

Отзыв официального оппонента

доктора медицинских наук, профессора Жердева Владимира Павловича на диссертационную работу Яичкова Ильи Игоревича на тему «Создание новых подходов к разработке методик для определения нестабильных соединений в биологических объектах при проведении доклинических исследований лекарственных средств» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Актуальность темы выполненной работы

Изучение фармакокинетики в рамках доклинических исследований лекарственных препаратов позволяет получить информацию об особенностях их всасывания, распределения, метаболизма и экскреции. Биоаналитические методики определения для новых оригинальных молекул в биоматериале животных для выполнения этого этапа разрабатываются впервые. С целью обеспечения достоверности получаемых результатов методики должны выдержать валидационные испытания. В их состав входит оценка стабильности аналитов в пробах животных.

Некоторые лекарственные вещества после отбора образцов способны разлагаться. Для достижения химической устойчивости таких аналитов необходимо применение дополнительных мер. Так, некоторые сложные эфиры, лактоны, ацилглюкурониды и амиды подвергаются гидролизу. Для их стабилизации применяют специальные антикоагулянты, ингибиторы ферментов, буферные растворы для коррекции pH. Производные пирокатехина и тиолы способны окисляться в биоматериале. Для их достоверного количественного определения требуется использование антиоксидантов. Меркапто-группу целесообразно подвергать дериватизации. Выбор условий хранения образцов, содержащих нестабильные соединения, следует осуществлять экспериментально до начала фармакокинетического исследования. Ранее специального подхода для создания биоаналитических

методик количественного определения химически неустойчивых веществ в различных биологических объектах животных не разрабатывалось. Его появление гарантирует успешное прохождение процедуры валидации, а также точность измерений концентрации всех аналитов в испытуемых пробах.

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

В ходе разработки биоаналитических методик выполнено около 300 скрининговых и 50 подтверждающих экспериментов по подбору мер для предотвращения разложения изучаемых соединений в различных биологических матрицах. Правильность данных мер доказана путём валидационных исследований. Для каждого вида отобранных у животных биопроб был проведён их повторный анализ с целью подтверждения воспроизводимости результатов. Таким образом, основные научные положения диссертационной работы и выводы базируются на достаточном количестве экспериментальных данных. Практические рекомендации также сформулированы исходя из полученных автором результатов.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

В качестве метода анализа для проведения исследования выбрана высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемным масс-спектрометрическим детектированием. Её применение гарантирует селективное определение следовых количеств изучаемых соединений в различных биологических образцах, таких как кровь, плазма, гомогенаты внутренних органов и тканей. Все предложенные в исследовании методики выдержали валидационные испытания, предусмотренные российской и международной нормативной документацией.

Сформулированная концепция создания методик для определения нестабильных соединений в биологических объектах в рамках доклинических исследований является оригинальной. Её применение позволяет оптимизировать деятельность биоаналитической лаборатории.

Разработан подход к идентификации химически неустойчивых соединений при изучении профиля метаболитов кандидатов в лекарственный препарат на лабораторных животных. Для исследования экскреции нестабильных аналитов, продукт разложения которых не является продуктом биотрансформации, предлагается их косвенное определение.

Сформулированы критерии, позволяющие сократить объём валидационных тестов для идентичных методик для схожих биологических матриц, таких как плазма или цельная кровь разных видов животных, а также органы и ткани одного вида животного.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Предложенная концепция и алгоритмы разработки методик позволяют подобрать оптимальные меры по стабилизации химически неустойчивых соединений в различных биологических объектах животных. Это обеспечивает достоверные результаты проводимых биоаналитических исследований. Основные положения диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского» и ООО «Квинта-аналитика Ярославль».

Разработанные подходы к стабилизации биопроб и валидированные методики анализа использованы при изучении фармакокинетики кандидата в лекарственный препарат R004, ODASA и TFISA в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Разработка лекарственного препарата для лечения ревматоидного артрита и других воспалительных заболеваний», государственного задания Министерства

здравоохранения Российской Федерации «Разработка лекарственного препарата для лечения остроугольной глаукомы», гранта Министерства просвещения Российской Федерации «Разработка инновационного лекарственного средства для лечения открытоугольной глаукомы путем селективного ингибирования карбоангидразы II», соответственно. Методика количественного определения норадреналина, допамина, серотонина, адреналина и их основных метаболитов была апробирована при исследовании фармакодинамики новых кандидатов в лекарственный препарат при выполнении государственного задания Министерства просвещения Российской Федерации «Разработка нового лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний на основе ингибитора моноаминоксидазы».

Соответствие результатов паспорту научной специальности

Основные научные положения и содержание диссертации Яичкова И.И. 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, экологофармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы».

Полнота освещения результатов диссертации

По результатам диссертационного исследования сделано 28 научных публикаций, включая 3 статьи в журналах, включённых в Перечень рецензируемых изданий Сеченовского университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, 13 статей в журналах, индексируемых в международной базе Scopus, 2 патента на изобретения, 8 научных работ в сборниках конференций и 2 иные публикации по теме диссертации.

Структура и содержание работы

Объём диссертационной работы составляет 395 страниц машинописного текста. Она состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 5 глав, в которых описаны результаты экспериментов, главы, посвящённой разработке основных научных положений работы, заключения, общих выводов, списка сокращений и условных обозначений, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, 6 приложений. Список литературы включает в себя 378 источников, 311 из которых – в англоязычных изданиях.

Первая глава посвящена обзору литературы по теме исследования. В ней описаны результаты доклинических испытаний изучаемых соединений: R004 -селективного ингибитора PAR-2 – рецепторов для лечения ревматоидного артрита; OXSA, TFISA и ODASA-селективных ингибиторов карбоангидразы II типа для лечения открытоугольной глаукомы; ингибиторов MAO-B для лечения болезни Паркинсона. Далее дана характеристика методик количественного определения катехоламиновых нейромедиаторов в различных биологических объектах. Затем проанализированы основные способы изучения профиля метаболитов лекарственных средств. Установлено, что специального подхода для идентификации химически неустойчивых продуктов биотрансформации не существует. Далее описаны особенности процесса валидации биоаналитических методик, применяемых для доклинических исследований фармакокинетики. В конце главы проанализированы основные группы легкоразлагающихся в биологических объектах соединений и способы их стабилизации.

Вторая глава описывает материалы и методы. В ней представлена общая схема диссертационного исследования, перечислены использованное аналитическое оборудование, стандартные образцы, приведён порядок приготовления основных реактивов, валидации разработанных биоаналитических методик, дизайн исследований фармакокинетики и

фармакодинамики изучаемых кандидатов в лекарственные препараты. Также приведено описание порядка статистических расчётов.

Третья глава посвящена изучению биотрансформации кандидатов в лекарственные препараты OXSA, TFISA, ODASA и R004. В ней приведены результаты идентификации основных продуктов метаболитов данных соединений. По итогам этих экспериментов автором был разработан методологический подход к идентификации химически лабильных веществ в биологическом материале животных.

Четвёртая глава посвящена разработке и валидации методик количественного определения R004 и его метаболитов в биоматериале животных. Гидролиз R004 в пробах плазмы и мочи был устранён путём добавления водного раствора ацетата аммония с $\text{pH}=4,0$. Для стабилизации этого аналита в пробах кала, органов и тканей применялась механическая гомогенизация с помощью ацетонитрила. Предложенные методики были успешно использованы для изучения фармакокинетики R004 на крысах и кроликах.

Пятая глава посвящена разработке и валидации биоаналитических методик для количественного определения TFISA и его метаболитов в биоматериале животных. Для стабилизации N-гидроксиметаболита TFISA-M1 в пробах цельной крови достаточно использовать антикоагулянт, представляющий собой смесь натрия фторида и калия оксалата. К плазме следует дополнительно добавлять 5%-й раствор аскорбиновой кислоты. Метанольные извлечения органов крыс после гомогенизации также стабилизировали аскорбиновой кислотой. Для анализа экскрементов использовались отдельные параметры хроматографического разделения из-за необходимости определения продукта разложения N-гидроксисульфонамида TFISA-M3. Представленные в главе методики были применены для изучения фармакокинетики 1% глазной суспензии TFISA.

В шестой главе описан процесс разработки и валидации методик количественного определения ODASA и продуктов его биотрансформации в

плазме, цельной крови, моче, кале, органах и тканях. Для стабилизации минорного N-гидроксиметаболита ODASA-M2 в образцах животных применялись схожие меры, что и для TFISA-M1. Для изучения проб экскрементов также использовались отдельные параметры хроматографического разделения для достижения достаточного разрешения между пиками продукта разложения N-гидроксисульфонамида ODASA-M3 и ODASA. Все описанные в главе методики были использованы для изучения фармакокинетики глазной суспензии ODASA.

Седьмая глава посвящена разработке методики определения моноаминовых нейромедиаторов и их метаболитов в тканях мозга крыс. Подбор антиоксиданта для норадреналина, допамина, адреналина, DOPAC в пробах выполнен по результатам оптимизированного объема скрининговых тестов, выбранных после исследований R004, TFISA и ODASA. В этой главе приведены основные достоинства созданной методики по сравнению с ранее разработанными аналогами. Она прошла апробацию в ходе изучения фармакодинамики селективных ингибиторов MAO-B

В восьмой главе содержатся основные научные положения диссертационного исследования. На основании выполненных экспериментов автором выбран минимальный перечень и объём предварительных экспериментов, необходимых для надёжного выбора стабилизатора легкоразлагающихся соединений в образцах. Для плазмы и цельной крови, органов и тканей, мочи и кала лабораторных животных обоснованы отдельные алгоритмы разработки биоаналитических методик. Выбор сокращённого дизайна валидации предложено осуществлять на основании оригинальной схемы принятия решений.

В заключении резюмируются основные итоги выполненного исследования. Общие выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам. Практические рекомендации даны на основании результатов проведённых экспериментов.

В приложениях приведены результаты статистических расчётов, выполненных при идентификации метаболитов изучаемых соединений, примеры хроматограмм валидационных серий, некоторые фармакокинетические параметры, результаты изучения стабильности стандартных растворов, копии актов внедрения результатов диссертации.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат полностью соответствует структуре диссертации. Все представленные данные совпадают с данными, изложенными в раооте. Содержание автореферата отражает результаты решения всех поставленных задач. В нём описаны наиболее значимые аспекты материалов и методов исследования, результаты идентификации метаболитов изучаемых кандидатов в лекарственные препараты, разработки и валидации методик количественного определения всех изучаемых соединений в биологических объектах. Основное внимание уделено научным положениям, сформулированным после выполненных экспериментов. После прочтения автореферата можно сделать вывод о достижении поставленной цели исследования.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации

Замечание 1. На стр. 8 автореферата и в выводах 3, 6, 7 и в некоторых главах диссертации представлены только химические названия предполагаемых лидеров активных соединений. Очень сложно по этим названиям идентифицировать изучаемые фармакологически активные соединения для лечения глаукомы, ревматоидного артрита и нейродегенеративных заболеваний R004, ODASA, TFISA. Для лучшего восприятия результатов было бы неплохо их указывать соответственно после каждого химического названия или вместо химического названия, т.к. в конце автореферата и диссертации есть список условных обозначений.

Замечание 2. В таблице 1 автореферата представлены только метаболиты изучаемых соединений. Приходится искать химическую структуру исходного соединения, чтобы выяснить какие произошли метаболические превращения. Необходимо было в таблице 1 дать исходные соединения, а потом идентифицированные метаболиты.

Замечание 3. Почему на рис. 1 и табл. 1 автореферата появляется с данными биотрансформации соединение OXSA без предварительного указания активности и дальнейших исследований с целью внедрения его в медицинскую практику.

Замечание 4. В разделе «Перспективы» можно было бы указать, что в случае создания и внедрения указанных лекарственных веществ в медицинскую практику можно было бы использовать разработанные методы для лекарственного мониторинга в клинике.

Указанные недостатки носят редакционный характер и не влияют на высокую положительную оценку диссертационной работы Яичкова И.И.

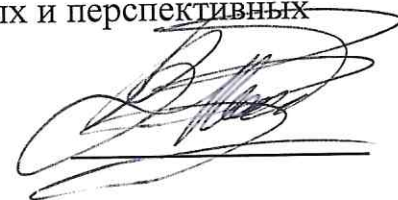
Заключение

Таким образом, диссертационная работа Яичкова Ильи Игоревича на тему: «Создание новых подходов к разработке методик для определения нестабильных соединений в биологических объектах при проведении доклинических исследований лекарственных средств» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в развитии фармацевтической химии и фармакогнозии и осуществлено решение научной проблемы, заключающейся в необходимости разработки методик для определения нестабильных соединений в биологических объектах лабораторных животных. По актуальности, степени научной новизны, теоретической и практической значимости диссертационная работа соответствует требованиям п. 15 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 № 0692/Р от 06.06.2022 (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023, приказом №0787/Р от 24.05.2024), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Яичков Илья Игоревич, заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук
(3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология), профессор
заведующий лабораторией фармакокинетики
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических технологий»
Электронная почта: zherdev_vp@academpharm.ru
Жердев Владимир Павлович



«17» февраль 2026 года

Подпись В.П. Жердева заверяю:
Ученый секретарь ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических технологий»
кандидат биологических наук


_____ **Е.В. Васильева**



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических технологий», 125315, Москва,
Балтийская, 8, тел. +7 (499) 151-18-81, электронная почта:
info@academpharm.ru