

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук *Фомина Анатолия Николаевича* на диссертацию *Кляшевой Ольги Николаевны* «**Разработка методик анализа и стандартизация нового биологически активного соединения КОН-1, проявляющего ноотропное действие**», представленную в диссертационный совет Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы. Одной из главных задач фармацевтической промышленности Российской Федерации является создание и освоение производства новых высокоэффективных лекарственных средств, в том числе препаратов с ноотропной активностью. Анализ литературных данных, проведенный диссертантом, показал, что в настоящее время среди ноотропных средств преобладает группа рацетамов (пирацетам, анирацетам, фенилпирацетам, фенотропил), обладающая широким спектром фармакологической активности, поэтому направленный поиск новых биологически активных соединений в ряду производных пирролин-2-она весьма актуален.

В ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России синтезировано перспективное соединение с выраженной ноотропной активностью - 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-он (КОН-1), показавшее антиамнестическое действие более высокое, чем у пирацетама. Проведение доклинических исследований КОН-1 предполагает на первом этапе всестороннее изучению физико-химических свойств его субстанции, разработке методов контроля её качества и способов стандартизации.

Поэтому тема диссертационной работы и исследования, выполненные Кляшевой О.Н., являются актуальными и своевременными.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом исследований Пермской государственной фармацевтической академии (номер государственной регистрации 01.9.50.007417).

Структура и содержание диссертации. Работа Кляшевой О.Н. состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (5 глав), общих выводов, списка литературы, включающего 167 наименований, в т. ч. 34 – зарубежных. Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста (из них 15 страниц – приложения); содержит 45 таблиц, 31 рисунок, 2 схемы. В приложении представлены проект ФСП (спецификация) на субстанцию КОН-1; акты внедрения и апробации результатов диссертационных исследований, свидетельствующие о практической значимости работы.

В введении диссертации чётко сформулированы цель и задачи исследования.

Первая глава содержит современные сведения о ноотропных лекарственных средствах, их классификации, механизму фармакологического действия. Рассмотрены вопросы по поиску новых биологически активных соединений, обладающих выраженным психотропным, в т.ч. и ноотропным действием. Представлена информация по синтезу и химическим свойствам различных производных 3-гидрокси-3-пирролин-2-она; методам анализа соединений, содержащих енольную гидроксильную группу; применению спектрофотометрии в видимой области спектра в анализе лекарственных средств.

Во второй главе описаны объекты, материалы и методы исследования. Указано, что все исследования проведены на 5 сериях субстанции КОН-1.

Третья глава посвящена изучению физико-химических свойств соединения КОН-1, в т.ч. его спектральных характеристик (УФ-, ИК- и ЯМР

^1H - спектров), нормированию показателей качества субстанции. Диссертант использовала полученные данные для разработки методик оценки качества субстанции. Для подтверждения подлинности КОН-1 дополнительно предложены чувствительные и избирательные реакции, основанные на свойствах енольного гидроксила и ароматического кольца. По методике ОФС ГФ 12 проведено определение микробиологической чистоты субстанции КОН-1.

В четвертой главе приведены результаты экспериментов по разработке методик количественного определения субстанции КОН-1. Установлены оптимальные условия количественного определения алкалиметрическим методом нейтрализации. Определены константы ионизации соединения; доказана возможность титрования субстанции в среде этилового спирта и диметилформамида. Разработаны методики алкалиметрического титрования КОН-1 с потенциометрическим и визуальным определением конца титрования. Методика, включённая в проект ФСП, валидирована по показателям линейность результатов, правильность и сходимость в аналитической области методики.

Разработаны методики количественного определения субстанции КОН-1 спектрофотометрическим методом в УФ- и видимой областях спектра, проведена их валидация. Для получения окрашенного фотометрируемого раствора использована реакция соединения КОН-1 с раствором железа(III) хлорида. Общепринятыми способами установлены оптимальные условия образования и состав продукта реакции. Методики рекомендованы для количественного определения соединения КОН-1 в грануляте, содержащем, кроме действующего, вещества лактозу и ПВП.

Пятая глава содержит экспериментальные данные по разработке методик определения специфических примесей в субстанции КОН-1. Для определения содержания 3-аминопропанола предложен спектрофотометрический метод в видимой области спектра на основе реакции с нингидрином. Подробно изучены условия проведения указанной

реакции. Для определения примесей метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты и 4-бромбензальдегида предложена методика обращенно-фазной ВЭЖХ. Найдены оптимальные условия определения примесей. Проведена валидация всех разработанных методик.

В шестой главе представлены результаты исследования по изучению стабильности субстанции КОН-1 при хранении в естественных условиях; сделан вывод о стабильности субстанции КОН-1 в течение не менее 3 лет.

Научная новизна. На основании комплексного химико-фармацевтического исследования разработаны методики анализа и установлены нормы качества субстанции нового биологически активного соединения КОН-1.

Определены физические константы, УФ-, ИК- и ПМР-спектральные характеристики КОН-1. Нормированы показатели, характеризующие подлинность и доброкачественность субстанции КОН-1, предложены четыре реакции подлинности. Установлены оптимальные условия оценки микробиологической чистоты КОН-1.

Разработаны и валидированы три методики количественного определения субстанции соединения КОН-1.

Найдены оптимальные условия обнаружения трёх возможных специфических примесей в субстанции исследуемого БАС методами ВЭЖХ и спектрофотометрии в видимой области спектра. Разработаны и валидированы методики определения указанных примесей.

Изучена стабильность и установлен срок годности субстанции КОН-1.

Практическая значимость и внедрение результатов работы. Кляшевой О.Н. установлены и нормированы показатели качества субстанции КОН-1, предложены рациональные методики оценки установленных показателей. Разработан проект ФСП на субстанцию КОН-1.

Способы оценки качества субстанции КОН-1, введенные в ФСП, и унифицированная методика спектрофотометрического определения

соединений из группы производных 3-пирролин-2-она с положительной оценкой апробированы на предприятии ЗАО «Медисорб» (г. Пермь).

Стандартизованные в соответствии с установленными требованиями серии субстанции КОН-1 используются при проведении фармакокинетических исследований на кафедрах токсикологической химии и физиологии с основами анатомии ГБОУ ВПО ПГФА.

Отдельные фрагменты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической химии ФОО ГБОУ ВПО ПГФА; использованы при разработке учебно-методического информационного комплекса «Анализ по функциональным группам (енольный гидроксил)» для дистанционного обучения студентов 3 курса фармацевтических ВУЗов.

Апробация работы. Результаты и основные положения диссертационной работы достаточно полно обсуждены на Российских конференциях с международным участием и межвузовских научно-практических конференциях.

Полнота публикаций. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 11 статей, в том числе в изданиях Перечня ВАК – 3. Публикации достаточно полно отражают содержание диссертации. Автореферат полностью соответствует основным положениям диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта специальности - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Степень обоснованности и достоверности научных результатов, положений и выводов диссертации. Анализ диссертационной работы Кляшевой Ольги Николаевны показывает, что все разделы выполнены на высоком научном уровне, в достаточной степени подтверждены экспериментальными материалами. Научные положения, выводы,

рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, являются достаточно обоснованными и достоверными. В работе использованы современные методы исследования (титриметрия, УФ-, ИК-, ЯМР¹H-спектроскопия, ВЭЖХ, спектрофотометрия в УФ- и видимой области), а при обработке результатов – методы математической статистики. Осуществлена валидация всех разработанных методик. По результатам исследований составлен проект ФСП на субстанцию КОН-1.

В целом диссертантом выполнен большой объем теоретических и экспериментальных исследований. Основные экспериментальные исследования проведены самим автором или при его непосредственном участии.

Однако при рассмотрении диссертации возникли следующие вопросы:

1. В соединении присутствуют две гидроксильные группы: енольный гидроксил и спиртовый. Как должны отличаться их константы ионизации? Какой характер водородной связи преобладает в этом соединении?

2. На стр. 48 написано «синглет метильной группы», надо уточнить: синглет метильной группы ацетильного фрагмента, так как у них разный химический сдвиг.

3. На стр. 47 в описании ПМР спектра соединения КОН-1 указаны сигналы протонов енольной и спиртовой гидроксильных групп при 11.4 и 4.3 м.д, а на приведенном рисунке 3.5 спектра (стр. 48) они отсутствуют.

4. На стр. 43 в описании ИК спектра следовало уточнить, что полоса поглощения при 1627 см⁻¹ соответствует двойной углерод-углеродной связи.

Высказанные замечания не принципиальны и не снижают ценности диссертационной работы.

Заключение. На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Кляшевой О.Н. «Разработка методик анализа и стандартизация нового биологически активного соединения КОН-1, проявляющего ноотропное действие» представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, выполненную на высоком теоретическом

и экспериментальном уровне. Диссертантом проведен большой объем приоритетных исследований, совокупность которых можно квалифицировать как решение задачи, имеющей значение для фармации и медицины, заключающейся в разработке способов контроля качества и стандартизации нового биологически активного соединения, обладающего ноотропной активностью. По актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности, новизне и практической значимости диссертационная работа Кляшевой Ольги Николаевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, 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, заведующий кафедрой
фармацевтической и
токсикологической химии
ГБОУ ВПО «Ярославский
государственный медицинский
университет» Минздрава России

Фөмин Анатолий Николаевич

150000, г. Ярославль,
ул. Революционная, д. 5
Тел: 8 (4852) 73-59-78
pharmchem.yma@yandex.ru

Подпись Фомина Анатолия Николаевича заве
Начальник управления кадров

П. Бобыр

«25» августа 2015г