

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата фармацевтических наук, Сергеевой Марии Сергеевны на диссертационную работу Фишер Елизаветы Николаевны «Фармакокинетические исследования инновационных противоопухолевых пептидных лекарственных средств», представленную в Диссертационный совет Д 208.040.09 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ 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

В настоящее время для лечения ряда гормонозависимых опухолей широко применяются лекарственные средства, представляющие собой производные эндогенных пептидов. Создание инновационных лекарственных форм с модифицированными системами доставки олигопептидов, расширение показаний к их применению, изучение новых дозировок, клинико-фармакологический мониторинг при составлении схем рациональной терапии, подтверждение биоэквивалентности при разработке воспроизведенных лекарственных средств обуславливает необходимость проведения фармакокинетических исследований с помощью высокочувствительных и селективных методов анализа.

Поэтому работа Фишер Елизаветы Николаевны, посвященная разработке унифицированной методики количественного определения противоопухолевых олигопептидов гозерелина, бусерелина, октреотида и триптотрелина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) для проведения фармакокинетических исследований является несомненно актуальной.

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

Научные положения диссертационной работы Фишер Елизаветы Николаевны основаны на результатах проведенных экспериментов с использованием современных физико-химических методов анализа. Поставленные задачи полностью отражают цель исследования.

Научные выводы и рекомендации основаны на достаточном объеме диссертационного материала, являются достоверными и логически вытекают из результатов исследования.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

В рассматриваемой работе впервые показана возможность количественного определения противоопухолевых олигопептидов гозерелина, бусерелина, октреотида и триптотрелина в плазме крови человека и животного в единых, унифицированных условиях с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС, при этом для анализа бусерелина данный метод использован впервые.

Достоверность полученных результатов и применимость разработанной методики подтверждена валидацией в соответствии с действующими требованиями, предъявляемыми к биоаналитическим методикам. Проведен статистический анализ результатов собственных фармакокинетических исследований.

Основные результаты диссертационной работы апробированы на международных научно-практических конференциях различного уровня. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 2 – в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК РФ и 1 – в журнале, входящем в международные базы данных (Scopus).

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований, анализе и обобщении полученных результатов. Автором лично проведена разработка и валидация методики определения противоопухолевых пептидов гозерелина, бусерелина, октреотида и триптотрелина в плазме крови и статистическая обработка результатов эксперимента. Вклад автора является определяющим на всех этапах исследования: от постановки задач и их экспериментально-теоретической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях, докладах и внедрения в практику.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Значимость исследований автора заключается в разработке оригинальной унифицированной специфичной методики для количественного определения в плазме крови человека и животного четырех противоопухолевых олигопептидов, гозерелина, бусерелина, октреотида и триптотрелина, что может позволить снизить затраты на проведение фармакокинетических исследований, в том числе и исследований

биоэквивалентности воспроизведенных лекарственных средств на основе данных соединений, а также терапевтического мониторинга.

Условия хроматографического разделения и способы пробоподготовки могут быть использованы при разработке методик количественного определения в плазме крови новых аналогов гонадотропин-релизинг гормона и соматостатина.

Структура и содержание диссертации

Представленная диссертационная работа изложена на 136 страницах машинописного текста, построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части (2 главы), общих выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 39 рисунками и 45 таблицами. Список литературы включает 145 источников, из них 125 на английском языке.

Во введении обоснована актуальность темы, представлена информация о степени разработанности темы исследования, определены цель и задачи исследования, сформулированы научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов исследования, определены основные положения, выносимые на защиту, приведена информация о степени достоверности и апробации результатов исследования, личном вкладе автора, соответствии диссертации паспорту научной специальности, публикациям.

В первой главе (обзор литературы) автором подробно рассматриваются актуальность внедрения в медицинскую практику противоопухолевых препаратов на основе олигопептидов, в частности аналогов гонадотропин-релизинг гормона и соматостатина, имплантированные системы доставки изучаемых соединений и их фармакокинетические характеристики, описаны физико-химические свойства гозерелина, бусерелина, октреотида и трипторелина.

Отдельное внимание уделено обзору научных публикаций, посвященных количественным методам анализа пептидов в биологических жидкостях и способам подготовки проб. По результатам проведенного обзора сделан вывод о необходимости использования для фармакокинетических исследований высокочувствительных, точных и селективных методов анализа в сочетании с достаточно простой пробоподготовкой. В качестве наиболее перспективного метода количественного определения олигопептидов в рамках фармакокинетических исследований выбран метод ВЭЖХ-МС/МС.

Во второй главе приведен список реактивов, стандартных образцов и оборудования, описываются приготовление стандартных растворов, процедуры пробоподготовки и условия хроматографирования.

Третья глава посвящена разработке методики количественного определения изучаемых соединений в плазме крови методом ВЭЖХ-МС/МС, изучению двух способов подготовки проб для устранения матричного эффекта (твердофазной экстракции (ТФЭ) и осаждение белков органическими растворителями) с обоснованием выбора оптимального способа пробоподготовки в зависимости от цели фармакокинетических исследований и ожидаемого уровня концентрации аналитов, а также валидации разработанной методики при двух способах пробоподготовки в соответствии с современными требованиями, предъявляемыми к биоаналитическим методикам. Методика валидирована по показателям селективность, линейность, эффект матрицы, перенос пробы, правильность и прецизионность (внутри цикла и между циклами), межлабораторная сходимость, установлены нижние пределы количественного определения и аналитические диапазоны методики для всех исследуемых соединений при двух способах пробоподготовки, проведены испытания стабильности.

Далее в главе автором описаны собственные фармакокинетические исследования: представлены результаты оценки основных фармакокинетических параметров разрабатываемого отечественного лекарственного препарата гозерелина и референтного лекарственного препарата Золадекс[®], показана пригодность разработанной методики для проведения сравнительных доклинических фармакокинетических исследований; разработанная методика апробирована для проведения терапевтического лекарственного мониторинга: показана возможность обнаружения гозерелина в плазме крови пациентов с онкологическим заболеванием, в концентрации от 0,5 нг/мл и выше.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа построена логично, задачи исследования выполнены полностью, общие выводы соответствуют проведенным исследованиям.

Проведена полномасштабная валидация разработанной методики в сочетании с двумя способами пробоподготовки, в том числе подтверждена ее межлабораторная сходимость. Показаны широкие возможности разработанной методики для решения разнообразных фармакокинетических задач для целого ряда инновационных противоопухолевых пептидов, что несомненно имеет большое значение для фармацевтической науки и медицины.

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

1. В главе «Материалы и методы» в перечне стандартных образцов изучаемых соединений не указана их чистота, не указано плазму крови каких видов

животных использовали при разработке методики и фармакокинетических исследованиях, а также кем предоставлены образцы плазмы крови животных и человека.

2. Чем обусловлен меньший объем вводимой пробы при пробоподготовке с осаждением белков метанолом?
3. Учитывалась ли возможность денатурации изучаемых олигопептидов в метаноле и ацетонитриле, при разработке способа пробоподготовки методом осаждения?
4. В главе 3 при подтверждении селективности разработанной методики представлены рисунки только хроматограммы образцов интактной плазмы крови. Более наглядным, вероятно, является совместное приведение хроматограмм образцов плазмы крови без и с добавлением стандартных образцов аналитов.
5. В главе 3 в разделе, посвященном оценке фармакокинетических параметров разрабатываемого отечественного лекарственного препарата гозерелина и оригинального лекарственного препарата Золадекс[®] с помощью разработанной методики, не указан используемый способ пробоподготовки.
6. В тексте встречается отсутствие пробелов между словами, присутствуют единичные опечатки и неудачно сформулированные выражения.

Вышеперечисленные замечания и вопросы носят уточняющий характер и не снижают научной и практической значимости диссертационного исследования. Результаты исследований убедительны и достаточно хорошо апробированы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Заключение

Таким образом, диссертация Фишер Елизаветы Николаевны на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук на тему: «Фармакокинетические исследования инновационных противоопухолевых пептидных лекарственных средств» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи по изучению фармакокинетики инновационных лекарственных средств, находящихся на различных этапах доклинических и клинических исследований, имеющей существенное значение для отечественной фармацевтической науки.

По объему и уровню исследований, актуальности поставленных задач, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа Фишер

Елизаветы Николаевны 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, Фишер Елизавета Николаевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Старший научный сотрудник химико-технологической лаборатории опытно-технологического отдела Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», кандидат фармацевтический наук (специальность 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия)

«28» 11 2019 г.

Сергеева Мария Сергеевна

125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8
+7(495) 601-24-17, e-mail: sergeeva_m_s@inbox.ru

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 г.), необходимых для работы диссертационного совета Д 208.040.09.

Подпись Сергеевой Марии Сергеевны заверяю:

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

Крайнева Валентина Александровна

