

Министерство здравоохранения  
Российской Федерации



государственное бюджетное образовательное  
учреждение

высшего профессионального образования  
«ТЮМЕНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»

(ГБОУ ВПО ТюмГМА Минздрава России)

Одесская ул. д. 54, Тюмень, 625023

тел. (3452) 20-21-97, факс (3452) 20-62-00

E-mail: tgma@tyumsma.ru

ОКПО 01963551, ОГРН 1027200835859

ИНН/КПП 7203001010/720301001

№ \_\_\_\_\_  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

В диссертационный совет  
Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО  
«Пермская государственная  
фармацевтическая академия»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации

### ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук Кобелевой Т.А.  
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.** В стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года большое внимание уделяется созданию новых высокоэффективных и безопасных лекарственных средств отечественного производства, в том числе и препаратов с ноотропной активностью. Ноотропы широко используются в различных областях медицины. Анализ литературных данных, проведенный диссертантом, показал, что все известные препараты этой группы не лишены определенных недостатков. Поэтому поиск и внедрение новых наиболее активных

малотоксичных ноотропных лекарственных средств остается актуальной проблемой.

Перспективным соединением с выраженной ноотропной активностью является оригинальное соединение 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-он (условное название КОН-1), синтезированное в ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, показавшее антиамнестическое действие более высокое, чем у пиррацетама, и рекомендованное для доклинических испытаний. Следовательно, исследование по всестороннему изучению физико-химических свойств соединения КОН-1, разработке методов контроля качества и стандартизации его субстанции является весьма актуальным.

**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.** Диссертационная работа Кляшевой О.Н. изложена на 154 страницах машинописного текста (из них 15 страниц – приложения); включает 45 таблиц, 31 рисунок, 2 схемы. Состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (главы 2-6), общих выводов, списка литературы, включающего 167 наименований, в т. ч. 34 – зарубежных. В приложении представлены материалы, подтверждающие практическую значимость работы.

Для проведения исследования диссертантом сформулирована цель работы, логично определены и последовательно решены задачи для ее достижения.

В первой главе представлена характеристика ноотропных лекарственных средств: классификация, механизм фармакологического действия. Приведена информация по синтезу и химическим свойствам производных 3-гидрокси-3-пирролин-2-она; качественным и количественным методам анализа соединений, содержащих енольную гидроксильную группу. Диссертантом



рассмотрена возможность применения спектрофотометрии в видимой области спектра для анализа лекарственных средств. Обзор литературы изложен на современном уровне, соответствует содержанию диссертационных исследований. Ссылки на литературные источники достоверны.

Во второй главе приведены объекты, материалы и методы исследования. Дана характеристика использованных средств измерения, реактивов. Описаны методики проведения отдельных исследований, даны ссылки на стандартные методики исследования.

Третья глава содержит данные изучения физико-химических свойств соединения КОН-1. Здесь же представлены результаты по установлению показателей качества и их нормированию. В целях всестороннего изучения свойств соединения КОН-1 установлены его УФ-, ИК- и ЯМР<sup>1</sup>H- спектры; показана возможность использования полученных данных для разработки методик оценки качества субстанции. Для идентификации КОН-1 диссертантом применены реакции, обусловленные свойствами енольного гидроксила и ароматического кольца, определена чувствительность химических взаимодействий. Для установления селективности предлагаемых реакций проведены исследования с аналогичными производными, близкими по строению к исследуемому соединению КОН-1.

Четвертая глава посвящена разработке методик количественного определения субстанции КОН-1. Установлены оптимальные условия проведения анализа алкалометрическим методом. Диссертантом определены константы ионизации, которые показали возможность титрования как этанольного, так и диметилформаидного растворов исследуемого соединения. Разработаны методики анализа с потенциометрическим и визуальным определением конца титрования. Для включения в проект ФСП выбран способ алкалометрического определения спиртового раствора соединения КОН-1 с индикатором фенолфталеином. Проведена валидация разработанной методики по показателям линейность результатов, правильность и сходимости в аналитической области методики.

Предложена методика анализа субстанции КОН-1 спектрофотометрическим методом в УФ области спектра, проведена ее валидация. Погрешность определения не превышает  $\pm 0,76\%$ . Методика рекомендована для количественного определения соединения КОН-1 в грануляте, содержащем, помимо основного вещества, лактозу и ПВП. В качестве альтернативной разработана методика количественного определения спектрофотометрическим методом в видимой области спектра на основе реакции соединения КОН-1 с раствором железа (III) хлорида. Установлены оптимальные условия анализа, проведена валидация разработанной методики. Погрешность определения составляет  $\pm 0,90\%$ .

В пятой главе представлены результаты разработки методик определения посторонних примесей в субстанции КОН-1. Для обнаружения двух возможных примесей (метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты и 4-бромбензальдегида) предложена методика обращенно-фазной ВЭЖХ. Для определения примеси 3-аминопропанола выбран спектрофотометрический метод в видимой области спектра на основе реакции с нингидрином. Установлены оптимальные условия определения примесей. Проведена валидация разработанных методик.

В шестой главе приведены результаты исследования по изучению стабильности субстанции КОН-1 при хранении в естественных условиях. Проведенные исследования позволили сделать вывод о стабильности субстанции КОН-1 в течение не менее 3 лет.

**Научная новизна.** На основании комплексного химико-фармацевтического исследования нового биологически активного соединения КОН-1 разработана оптимальная система оценки качества субстанции этого вещества.

Установлены физические константы, УФ-, ИК- и ПМР-спектральные характеристики КОН-1. Нормированы показатели, характеризующие подлинность и доброкачественность субстанции КОН-1, предложены реакции



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

Найдены оптимальные условия обнаружения возможных посторонних примесей в субстанции изучаемого биологически активного соединения методами ВЭЖХ и спектрофотометрии в видимой области спектра. Разработаны и валидированы методики определения указанных примесей.

Установлены оптимальные условия оценки микробиологической чистоты соединения КОН-1.

Изучена стабильность и определены сроки годности субстанции КОН-1.

**Практическая значимость и внедрение результатов работы.** Диссертантом установлены и нормированы показатели качества субстанции КОН-1, предложены рациональные методики их оценки. Разработан проект ФСП.

Проведена апробация методик ФСП на фармацевтическом предприятии ЗАО «Медисорб» г. Пермь.

Стандартизованные в соответствии с установленными требованиями серии субстанции КОН-1 переданы для проведения фармакокинетических исследований на кафедры токсикологической химии и физиологии с основами анатомии ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия».

Фрагменты диссертационной работы включены в учебно-методический информационный комплекс «Анализ по функциональным группам (енольный гидроксил)», используемый в учебном процессе кафедры фармацевтической химии ФОО ГБОУ ВПО ПГФА.

**Апробация работы.** Результаты и основные положения диссертационной работы обсуждены на Российских конференциях с международным участием и межвузовских научно-практических конференциях, проводимых в Москве, Санкт-Петербурге, Перми, Курске, Екатеринбурге, Чебоксарах, Казани.

**Полнота публикаций.** По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 11 статей, в том числе в изданиях Перечня ВАК – 3, и 4 тезисов докладов. Автореферат и публикации по диссертационной работе в полной мере отражают ее основное содержание.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты, приведенные в диссертации, соответствуют области исследования, отраженной в пунктах 2 и 3 паспорта специальности - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Степень обоснованности и достоверности научных результатов, положений и выводов диссертации.** Анализ диссертационной работы Кляшевой О.Н. показывает, что все разделы выполнены на высоком научном уровне, в достаточной степени подтверждены экспериментальными данными. Основные исследования проведены автором или при его непосредственном участии. Научные положения, выводы, рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, являются достаточно обоснованными, доказательными и достоверными. Диссертантом использованы современные методы анализа (УФ-, ИК-, ЯМР<sup>1</sup>H-спектроскопия, титриметрия, ВЭЖХ, спектрофотометрия в УФ- и видимой области, микробиологическое исследование), а при обработке результатов – методы математической статистики. Осуществлена валидация разработанных методик в соответствии с требованиями ОФС «Валидация методов анализа». По результатам работы составлены проект ФСП на субстанцию КОН-1.

В целом диссертантом выполнен большой объем теоретических и экспериментальных исследований. Работа построена логично, хорошо оформлена и легко читается.

Однако при рассмотрении диссертации возникли следующие вопросы и замечания:



1. В работе не указаны выход соединения КОН-1 при его лабораторном синтезе и способ очистки субстанции.

2. Для подтверждения подлинности КОН-1 не использованы реакции доказательства наличия брома в соединении.

3. При установлении состава продукта реакции КОН-1 – железо (III) проводилось ли выделение его из раствора? Изучался ли его элементный состав?

4. Диссертантом установлено, что введение аскорбиновой кислоты в реакционную массу 3-аминопропанола с нингидрином значительно увеличивает интенсивность поглощения конечного продукта. Чем это можно объяснить?

5. Можно ли для количественного определения КОН-1 в составе гранулята использовать метод ВЭЖХ?

6. В оформлении диссертационной работы имеются некоторые погрешности:

- плохо читаются расчетные формулы на стр. 68 и 82;
- не обозначены оси графиков на рисунках 3.5 и 5.4 – 5.15.

Высказанные замечания не принципиальны, носят дискуссионный характер и не снижают ценности выполненных исследований.

**Заключение.** На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Кляшевой Ольги Николаевны «Разработка методик анализа и стандартизация нового биологически активного соединения КОН-1, проявляющего ноотропное действие» представляет собой законченную научно-квалифицированную работу, выполненную на высоком теоретическом и экспериментальном уровне. Автором проведен большой объем приоритетных исследований, совокупность которых можно квалифицировать как решение важной задачи, имеющей значение для фармацевтической отрасли, заключающейся в разработке оптимальной системы оценки качества нового биологически активного соединения с выраженной ноотропной активностью. По актуальности поставленных задач, научному уровню их решения, объему и

новизне исследований, степени обоснованности, достоверности и практической значимости полученных результатов 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, и ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

22 августа 2014 г.

Заведующая кафедрой аналитической и органической химии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Тюменская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
д.ф.н., профессор

Татьяна Алексеевна Кобелева

Подпись д.ф.н., профессора Кобелевой Т.А. заверяю:

Ученый секретарь Ученого Совета



С.В. Платицына