействие за счет адресной доставки лекарственных средств.

В этом научном направлении и выполнена диссертационная работа Власова Сергея Сергеевича, целью которой явилась разработка системы доставки доксорубицина на основе микрочастиц Fe(0). Тема исследования является актуальной и своевременной.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Результаты проведенного исследования, научные положения диссертации соответствуют формуле паспорта специальности 14.04.02 –

фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно пунктам: 2 – «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств» и 3: «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления».

Новизна исследований и полученных результатов, их достоверность

Новизна представленной диссертационной работы заключается в том, что автором впервые разработана методика однореакторного синтеза носителя на основе микрочастиц Fe(0) с мономодальным распределением и возможностью контроля размеров частиц. Установлены оптимальные параметры синтеза и модификации микрочастиц Fe(0), а также оптимальные условия синтеза конъюгата Fe-CS-ДОКС.

Впервые изучено высвобождение доксорубина из конъюгата Fe-CS-ДОКС под воздействием внешних (ультразвуковое излучение) и внутренних (рН среды) факторов. В исследованиях *in vivo* подтверждены выраженные МРТ-контрастные свойства полученного носителя Fe-CS.

Для оценки качества разработанной системы доставки ЛС впервые предложена ВЭЖХ-методика количественного определения доксорубина, хитозана и бензойной кислоты на основе градиентного элюирования и проведена ее валидационная оценка. По результатам исследований определены показатели и нормы качества лиофилизата микрочастиц Fe-CS-ДОКС.

Степень достоверности проведенных исследований и полученных результатов определяется достаточным объемом экспериментального материала, использованием современных методов анализа, валидационной оценки методик, статистической обработки экспериментальных данных.

Таким образом, в рамках сформулированной цели работы и при решении поставленных задач исследования получены новые факты, что является свидетельством научной новизны. Новизна исследований подтверждается получением патента на изобретение.

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

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций основана на значительном объеме литературного и экспериментального материала, полученного с использованием современных методов исследований. Экспериментальной части исследования предшествует теоретическое обоснование. Положения, вынесенные на защиту, научно обоснованы, экспериментально подтверждены и отражают общий план диссертационного исследования. Выводы соответствуют поставленным задачам и свидетельствуют о достижении цели исследования.

Значимость результатов исследований для науки и практики, возможные пути их применения

Полученные автором результаты имеют важное теоретическое и практическое значение. Теоретическая значимость работы заключается в разработке методики одnoreакторного синтеза носителя на основе микрочастиц Fe(0), позволяющей контролировать размер получаемых частиц. Выраженные контрастные свойства микрочастиц и возможность модифицирования их поверхности для получения конъюгатов с химиотерапевтическими средствами обуславливают перспективы их применения как в качестве контрастного агента для лучевой диагностики, так и в качестве носителя для направленной доставки лекарственного средства.

Установленные закономерности получения микрочастиц Fe(0) могут быть использованы для создания на их основе лекарственных средств для

транскатетерной артериальной хемоблолизации или систем таргетной доставки химиотерапевтических средств.

Автором предложены современные валидированные методики для оценки качества лиофилизата для приготовления суспензии для внутривенного введения «Конъюгат Fe-CS-ДОКС», установлены показатели и нормы качества, разработан проект нормативной документации.

Результаты исследований внедрены и используются в учебном процессе кафедры фармацевтического анализа ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России и кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Соответствие публикаций к диссертационному исследованию требованиям ВАК РФ

Основное содержание настоящей работы нашло отражение в 12 публикациях, из которых 3 – в журналах перечня ВАК, 1 патента РФ на изобретения.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа построена традиционно, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материалов и методов исследования (глава 2), двух глав, содержащих результаты и обсуждение эксперимента, заключения, списка литературы, приложения. Работа изложена на 166 страницах машинописного текста, включает 28 таблиц, 34 рисунка. Библиографический список включает 198 наименований, из них - 172 источника зарубежной литературы.

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

Во *введении* диссертантом обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи, представлены научная новизна,

практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту, приведен личный вклад автора и сведения об апробации результатов диссертационной работы.

Глава первая «Обзор источников литературы» содержит сведения о применяемых в настоящее время для лечения онкологических заболеваний классах химиотерапевтических средств, основных типах систем доставки химиотерапевтических агентов (включая тераностические системы). Особое внимание в обзоре уделено неорганическим системам доставки лекарственных средств, в частности системам на основе микрочастиц Fe(0) как наиболее перспективным с точки зрения доступности, низкой токсичности материала, высокого значения магнитной сатурации. Представлена информация о способах получения нано- и микрочастиц нульвалентного железа, сделан вывод об актуальности разработки экологичных и экономичных однореакторных способов синтеза, позволяющих контролировать размер получаемых частиц. Дана характеристика разрабатываемой системы доставки лекарственных средств и рассмотрены возможные методы оценки ее качества.

Во *второй главе* описаны используемые в экспериментальных исследованиях реактивы и оборудование, представлены методики на основе физических, химических, физико-химических методов, применяемые для контроля отдельных этапов при синтезе конъюгата Fe-CS-ДОКС, изучении его свойств и стандартизации.

В *третьей главе* представлены результаты исследований по изучению влияния параметров синтеза на размер микрочастиц Fe-COOH. Установлено, что влияние на размер микрочастиц оказывают начальные концентрации реагентов, скорость подачи восстанавливающего агента (NaBH₄), время стабилизации и время образования частиц.

Определены оптимальные параметры модификации микрочастиц Fe⁰ с целью получения магнитного носителя лекарственных средств Fe-CS и его

конъюгата с доксорубицином с мономодальным распределением размеров частиц.

Представлены результаты разработки методик количественного определения действующего вещества и вспомогательных веществ в конъюгате Fe-CS-ДОКС спектральными и хроматографическими методами, приведены валидационные характеристики разработанных методик. Установлено количественное содержание всех компонентов конъюгата. Определены показатели качества лиофилизата для приготовления суспензии для внутривенного введения «Конъюгат Fe-CS-ДОКС».

Четвертая глава посвящена изучению тераностических свойств микрочастиц Fe-CS-ДОКС. Представлены результаты изучения контрастных свойств разработанного носителя Fe-CS в МРТ исследовании, а также результаты изучения высвобождения доксорубицина из конъюгата Fe-CS-ДОКС под воздействием различных стимулов (рН среды и УЗ излучения).

Диссертация завершается **выводами и заключением**, в которых отражены результаты исследования и перспективы дальнейшей разработки темы.

В **приложениях** представлены проект нормативной документации на разработанный конъюгат Fe-CS-ДОКС, акты внедрения результатов диссертационного исследования, протокол валидации хроматографической методики количественного определения хитозана, доксорубицина и бензойной кислоты в конъюгате.

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям и выводам диссертации.

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы

Достоинством диссертационной работы является то, что автором проведен глубокий анализ литературы по теме диссертации, запланирован и выполнен большой объем экспериментальных исследований, что позволило получить объективные и достоверные результаты. Диссертационная работа

хорошо оформлена, содержит достаточное количество иллюстративного материала.

Однако в процессе ознакомления с работой возникли замечания и требующие разъяснения вопросы:

1. Название рисунка 27 «Хроматограмма стандартного раствора ДОКС-АГ в режиме элюирования G4» не соответствует приведенной на нем хроматограмме смеси соединений.
2. В протоколе валидации приведены методики приготовления калибровочных растворов для установления линейности определения доксорубина, глюкозамина и бензойной кислоты методом ВЭЖХ, но не представлены методики приготовления модельных смесей для оценки правильности и прецизионности.
3. Из представленных в диссертационной работе данных непонятно, в каком виде хроматографируется доксорубин после пробоподготовки лиофилизата методом кислотного гидролиза. В разделе 3.2.3 и протоколе валидации (Приложение 3) указываются параметры хроматографического пика агликона доксорубина (доксорубинона), а в приложении 2 (проекте НД) в формуле расчета учитывается площадь пика производного доксорубина после дериватизации 9-флюоренилметоксикарбонилем (FМОС). Возможно ли образование подобного деривата?
4. При использовании разработанной автором ВЭЖХ-методики содержание хитозана оценивается после его гидролиза до глюкозамина с последующим получением дериватов. При этом на хроматограмме наблюдаются 2 пика, по мнению автора относящихся к дериватам α и β – аномеров глюкозамина (в таблице 25 приводятся их абсолютные времена удерживания). В связи с этим возникает вопрос, каким образом были идентифицированы данные аномеры?

5. Какие длины волн применялись для детектирования целевых аналитов в методе ВЭЖХ? В проекте НД указана длина 265 нм, в названиях рисунков 26-27 – 240 нм. При использовании диодноматричного детектора целесообразно было бы привести УФ-спектры разделяемых соединений, полученные в процессе хроматографирования, и обосновать выбор канала (каналов) детектирования.
6. Раздел 4.6 Приложения 3 (Протокол валидации) посвящен оценке правильности и точности результатов определения доксорубина, глюкозамина и бензойной кислоты в модельных смесях методом ВЭЖХ. Чем отличается правильность от точности, и как согласуется оценка данных параметров с требованиями ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик».
7. Обоснована ли необходимость определения натрия трифосфата, бензойной кислоты, хитозана, обозначенных в НД как вспомогательные вещества, при оценке качества конъюгата?
8. Какие виды стабильности изучались при разработке данного лекарственного средства? Определяется ли свободный (неконъюгированный) доксорубин в лиофилизате? Имеет ли смысл включение данного теста в НД?

В тексте диссертации встречаются неудачные выражения и опечатки. Указанные замечания и поставленные вопросы не снижают значимости проведенных исследований, теоретической и практической ценности работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»

Таким образом, диссертационная работа Власова Сергея Сергеевича на тему «Синтез и контроль качества системы доставки доксорубина на основе микрочастиц Fe(0)», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 –

фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная проблема фармацевтической науки, касающаяся создания эффективной системы доставки лекарственных средств на основе микрочастиц железа ноль-валентного для применения в терапии и диагностике онкозаболеваний. Диссертационная работа Власова Сергея Сергеевича соответствует требованиям пунктов 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Власов Сергей Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

доцент кафедры токсикологической химии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения
высшего образования
«Пермская государственная
фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
кандидат фармацевтических наук
(15.00.02 - фармацевтическая химия и
фармакогнозия),
доцент

 Карпенко Юлия Николаевна

Адрес:
614990, Российская федерация,
Пермский край, г. Пермь,
ул. Полевая, д. 2
Тел. : (342) 282-58-65,
E-mail: perm@pfa.ru
03.12.2019

Подпись
заверяю:


(нач. отдела кадров)

