

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, заслуженного деятеля наук РФ, профессора Жердева Владимира Павловича на диссертацию Егоренкова Евгения Андреевича на тему: «Разработка методик совместного количественного определения лекарственных веществ – субстратов-маркеров различных изоферментов цитохрома P450 методом LC-MS/MS» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Актуальность темы исследования.

Нежелательные лекарственные явления - собирательный термин, включающий в себя любые неблагоприятные симптомы после приёма лекарственного средства, отклонения лабораторных показателей от нормы. Практически все лекарственные вещества способны вызывать нежелательные лекарственные явления у пациентов. Риск развития данных явлений зависит от многих факторов, как внешних (диета, курение, сопутствующие заболевания и терапия), так и внутренних (измененная активность метаболизма).

Влияние активности систем метаболизма обязательно учитывается при совместном назначении нескольких лекарственных средств (полипрагмазии) для снижения риска перекрёстных нежелательных лекарственных явлений. Однако ферменты метаболизма могут обладать изменённой активностью ввиду наличия отклонений в генах, определяющих синтез данных ферментов в организм, в дополнение к множеству внешних факторов. Определение активности системы биотрансформации у пациента *in vivo* позволит минимизировать риска возникновения нежелательных лекарственных явлений при фармакотерапии, а также обеспечит достижение надлежащего терапевтического эффекта при приёме лекарственных препаратов, в особенности с узким терапевтическим окном.

Существующие методики определения активности метаболизма *in vivo* не используются широко в практике лабораторий клинической фармакологии ввиду своей сложности, ресурсоемкости, необходимости наличия дорогостоящего оборудования. Учитывая вышесказанное, для повышения качества фармакотерапии необходима разработка новых безопасных, быстрых, экономичных и воспроизводимых методов определения активности ферментов основных систем метаболизма у пациентов.

Все это определяет актуальность диссертационного исследования.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

В качестве цели исследования автор выдвинул разработку и валидацию методики совместного количественного определения субстратов-маркеров основных изоферментов CYP и их метаболитов в биожидкости организма методом ВЭЖХ-МС/МС для

фенотипирования ферментов метаболизма и определения их активности с использованием эндогенных соединений. Для достижения поставленной цели диссертантом были сформулированы и последовательно решены 5 исследовательских задач, что определило структуру и логику диссертационного исследования. Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, общих выводов и списка литературы, изложенных на 118 страницах машинописного текста. Диссертация иллюстрирована 14 рисунками и 13 таблицами. Библиографический список включает 122 литературных источника, из них 112 - на иностранном языке.

Во введении автором обоснована актуальность изучаемой проблемы, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна и практическая значимость работы, определены положения, выносимые на защиту.

В первой главе - *«Обзор литературы»* - представлен литературный обзор по проблемной области исследования. При сравнительном анализе разработанных «коктейльных» методов фенотипирования изоферментов CYP выяснилось, что большинство из методов обладают рядом недостатков, затрудняющих их использование в практике лабораторий клинической фармакологии: многоэтапная пробоподготовка с отдельным количественным определением аналитов, использование субстратов с высоким риском возникновения нежелательных лекарственных явлений. Таким образом, автором обоснована необходимость разработки «коктейльного» метода с использованием безопасных лекарственных веществ, а также эндогенных веществ, в качестве субстратов-маркеров изоферментов CYP, и их последующее количественное определение в моче, изолируя аналиты в одну пробу с целью дальнейшего совместного количественного определения методом LC-MS/MS в процессе одного анализа.

Во второй главе - *«Материалы и методы»* - автором представлена информация о химических свойствах изучаемых аналитов, а также подробно описаны использованные в процессе разработки и валидации методики оборудование и реактивы.

Третья глава - *«Основные результаты и их обсуждение»* - посвящена подробному описанию разработки методик пробоподготовки и последующего количественного определения субстратов-маркёров CYP и их метаболитов в плазме крови и мочи. Автор поэтапно приводит разработанные методики изолирования аналитов из биожидкости, в том числе описывая полученные промежуточные результаты. В данной главе приведены условия хроматографического разделения и детектирования исследуемых аналитов. Приведены подробные отчёты о валидации разработанных методик по основным валидационным параметрам в соответствии с действующей нормативной документацией. Описаны результаты успешного применения используемых методик в различных

исследованиях определения активности метаболизма у пациентов с различными патологиями в сравнении с активностью у здоровых добровольцев.

Диссертационное исследование Егоренкова Евгения Андреевича заканчивается общими выводами, которые в целом соответствуют задачам исследования и отражают полученные результаты. Все выводы, сделанные диссертантом, аргументированы, обоснованы и достоверны, что определено использованием в работе современных и адекватных методов исследования. Основные научные результаты диссертационного исследования опубликованы в 6 научных работах, из них 3 – в изданиях из Перечня ВАК, 2 – в издании, включенном в базу Scopus и Web of Science.

Достоверность полученных результатов и научная новизна.

Достоверность результатов, полученных автором в ходе исследования, не вызывает сомнений, т.к. обеспечена научно обоснованным выбором объектов и методов исследования. В основе научных разработок лежит всесторонний анализ выполненных ранее научных работ по проблемной области исследования. Достоверность полученных результатов подтверждена валидацией разработанных методик с использованием современных требований и критериями приемлемости для биоаналитических методик согласно действующей нормативной документации, а также использованием адекватных статистических методов. Автором получены убедительные результаты, которые полезны для фармацевтической науки и практики. В выводах и автореферате представлены основные результаты исследований, полученные диссертантом с применением современных методов исследования. Выбранная диссертантом тема характеризуется **научной новизной**. Автором впервые:

- разработаны условия пробоподготовки биобъектов для дальнейшего совместного определения активности основных изоферментов CYP, используя в качестве субстратов для нескольких изоферментов (а именно CYP3A4 и CYP2D6) эндогенные вещества с целью снижения инвазивности метода; для остальных изучаемых изоферментов (CYP1A2 и CYP2C9) в качестве субстратов использовались широко используемые лекарственные вещества с низким риском возникновения нежелательных лекарственных явлений

- разработаны и валидированы методики количественного определения при совместном присутствии в плазме крови и моче субстраты-маркеры изучаемых изоферментов CYP и их метаболитов методом ВЭЖХ-МС/МС - кофеин, параксантин, лозартан, Е-3174, кортизол, 6-β-гидроксикортизол, пинолин и 6-гидрокси- 1, 2, 3, 4,- тетрагидро-β-карболин.

Освещение основного содержания диссертации в автореферате, 6 публикациях, в т.ч. в 3 изданиях, рекомендованных ВАК РФ, а также широкое обсуждение научным и

практическим фармацевтическим сообществом на российских и международных конференциях свидетельствуют о достаточной степени апробации.

Значимость для науки и практики.

Теоретическая и практическая значимость исследования состоят в дальнейшем развитии методических подходов к совместному определению активности основных изоферментов системы метаболизма, участвующих в метаболизме лекарственных средств. Полученные автором результаты могут использоваться для решения задач совместного количественного определения лекарственных веществ и их метаболитов в биожидкостях организма как для определения активности изоферментов СYP, так и для решения других задач, стоящих перед специалистами по изучению фармакокинетики лекарственных средств.

Практическая значимость подтверждена актами внедрения в деятельность лаборатории клинической фармакологии ФГБУ «ГНЦ Институт Иммунологии» ФМБА России и отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России.

Отдельные теоретические выводы и практические рекомендации положения работы могут использоваться в учебном процессе при подготовке специалистов по специальности 33.05.01 Фармация, а также слушателями курсов переподготовки и курсов повышения квалификации при организации и подготовке к занятиям.

Диссертационное исследование выполнено на достаточно высоком научном уровне и заслуживает в целом положительной оценки. Но, наряду с достоинствами работы, отмечаются отдельные недостатки:

1. В разделе 3.5 диссертационной работы не приведены первичные данные исследования определения активности СYP3A4 у пациентов с гормонзависимой бронхиальной астмой, имеются лишь результаты статистической обработки данных и ссылка на статью-источник.

2. В работе имеются опечатки, стилистические погрешности, неудачные выражения, встречаются пустые места на страницах.

Тем не менее, отмеченные замечания и возникшие вопросы не носят принципиального характера, скорее отражают профессиональный интерес к исследованию, не снижают научной и практической значимости диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изложенное выше позволяет сделать вывод, что диссертационная работа Егоренкова Евгения Андреевича на тему: «Разработка методик совместного количественного определения лекарственных веществ – субстратов-маркеров различных изоферментов цитохрома P450 методом LC-MS/MS» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной по актуальной теме, в которой изложены новые научно обоснованные разработки и методики, имеющие существенное значение для проведения фармакокинетических исследований новых и уже известных лекарственных средств.

По своей актуальности, новизне, уровню и объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости диссертация 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), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Егоренков Евгений Андреевич, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Доктор медицинских наук (14.03.06 – фармакология и клиническая фармакология), заслуженный деятель наук РФ, заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В.В.Закусова",
125315, г. Москва, Балтийская улица, 8
тел.: 8 (495) 601-21-57
zherdevpharm@mail.ru



Жердев Владимир
Павлович

Подпись д.м.н, заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В.В.Закусова" «заверяю»

Учёный секретарь ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В.В.Закусова", к.б.н.



Крайнева Валентина
Александровна