

ОТЗЫВ

*официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора Калениковой Елены Игоревны на диссертационную работу **Смирнова Валерия Валерьевича** на тему: «Разработка комплексного подхода оценки активности основных изоферментов метаболизма лекарственных средств для изучения их фармакокинетики на различных этапах исследований *in vivo*, а также персонализации фармакотерапии», представленной на соискание учёной степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02- Фармацевтическая химия, фармакогнозия в Диссертационный совет ДСУ 208.001.11, созданный на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).*

Актуальность темы исследования

Актуальность исследования фармакокинетических процессов сохраняется от момента создания лекарственного вещества и после его многолетнего клинического использования. Вопросы, с которыми сталкиваются исследователи при изучении фармакокинетики на всех этапах жизненного цикла лекарственного средства, остаются предметом постоянного научного обсуждения. Одним из процессов, определяющих межиндивидуальную вариабельность эффективности и безопасности применения лекарств, является метаболизм лекарственных веществ.

В работе рассматривается универсальный подход к изучению метаболизма любых лекарственных веществ, который можно применить на стадии создания и разработки лекарственного препарата, а также к уже зарегистрированным лекарственным препаратам на стадии накопления информации о них. Используемый подход применим и для персонализации фармакотерапии. Индивидуальная вариабельность фармакокинетики – одна из главных причин различной эффективности фармакотерапии в популяции. Причина её возникновения заключается в различной активности ферментов, главным образом системы цитохрома P450 (CYP450), участвующих в биотрансформации лекарственных веществ. Именно индивидуальная вариабельность может приводить к токсичности препарата или снижению его эффективности. Кроме того, активность изоферментов системы CYP450 не остается постоянной в течение жизни пациента, и она сильно зависит не только от генетических факторов, а также от факторов окружающей среды, питания, общего состояния здоровья и межлекарственного взаимодействия. Таким образом, поиск новых наиболее информативных подходов к оценке активности основных изоферментов метаболизма лекарственных средств является актуальной задачей

фармации и фармакологии. Именно фармакокинетика является основной точкой соприкосновения интересов химии и фармакологии. Поэтому так важно для проведения фармакокинетических исследований использовать современные чувствительные и селективные физико-химические методы, а используемые методики должны быть надлежащим образом валидированы.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформированных в диссертации

Диссертационная работа выполнена в рамках комплексной темы кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева Первого МГМУ им. И.М. Сеченова «Совершенствование образовательных технологий додипломного и последипломного медицинского и фармацевтического образования», номер государственной регистрации 01.2.011.68237.

Степень обоснованности научных положений и выводов диссертационной работы основывается на достаточном количестве экспериментального материала; исследования выполнены на высоком методическом уровне с использованием чувствительных и селективных методов хроматографического анализа с различными видами детектирования. Необходимо отметить большое количество проанализированных образцов, полученных на нескольких клинических базах.

Все результаты и научные положения, сформулированные в диссертационном исследовании, базируются на результатах анализа большой выборки исследуемых объектов и корректной статистической обработке экспериментальных данных.

Материал исследования структурирован, подтвержден первичной документацией, выводы базируются на объективных результатах и демонстрируют выполнение поставленных задач и достижение цели исследований.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследований

Достоверность полученных результатов подтверждается современными методами исследований с использованием валидированных методик на высокоточном оборудовании. Все приборы включены в Государственный реестр средств измерений и имеют сертификаты поверки и соответствия. Кроме того, достоверность полученных результатов подтверждается использованием оригинального программного обеспечения и актуальных версий. Диссертация включает большое количество наглядного материала: рисунки, таблицы и схемы, методики и примеры расчетов.

Автором предложена и обоснована методика расчета концентрации эндогенных соединений в биообъектах, продемонстрирована взаимозаменяемость методик определения активности изофермента CYP3A4 на основании результатов исследования эндогенных субстратов.

Продemonстрировано отсутствие существенного влияния афобазола на метаболические системы организма; выявлено существенное влияние CYP2D6 и CYP3A4 на фармакокинетику галоперидола у больных, страдающих алкогольной зависимостью.

Теоретическая значимость исследования Смирнова В.В. заключается в том, что в нем охарактеризована фармакокинетика большого количества лекарственных препаратов, выявлены примеры межлекарственного взаимодействия, сформирован подход к оценке активности изоферментов системы цитохрома P450, а также подход к оценке лекарственного средства в качестве субстрата, индуктора или ингибитора основных изоферментов CYP450.

Значимость результатов для науки и практики

Практическая значимость результатов исследования не вызывает сомнения и состоит в обосновании методологического подхода к коррекции фармакотерапии таких распространенных заболеваний как алкоголизм, язвенная болезнь различной локализации, сердечно-сосудистые заболевания и хронические патологические состояния дыхательной системы.

В результате проведенных исследований выработан подход к коррекции терапии больных с алкогольной зависимостью, востребованность которого подтверждается большим количеством научных публикаций и внедрений в клиническую практику.

Результаты диссертационного исследования Смирнова В.В. внедрены:

- в работу лаборатории клинической фармакологии ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России;
- в работу отдела клинической фармакокинетики Центра Клинической Фармакологии ФГБУ «НЦ ЭСМП» МЗ РФ;
- в работу лаборатории фармакокинетики ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В.В. Закусова" РАН;
- в образовательный процесс кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева Института фармации им. А.П. Нелюбина ФGAOY BO Первый MГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по различным дисциплинам;
- в образовательный процесс кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В.

Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Столь высокая востребованность результатов диссертационного исследования Смирнова В.В. свидетельствует об их практической и теоретической значимости для фармацевтической и медицинской науки.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Смирнова В.В. изложена на 255 страницах печатного текста, содержит 79 таблиц, 35 рисунков. Диссертация включает в себя введение, обзор литературы (Глава 1), описание объектов, материалов и методов исследования (Глава 2), обсуждение собственных экспериментальных исследований (Глава 3), общие выводы, заключение, перечень сокращений и терминов, список литературы, включающий 161 источник, в том числе 142 зарубежных.

Во введении автор обосновывает актуальность и новизну исследования, формулирует цель работы и ставит задачи, которые необходимо решить для ее достижения. Приведена теоретическая и практическая значимость исследования, представлена информация об апробации диссертационной работы, внедрении результатов. Автор приводит информацию о количестве публикаций в открытом доступе.

Первая глава – литературный обзор. Автор подробно описывает проблемы изучения биотрансформации лекарственных веществ *in vivo*, детально анализирует существующие стратегии фенотипирования по активности основных изоферментов системы P450 с использованием различных маркеров. Диссертант обсуждает достоинства и недостатки применения эндогенных и экзогенных веществ в качестве маркеров активности. В главе приводятся сведения по применению оценки активности изоферментов CYP450 на различных стадиях жизненного цикла ЛС, а именно в доклинических и клинических исследованиях, и примеры использования в клинической практике. По результатам главы сформулированы выводы.

Вторая глава – материалы и методы. В ней приведена краткая характеристика исследуемых веществ как объектов хроматографического анализа. Указаны вещества, которые применяются автором в качестве внутренних стандартов. Подробно описаны реактивы и оборудование для хроматографического анализа. Приведены методики отбора биологических образцов для *in vivo* исследований.

В третьей, самой крупной главе диссертации, представлены результаты валидации разработанных методик количественного определения субстратов-маркеров и их метаболитов в биологических объектах. Далее обсуждается

равноценность использования методик количественного определения эндогенных субстратов с использованием дейтерированных внутренних стандартов и с помощью математической модели, разработанной автором. Автором сделано заключение о применимости разработанной методики количественного определения в случае невозможности использования дейтерированных стандартов. Далее автор проводит сравнение методик оценки активности изофермента CYP3A4 с помощью отношения концентраций 6- β -гидрокортизол/кортизол и 4 β -гидроксихолестерин/холестерин и делает заключение о равноценности данных методик. Затем подробно описывается апробация разработанных методик на различных стадиях жизненного цикла лекарственного средства: в доклинических исследованиях отечественного лекарственного средства – Афобазол, в клинических исследованиях лекарственных средств, влияющих на сердечно-сосудистую систему, и противоязвенных препаратов. Так же изучена корреляция между метаболической активностью и возрастом человека. Далее автором приводится большой раздел по использованию разработанных методик в клинической практике с целью персонализации фармакотерапии.

Общие выводы диссертационной работы полностью отражают полученные результаты и соответствуют поставленным задачам исследования, текст изложен последовательно и хорошо структурирован.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертационной работы

Диссертантом приводится большое количество современных аналитических методик определения активности изоферментов и их валидации. Демонстрируются широкие возможности данных методик для решения проблемы оценки активности изоферментов в клинической практике.

Несмотря на общее положительное впечатление от работы, при ее рассмотрении возникли следующие вопросы и замечания:

1. При разработке математической модели определения фонового уровня эндогенных веществ в биообъектах готовится серия стандартных разведений лекарственного вещества в биожидкости. Какие образцы биожидкостей для этого используются: фоновые образцы от одного испытуемого (какого?), или эта процедура проводится для каждого пациента (животного)?

2. На примере генеральной совокупности рассчитанных по Вашей методике фоновых концентраций эндогенного вещества (рис. 28) мы видим 3-х кратный разброс индивидуальных значений. Не проще ли было бы вычислить среднее значение фона по всем «нулевым» биопробам?

3. Проводилось ли кем-то сравнение результатов исследования фармакокинетики с использованием меченых соединений и простым методом абсолютной градуировки? методом внутреннего стандарта? Если да, то какой из методов точнее?

4. Исследуя *in vivo* влияние афобазола на активность метаболических ферментов Вы в качестве ингибиторов изоформ CYP450 использовали флуконазол и ципрофлоксацин. Как известно, эффект ингибирования проявляется быстрее эффекта индукции фермента. Чем обусловлена необходимость длительного введения флуконазола и ципрофлоксацина - на протяжении 4-х суток?

5. На рис. 31 и 32 приводятся результаты влияния введения афобазола, индуктора и ингибитора CYP2C9, на метаболическое отношение метаболита лозартана к лозартану. Чем можно объяснить двукратные различия этого отношения между контрольными группами в этом эксперименте?

Однако, вышеперечисленные замечания и вопросы носят уточняющий характер и не снижают научной и практической значимости диссертационного исследования. Результаты исследований широко апробированы и представлены на научных мероприятиях всероссийского и международного уровня. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

Заключение

Таким образом, диссертация Смирнова Валерия Валерьевича на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук на тему: «Разработка комплексного подхода оценки активности основных изоферментов метаболизма лекарственных средств для изучения их фармакокинетики на различных этапах исследований *in vivo*, а также персонализации фармакотерапии» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований с использованием современных методов анализа и методологии фенотипирования разработано решение научной проблемы, имеющей важное социально-экономическое значение в части оптимизации фармакотерапии больных с различными заболеваниями, на основе комплексного подхода к оценке активности изоферментов системы цитохрома P450.

По актуальности и важности темы, глубине исследований, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности полученных результатов и выводов диссертационная работа Смирнова Валерия Валерьевича 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 Сеченовского Университета от 31.01.2020 г. № 0094/Р, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор – Смирнов Валерий Валерьевич, заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, доктор фармацевтических наук, профессор (специальность 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия, 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология)

Каленикова Елена Игоревна

Подпись Калениковой Елены Игоревны подтверждаю

Декан факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, академик РАН

Ткачук В.А.
12.2020г.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
119192, г. Москва, Ломоносовский проспект, 27, корп. 1
Тел.: +7(495)932-99-11, e-mail: eikaleni@fbm.msu.ru