

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук Лякиной Марины Николаевны

на диссертационную работу **Козина Дмитрия Андреевича** *«Разработка методов анализа и стандартизации производных индоло[2,3- α]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

На протяжении ряда лет сотрудниками ряда лабораторий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России ведутся исследования производных индолакарбазола, как одной из наиболее перспективных групп биологически активных соединений с установленной противоопухолевой активностью. Отличительной особенностью данной группы соединений, является их возможность взаимодействовать с несколькими мишенями и инициировать различные пути гибели опухолевых клеток.

Два производных *N*-гликозидаиндоло[2,3- α]карбазола под лабораторными шифрами ЛХС-1208 и ЛХС-1269, полученные в лаборатории химического синтеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» в ходе испытаний *in vitro* и *in vivo* показали наибольшую противоопухолевую активность и были отобраны для дальнейших исследований. Помимо исследования биологической активности для дальнейшего продвижения новых биологически активных соединений в клиническую практику необходимо провести тщательное исследование их физико-химических свойств и разработать проекты нормативной документации для контроля качества и стандартизации ЛХС-1208 и ЛХС-1269, как фармацевтических субстанций, что и является темой диссертационного исследования. В связи с этим, тема диссертационной работы Козина Д.А., несомненно, актуальна.

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

Диссертационная работа Козина Д.А. выполнена на современном научном уровне с использованием современных методов фармакопейного анализа. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе Козина Д.А., основаны на значительном объеме результатов собственных исследований, сопровождаются изложением и обсуждением полученных данных. Разработка методик подтверждения подлинности и количественного анализа проведена с использованием современных физико-химических методов, отвечающих требованиям Государственной Фармакопеи.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается большим объемом экспериментальных результатов, применением современных методов анализа и использованием поверенного аналитического оборудования, а также теоретическим обоснованием применения тех или иных методик. Ряд методик, включенных в проекты нормативных документов по качеству валидированы в соответствии с требованиями соответствующей общей фармакопейной статьи, что также указывает на достоверность полученных результатов.

Новизна диссертационного исследования заключается в том, что диссертантом были впервые определены основные фармакопейные показатели качества для фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269. На основе полученных данных были разработаны методики для контроля качества фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Стоит отметить, что диссертантом была дополнительно показана возможность применения разработанной ВЭЖХ-методики для

количественного определения ЛХС-1208 не только в субстанции, но и в плазме крови и моче мышей. Используя метод ВЭЖХ-МСМС, диссертантом были идентифицированы две примеси в субстанции ЛХС-1269, которые также являются *N*-гликозидами индоло[2,3-а]карбазола. Разработана и валидирована методика количественного определения действующего вещества и примесей ЛХС-1269-У в субстанции ЛХС-1269. Установлены нормы качества и по результатам исследования стабильности определены сроки годности для фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269. На основе проведенных исследований диссертантом составлены проекты нормативной документации для контроля качества ЛХС-1208 и ЛХС-1269, как фармацевтических субстанций.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Впервые были исследованы и систематизированы различные физико-химические свойства ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Обоснованы показатели качества для фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269 и осуществлена их стандартизация. На основе полученных результатов составлены проекты нормативной документации, которые могут использоваться при контроле качества фармацевтических субстанций ЛХС-1208 и ЛХС-1269, и для разработки аналитических методик для контроля качества лекарственных форм, на их основе.

В дальнейшем результаты, полученные в ходе диссертационного исследования могут быть использованы в качестве основы для стандартизации других фармацевтических субстанций, относящихся к группе производных индоло[2,3-а]карбазола, и их лекарственных форм.

Практическая значимость диссертационной работы Козина Д.А. заключается во внедрении результатов 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 специальности 33.05.01 «Фармация» и в работу лабораторий химико-фармацевтического анализа, фармакологии и токсикологии и химического синтеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации Козина Д.А. соответствуют паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (пункты паспорта научной специальности 2, 3, 4).

Полнота освещения результатов диссертации в печати

По материалам диссертации Козиним Д.А. опубликовано 10 печатных работ, из них: 1 научная статья опубликована в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета и Перечень ВАК при Минобрнауки России; 2 статьи опубликованы в журналах, индексируемых в базе Scopus. Дополнительно по результатам исследования опубликовано 7 иных печатных работ.

Также результаты исследований представлены и обсуждены на 6 российских и международных конференциях в течение 2020-2022 года.

Характеристика структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения; главы с обзором литературы, главы с описанием материалов и методов, двух глав, содержащих результаты экспериментальных исследований, общих выводов, списка литературы и приложений. Диссертация иллюстрирована 33 таблицами и 57 рисунками. Библиографический список содержит ссылки на 123 источника.

Во введении диссертантом подробно обоснована актуальность выбранной темы научно-исследовательской работы, сформулированы цели и задачи исследования.

В Главе 1 приведен обзор литературных источников по исследованию природных и синтетических производных индоло[2,3-а]карбазола, проявляющих биологическую активность. Кратко, но доходчиво представлена информация о разных подходах к синтезу этой группы соединений. Особый интерес представляет приведенная диссертантом в этой части обзора литературы общая схема синтеза ЛХС-1208 и ЛХС-1269. Значительная часть 1-ой главы посвящена аналитическим методам исследования различных производных индоло[2,3-а]карбазола.

Во второй главе (Материалы и методы) охарактеризованы объекты исследования, перечислены приборы и устройства, методики и реактивы, используемые в процессе диссертационного исследования.

В третьей и четвертой главах описаны результаты изучения физико-химических свойств и определению критериев качества для ЛХС-1208 и ЛХС-1269. На основе полученных данных автором проведена разработка методик подтверждения подлинности и количественного определения в субстанциях как целевых соединений, так и примесей. Методика количественного определения действующего вещества и примеси ЛХС-1269-У валидирована по параметрам: специфичность, линейность, предел обнаружения, прецизионность и правильность.

Общие выводы, представленные в заключении, полностью соответствуют целям, задачам и полученным результатам.

В приложениях приведены акты внедрения и проекты спецификаций на фармацевтические субстанции ЛХС-1208 и ЛХС-1269.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Диссертационная работа Козина Д.А. оформлена в соответствии с государственными стандартами Российской Федерации и хорошо иллюстрирована, а материал изложен логично и структурировано.

Автореферат полностью соответствует структуре и основным положениям диссертации. Общие выводы в диссертационной работе и автореферате идентичны.

Однако, при общей положительной оценке диссертации хотелось бы высказать ряд вопросов и замечаний:

1. для веществ, получаемых химическим синтезом, а также подвергающихся процедурам очистки с использованием органических растворителей, должно быть предусмотрено определение их остаточных количеств, однако в диссертационном исследовании об этом не сказано;
2. приведенные в диссертации материалы по изучению стабильности объектов исследования представляют собой таблицу с конкретными: температурными условиями и материалом первичной упаковки; материалов по изучению стабильности в других условиях хранения (т.е. собственно исследований, в результате которых выбраны оптимальные: режим хранения и материалы упаковки, не приведены;
3. для 6-амино-12-(α -L-арабинопиранозил)индоло[2,3- α]пирроло-[3,4-с]карбазол-5,7-дион (ЛХС-1208) и N-[12-(1- β -D-ксилопиранозил)индоло[2,3- α]пирроло-[3,4-с]карбазол-5,7-дион-6-ил]пиридин-2-карбоксамид (ЛХС-1269) был выполнен большой объем исследований (установлена и подтверждена структура несколькими методами физико-химическими, определены физико-химические свойства: растворимость, удельное вращение, сульфатная зола и тяжелые металлы, органически связанный хлор, определено содержание воды, установлены и определены родственные примеси, осуществлено определение содержания основного вещества, определен срок годности, но валидационные характеристики методик определения родственных примесей и основного вещества представлены только для производного индолокарбазола с рабочим шифром ЛХС-1269, почему ?
4. не нашла отражение необходимость валидации аналитических методик определения действующего вещества и родственных примесей для

производного индолокарбазола с лабораторным шифром ЛХС-1208 и в задачах исследования;

5. для производного индолокарбазола с лабораторным кодом ЛХС-1208 подтверждение подлинности предложено осуществлять по совпадению ИК-спектра испытуемого образца с рисунком из НД, целесообразно уточнить, что это за документ; аналогично и для производного с лабораторным кодом ЛХС-1269;

6. в условиях хроматографирования (с. 54) указана длина волны в редакции 315 ± 5 нм, тогда как УФ-спектр характеризуется интенсивной полосой поглощения при 320 нм; значит ли это, что хроматографирование осуществляют в условиях многоволнового режима ?

7. встречаются незначительное количество технических несоответствий, к которым, например, следует отнести указание в выводах в главе 3 и 4 об определении двух показателей «Потеря в массе при высушивании» и «Вода», тогда как в материалах указанных глав (с. 53 и 77 соответственно) приведены результаты определения содержания воды методом титрования по К.Фишеру, и опечаток.

Важно отметить, что все указанные замечания имеют уточняющий, а не принципиальный характер, не снижают научной ценности и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

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 созданию новых противоопухолевых лекарственных средств, 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:

доктор фармацевтических наук

(3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств,

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия,

3.4.3. Организация фармацевтического дела)

заместитель директора

Института Фармакопеи и стандартизации

в сфере обращения лекарственных средств

федерального государственного бюджетного учреждения

«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

127051, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.

Тел.: 8(499)190-18-18 доб. 63-26

e-mail: Ljakina@exrmed.ru

« 25 » « июля » 2023 г.

Лякина Марина Николаевна

Подпись доктора фармацевтических наук

Лякиной Марины Николаевны удостоверяю:

Ученый секретарь

Федерального государственного

бюджетного учреждения «Научный центр

экспертизы средств медицинского

применения» Минздрава России,

кандидат медицинских наук

« 25 » « июля » 2023 г.



Климов В.И.