

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой токсикологической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Пермская государственная фармацевтическая академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации Малковой Тамары Леонидовны на диссертационную работу Козина Дмитрия Андреевича «Разработка методов анализа и стандартизации производных индоло[2,3-а]карбазола, обладающих противоопухолевым действием», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Производные индолокарбазола представляют собой перспективную группу биологически активных соединений в качестве потенциальных кандидатов на роль новых противоопухолевых препаратов.

В ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России разработан оригинальный метод синтеза *N*-гликозидов индоло[2,3-а]карбазола, обладающих противоопухолевой активностью, и на его основе получен ряд соединений этой группы, содержащих различные углеводные остатки и радикалы, связанные с малемидной группой. Два соединения, получившие лабораторные шифры ЛХС-1208 и ЛХС-1269, показали наибольшую противоопухолевую активность и были отобраны для дальнейших исследований. Несмотря на то, что к настоящему времени проведен значительный объем исследований по разработке моделей

лекарственных форм на основе ЛХС-1208 и ЛХС-1269, эти соединения, как и вся группа производных индоло[2,3-а]карбазола, по-прежнему остаются недостаточно изученными.

В связи с вышеизложенным, тема диссертационного исследования Козина Д.А., посвященная разработке методик анализа и стандартизации производных индоло[2,3-а]карбазола как фармацевтических субстанций, является актуальной.

### **Степень разработанности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научные положения, выводы и практические результаты, приведённые в диссертационной работе Козина Д.А., аргументированы, обоснованы, достоверны и подтверждены большим объемом экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов фармакопейного анализа. Все методы, примененные в рамках диссертационного исследования, соответствуют поставленным задачам. Результаты экспериментальной работы наглядно представлены в виде таблиц и иллюстраций.

Выводы и практические рекомендации логически исходят из содержания работы и результатов, полученных в ходе исследования.

### **Достоверность и новизна исследования, полученных результатов**

Достоверность результатов обусловлена использованием поверенного аналитического оборудования и статистическим анализом полученных данных. Пригодность ряда методик подтверждена валидацией.

Новизна диссертационного исследования заключается в том, что впервые проведено исследование и систематизация физико-химических свойств фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Определены их спектральные и хроматографические характеристики и на их основе разработаны методики подтверждения подлинности и количественного



анализа для фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Помимо возможности применения разработанной ВЭЖХ-методики для контроля качества фармацевтической субстанции диссертант показал возможность ее использования при фармакокинетических исследованиях. Проведена идентификация примесей в субстанции ЛХС-1269. Разработанная методика количественного определения действующего вещества в субстанции ЛХС-1269 может также применяться для количественного определения примеси ЛХС-1269-У, что в обоих случаях подтверждено результатами валидации. На основе проведенных исследований Козиным Д.А. были установлены нормы качества, проведено исследование стабильности и определены сроки годности для фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269. На фармацевтические субстанции ЛХС-1208 и ЛХС-1269 диссертантом составлены проекты спецификаций по качеству.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Результаты диссертационной работы Козина Д.А. имеют существенное значение для науки и практики.

Во-первых, результаты проведенных исследований рекомендуется применять при контроле качества фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269, а также при разработке и производстве лекарственных форм на их основе.

Во-вторых, результаты могут быть использованы для разработки методик анализа и контроля качества биологически активных производных индоло[2,3-а]карбазола, которые будут синтезированы в дальнейшем.

Результаты диссертационной работы внедрены:

- в учебный процесс кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплины «Методы фармакопейного анализа», читаемых студентам по направлению

подготовки (специальности) 33.05.01 «Фармация» (Акт внедрения №160 от 7 ноября 2022 г.).

- в работу ряда научных лабораторий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Акт внедрения от 9 ноября 2022 г.).

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Тема, поставленные цели и задачи, а также результаты диссертации соответствуют паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3, 4 паспорта научной специальности.

### **Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных**

По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 1 научная статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России и 2 статьи в научных изданиях, индексируемых в международной базе Scopus. Число иных публикаций по результатам исследования – 7.

Результаты исследований диссертационной работы доложены на 6 конференциях, посвященных вопросам фармации и медицинской химии. Тезисы докладов включены в сборники материалов конференций.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа Козина Д.А. изложена на 142 страницах машинописного текста, иллюстрирована 33 таблицами и 57 рисунками. Диссертация состоит из введения, в котором диссертант обосновывает



целесообразность проведения своей научно-исследовательской работы, формулирует цели и задачи; обзора литературы; главы с описанием материалов и методов, двух глав собственных исследований; выводов, списка литературы (123 наименования, из которых 66 наименований на иностранных языках) и четырех приложений.

Во введении диссертантом представлена и обоснована актуальность выбранной темы, цели и задачи.

Литературный обзор полностью соответствует проблематике диссертационной работы. На основе анализа литературных сведений диссертант показал, что в настоящее время ведутся активные работы по исследованию химии и механизмов действия производных индоло[2,3-а]карбазола с целью создания наиболее оптимальных кандидатов на роль будущих противоопухолевых препаратов. Представлена краткая, но понятная схема синтеза ЛХС-1208 и ЛХС-1269 на основе индолин-индольного метода, разработанного в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Рассмотрены современные подходы к разработке аналитических методик для контроля качества этой группы соединений.

В главе 2 – Материалы и методы исследования – диссертант подробно описывает приборы и реактивы, примененные в ходе исследования, им дана подробная характеристика объектов исследования; указаны общие фармакопейные статьи, в которых описаны методы исследования.

В главах 3 и 4 представлены и обсуждены результаты исследований, включающие изучение физико-химических характеристик ЛХС-1208 и ЛХС-1269, их систематизацию, а также разработку методик подтверждения их подлинности их количественного анализа. Пригодность разработанной ВЭЖХ-методики для контроля качества субстанции ЛХС-1269 подтверждена валидацией.

В итоговой части диссертант сформулировал заключение, общие выводы диссертационной работы, указал перспективы дальнейшей

разработки темы и практические рекомендации к применению результатов работы.

В приложениях к диссертации Козина Д.А. представлены копии актов внедрения результатов диссертационного исследования и проекты спецификаций на фармацевтические субстанции ЛХС-1208 и ЛХС-1269.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации**

Сформулированные диссертантом выводы являются логическим результатом аналитической обработки информационных и экспериментальных данных, полученных в процессе диссертационного исследования. В то же время, в процессе ознакомления с результатами исследования возникли следующие вопросы и замечания:

1. По-моему мнению, слишком детализировано оглавление 4 главы, например, разделы 4.4. и 4.5. состоят из совершенно одинаковых подразделов, обозначающих отдельные общеизвестные параметры валидации, занимающие от нескольких строк до половины страницы текста.
2. Не совсем понятен принцип расположения номеров ссылок на литературные источники внутри одного комплекса в пределах квадратных скобок, например, на стр. 6 [51; 24; 13; 63], и далее по всему тексту. Имеет ли автор ввиду приоритетность той или иной ссылки? Или последовательность ссылок обоснована чем-то другим? Кроме того, вызывает вопрос отсутствие ссылок на публикации в разделе «Степень разработанности темы исследования».
3. В обзоре литературы автором представлен ряд рисунков, отражающих механизмы базовых реакций, однако после названия большинства рисунков не показаны ссылки на литературные источники, из которых эти схемы были взяты. Общепринято ссылку на источник давать после названия рисунка, как это сделано автором на стр. 22 (рисунок 9), стр.



- 25 (рисунок 13), стр. 34 (рисунок 23). Целесообразно также было бы привести ссылки после названия таблиц 1 и 2, взятых из литературных источников. Тем не менее, по тексту работы ссылки приведены фактически сразу после упоминания того или иного рисунка, таблицы.
4. В экспериментальной главе 3 фактически каждый подраздел начинался с общей характеристики применяемого метода анализа с указанием ссылок на литературу, например, подразделы 3.1.2., 3.1.3, что более характерно для обзора литературы, в который уже был включен материал по методам ИК и УФ-спектроскопии.
  5. Не совсем корректно изложен вывод 2 к главе 3. Поскольку в предлагаемой спецификации на фармацевтическую субстанцию ЛХС-1208 имеются нормы в отношении сульфатной золы и тяжелых металлов, вряд ли можно говорить об отсутствии данных веществ. В этом же выводе речь идет об определении потери в массе при высушивании и содержания воды. В подразделе 3.2.6. приведены данные только по определению содержания воды методом Фишера. Проводилось ли определение потери в массе при высушивании, каким методом и с какой целью?
  6. Чем можно объяснить, что содержание воды по Фишеру в субстанции ЛХС-1208 составляет не более 1 %, а в субстанции ЛХС-1269 составляет не более 2,5 %. Связано ли это со структурой и свойствами соединений, условиями синтеза? Содержание действующего вещества в образцах обеих субстанций составляет не менее 97 %. Определялся ли верхний предел содержания действующего вещества в субстанциях? С какой целью определялось содержание воды в субстанциях, если при расчетах содержания этот показатель не был учтен?
  7. В выводе 2 раздела «Общие выводы» имеется информация об установлении показателя «Вода (по методу Фишера)» как для субстанции ЛХС-1208, так и для субстанции ЛХС-1269 (соответственно не более 1 % и не более 2,5 %). Однако в таблице 10, в

которой представлен проект спецификации на фармацевтическую субстанцию ЛХС-1208, такого показателя нет. Имеется также неточность данного вывода в представлении данных по определению сульфатной золы, по тексту диссертации содержание в обеих субстанциях не превышало 0,05 %, в нормах, включенных в спецификации на обе субстанции, обозначено не более 0,10 %. В данном же выводе для субстанции ЛХС-1208 указано, что результат не превышал 0,10 %, это так, но в предложении речь идет о фактическом содержании, а не о норме.

8. В спецификации на субстанцию ЛХС-1208 включен раздел «Посторонние примеси», а в спецификацию на субстанцию ЛХС-1269 раздел «Родственные примеси». Несмотря на то, что для второй субстанции установлена структура двух родственных примесей, предполагается наличие и других неидентифицированных примесей. Целесообразно, разделы в спецификациях на субстанции ЛХС-1208 и ЛХС-1269 обозначить как «Примеси» в соответствии с современными требованиями МЗ РФ.
9. По тексту диссертации имеются не до конца заполненные страницы, например, страницы 57, 59, 69, 107. Имеются некоторые опечатки, технические погрешности.

Обозначенные замечания не снижают теоретической и практической значимости проведенного исследования диссертационной работы Козина Д.А. и носят дискуссионный характер.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, диссертационная работа Козина Д.А. на тему: «Разработка методов анализа и стандартизации производных индоло[2,3-а]карбазола, обладающих противоопухолевым действием» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является



научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по стандартизации и разработке методик контроля качества новых фармацевтических субстанций, имеющей существенное значение для специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, 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 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Козин Дмитрий Андреевич заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

#### **Официальный оппонент**

Заведующий кафедрой токсикологической химии  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
"Пермская государственная фармацевтическая академия"  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор фармацевтических наук  
(3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и  
3.4.3. Организация фармацевтического дела), профессор

Адрес: 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

Телефон: +7 (342) 282-58-65

e-mail: [kaftox1@mail.ru](mailto:kaftox1@mail.ru)

« 22 » августа 2023 г.

 Малкова Тамара Леонидовна

Подпись   
заверяю   
(начальник отдела кадров)

22.08.2023

