

## Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Сучкова Евгения Александровича «Метод количественного определения в биологическом материале и фармакокинетические свойства нового производного аденина, обладающего противовирусной активностью», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

### Актуальность проблемы:

Разработка и внедрение в практическое здравоохранение новых отечественных лекарственных средств является одной из актуальных и приоритетных государственных задач. Процесс создания нового препарата, от поиска перспективных биологически активных соединений до клинической апробации, требует долгих лет, привлечения квалифицированных специалистов различных областей знаний и значительных материальных ресурсов. В связи с этим важнейшее значение приобретает соблюдение правил и нормативов проведения доклинических и клинических испытаний, разработки и применения аналитических методов, принципов доказательной медицины и биоэтики. Выполнение этих международных требований способно ограничить количество неудовлетворительных результатов, связанных с ошибками и несоблюдением регламентов в ходе исследований, а, значит, сократить временные и материальные потери.

Проведение фармакокинетических и биофармацевтических исследований является обязательным этапом проведения как доклинической, так и клинической стадии испытаний. Проведение такого рода исследований невозможно без использования современных высокоточных аналитических методов количественного определения изучаемого биологически активного вещества в различных объектах, в том числе в биологическом материале.

Таким образом, разработка метода количественного определения и изучение фармакокинетических свойств нового отечественного высокоактивного противовирусного средства (нового производного аденина, обладающего противовирусной активностью – соединения VMA-99-82) является актуальной задачей современной фармакологии.

Научная новизна:

Научная новизна работы Сучкова Е.А. состоит в том, что для нового производного аденина с противовирусной активностью разработан и валидизирован метод количественного определения в биологическом материале с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. Впервые проведены фармакокинетическое исследование соединения VMA-99-82 и биофармацевтическое исследование его таблетированной лекарственной формы.

Научно-практическая значимость:

Работа носит фундаментальный и прикладной характер. В результате проведенных исследований определены аналитические свойства нового производного аденина – соединения VMA-99-82, изучены его фармакокинетические и биофармацевтические характеристики, что легло в основу создания таблетированной лекарственной формы – адепрофена.

Диссертационная работа выполнена в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» и ее результаты внесены в комплексный отчет о проделанной работе по госконтракту № 11411.1008700.13.077 с Минпромторгом России.

Результаты исследования соединения VMA-99-82 включены в материал лекций и практических занятий для студентов, слушателей факультета постдипломного образования и факультета усовершенствования врачей ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России.

Диссертация Сучкова Е.А. оформлена в соответствии с существующими требованиями и изложена на 155 страницах машинописного текста, иллюстрирована 20 таблицами и 36 рисунками. Состоит из введения,

обзора литературы, 3 глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения и списка литературы, включающего 111 отечественных и 91 зарубежный источник.

Во введении автор аргументирует актуальность исследования, четко формулирует цель и задачи исследования, приводит данные о научной новизне, научно-практической значимости, внедрении и апробации результатов исследования, указывает положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы представлен анализ отечественной и зарубежной научной литературы на тему разработки новых лекарственных средств и проведения фармакокинетических и биофармацевтических исследований, представлен краткий обзор современных сведений о противовирусных средствах и перспективных направлениях поиска новых высокоэффективных препаратов.

В главах, представляющих результаты собственных исследований, подробно изложены разработка и валидация метода количественного определения соединения VMA-99-82, а также данные, полученные в ходе проведения фармакокинетического и биофармацевтического исследования. Работа выполнена с использованием достаточного объёма фактического материала для получения достоверных результатов. Автором используются современные методы исследований, адекватные подходы к расчетам и анализу полученных результатов.

В главе «Обсуждение результатов» проведен анализ экспериментальных данных и их сопоставление с современными литературными данными.

Диссертация завершается 5 выводами, основанными на полученных данных и результатах их анализа. Выводы диссертации соответствуют целям и задачам, поставленным во введении. Научно-практические рекомендации логичны и в целом отражают сущность работы.

По теме работы опубликовано 17 научных работ (12 из них в журналах списка ВАК), содержащих основные научные результаты диссертации,

которые также докладывались и обсуждались на конференциях различного уровня. Автореферат отражает основные положения диссертации.

Принципиальных замечаний и возражений по работе нет. К несущественным недостаткам можно отнести допущенные неточности формулировок, например:

1. «Разработанная таблетированная лекарственная форма является оптимальной». Лучше выразиться «приемлемой», так как она единственная, приведенная в диссертации..

2. «...вещества с высоким печеночным клиренсом и с низким. Градация веществ зависит от активности ферментных систем и от скорости печеночного кровотока: в зависимости от преобладания одного из этих факторов препарат и относят к одной из этих групп.» На самом деле критерий отнесения к группе с высоким или низким печеночным клиренсом – коэффициент печеночной экстракции более или менее 50%.

3. «Лекарственные вещества экскретируются из организма через все органы и ткани.» Экскреция из организма осуществляется органами экскреции – в основном печенью, почками, а метаболизм может проходить во многих тканях. Правильно сказать «лекарственные вещества элиминируются...».

4. «Лекарственные средства считаются биоэквивалентными, если обладают одинаковыми значениями биодоступности при введении в одной дозировке.» Этого недостаточно: необходимо еще равенство  $T_{max}$  и  $C_{max}$ .

5. «Для проведения экстракции и преципитации белков использовали горизонтальный шейкер и ультразвуковую ванну». Но преципитацию вызывают добавленные спирт и ацетонитрил, а не шейкер и УЗ-ванна.

6. «Низкие концентрации изучаемого соединения в мозге, скорее всего, связаны с транспортом через гематоэнцефалический барьер и с липофильностью VMA-99-82, а не с высокой степенью васкуляризации мозга.» Так именно липофильные вещества легче проникают через ГЭБ!

7. «Фармакотерапевтическая эффективность препаратов во многом определяется процессами их всасывания, распределения и элиминации из

организма. Все эти ключевые процессы, а, особенно, всасывание и элиминация напрямую связаны с лекарственной формой данного средства.» Но лекарственная форма не влияет на элиминацию, только на процесс абсорбции. После всасывания лекарственного вещества процессы распределения и элиминации зависят только от его химической структуры.

8. «снижение носит биэкспоненциальный характер, предполагая быструю первую фазу распределения, сменяющуюся более медленной фазой элиминации. Первая фаза элиминации заканчивается к 2 часам и начинается вторая «медленная» фаза до 12 часов исследования.» Элиминация – это самостоятельная фаза фармакокинетики, у нее нет первой и других фаз.

9. В описании материалов и методов не приводятся характеристики используемых реагентов и растворителей.

10. Для в/в введения пишете: «Как видно из представленных данных, максимальная концентрация соединения VMA-99-82 (5,71 мкг/мл) наблюдается на пятой минуте после введения.» Но Вы же не оценивали концентрацию ранее 5-ти минут, скорее всего, она была бы еще выше.

К сожалению, в тексте диссертационной работы также присутствует значительное количество грамматических, орфографических и пунктуационных ошибок.

В то же время, при прочтении работы возникли следующие вопросы:

1. «При разработке метода извлечения исследуемого соединения из биологического материала в качестве экстрагентов были опробованы: спирт этиловый, ацетонитрил, смесь ацетонитрил:спирт этиловый (50%:50% v/v), концентрированная соляная кислота, 10% раствор трихлоруксусной кислоты». Каков был принцип выбора экстрагентов? Почему для гидрофобного вещества не были опробованы гексан, эфир, бензол, хлороформ и т.п.?

2. «Внутривенное введение лекарственного вещества в изотоническом растворе производилось с помощью шприца в хвостовую вену крыс.» Как удалось добиться растворения липофильного соединения в физрастворе?

«Соединение VMA-99-82 вводили крысам внутривенно в дозе 50 мг/кг.» Чем определялся выбор дозы? Какой объем раствора вводили? Если матричный раствор в смеси ацетонитрила с этанолом готовили в концентрации 1 мг/мл, то на крысу весом 200г приходится 10 мл!

3. Как определялась длительность слежения за концентрацией препарата в крови и органах – 12 часов? Рассчитанный Вами период полувыведения – 11 часов. Согласно требованиям к проведению доклинических фармакокинетических исследований, длительность слежения за концентрацией препарата в крови должна составлять  $5 T_{1/2}$ , что по Вашим данным составляет 55 часов.

4. Ось концентраций препарата в тканях подписана «мкг/мл». Это мл гомогената? Как Вы рассчитали тканевую биодоступность: сравнивали концентрацию в крови с концентрацией в гомогенате?

5. Сколько животных использовали для каждой временной точки при изучении фармакокинетики? Не приводятся данные о разбросе значений концентраций для каждой точки. Как рассчитывали кинетические параметры по плазме крови: из полного протокола отбора проб для каждого животного с последующим усреднением значений по группе или по усредненным кривым? К сожалению, по представленным данным нельзя составить представление о межиндивидуальной вариабельности кинетики препарата.

6. Почему количество временных точек при отборе органов разное?

Данные вопросы не носят принципиального характера и не умаляют высокую научно-практическую значимость представленной диссертационной работы.

### Заключение

Таким образом, диссертация Сучкова Евгения Александровича «Метод количественного определения в биологическом материале и фармакокинетические свойства нового производного аденина, обладающего противовирусной активностью», является законченной научно-квалификационной работой, обладает внутренним единством и содержит

новые научные результаты для решения актуальной научной задачи – разработки метода количественного определения и изучения фармакокинетических свойств нового высокоактивного противовирусного средства. По актуальности темы, методическому уровню, новизне и практической значимости полученных результатов диссертация Евгения Александровича Сучкова соответствует требованиям п.II (п.п.9-14) Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.06- фармакология, клиническая фармакология и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв обсужден на заседании кафедры фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова, протокол № 5 от 20 ноября 2014 г.

**Зав. кафедрой фармацевтической химии,  
фармакогнозии и организации фармацевтического дела  
Факультета фундаментальной медицины  
Московского государственного университета  
имени М.В.Ломоносова,**

**Доктор фармацевтических наук,  
по специальности 14.04.02, доцент**

eikaleni@fbm.msu.ru

**Е.И. Каленикова**

**Подпись д.фарм.н. Е.И. Калениковой подтверждаю  
Декан ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова,  
Академик**

**В.А.Ткачук**

info@fbm.msu.ru

Публикации, близкие к тематике диссертационного исследования

1. A. Ivanov, O. Tokareva, E.Gorodetskaya, E.Kalenikova, O. Medvedev, /Cardioprotection with Intravenous Injection of Coenzyme Q10 is limited by Time of Administration after Onset of Myocardial Infarction in Rats. // **Journal of Clinical and Experimental Cardiology**, 2014, том 5, № 4 DOI
2. Kalenikova E.I., Kharitonova E.V., Gorodetskaya E.A., Tokareva O.G., Medvedev O.S./Redox status and pharmacokinetics of coenzyme Q10 in rat plasma after its single intravenous administration.// **Biochemistry, Supplemental Series B, Maik Nauka /Interperiodica Publishing (Russian Federation)**, 2014, том 8, № 3, с. 267-272.
3. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Медведев О.С./ Применение ВЭЖХ в фармацевтическом анализе и фармакокинетических исследованиях лекарственных веществ эндогенной природы и их аналогов. //В кн.: Фармацевтический анализ. Гл. 3.4. С. 616-653 **АРГАМАК-МЕДИА Москва**, 2013. ISBN 978-5-00024-003-8, 778 с.