

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Карнаковой Полины Константиновны «Биоаналитические исследования инновационных препаратов – производных малоновой кислоты», 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

Проведение биоаналитических исследований в рамках ранних фаз клинических исследований – важный этап разработки новых лекарственных препаратов. Для введения в клиническую практику новых препаратов необходимо изучение их фармакокинетики у человека, для этого обязательным этапом является разработка и валидация биоаналитических методик количественного определения изучаемых веществ в биообразцах крови человека.

Производные малоновой кислоты малобен и этмабен, не применявшиеся до этого момента у человека, являются перспективными кандидатами для создания новых лекарственных препаратов для лечения заболеваний сердца и печени (ишемической болезни сердца и метаболически ассоциированной жировой болезни печени). В связи с отсутствием данных о фармакокинетике малобена и этмабена у человека разработка биоаналитических методик их количественного определения в плазме крови является необходимым этапом проведения клинических исследований с целью установления фармакокинетических параметров.

Цель диссертационного исследования

Целью диссертационного исследования Карнаковой П.К. является разработка и валидация биоаналитических методик количественного определения малобена и этмабена для оценки фармакокинетических параметров препаратов на основе данных веществ в рамках I фаз клинических исследований. Для достижения сформулированной цели автором были поставлены и выполнены следующие задачи:

1. Разработать биоаналитическую методику количественного определения малобена в плазме крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) и провести ее валидацию в соответствии с действующими регуляторными требованиями.

2. Провести количественное определение малобена в образцах плазмы крови добровольцев, включенных в клиническое исследование фазы I

лекарственного препарата, содержащего малобен, на основании изученных концентрации малобена в образцах плазмы крови добровольцев рассчитать фармакокинетические параметры малобена в рамках клинического исследования фазы I лекарственного препарата малобена.

3. Разработать биоаналитическую методику количественного определения этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС и провести ее валидацию в соответствии с действующими регуляторными требованиями.

4. Провести количественное определение этмабена в образцах плазмы крови добровольцев, включенных в клиническое исследование фазы I лекарственного препарата, содержащего этмабен, на основании изученных концентраций этмабена в плазме крови добровольцев рассчитать фармакокинетические параметры этмабена в рамках фазы I клинического исследования лекарственного препарата этмабена.

Научная новизна исследования

В диссертационном исследовании Карнаковой П.К. впервые разработаны методики количественного определения малобена и этмабена в образцах плазмы крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС для проведения биоаналитических исследований, а также впервые были определены концентрации малобена и этмабена в биообразцах добровольцев и оценены фармакокинетические параметры малобена и этмабена после применения у добровольцев.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует 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 работы

В диссертационном исследовании Карнаковой П. К. разработаны подходы к проведению исследований производных малоновой кислоты, а именно подходы к разработке и валидации методик количественного определения малобена и этмабена в образцах плазмы крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Представлены подходы к выбору аналитических диапазонов биоаналитических методик при анализе инновационных веществ при отсутствии сведений об их фармакокинетике.

Подходы к проведению фармакокинетических исследований препаратов на основе малобена и этмабена использованы в научно-исследовательской деятельности ИЛ ЦККЛС ФГБОУ ВО СПХФУ

Минздрава России. Результаты исследований фармакокинетики препаратов малобена и этмабена у здоровых добровольцев использованы в научно-исследовательской деятельности Центра экспериментальной фармакологии СПХФУ Минздрава России (акт внедрения от 27.05.2026 г.). Предложенные методологические основы и подходы к разработке, описанные в настоящей работе, внедрены в научно-практическую деятельность исследовательского центра Общества с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (акт внедрения от 22.09.2025 г.). Методики определения малобена и этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХМС/МС внедрены в образовательный процесс на кафедре фармацевтической и токсикологической химии Южно-Казахстанской медицинской академии в рамках дисциплин «Фармацевтическая химия» и «Токсикологическая химия»; результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую деятельность кафедры фармацевтической и токсикологической химии Южно-Казахстанской медицинской академии (акт внедрения от 02.04.2026 г.).

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики

Результаты проведенного диссертационного исследования представляют практический интерес для фармацевтической отрасли в рамках разработки и регистрации лекарственных средств. Разработанные и валидированные биоаналитические методики определения изучаемых производных малоновой кислоты могут использоваться для изучения фармакокинетики препаратов малобена и этмабена при проведении следующих фаз клинических исследований, а также в случае необходимости проведения терапевтического лекарственного мониторинга.

Личный вклад автора

Карнаковой П.К. принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований, анализе и обобщении полученных результатов. Личный вклад Карнаковой П.К. является основополагающим и составляет не менее 90%. Автором была проведена разработка методики количественного определения малобена методом ВЭЖХ-МС/МС и методики количественного определения этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС, валидация разработанных методик, проведение анализа испытуемых образцов от здоровых добровольцев, включенных в клинические исследования I фазы препаратов малобена и этмабена, а также обработка полученных результатов.

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

Все этапы исследования были проведены в соответствии с Правилами проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в

рамках Евразийского экономического союза (утверждены решением № 85 Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г.), действующими на территории Российской Федерации.

Диссертационное исследование выполнено с использованием современного физико-химического метода анализа – высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием. Данный метод анализа является предпочтительным вариантом при проведении биоаналитических исследований и широко используется во всем мире.

Публикации

По теме исследования опубликовано 11 научных работ, среди которых 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, из них 3 статьи в издании, включенном в международную базу данных Scopus.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Карнаковой П.К. состоит из введения, трех глав, заключения, списка литературы и приложения. Работа изложена на 172 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 31 рисунком и 39 таблицами. Список литературы включает 145 источников, из которых 64 источника на иностранных языках.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, обозначены поставленные цели и задачи, сформулирована научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования, приведена структура диссертационной работы, а также положения, выносимые на защиту.

Глава 1 «Обзор литературы» посвящена описанию малоновой кислоты и производных малоновой кислоты, в том числе в данной главе описано их фармакологическое действие и перспективы применения данных соединений. Особое внимание уделяется описанию изучаемых производных малоновой кислоты малобена и этмабена, дано химическое описание данных соединений, а также изучены опубликованные аналитические и биоаналитические методики определения данных соединений. Глава заканчивается выводами.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» посвящена описанию материалов и методов диссертационного исследования. Глава заканчивается выводами.

Глава 3 «Результаты исследования и их обсуждение» посвящена разработке и валидации методики определения малобена и методики определения этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Описаны основные шаги разработки данных биоаналитических методик (подбор условий масс-селективного детектирования, разработка условий хроматографического разделения, включающая выбор способа

пробоподготовки и внутреннего стандарта, подбор аналитических диапазонов методик). Описано проведение валидации каждой из разработанных биоаналитических ВЭЖХ-МС/МС методик. Представлена апробация разработанных и валидированных ВЭЖХ-МС/МС методик определения малобена и этмабена, а именно проведены аналитические и фармакокинетические этапы в рамках I фазы клинического исследования препарата малобена в форме таблеток, а также в рамках I фазы клинического исследования препарата этмабена в форме таблеток, покрытых оболочкой. Глава заканчивается выводами.

В заключении диссертационной работы представлены обобщенные выводы, соответствующие первоначально поставленным задачам исследования.

В приложении представлены акты внедрения результатов диссертационного исследования.

Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Принципиальных замечаний и вопросов по диссертационной работе не возникло. К отдельным вопросам и замечаниям, не влияющим на общую высокую оценку исследования в целом, относятся следующие:

1. В разделе «Методики определения малобена и этмабена» приведен обзор существующих подходов к определению малобена и этмабена (таблица 2). Преимущественно представлены методы ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС, а применение метода ВЭЖХ-МС/МС для анализа малобена и этмабена ранее не было описано. Чем обусловлен выбор ВЭЖХ-МС/МС в качестве метода для количественного определения изучаемых веществ?

2. Почему для пробоподготовки плазмы крови выбран метод осаждения ацетонитрилом, а не жидкость-жидкостная или твердофазная экстракция? Каковы преимущества и возможные ограничения выбранного подхода?

3. Согласно информации в главе 2, образцы хранились при температуре $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, при этом оценка долгосрочной стабильности проводилась только при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Чем обусловлено отсутствие отдельной оценки стабильности при температуре $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ и каким образом была обоснована возможность использования имеющихся данных по стабильности применительно к данному температурному режиму?

4. Глава 3 имеет достаточно большой объем информации и содержит результаты разработки и валидации методик, а также практическое применение с результатами оценки фармакокинетических параметров. Целесообразно было выделить практическое применение в отдельную главу.

5. В диссертационной работе метанол использовался для приготовления стандартных растворов малобена и этмабена. Однако условия пробоподготовки и хроматографического элюирования предполагают

использование ацетонитрила. Чем обусловлен выбор метанола в качестве первичного растворителя, а не ацетонитрила, учитывая, что использование одного растворителя на всех этапах могло бы упростить процедуру и повысить её воспроизводимость? Изучалась ли стабильность исходных растворов в ацетонитриле?

6. В диссертационной работе для малобена значение НПКО составляет 0,75 нг/мл. Однако, из данных, приведенных на Рисунке 20а, следует что в первой когорте (доза 60 мг) у некоторых добровольцев значение «Стах» находится в диапазоне 8-12 нг/мл. С учетом требований к валидации биоаналитических методик, значение НПКО должно составлять не более 5% от минимально наблюдаемой концентрации. Проводился ли отдельный расчет этого критерия на основе реальных данных клинического исследования?

7. Одним из оцениваемых валидационных параметров является параметр «пригодность стандартного образца». Чем обусловлена необходимость проведения оценки данного параметра при условии использования аттестованных стандартных образцов?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать заключение, что диссертационная работа **Карнаковой Полины Константиновны** на тему: «Биоаналитические исследования инновационных препаратов – производных малоновой кислоты» является законченным научным исследованием, имеющим существенное значение для развития фармацевтической науки и практики. В данной работе решена актуальная научная задача, а именно разработаны биоаналитические методики определения малобена и этмабена, которые могут использоваться для изучения фармакокинетических параметров новых лекарственных препаратов малобена и этмабена, что помогает продвинуться в разработке и регистрации новых отечественных лекарственных средств на основе производных малоновой кислоты.

По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа **Карнаковой Полины Константиновны** 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, 16.10.2024 г. № 1382), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее

автор, **Карнакова Полина Константиновна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ

Заведующий кафедрой фармацевтического анализа федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук (15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, 14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология), профессор



Михаил Валерьевич Белоусов

04.09.2026



ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
Ученый секретарь
 М.В. Терехов
04.09.2026

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
634050, Российская Федерация, Томская область, г. Томск, Московский тракт, д. 2
Телефон: +7 913 825-17-71
e-mail: mvb63@mail.ru