

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, ведущего научного сотрудника опытно-технологического отдела ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова» Гаевой Людмилы Михайловны на диссертационную работу Козлова Алексея Владимировича «Разработка методики количественного анализа дабигатрана для задач фармакокинетики и лекарственного мониторинга», представленную в Диссертационный совет ДСУ 208.002.01 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 серьезные клинические проявления - 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 основной 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 дабигатран 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 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, позволяет 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 цитирований включает 124 литературных источников, в том числе 67 – на иностранном языке.

В введение 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 дабигатрана.

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.

В третьей главе 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. Не смотря на общую положительную оценку диссертационной работе, возник ряд вопросов:

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

По своей актуальности, структуре, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости диссертация на тему: «Разработка методики количественного анализа дабигатрана для задач фармакокинетики и лекарственного мониторинга» Козлова Алексея Владимировича, представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи разработки селективной методики количественного определения дабигатрана в плазме крови и её применение в терапевтическом лекарственном мониторинге пациентов после операции по эндопротезированию на коленном суставе полностью 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 Сеченовского университета

от 31.01.2020 г. № 0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Козлов А.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

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

Гаева Людмила Михайловна

«09» 11 2020 г

125315, г. Москва, ул.Балтийская, д.8.
Электронная почта: zakusovpharm@mail.ru

Подпись Гаевой Людмилы Михайловны заверяю

Ученый секретарь ФГБНУ

«НИИ Фармакологии имени В.В. Закусова»

кандидат биологических наук

В.А. Крайнева

