

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук Фомина Анатолия Николаевича на диссертацию Бабиковой Евгении Анатольевны «Разработка способов оценки качества и стандартизация Мономекаина, проявляющего антиаритмическую активность», 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

В большинстве экономически развитых стран, в том числе и в России, заболевания сердечно-сосудистой системы занимают первое место среди причин инвалидизации и смертности.

Аритмии занимают около 15 % сердечно-сосудистых заболеваний, но именно они являются первыми признаками нарушения работы сердца. Для лечения различного типа аритмий медицинская практика располагает значительным числом лекарственных средств, однако, многие из них обладают либо опасными побочными эффектами, либо недостаточно эффективны.

Поиск новых БАВ, обладающих антиаритмической активностью, ведется среди соединений, относящихся к различным классам органических соединений. В частности, в ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России проводится целенаправленный поиск в рядах анилидов аминокарбоновых кислот. Одно из таких соединений – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат, получившее название Мономекаин, показало высокую антиаритмическую активность при низкой токсичности. На стадии доклинического исследования потенциального лекарственного средства необходима разработка способов его анализа и стандартизация. Исходя из этого, считаю, что тема диссертационной работы и исследования, выполненные Бабиковой Е.А., являются актуальными и своевременными.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическим планом НИР ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (номер государственной регистрации 01.9.50 007417).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 144 страницах компьютерного текста, включает 36 таблиц, 1 схему, 16 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы (глава 1), 5 глав экспериментальных исследований, общих выводов, списка литературы, включающего 160 источников, в том числе 25 иностранных, 9 приложений.

В приложении представлены таблицы по общей характеристике антиаритмических средств, результаты изучения стабильности Мономекаина, акты апробации и внедрения, спецификация на субстанцию исследуемого БАВ.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна и практическая значимость работы, личный вклад автора, а также изложены основные положения, выносимые на защиту, и апробация работы.

В первой главе (обзор литературы) рассмотрена классификация и механизм применяемых в настоящее время антиаритмиков, показана необходимость поиска новых более эффективных и безопасных БАС данной группы. Автором подробно рассмотрены способы оценки качества лекарственных средств из группы солей органических азотсодержащих оснований.

Обзор литературы изложен на современном уровне и соответствует теме исследования. Ссылки на литературные источники достоверны.

На основании анализа литературы Бабиковой Е.А. объективно и целенаправленно спланированы направления собственных исследований.

Во второй главе представлены объекты, материалы и методы исследования. Представлена схема синтеза Мономекаина, описан его постадийный контроль.

Третья глава диссертации посвящена разработке методик определения подлинности Мономекаина. Диссертантом изучены физико-химические свойства вещества, нормированы такие показатели качества, как внешний вид, растворимость, температура плавления, рН водных растворов, прозрачность и цветность растворов, потеря в массе при высушивании, сульфатная зола, тяжелые металлы.

Бабиковой Е.А. получены и проанализированы УФ, ИК, ЯМР ^1H спектры, исследована возможность использования полученных данных для разработки методик оценки качества. Автором определен удельный показатель поглощения; рекомендовано включить установление подлинности по ИК спектру и максимуму поглощения в УФ области в проект ФС.

В результате проведенного дериватографического исследования показано, что дериватограмма является индивидуальной характеристикой

соединений и может использоваться как дополнительный способ оценки качества.

Для подтверждения подлинности Мономекаина предложен ряд цветных реакций, основанных на свойствах функциональных групп соединения. Реакция гидролитического разложения с последующим доказательством образующегося первичного ароматического амина и реакция окисления нитрат-иона дифениламино введены в проект ФС на субстанцию Мономекаина. Проведено исследование Мономекаина на микробиологическую чистоту, показано, что исследуемая субстанция соответствует по этому показателю требованиям ГФ XII, предъявляемым к субстанциям категории 2.2.

В четвертой главе представлены результаты исследований по разработке методик количественного определения Мономекаина. Автором экспериментально определена константа диссоциации, обоснована необходимость титрования в среде протогенного растворителя, проведен выбор протогенного растворителя. Разработана методика количественного определения Мономекаина в среде уксусного ангидрида и уксусной кислоты ледяной с потенциометрическим способом установления конца титрования. В качестве альтернативной разработана методика экстракционного титрования раствором лаурилсульфата натрия. Проведена валидация методик по показателям: линейность, сходимость и точность результатов в аналитической области.

В пятой главе описано исследование Мономекаина хроматографическими методами – ТСХ и ВЭЖХ с целью обнаружения и установления предельного содержания посторонней примеси – *o*-толуидина, которая является исходным продуктом синтеза, найдена эффективная подвижная фаза для разделения Мономекаина и примеси методом ТСХ. Подобраны оптимальные условия определения этой же примеси в субстанции исследуемого БАВ методом ВЭЖХ: состав элюента, длина волны детектирования, скорость подачи подвижной фазы и др.

Испытание Мономекаина на чистоту хроматографическими методами на примере 5 серий показало, что ни в одной из них по разработанным методикам не было обнаружено примеси *o*-толуидина. Диссертант объясняет это тем, что примесь может отсутствовать (что вполне вероятно при строгом постадийном контроле процесса синтеза) или ее содержание менее 0,2 % – количеством *o*-толуидина, обнаруживаемым по разработанным методикам.

В проект ФС на Мономекаин введены обе методики, содержание *o*-толуидина нормировано в количестве не более 0,2 %, а общее содержание посторонних примесей – не более 0,5 %.

Разработана методика определения содержания остаточных органических растворителей в субстанции Мономекаина ацетона и бензола на основе ГХ. Экспериментально установлено по результатам анализа 8 лабораторных серий Мономекаина, что содержание ацетона и бензола не превышает предельные нормы, установленные ГФ XII.

В шестой главе представлены результаты исследований по установлению срока годности Мономекаина методом «ускоренного старения» (температура опыта 60 °С) и по результатам его хранения в естественных условиях. Установлен срок годности субстанции – 3 года, рассчитан температурный режим хранения (от 20 до 26 °С).

Определен срок годности Мономекаина при естественном хранении при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте (период наблюдения четыре года).

Научная новизна

Проведен комплекс исследований, необходимых для нормирования показателей качества субстанции нового БАВ – потенциального лекарственного средства, проявляющего антиаритмическое действие. Диссертантом определены физические константы, УФ, ИК и ПМР спектральные характеристики, предложены реакции подлинности на основе функциональных групп, входящих в структуру Мономекаина, нормированы показатели по содержанию хлоридов, сульфатов, тяжелых металлов, значению рН водного раствора.

На основе хроматографических методов ТСХ, ВЭЖХ и ГХ разработаны методики обнаружения и установления предельного содержания специфических примесей: *o*-толуидина, остаточных органических растворителей.

Обоснован и экспериментально подтвержден выбор условий титриметрического определения содержания Мономекаина. Разработаны две методики количественного определения исследуемого БАВ, одна из которых применима к субстанции, другая для количественного определения Мономекаина в лекарственных формах, которые планируется разработать для этого соединения. Обе методики валидированы. Установлен срок годности Мономекаина. Используемые диссертантом методы соответствуют современному состоянию фармацевтического анализа и требованиям ГФ XII издания.

Практическая значимость и внедрение результатов диссертационной работы

На основе проведенного комплекса исследований Бабикова Е.А. подготовила проект ФС, в котором представлены нормы, требования и способы

контроля качества БАС. Проект ФС с положительным заключением апробирован в Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» в г. Екатеринбурге. Фрагменты диссертационной работы использованы в лекционном курсе интернатуры специальности «Фармацевтическая химия и фармакогнозия».

Апробация работы

Основные положения работы доложены и обсуждены на ряде Международных и Российских научных и научно-практических конференций, конгрессов и форумов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 2 в изданиях Перечня ВАК. Публикации достаточно полно отражают содержание диссертационной работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения и результаты диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта указанной специальности.

Степень обоснованности и достоверности основных выводов

Диссертационная работа Бабиковой Е.А. выполнена на высоком научном уровне и содержит большой экспериментальный материал, имеет комплексный характер исследований. Экспериментальные исследования выполнены на современном поверенном оборудовании, полученные результаты обработаны статистически, проведена валидация методик количественного анализа. Достоверность полученных диссертантом результатов подтверждена экспертами независимой лаборатории. Научные положения и выводы, сформулированные в работе, являются обоснованными и согласуются с полученными экспериментальными данными.

Основные экспериментальные исследования выполнены Бабиковой Е.А. лично или при ее непосредственном участии.

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Разработанные методики анализа и требования ФС на новое биологически активное соединение, проявляющее антиаритмическую активность, рекомендуется использовать для стандартизации субстанции при проведении доклинических исследований в ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России и других фармацевтических и медицинских учреждениях.

Разработанная диссертантом система оценки качества субстанции Мономекаина, предложенные методики его анализа могут быть использованы

при проведении исследований по стандартизации подобных биологически активных соединений.

Диссертационная работа хорошо иллюстрирована, наглядный материал, представленный в диссертации, хорошего качества, работа изложена хорошим научным языком.

Автореферат в полном объеме отражает содержание диссертации.

Анализ диссертационной работы показал, что диссертантом выполнен значительный объем экспериментальных исследований, имеющих теоретическое и практическое значение.

При рецензировании работы возникли следующие **вопросы и пожелания:**

1. Как указано в диссертационной работе объект исследования Мономекаин является новым продуктом органического синтеза. Был ли получен на него патент? В тексте диссертации и в автореферате мной таких сведений не обнаружено.

2. Диссертантом проведен значительный объем исследований, связанных с разработкой определения специфической примеси *o*-толуидина. Автором сначала на 49 составах подвижной фазы проведено изучение хроматографического поведения только одного Мономекаина и только после этого на 6 подвижных фазах апробировано хроматографирование Мономекаина и примеси. Почему автор на начальном этапе не проводил исследования непосредственно основного вещества и примеси?

3. Исходя из схемы синтеза, в качестве посторонних специфических примесей могут быть и другие вещества. Хотелось бы знать мнение автора по этому вопросу.

4. Чем обусловлен режим температуры (60 °С) при изучении стабильности и срока годности Мономекаина.

5. При изучении стабильности и срока годности не проводились испытания на посторонние примеси. Чем это обусловлено?

6. Диссертантом разработан проект ФС на Мономекаин. Кем он утвержден и как заложенные в нем методы испытаний Мономекаина могут быть использованы после завершения диссертационного исследования?

Высказанные замечания не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Бабиковой Евгении Анатольевны «Разработка способов оценки качества и стандартизация Мономекаина, проявляющего антиаритмическую активность» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой

содержится решение актуальной задачи в области фармации и медицины, направленной на разработку отечественных потенциальных лекарственных средств, обладающих антиаритмическим действием.

Диссертационная работа по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, достоверности полученных результатов, уровню апробации и опубликованию основных положений в печати соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

20 января 2015 г.

Официальный оппонент
Заведующий кафедрой фармацевтической
и токсикологической химии ГБОУ ВПО
«Ярославский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации, доктор
фармацевтических наук, доцент

Фомин Анатолий Николаевич

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России)
150000, Ярославская область, г. Ярославль,
ул. Революционная, д. 5
тел. 8(4852) 73-59-78
E-mail: pharmchem.yma@yandex.ru

Подпись Фомина Анатолия Николаевича заверяю
Начальник управления кадров

А.П. Бобыр