

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, начальника лаборатории микробиологии испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации Гунар Ольги Викторовны на диссертацию Куляк Олеси Юрьевны «Доклиническое исследование фармакокинетики инновационного препарата коэнзима Q₁₀» представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в диссертационном совете Д208.008.02 при Волгоградском государственном медицинском университете по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность

Инфаркт миокарда, по данным Всемирной организации здравоохранения, занимает первое место в структуре причин смертности. Гиперпродукция свободных радикалов и истощение антиоксидантного резерва организма является важнейшим фактором ишемического повреждения и требует применения препаратов, проявляющих антиоксидантную активность.

Коэнзим Q₁₀ – эндогенный липофильный антиоксидант, играющий одну из ключевых ролей в дыхательной цепи переносов электронов. В живых системах коэнзим Q₁₀ содержится в окисленной – убихинон и восстановленной – убихинол формах и функционирует как окислительно-восстановительный агент.

Многочисленные исследования демонстрируют эффективность использования препаратов, содержащих коэнзим Q₁₀, для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. Препараты, содержащие коэнзим Q₁₀, представлены только пероральными лекарственными формами с крайне низкой биодоступностью, что связано с низкой растворимостью, полярностью и большой молекулярной массой вещества. Данный способ введения не обеспечивает быстрого повышения уровней коэнзима Q₁₀ в плазме и органах, что возможно только при использовании парентеральных лекарственных форм. Внутривенное введение препарата коэнзима Q₁₀ мгновенно

повышает его концентрацию в плазме и позволяет использовать парентеральную лекарственную форму в urgentных ситуациях.

Очевидно, что антиоксидантную активность в организме проявляет восстановленная форма коэнзима Q₁₀. Эффективность убихинола, как самостоятельного агента, может быть гораздо выше, чем эффективность убихинона. В ЗАО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» разработан инновационный лекарственный препарат для внутривенного введения – раствор солюбилизированной субстанции убихинола. Разработка и валидация биоаналитической методики количественного определения убихинола, изучение его фармакокинетики и эффективности использования препарата на его основе являются важнейшими этапами в доклиническом изучении нового лекарственного препарата.

Научная новизна и практическая значимость результатов работы

Впервые с помощью интернет ресурсов изучены в сравнительном аспекте физико-химические свойства молекул убихинона и убихинола. Разработана и валидирована методика количественного определения убихинола в плазме и биоматериале органов крысы. Изучена фармакокинетика инновационной лекарственной формы препарата убихинола при однократном и многократном внутривенном введении в различных дозах. Проведена оценка фармакокинетических параметров, проверена гипотеза линейности, выявлены основные пути экскреции препарата. Прослежена динамика редокс-статуса коэнзима Q₁₀ в плазме крыс после внутривенного введения препарата. Показан кардиопротекторный эффект препарата, введенного внутривенно в первые минуты после начала ишемии.

Результаты изучения фармакокинетики включены в отчет по государственному контракту от 20 августа 2014 года №14411.2049999.19.068 с Минпромторгом России в рамках федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» по теме: «Доклинические исследования кардиопротекторного лекарственного средства на основе коэнзима

Q₁₀ для внутривенного введения с целью коррекции острых ишемических состояний миокарда», Шифр «2.1 Острая ишемия 2014».

Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертационной работы

Для диссертационной работы автором выбраны современные методики сбора и обработки данных. Оборудование, используемое в эксперименте, имеет действующие свидетельства о поверке. Результаты исследования получены на достаточном количестве экспериментальных животных и соответствуют требованиям руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Все основные положения диссертационной работы аргументированы и открывают перспективы для дальнейшего изучения и возможного использования инновационного лекарственного препарата коэнзима Q₁₀. Материалы таблиц, рисунков и графиков корректны и не вызывают вопросов. Достоверность полученных результатов обеспечена большим объемом проведенных исследований, а также выбором адекватных критериев для статистической обработки результатов.

Структура работы

Диссертационная работа изложена на 131 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора имеющихся литературных данных, раздела с описанием используемых материалов и методов, включающего 6 протоколов исследований, раздела собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, который включает 143 источника, в том числе 8 отечественных и 135 зарубежных публикаций. Работа иллюстрирована 36 рисунками и 34 таблицами.

Диссертационная работа построена по традиционному типу.

Во введении автор обосновывает актуальность диссертационного исследования и степень изученности проблемы, формирует цель и задачи, поставленные для ее достижения, научную новизну и практическую значимость, т.е. все положения, необходимые для вводной части диссертационной работы.

В структурированном **обзоре литературы** представлены современные данные об истории открытия коэнзима Q₁₀, основных функциях, биосинтезе,

лекарственных препаратах, представленных на Российском рынке, и имеющихся данных по фармакокинетике препаратов убихинона и убихинола.

Обзор литературы изложен с соблюдением логики рассуждений и соответствует заданной теме исследований.

Глава «Материалы и методы» содержит описание реактивов и оборудования, а также экспериментальных групп животных. В ней представлены протоколы проведенных экспериментов.

В 3 главе **«Результаты и обсуждение»** представлены результаты собственных экспериментов. В первую очередь важные материалы сравнительного анализа *in silico* молекул убихинона и убихинола, полученные с помощью интернет ресурсов. Выявлены различия в коэффициентах распределения, растворимости и дипольном моменте. Обнаруженные автором различия рассматриваемых молекул убихинола и убихинона дают возможность теоретической интерпретации фармакокинетических различий с точки зрения фармацевтической химии.

Автором разработана методика количественного определения убихинола в плазме и биоматериале, выполнено валидационное исследование, результаты которого соответствуют современным международным требованиям FDA и ЕМА.

Диссертантом глубоко изучена фармакокинетика препарата убихинола при однократном внутривенном введении в трех различных дозах, а именно: 5, 10, 20 мг/кг.

Доказано, что фармакокинетика убихинола описывается двухчастевой моделью и имеет нелинейный характер. Представлены полученные значения фармакокинетических параметров: AUC_{0-48h} , Cl_t , $T_{1/2}$. В работе показано, что увеличение дозы препарата приводит к непропорциональному увеличению AUC_{0-48h} и снижению Cl_t . Обнаружено, что основным путем экскреции препарата убихинола в неизмененном виде является его экскреция в желчь.

Принципиально важным результатом, полученным в исследовании, является факт способности препарата при внутривенном введении уже через 15 минут повышать тканевые уровни коэнзима Q_{10} не только в плазме, но и в

печени, ЛЖ, селезенке, мозге и почках, сохраняющиеся на протяжении 32 часов. Увеличение тканевого пула коэнзима Q₁₀ может оказывать противоишемический эффект, что и было убедительно доказано соискателем с использованием модели инфаркта миокарда у крыс.

Показано, что однократное внутривенное введение препарата в дозе 10 мг/кг в первые минуты после начала ишемии миокарда приводит к ограничению зоны постинфарктных повреждений, предотвращению последующего развития гипертрофии и сохранению насосной функции левого желудочка.

Раздел обсуждения включен в главу результатов, где автором проведен сравнительный анализ и сопоставление полученных результатов между собой и с имеющимися литературными данными.

Выводы диссертационного исследования соответствуют поставленным задачам, логичны, обоснованы и отражают сущность выполненного исследования.

Цель, поставленная в диссертации, достигнута, поэтому данное исследование можно считать завершенным и заслуживающим положительной оценки.

Вместе с тем, при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы и замечания:

1. В чем заключается инновационность разработанного Вами лекарственного препарата?
2. Целесообразно было бы в задачи исследования включить определение показателей качества для выполнения контроля разрабатываемого инновационного препарата коэнзима Q₁₀, тем более, что анализ по основным из них проведен диссертантом.
3. Чем отличается количественное определение убихинола в плазме крови и биоматериале от анализа в лекарственном препарате?
4. Как соотносятся требования FDA и EMA для валидационных характеристик селективности, линейности, правильности, прецизионности и пределу количественного определения с положениями Государственной Фармакопеи РФ? Чем Вы руководствовались при выборе валидационных характеристик?

5. В соответствии с главой 22 «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» при выборе экспериментальных животных обращают внимание на достаточное количество животных нескольких видов и линий, полученных из контролируемых питомников и прошедших карантин, сформированных в группы по возрасту, полу и массе. Каким образом были выбраны животные для Ваших исследований?
6. Какой солюбилизатор использовался для изготовления 1% водного раствора субстанции убихинола для внутривенного введения?
7. Почему биодоступность препарата определяли по общему пулу коэнзима Q10 в организме, а не по действующему веществу – убихинолу?
8. При изучении фармакокинетики препарата убихинола представлены результаты изучения нативной молекулы вещества, однако не приведены данные изучения метаболитов убихинола. Подвергается ли убихинол метаболическим превращениям, если да, то почему нет данных по метаболизму коэнзима Q10?

Представленные замечания не носят критический, принципиальный характер и не снижают положительной оценки рассматриваемой диссертации.

Диссертационная работа Куляк О.Ю. оформлена в полном соответствии с ГОСТ 7.0.11.-2011. Автореферат отражает основное содержание диссертационной работы, по материалам которой опубликовано 9 печатных работ, в том числе 5 из них – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Диссертационная работа Куляк Олеси Юрьевны, соответствует заявленным специальностям 14.03.06.– Фармакология, клиническая фармакология, 14.04.02. – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заключение

Диссертационная работа Куляк Олеси Юрьевны «Доклиническое исследование фармакокинетики инновационного препарата коэнзима Q₁₀» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи, связанной с разработкой и валидацией

биоаналитической методики количественного определения коэнзима Q_{10} , а также изучением фармакокинетики инновационного препарата убихинола и оценкой его кардиопротекторных свойств.

Работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым действующим «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным ПП РФ от 24.09.2013г. №842, к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Куляк Олеся Юрьевна, заслуживает присуждение ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Доктор фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия, начальник лаборатории микробиологии испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Гунар Ольга Викторовна

Подпись Гунар Ольги Викторовны заверяю

Ученый секретарь Ученого совета
Федерального государственного
бюджетного учреждения «Научный
центр экспертизы средств медицинского
применения» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
к.м.н.



Климов В.И.

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

Тел. +7 (495) 625-43-48

Адрес электронной почты: gunar@expmed.ru

СВЕДЕНИЯ ОБ ОППОНЕНТЕ

по диссертации Куляк Олеси Юрьевны «Доклиническое исследование фармакокинетики инновационного препарата коэнзима Q_{10} » на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

ФИО оппонента	Гунар Ольга Викторовна
Учёная степень	Доктор фармацевтических наук
Шифр и наименование специальности, по которой защищена диссертация	14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия
Учёное звание (по специальности, кафедре)	
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы	Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Занимаемая должность	Начальник лаборатории микробиологии испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств
Почтовый индекс, адрес	127051, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2
Телефон	+7 (495) 625-43-48
Адрес электронной почты	gunar@expmed.ru
Список основных публикаций оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет	<ol style="list-style-type: none">1. Шаповалова, О.В. Валидационные процедуры для определения показателя «Бактериальные эндотоксины» / О.В.Шаповалова, П.В.Шадрин, Н.П.Неугодова, О.В.Гунар, Г.В.Долгова // Антибиотики и химиотерапия. – 2017. – Т. 62. – №. 7-8. – С. 42-47.2. Гунар, О.В. Особенности валидации качественных микробиологических методов фармацевтического анализа / О.В.Гунар, И.А.Буйлова // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – Т. 51. – №. 1. – С. 54-56.3. Гунар, О.В. Методы идентификации микроорганизмов при анализе качества лекарственных средств и оценка их применимости / О.В.Гунар, Н.Г.Сахно // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52.

	<p>– №. 11. – С. 55-58.</p> <p>4. Новик, Е.С. Оценка размера и формы частиц фармацевтических субстанций микроскопическим методом/ Е.С.Новик, А.В.Доренская, Н.А.Борисова, О.В.Гунар // Успехи современного естествознания. – 2016. – №. 11-2. – С. 249-255.</p> <p>5. Доренская, А.В. Влияние механических включений, обнаруженных в парентеральных препаратах, на здоровье пациентов / А.В.Доренская, О.В.Гунар // Жизнь без опасностей, здоровье. Профилактика. Долголетие. – 2014. – Т. 9. – №. 4. – С. 36-41.</p>
--	---

Доктор фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия, начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Ольга Викторовна Гунар

127051, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2
Тел. +7 (495) 625-43-48
Адрес электронной почты: gunar@expmed.ru

Подпись Гунар Ольги Викторовны заверяю

Ученый секретарь Ученого совета

Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации»
к.м.н.



Климов В.И.

« _____ » _____ 201__ г.

(Гербовая печать)