

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук Гаевой Людмилы Михайловны на диссертационную работу Козлова Алексея Владимировича «Разработка методики количественного анализа дабигатрана для задач фармакокинетики и лекарственного мониторинга», представленную в Диссертационный совет Д 208.040.09 при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

### Актуальность темы исследования

Тромбоз глубоких вен (ТГВ) и его серьезное клиническое проявление – легочная эмболия являются одной из проблем современного здравоохранения. После инфаркта миокарда и инсульта тромбоэмболические осложнения занимают третье место по смертности среди сердечно-сосудистых заболеваний сердца.

В настоящее время основой профилактики и лечения больных с ТГВ для предотвращения повторных тромбозов и тромбоемболий является антикоагулянтная терапия. Однако ее назначение увеличивает риск геморрагических осложнений.

На протяжении длительного периода времени основными препаратами антикоагулянтной терапии были гепарин, варфарин, практическое применение которых в клинической практике сопровождалось развитием геморрагических осложнений, частота которых составляла до 10-15% в год.

В последние несколько лет на мировом фармацевтическом рынке появился препарат дабигатран из класса новых оральных антикоагулянтов,

выбор которого оправдывает себя своей эффективностью и относительной безопасностью по сравнению с препаратами старого поколения.

Для терапевтического мониторинга и определения фармакокинетических параметров дабигатрана при его применении у пациентов были разработаны аналитические методики, однако эти методики не включали стадию очистки от липофильных эндогенных компонентов, что могло приводить к снижению чувствительности и правильности определения препарата в плазме крови.

Таким образом, разработка новой современной селективной методики для изучения фармакокинетических параметров дабигатрана и проведения терапевтического мониторинга при его применении крайне актуальна и перспективна.

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

Сформулированные в диссертационной работе Козлова Алексея Владимировича научные положения, логично изложены и обоснованы. Научные выводы и рекомендации диссертации основаны на достаточном экспериментальном материале, являются достоверными и взаимосвязано вытекают из результатов работы.

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

Новизна диссертационной работы Козлова А.В. заключается в разработке методики количественного определения дабигатрана в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС с принципиально новым способом пробоподготовки. Разработанная методика имеет широкий аналитический диапазон и высокую селективность и отличается от ранее предложенных процедурой очистки пробы от белков и липофильных эндогенных компонентов за счет последовательного применения ацетонитрила и дихлорометана, что обеспечивает точность анализа. Достоверность

полученных результатов и применимость разработанной методики доказана путем проведения валидации в соответствии с действующими требованиями, предъявляемыми к биоаналитическим методикам.

Разработанная методика применена для определения уровня дабигатрана в крови пациентов хирургического профиля с целью оптимизации его дозирования.

Основные результаты диссертационной работы апробированы на международных научно-практических конференциях различного уровня.

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 2 - в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ и 2 - в изданиях, включенных в международную базу данных Scopus.

#### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит ведущая роль в выполнении описанных экспериментальных исследований, разработке и валидации методики, анализе и обобщении полученных результатов, проведении аналитической и статистической обработки результатов, написании публикаций.

Диссертация и автореферат написаны лично автором. Клиническая часть (отбор проб у пациентов, сбор анамнеза, генетическое тестирование, биохимический анализ) проведены в Федеральном Государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (ФГБОУ ДПО РМАНПО) Минздрава России под руководством член-корреспондента РАН, профессора Сычева Д.А.

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

Практическая значимость полученных результатов заключается в разработке новой методики определения дабигатрана в плазме крови



человека методом ВЭЖХ-МС/МС с принципиально новым способом подготовки пробы, позволяющим устранить влияние липофильных агентов, и тем самым обеспечивающим большую точность определения.

Выбор способа пробоподготовки, осаждение белков с помощью ацетонитрила и дихлорометана позволяют применять разработанную методику в фармакокинетических исследованиях и в терапевтическом лекарственном мониторинге.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа написана в соответствии с существующими требованиями и изложена на 134 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, указателя литературы и приложения. Работа иллюстрирована 27 рисунками и 21 таблицей. Список цитированной литературы включает 124 литературных источников, в том числе 67 - на иностранном языке.

**Во введении** автор аргументирует актуальность исследования, четко формулирует цель и задачи, приводит данные о научной новизне, научно-практической значимости, внедрении в практику и апробации результатов исследования, указывает положения, выносимые на защиту.

**В первой главе** (обзор литературы) представлен краткий обзор препаратов антикоагулянтной терапии, дана сравнительная характеристика фармакологических свойств антикоагулянтов. Подробно описаны физико-химические и фармакологические свойства габидатрана.

Отдельное внимание уделено обзору публикаций, посвященных количественным методам анализа антикоагулянтов в биологических жидкостях, обоснован выбор использования ВЭЖХ-МС/МС и условия его пробоподготовки по сравнению с другими существующими методами. Дана характеристика основным параметрам валидации для оценки фармакокинетического исследования.

**Во второй главе** (материалы и методы исследования) приведен список реактивов, стандартных образцов, используемого основного и вспомогательного оборудования, описываются приготовление исходных и стандартных растворов, дизайн исследования и процедура пробоподготовки, условия хроматографирования.

**Третья глава** посвящена разработке методики количественного определения дабигатрана в плазме крови человека с применением метода ВЭЖХ – МС/МС. Диссертантом был обоснован выбор оптимальных условий хроматографического разделения и способ пробоподготовки анализируемых образцов с применением ацетонитрила и дихлорметана, позволивший повысить качество извлечения дабигатрана из плазмы крови человека (очистку от липофильных эндогенных компонентов). Была проведена валидация разработанной методики в соответствии с современными требованиями, предъявляемыми к биоаналитическим методикам по показателям селективность, точность, прецизионность, эффект матрицы, эффект переноса, установлены нижние пределы количественного определения, проведены испытания стабильности.

**В четвертой главе** автором описана практическая значимость разработанной методики количественного определения дабигатрана в плазме крови человека. Разработанная методика была апробирована для определения уровня дабигатрана в крови пациентов хирургического профиля с целью оптимизации его дозирования.

#### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

Автором четко сформулированы цель и задачи исследования, выводы полностью соответствуют поставленным задачам. Научно-практические рекомендации логичны и в целом отражают сущность работы.

Несмотря на общую положительную оценку диссертационной работы, при ее рассмотрении возникли следующие вопросы и замечания:

1. С чем связан выбор пола при проведении фармакокинетических исследований?
2. Как был определен валидационный критерий «предел количественного определения» для разработанной методики?
3. Список литературы оформлен не в соответствии с ГОСТ Р 7.0.100-2018.
4. В описании материалов и методов не приводятся характеристики некоторых реагентов.
5. В тексте диссертационной работы также присутствуют грамматические, орфографические ошибки и неудачно сформулированные выражения.

Указанные замечания, в целом, не носят принципиального характера, не снижают научной и практической значимости диссертационной работы и не оказывают влияния на представленные результаты исследований.

### **Заключение**

Таким образом, диссертация Козлова Алексея Владимировича на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук на тему: «Разработка методики количественного анализа дабигатрана для задач фармакокинетики и лекарственного мониторинга» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи по фармакокинетическим исследованиям и терапевтическому лекарственному мониторингу препарата дабигатрана у пациентов, находящихся на профилактическом курсе лечения, имеющей существенное значение для отечественной фармацевтической науки.

По актуальности темы, объему, методическому уровню, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Козлова Алексея Владимировича соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции



Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 от 01.10.2018 г. № 1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Козлов Алексей Владимирович, заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

### Официальный оппонент

Ведущий научный сотрудник химико-технологической лаборатории опытно-технологического отдела ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова»  
доктора фармацевтических наук  
(специальность 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология)

 Гаева Людмила Михайловна

«04» июня 2020 г

Подпись Гаевой Л.М. заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова»  
кандидат биологических наук

 Крайнева Валентина Александровна

