

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Арчаковой Ольги Александровны «Разработка аналитических подходов к проведению исследований фармакокинетики препаратов лаппаконитина», представленную в диссертационный совет 21.2.063.01, созданный на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки)

Актуальность темы исследования. В отечественной кардиологии вот уже почти на протяжении 40 лет для лечения аритмий используется лекарственное средство Аллапинин, действующим веществом которого является лаппаконитина гидробромид. Дитерпеновый алкалоид лаппаконитин выделяют из корней и корневищ Борца белоустого (*Aconitum leucostomum*) семейства Лютиковых (*Ranunculaceae*). Однако клиническая эффективность применения лаппаконитина гидробромида очень противоречива и по разным оценкам его антиаритмическое действие реализуется у 21–78% пациентов. Одной из причин такого разброса данных могут служить индивидуальные особенности метаболизма субстанции у больных. В недавнем исследовании, проведенном китайскими учеными, были изучены пути биотрансформации лаппаконитина гидробромида и установлены структуры 51 метаболита. Важным путем метаболизма является процесс гидролиза амидной связи, приводящий к дезацетилированию лаппаконитина. Для этого метаболита установлена большая терапевтическая широта и быстрота развития противоаритмического эффекта по сравнению с

исходной субстанцией. Невольно возникает вопрос, а не является ли лаппаконитин пролекарством? В этом случае эффективность его действия будет зависеть от количественного содержания *N*-дезацетиллаппаконитина в кровяном русле. Поэтому, разработка и валидация методики совместного определения лаппаконитина и его активного метаболита *N*-дезацетиллаппаконитина в биологической матрице человека является актуальной задачей.

Цель диссертационного исследования. При проектировании дизайна диссертационной работы Арчаковой О. А. была поставлена достаточно амбициозная и трудно достижимая цель. Ей предстояло разработать и валидировать методики количественного определения лаппаконитина и его активного метаболита *N*-дезацетиллаппаконитина в биологической матрице методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-селективным детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) для последующего изучения фармакокинетики антиаритмических лекарственных препаратов, содержащих лаппаконитина гидробромид. Автор успешно справился со всеми сложностями, и сформулированная цель была достигнута путем выполнения всех поставленных задач.

Научная новизна исследования. В диссертационной работе впервые представлены основные подходы к разработке биоаналитических методик определения малоизученных молекул природного происхождения на примере лаппаконитина и его активного метаболита *N*-дезацетиллаппаконитина, в частности, предложена оригинальная методика анализа этих соединений методом ВЭЖХ, в которой в качестве внутреннего стандарта, на основании сопоставительного анализа структурных формул и углубленного изучения физико-химических свойств, был предложен тримебутин и охарактеризованы его хроматографические параметры.

В целях апробации разработанной и валидированной методики совместного определения этих биологически активных соединений в плазме

крови человека был впервые произведен расчет фармакокинетических параметров для препаратов лаптаконитина гидробромида в форме таблеток пролонгированного действия.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Научные положения соответствуют паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пункту 4: Разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы.

Теоретическая и практическая значимость работы.

В диссертационном исследовании Арчаковой О. А. представлены биоаналитические аспекты работы с малыми молекулами алкалоидной природы на примере лаптаконитина и *N*-дезацетиллаптаконитина, а именно разработаны условия масс-селективного детектирования, хроматографического разделения компонентов, осуществлен выбор биологической матрицы для проведения биоаналитического исследования и аналитических диапазонов для анализируемых соединений.

В Приложении к диссертационной работе имеется 3 акта внедрения, в которых содержится информация о внедрении предложенных подходов в научно-практическую и образовательную деятельность: исследовательского центра ООО «ЦФА» (акт внедрения от 28.11.2023 г.), кафедры фармацевтической и токсикологической химии Южно-Казахстанской медицинской академии (акт внедрения от 22.12.2023 г.), ИЛ ЦККЛС ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (акт внедрения от 15.03.2024 г.). Кроме того, результаты изучения фармакокинетики лекарственного препарата Аллафорте®, таблетки пролонгированного действия 25 мг (АО «Фармцентр ВИЛАР», Россия) внесены в регистрационное досье фармацевтической компанией АО «Фармцентр ВИЛАР» (акт внедрения от 01.09.2023 г.).

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики. Разработанная и валидированная методика совместного определения лапаконитина и *N*-дезацетиллапаконитина в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС может быть использована для изучения фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов лапаконитина в различных дозировках, а также в терапевтическом лекарственном мониторинге для обеспечения эффективной и безопасной терапии аритмий в рамках концепции персонализированной медицины.

Личный вклад автора составляет не менее 90 %. Арчакова О. А. непосредственно участвовала на всех этапах работы: постановке целей и задач исследования, осуществлении эксперимента, представлении результатов в виде докладов и публикаций, написании диссертации и автореферата. Ею самостоятельно проведена разработка и валидация методики совместного определения лапаконитина и его активного метаболита *N*-дезацетиллапаконитина в биологической матрице методом ВЭЖХ-МС/МС, анализ испытуемых образцов от здоровых добровольцев в рамках клинического исследования препаратов лапаконитина, а также статистическая обработка полученных результатов.

Степень обоснованности научных положений, выводов, и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Базовым методом исследования выбран метод ВЭЖХ-МС/МС, как адекватный поставленным целям и задачам. Этот высокопрецизионный инструментальный метод наиболее подходит для выполнения биоаналитических исследований и широко используется во всем мире.

Все этапы исследования были проведены в соответствии с актуальной на территории Российской Федерации нормативной документацией, а именно Правилами проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза (утверждены

решением № 85 Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г.).

Следует отметить высокий уровень обсуждения научным сообществом, выполненного автором исследования. Диссертант неоднократно докладывал основные результаты работы на различных конференциях и форумах.

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 8 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации, рекомендованные ВАК Минобрнауки России, и 2 статьи, включенные в наукометрическую базу данных Scopus.

Общая характеристика диссертационной работы. Диссертационная работа написана в соответствии с актуальными требованиями, изложенными в ГОСТе Р.7.0.11-2011 и включает введение, литературный обзор, 1 главу, описывающую материалы и методы исследования, 1 экспериментальную главу, заключение, список сокращений и условных обозначений и 1 приложение. Данная работа изложена на 145 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 21 рисунком и 69 таблицами. Список литературы состоит из 126 источников, из них 48 источников – на иностранных языках. Почти 80% работ опубликованы за последние 10 лет, а свыше 60% – за последние 5 лет, что свидетельствует об интересе научного сообщества к вопросам, рассматриваемым в диссертации.

Анализ диссертации по главам

Во введении отражены актуальность темы исследования, цель и задачи, научная новизна, а также теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования.

В первой главе, по традиции, представлен литературный обзор по теме диссертации. Общая характеристика аритмий логично связана с фармакотерапией данной патологии и детальным описанием – лаппаконитина гидробромида, в том числе представлены данные о его

метаболизме, доклинических и клинических исследованиях. Особое внимание Арчакова О. А. уделила имеющимся в литературе биоаналитическим методикам определения лаппаконитина и N-дезацетиллаппаконитина в биологических матрицах. На основании обобщения этого материала автор выявил отсутствие данных по совместному определению лаппаконитина и его метаболита в биологических матрицах человека, что в дальнейшем и послужило основой диссертационного исследования.

Во второй главе приведена информация о материалах и методах исследования.

В третьей главе обсуждаются полученные результаты. Диссертант предпочел не дробить экспериментально полученные данные, а представить их в одной главе. В основе структурирования данной главы лежат три основных этапа исследования: валидационный, аналитический и фармакокинетический. Такая целостная подача материала свидетельствует о том, что автор владеет навыком систематизации полученных данных. В главе описаны особенности разработки условий масс-селективного детектирования, хроматографического разделения, предложены алгоритмы подбора аналитических диапазонов для каждого из анализируемых веществ, а также выбора биологической матрицы. Представлена полная валидация биоаналитической методики, проведенная согласно требованиям актуальной нормативной документации.

Приведены результаты апробации разработанной и валидированной методики, а именно результаты анализа испытуемых образцов здоровых добровольцев и расчет фармакокинетических параметров в рамках клинического исследования лекарственного препарата на основе лаппаконитина гидробромида.

В заключении представлены общие результаты и выводы согласно ранее поставленным задачам, которые логично вытекают из результатов проведенного эксперимента.

В автореферате кратко изложены результаты диссертационного исследования, позволяющие составить представление о сути работы.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации. Диссертационная работа на тему «Разработка аналитических подходов к проведению исследований фармакокинетики препаратов лаппаконитина» может быть охарактеризована как интересно задуманная, тщательно спланированная и скрупулезно выполненная на высоком научном уровне. Подробное описание эксперимента позволяет полностью его воспроизвести. Поражает и масштаб, выполненного исследования. Диссертант проанализировал 952 образца.

Несомненное достоинство работы – это оптимально выбранный базовый метод для разработки методики, а именно метод ВЭЖХ, сочетанный с масс-спектрометрическим способом детектирования путем мониторинга множественных реакций в режиме положительной ионизации, поскольку анализируемые соединения имеют третичный атом азота. Особо необходимо отметить удачный подбор диссертантом внутреннего стандарта. В тримебутине, так же как в лаппаконитине и *N*-дезацетиллаппаконитине, содержатся простые эфирные и сложноэфирные группы, ароматические фрагменты и третичный атом азота, кроме того, все эти соединения являются липофильными, учитывая значения $\log P$, а следовательно, близки по своим физико-химическим свойствам и хроматографическим параметрам.

Оформительская часть, выполненного диссертационного исследования также заслуживает высокой оценки по следующим причинам: полученные данные изложены последовательно и логично; выводы коррелируют с результатами научный стиль изложения материала позволяет с интересом

знакомиться с диссертацией; работа написана грамотно и практически не содержит ошибок.

В целом выполненное исследование оценивается положительно, однако при рассмотрении работы возникли некоторые вопросы и замечания:

1. Поскольку диссертационная работа связана с разработкой биоаналитической методики не только субстанции, но и ее метаболита, то в литературном обзоре следовало бы уделить большее внимание вопросам взаимосвязи биологической активности метаболитов с их структурой. В связи с этим возникает первая группа вопросов. С позиций теоретической органической химии сложноэфирная связь гидролизуется легче по сравнению с амидной. Какая информация имеется в литературе относительно метаболита, полученного путем гидролиза сложноэфирной связи лаппаконитина? Исследовалась ли ранее его биологическая активность, имеются ли сведения о количественном соотношении *N*-дезацетиллаппаконитина и метаболита, полученного за счет гидролитического расщепления сложноэфирной связи?
2. В разделе 3.1.2. главы Результаты и обсуждение, при выборе дочерних ионов для мониторинга, представляло интерес не только указание соотношения массы к заряду у пиков этих ионов, но и их интерпретация, соответствующими им химическими структурами.
3. Для однозначного восприятия результатов следовало привести в соответствие названия образцов, описанных в главе Материалы и методы (глава 2) с подрисуночными подписями к рисункам хроматограмм в главе Результаты и обсуждение (глава 3). Например, в главе 2 используется терминология «модельные образцы плазмы крови», «бланковые образцы плазмы крови»,

однако эта терминология не встречается потом в подрисуночных подписях.

4. Целесообразно было бы добавить комментарии после рисунков с хроматограммами в главе Результаты и обсуждение.
5. Небольшая ремарка в плане оформления диссертационной работы. Полагаю, что как для читающего работу, так и для автора более удобна нумерация рисунков и таблиц внутри каждой главы по сравнению со сквозной нумерацией, использованной диссертантом. Кроме того, некоторые сокращения, использованные в тексте, например НПКО (нижний предел количественного определения) не внесены в список сокращений.

Вопросы и отдельные замечания не принципиальны, не снижают достоинства диссертационной работы и не влияют на ее общую положительную оценку.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать заключение, что диссертационная работа **Арчаковой Ольги Александровны** на тему: «Разработка аналитических подходов к проведению исследований фармакокинетики препаратов лаппаконитина» является законченным научным исследованием, имеющим существенное значение для развития фармацевтической науки и практики. В данной диссертационной работе представлено решение одной из научных задач фармацевтической науки, а именно разработка аналитических подходов к изучению лекарственных препаратов в рамках проведения клинических исследований.

По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности

результатов и выводов диссертационная работа **Арчаковой Ольги Александровны** соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786, от 25.01.2024 г. № 62), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, **Арчакова Ольга Александровна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ

Профессор кафедры химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), доктор фармацевтических наук (3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор Селиванова И. А.



«30» мая 2024 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации «Сеченовский Университет»

Почтовый адрес: 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
Телефон: +7(917)504-77-55; e-mail: irinaselivanova@yandex.ru

