

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата фармацевтических наук, старшего научного сотрудника лаборатории метаболомного и протеомного анализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи **Перовой Ирины Борисовны** на диссертационную работу **Хорольского Михаила Дмитриевича** на тему: **«Разработка и валидация методик определения примесей с потенциальной генотоксичностью при стандартизации фармацевтических субстанций»**, представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Актуальность темы исследования

В последнее время, проблема необходимости внедрения новых, высокоточных и чувствительных методов анализа в рутинный контроль качества лекарственных средств (ЛС) становится все более актуальной. До недавнего времени контроль качества ЛС проводился с преимущественным использованием методов газовой хроматографии (ГХ) с пламенно-ионизационным детектором, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектором и др. Указанные методы обладают относительно низкой селективностью и чувствительностью, что ограничивает их возможности при идентификации и определении следовых количеств посторонних веществ в лекарственных препаратах (ЛП) и фармацевтических субстанциях (ФС).

В последнее время при контроле качества ЛС и ФС для достоверного определения следовых количеств микропримесей все шире используются методы ГХ и ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием (МС).

Одной из приоритетных с точки зрения высокой токсичности групп примесей, содержащихся в следовых количествах (менее 10 мг/кг или 10 млн⁻¹), являются N-нитрозамины. N-нитрозоамины – группа соединений,

обладающих выраженными мутагенными и тератогенными свойствами, причем большинство представителей этой группы проявляют также канцерогенные свойства при очень низких уровнях воздействия. Следовые концентрации N-нитрозоаминов, в частности N-нитрозодиметиламина (НДМА), были впервые обнаружены в 2018 году в ЛП и ФС «сартановой» группы.

Определение низких концентраций с помощью оптических спектральных методов детектирования сопряжено с рядом трудностей, основной из которых является недостаточная чувствительность и селективность методов, обусловленная отсутствием специфичных хромофорных и флуорогенных групп. Распространенный метод, основанный на деструкции N-нитрозоаминов с выделением оксида азота с последующим хемиллюминесцентным детектированием высокоселективен и чувствителен, но многостадийный, трудоемкий и требует дорогостоящего, практически неприменяемого для определения других токсичных примесей хемиллюминесцентного детектора.

Это определяет актуальность разработки хроматографических методик с использованием тандемного МС- детектирования, обеспечивающих высокую чувствительность и селективность при определении в ФС и ЛП всех четырех нормируемых N-нитрозоаминов: НДМА, N-нитрозодиэтиламина (НДЭА), N-нитро-4-метил-аминобутановой кислоты (НМБК) и N-нитроэтилизопропиламина (НЕИПА).

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

Научные положения и выводы обоснованы достаточным объемом изученных зарубежных и отечественных литературных источников.

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, отражающих основные результаты диссертации – 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в Перечень ВАК при Минобрнауки России и международные базы данных (из них 2 статьи в изданиях из Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки России и 3 статьи в журналах,

индексируемых в международных базах данных (Scopus, Web of Science, Chemical abstracts).

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

Диссертационная работа выполнена на современном научно-методическом уровне. Выводы сформулированы четко и соответствуют поставленным цели и задачам.

Методами статистической обработки полученных данных установлена воспроизводимость и правильность экспериментальных результатов исследований, что позволяет считать их достоверными.

В ходе выполнения диссертационного исследования впервые разработана и валидирована методика анализа ВЭЖХ-МС/МС, позволяющая проводить одновременное определение НДМА, НДЭА, НМБК и НЕИПА в ФС и ЛП валсартана, лозартана и ирбесартана. Разработана и валидирована методика ГХ-МС/МС, позволяющая одновременно определять НДМА и НДЭА в исследуемых ФС и ЛП.

Научная и практическая значимость полученных автором результатов.

Разработаны и валидированы высокочувствительные методики определения примесей N-нитрозаминов в ЛС группы «сартанов». Результаты проведенного исследования могут служить основой для разработки и валидации методик определения примесей N-нитрозаминов в других ЛС.

С использованием разработанной методики ВЭЖХ-МС/МС был проведен мониторинг ЛС валсартана, лозартана и ирбесартана, находящихся в обращении в Российской Федерации. В результате мониторинга в 4-х из 20 исследованных ЛП обнаружены НДМА и НДЭА в концентрациях от 0,0013 до 0,0062 мг/кг, что существенно ниже временно установленных Администрацией по пищевым продуктам и лекарствам США (FDA) максимально допустимых уровней (МДУ) в зависимости от суточной дозы ЛП от 0,08 до 1 мг/кг.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно – пунктам 2, 3, 6.

Краткая структура и оценка содержания диссертации

Диссертационная работа Хорольского М.Д. изложена на 134 страницах компьютерного текста. Работа состоит из оглавления, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, общих выводов, списков сокращений и условных обозначений и литературы, а также приложений. Список цитируемой литературы содержит 116 источников, из них 108 на иностранных языках.

Автором сформулированы цель и задачи диссертационной работы, раскрыта её научная новизна, теоретическая и практическая значимости; получены достоверные результаты, отраженные в положениях, выносимых на защиту.

Основная часть диссертационной работы разделена на 3 главы.

Первая глава представляет собой обзор литературы по исследуемой теме, включающий в себя описание существующей классификации примесей. Дано определение понятия, генотоксичные примеси, перечислены их основные свойства и отличия от обычных примесей. Приведено описание механизма генотоксичности N-нитрозаминов с описанием метаболического пути на примере НДМА. Со ссылками на научные публикации и патенты приведено описание теоретических путей образования примесей N-нитрозаминов в процессе синтеза валсартана, лозартана и ирбесартана. Проведен литературный анализ существующих методик определения примесей N-нитрозаминов в различных матрицах (пищевая продукция, окружающая среда, ЛС). Вывод о невозможности одновременного определения НДМА, НДЭА, НМБК и НЕИПА в ФС и ЛП рассмотренными в главе методиками представляется слишком категоричным и

необоснованным, поскольку ни разработчиками методик, ни автором не было подтверждено на практике. По остальным выводам замечаний нет.

В главе 2 описаны материалы и методы исследования, включая используемые стандартные образцы N-нитрозаминов, ФС валсартана, лозартана и ирбесартана, а также 20 закупленных для мониторинга ЛП.

Глава 3. Результаты и обсуждение содержит экспериментальные данные о проведенной разработке и валидации методик ГХ-МС/МС и ВЭЖХ-МС/МС. В главе поэтапно изложен ход разработки указанных методик с предшествующим воспроизведением существующих методик определения N-нитрозаминов с использованием ГХ-МС с прямым вводом и парофазным пробоотборником. Валидация разработанных методик проведена в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по всем основным валидационным показателям.

Общие выводы сформулированы четко и логично вытекают из поставленных задач.

В приложениях приведены акты внедрения разработанных методик в крупные фармацевтические компании.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Хорольского М.Д. выполнена на высоком научном уровне с использованием необходимых современных методов исследования. Каждая глава резюмируется выводами, которые кратко и ёмко описывают промежуточные результаты исследования. Общие выводы в диссертации, автореферате полностью отражают итоги научной работы диссертанта.

Оппонируемая работа в целом заслуживает положительной оценки, однако имеются некоторые вопросы и замечания:

1. В названии диссертационной работы следовало бы уточнить определяемую группу генотоксичных примесей – N-нитроамины, поскольку никаких других примесей не было исследовано.

2. Из содержания работы непонятно, почему методом ГХ-МС/МС определяли только два N-нитрозоамина (НДМА и НДЭА), а методом ВЭЖХ-МС/МС – все 4 (НДМА, НДЭА, НМБК и НЕИПА)?
3. С чем связано высокое различие в чувствительности методик (почти в 60 раз) при использовании химической ионизации при атмосферном давлении и ионизации типа электроспрей?
4. Чувствительность методики ВЭЖХ-МС/МС для НМБК в несколько тысяч раз ниже, чем для остальных N-нитрозаминов, почему?
5. В работе имеются неточности, в частности, в таблице 31 (стр. 113-114) для ЛП Лозап[®] указан МДУ только по НДМА, в то время как в нем обнаружены и НДМА, и НДЭА.
6. Следует отметить небрежный подход автора к сокращениям, после введения которых в тексте диссертации снова встречаются полные наименования, а также отсутствие единообразия при переводе терминов (например, ВЭЖХ/DAD-ИК на стр. 4) и конкретных N-нитрозаминов (часть на русском, часть на английском языках).

Данные замечания не являются принципиальными, не снижают значимость проделанной работы и не оказывают существенного влияния на общую положительную оценку диссертационного исследования.

Заключение

Таким образом, диссертация Хорольского Михаила Дмитриевича на тему: «Разработка и валидация методик определения примесей с потенциальной генотоксичностью при стандартизации фармацевтических субстанций» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по определению примесей N-нитрозаминов в ФС и ЛП группы «сартанов», имеющей существенное значение для фармацевтической химии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный

медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 31.01.2020 г. № 0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Хорольский Михаил Дмитриевич заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Кандидат фармацевтических наук

(14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия),

Старший научный сотрудник

лаборатории метаболомного и протеомного анализа

Федерального государственного бюджетного

учреждения науки Федеральный

исследовательский центр питания, биотехнологии

и безопасности пищи

Перова Ирина Борисовна



Адрес: Российская Федерация, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, дом 2/14