

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу

Комарова Тимофея Николаевича

«Методологические основы биоаналитических исследований препаратов для терапии новой коронавирусной инфекции»,

представленную на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки)

Актуальность темы

Новая особо опасная коронавирусная инфекция, обусловленная вирусом SARS-CoV2, вызвала большие последствия во всём мире. Согласно имеющимся данным, в связи с высокой вероятностью мутации коронавируса нового типа, возникает риск новых вспышек данного заболевания, в том числе и вызываемых штаммами, устойчивыми к существующим вакцинам. В настоящее время разработан ряд эффективных противовирусных средств, накоплен определенный материал положительных клинических результатов, но нет еще окончательной ясности роли и участия данных лекарственных соединений в патофизиологических механизмах и их воздействия непосредственно на коронавирусы. Это тем более справедливо для инновационных комбинированных препаратов, разработанных российскими производителями, фармакологическую эффективность и безопасность которых предстоит обосновать в процессе доклинических и клинических исследований. В связи с уникальностью и значимостью этой проблемы для медицины и фармации в Российской Федерации был введен ускоренный порядок регистрации лекарственных препаратов для лечения больных новой коронавирусной инфекцией и получения разрешительных документов на их использование. Поэтому тема представленной работы, посвященной созданию химико-аналитической основы последующих фармакокинетических исследований, разработке обобщенных методологических рекомендаций к проведению биоаналитических исследований, позволяющих снизить сроки проведения данных исследований и ускорить вывод инновационных противовирусных лекарственных средств на российский рынок актуальна и практически значима.

Целью исследования является разработка методологических подходов к проведению биоаналитических исследований на этапе проведения исследований фармакокинетики в рамках разработки и регистрации лекарственных средств в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции.

Научная новизна

Диссертантом предложена и экспериментально обоснована методология проведения биоаналитических исследований лекарственных средств, перспективных для применения в терапии новой коронавирусной инфекции, как некое единое целое фармацевтической фазы и первичной фармакокинетической фазы. Впервые разработаны оригинальные хроматографические методики количественного определения в плазме крови фавипиравира в инфузионной лекарственной форме, комбинированных лекарственных форм фавипиравира и молнупиравира, молнупиравира и ионов цинка, твёрдых дозированных лекарственных форм молнупиравира, нирматрелвира в комбинации с ритонавиром. Все методики валидированы и апробированы в рамках исследований фармакокинетики I фазы с целью обоснования их применимости для широких фармакокинетических исследований. Методики совместного определения фавипиравира и β -N4-гидроксицитидина (метаболита молнупиравира) обладают более высокой чувствительностью по сравнению с аналогами. Исследование фармакокинетики инфузионной лекарственной формы фавипиравира в разных дозах, сравнительная характеристика фавипиравира совместно с активным компонентом молнупиравира β -N4-гидроксицитидином, нирмалтревира и ритонавира и полученные в результате профили динамики концентраций в плазме крови и фармакокинетические параметры имеют важное значение в качестве ориентира для последующих доклинических и клинических испытаний.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации полностью соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно 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

Предложенный Комаровым Т.Н. на основе обширных экспериментальных исследований лекарственных средств, применяемых в терапии новой коронавирусной инфекции, методологический подход к проведению биоаналитических исследований имеет самостоятельную ценность и может быть применен в качестве ориентировочной основы действия при разработке инновационных препаратов различных фармакологических и химических групп.

Высокой оценки заслуживают разработанные автором методики совместного определения активных компонентов комбинированных лекарственных форм вышеперечисленных противовирусных препаратов.

Результаты проведённых исследований являются частью регистрационных досье, подготовленных в рамках регистрации и вывода на рынок ряда препаратов, применяемых для терапии новой коронавирусной инфекции. Исследуемые лекарственные препараты были зарегистрированы на территории Российской Федерации, применялись в клинической практике в период пандемии COVID-19, и применяются по настоящее время. Результаты проведённого исследования внедрены в деятельность ряда крупных фармпроизводителей в рамках фармацевтической разработки, контрактно-исследовательских организаций, клинических центров и биоаналитических лабораторий, проводящих исследования фармакокинетики и биоэквивалентности, а также ряда российских и зарубежных вузов в рамках научно-исследовательской и образовательной деятельности.

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики

Результаты исследования вошли в состав модуля «Клинические исследования» регистрационных досье на лекарственные препараты при осуществлении процедуры государственной регистрации, по результатам которой были получены регистрационные удостоверения, а изучаемые лекарственные препараты были включены в актуальные клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации, действующие в настоящее время, и применяются в клинической практике.

Результаты исследования (предлагаемые алгоритмы и деревья решений) могут быть использованы в дальнейшем при проведении аналитического этапа исследований фармакокинетики новых лекарственных средств.

Личный вклад автора заключается в проведении выбора темы и структуризации исследования, постановки цели и задач исследования, планировании и выполнении эксперимента, статистической обработке экспериментальных данных, проведении расчётов, построении графиков, формулировании выводов по результатам исследования, докладов и публикациях, внедрении результатов исследования в практическую деятельность.

Автором лично разработаны и валидированы методики определения исследуемых веществ в плазме крови, рассчитаны фармакокинетические параметры, сформулированы методологические рекомендации и алгоритмы принятия решений в рамках проведения аналитической части фармакокинетических исследований противовирусных лекарственных средств в условиях пандемии. Степень личного участия автора оценивается не менее, чем в 90%.

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

Научные положения, выводы, практические результаты, приведённые в диссертации, аргументированы, обоснованы, подтверждены большим объемом экспериментальных данных. Применяемые методы адекватны поставленным задачам. Полученные Комаровым Т. Н. результаты убедительны, их достоверность подтверждена адекватной статистической обработкой. Результаты экспериментальной работы наглядно представлены на рисунках и обобщены в таблицах.

Выводы и практические рекомендации исходят из содержания работы и практических результатов, полученных в ходе исследования. Основные положения имеют как научное (разработка методологической аналитической основы проведения фармакокинетических и биофармацевтических исследований), так и практическое значение (расширение арсенала способов анализа противовирусных лекарственных средств).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 26 научных работ, среди которых 20 статей в изданиях, включенных в наукометрическую базу данных Scopus (в т.ч. в журналах категории Q1), в том числе 16 статей в журналах перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации, рекомендованные ВАК Минобрнауки России, а также главы в двух монографиях.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа характеризуется структурной целостностью и логичностью при выборе методов исследования и изложении материала. Диссертация включает введение, обзор литературы, 9 глав экспериментальных исследований, выводов, приложений и списка литературы, включающего 342 источников, из них 232 – на иностранных языках. Работа содержит 143 таблицы и иллюстрирована 65 рисунками.

Во введении диссертант показал актуальность темы исследования, изложил цель и задачи исследования, обозначил новизну и практическую значимость проведённых исследований. Цель работы сформулирована четко и соответствует теме диссертации, задачи достаточно обоснованы и адекватны поставленной цели исследования.

Литературный обзор (глава 1) соответствует проблематике диссертационной работы. Представлена характеристика коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV2, фармакотерапевтические подходы, а также роль этиотропной терапии для лечения инфекции данного типа. Рассмотрены существующие на настоящее время методики определения исследуемых соединений в биологическом материале. Дана оценка исследуемым лекарственным веществам с точки зрения их фармакологических, химических и физико-химических свойств.

Вторая и третья глава отражают в совокупности реализацию соответственно задач диссертационной работы и характеризуют аналитический этап исследования инновационной формы фавипиравира в виде лиофилизата для приготовления растворов для инфузий. Во второй главе представлено подробное описание этапов разработки и валидации методики количественного определения фавипиравира методом ВЭЖХ с УФ-спектрофотометрическим детектированием. Проведён научно обоснованный выбор аналитического метода, который обеспечивает достаточный диапазон концентраций для проведения фармакокинетических исследований, а также сравнительный анализ разработанной методики с ранее опубликованными.

В третьей главе отражены результаты исследования фармакокинетики фавипиравира в виде впервые разработанной инфузионной лекарственной формы, показывающие применимость представленной автором аналитической основы для последующего более широкого проведения фармакокинетических исследований.

В четвертой главе представлены результаты разработки и валидации методик количественного определения фавипиравира и β -N4-гидроксицитидина (метаболита молнупиравира) в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Каждый этап достижения этих задач диссертационной работы подтвержден обширным материалом, представленным в таблицах и на рисунках, что свидетельствует о корректности полученных результатов.

Несомненный интерес для последующих доклинических и клинических этапов представляют результаты исследований фармакокинетики фавипиравира в составе комбинации с ионом цинка и молнупиравира в виде его активного метаболита, приведенные в пятой и шестой главах. Безусловной новизной обладают полученные диссертантом в рамках клинических исследований I фазы сравнительные фармакокинетические параметры, необходимые для обоснования и дальнейшего продвижения на фармацевтический рынок отечественных разработок - комбинированной формы «Арепливир® Цинк» и «Эсперавир®», капсулы.

Одной из современных тенденций развития фармации является создание комбинированных препаратов, расширяющих спектр фармакологической активности. В обширной седьмой главе приводятся результаты разработки и валидации методик совместного определения фавипиравира и β -N4-гидроксицитидина, как активных компонентов впервые разработанного в нашей стране комбинированного препарата молнупиравира и фавипиравира, нирматрелвира и ритонавира методом ВЭЖХ с тандемным

масс-селективным детектированием с целью проведения исследований фармакокинетики комбинированных лекарственных форм.

В восьмой главе представлены результаты исследований фармакокинетики фавипиравира и молнупиравира в составе комбинированной лекарственной формы. Полученные результаты позволили на основании анализа фармакокинетических параметров высказать заключение об отсутствии влияния индивидуальных компонентов препарата на фармакокинетику друг друга, а также подтвердить применимости разработанной методики в исследовательской практике.

Заключительная девятая глава обобщает опыт, накопленный автором в процессе экспериментальных исследований, в виде методологических рекомендаций, оформленных как «деревья решений» на всех этапах создания аналитических методик. Предложены алгоритмы выбора биологической матрицы, внутреннего стандарта, способа пробоподготовки, выборе метода и подборе параметров аналитических методик.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Диссертационная работа Комарова Т. Н. демонстрирует высокий уровень планирования эксперимента, владения автором основными приемами и методами определения лекарственных средств и/или их метаболитов в биологических жидкостях, а также современными физико-химическими методами анализа. Несомненным достоинством диссертации Т. Н. Комарова является то, что каждая глава заканчивается логически строго обоснованными выводами по результатам проведенного эксперимента.

Несмотря на то, что предложенный методологический подход был обоснован в рамках небольшой группы противовирусных лекарственных средств, он, несомненно, применим для более широкого круга объектов и можно рекомендовать автору на основе содержания этой главы подготовить методические рекомендации по разработке методик для фармакокинетических исследований, что особенно ценно для начинающих работать в этой области молодых исследователей.

Данные диссертационного исследования используются при проведении планирования клинических исследований рядом ведущих российских исследовательских организаций и клинических центров, а также рядом российских и зарубежных вузов при осуществлении научно-исследовательской и образовательной деятельности. По результатам проведенных исследований производителем исследуемых препаратов получен ряд регистрационных удостоверений, а сами исследуемые препараты включены в клинические рекомендации Министерства

Здравоохранения и применяются в клинической практике, что доказывает высокий уровень проведенного исследования.

В целом работа заслуживает высокой оценки, вместе с тем хотелось бы привести ряд вопросов и замечаний:

1. Чем вы объясняете использование различных осадителей при проведении пробоподготовки при определении фавипиравира отдельно (метанол) и совместно с гидроксцитидином (ацетонитрил)?

2. Почему при проведении определения фавипиравира совместно с гидроксцитидином вы не использовали изотоп-меченый фавипиравир в качестве внутреннего стандарта, как в отдельной методике определения фавипиравира?

3. При изучении влияния солей цинка на фармакокинетику фавипиравира учитывалось ли влияние эндогенного содержания цинка в организме человека, а также его изменение в зависимости от приема пищи, богатой продуктами питания, содержащими ионы цинка?

4. По хроматограммам, некоторым расчетным валидационным характеристикам, соотношению сигнал-шум, можно отметить, что при разработке методики определения фавипиравира и гидроксцитидина при совместном присутствии вы могли добиться значительно более низких значений нижнего предела количественного определения для гидроксцитидина.

Приведенные замечания носят уточняющий характер и не снижают общей высокой оценки работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Учитывая все вышеизложенное можно сделать заключение, что диссертационная работа **Комарова Тимофея Николаевича** на тему: «Методологические основы биоаналитических исследований препаратов для терапии новой коронавирусной инфекции» является законченным научным исследованием, имеющим существенное значение для развития фармацевтической науки и практики, решающим проблему разработки методологических подходов к проведению биоаналитических исследований лекарственных средств, применяемых в терапии новой коронавирусной инфекции, как важнейшей части процедуры регистрации лекарственных средств в условиях пандемии, что является важной научной проблемой, имеющей высокое социально-экономическое и хозяйственное значение для государства.

По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа **Комарова Тимофея Николаевича** соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении

