

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук Кобелевой Татьяны Алексеевны на диссертацию Кляшевой Ольги Николаевны «Разработка методик анализа и стандартизация нового биологически активного соединения КОН-1, проявляющего ноотропное действие» представленную в диссертационный совет Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы. В стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года большое внимание уделяется созданию новых высокоэффективных и безопасных лекарственных средств отечественного производства, в том числе и препаратов с ноотропной активностью. Ноотропы широко используются в различных областях медицины. Анализ литературных данных, проведенный диссертантом, показал, что все известные препараты этой группы не лишены определенных недостатков. Поэтому поиск и внедрение новых наиболее активных малотоксичных ноотропных лекарственных средств остается актуальной проблемой.

Перспективным соединением с выраженной ноотропной активностью является оригинальное соединение 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-она (условное название КОН-1), синтезированное в ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, показавшее антиамнестическое действие более высокое, чем у пирацетама, и рекомендованное для доклинических испытаний. Следовательно, исследование по всестороннему изучению физико-химических свойств

соединения КОН-1, разработке методов контроля качества и стандартизации его субстанции является весьма актуальным.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом исследований Пермской государственной фармацевтической академии (номер государственной регистрации 01.9.50.007417).

Структура и содержание диссертации. Диссертационная работа Кляшевой О.Н. изложена на 154 страницах машинописного текста (из них 15 страниц – приложения); включая 45 таблиц, 31 рисунок, 2 схемы. Состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (главы 2-6), общих выводов, списка литературы, включающего 167 наименований, в т. ч. 34 – зарубежных. В приложении представлены материалы, подтверждающие практическую значимость работы.

Для проведения исследования диссертантом сформулирована цель работы, логично определены и последовательно решены задачи для ее достижения.

В первой главе (обзор литературы) представлена характеристика ноотропных лекарственных средств: классификация, механизм фармакологического действия. Приведена информация по синтезу и химическим свойствам производных 3-гидрокси-3-пирролин-2-она; качественным и количественным методам анализа соединений, содержащих енольную гидроксильную группу. Диссертантом рассмотрено использование спектрофотометрии в видимой области спектра в анализе лекарственных средств. Обзор литературы изложен на современном уровне, соответствует содержанию диссертационных исследований. Ссылки на литературные источники достоверны.

Во второй главе представлены объекты, материалы и методы исследования. Дана характеристика использованных средств измерения, реактивов. Описаны методики проведения отдельных исследований, даны ссылки на стандартные методики исследования.

Третья глава содержит результаты изучения физико-химических свойств соединения КОН-1. Здесь же представлены результаты по установлению показателей качества и их нормированию. В целях всестороннего изучения свойств соединения КОН-1 получены его УФ-, ИК- и ЯМР ¹H- спектры; показана возможность использования полученных данных для разработки методик оценки качества субстанции. Для идентификации КОН-1 использовали реакции подлинности, обусловленные свойствами енольного гидроксила и ароматического кольца, определена чувствительность реакций. Для установления селективности предлагаемых реакций проводили исследования с аналогичными производными, близкими по строению к исследуемому соединению КОН-1.

Четвертая глава посвящена разработке методик количественного определения исследуемой субстанции КОН-1. Изучены оптимальные условия количественного определения алкалиметрическим методом, для чего установлены константы ионизации, которые показали возможность титрования как спиртового, так и диметилформамидного растворов исследуемого соединения. Разработаны методики титрования с потенциометрическим и визуальным определением конца титрования. Для включения в проект ФСП выбрана методика алкалиметрического определения спиртового раствора соединения КОН-1 с индикатором фенолфталеином. Проведена валидация разработанной методики по показателям линейность результатов, правильность и сходимость в аналитической области методики.

Разработана методика количественного определения субстанции КОН-1 спектрофотометрическим методом в УФ области спектра, проведена ее валидация. Погрешность определения не превышает $\pm 0,76$ %. Методика рекомендована для количественного определения соединения КОН-1 в грануляте, содержащем, помимо основного вещества, лактозу и ПВП. В качестве альтернативной разработана методика количественного определения спектрофотометрическим методом в видимой области спектра

на основе реакции соединения КОН-1 с раствором железа (III) хлорида. Установлены оптимальные условия определения, проведена валидация разработанной методики. Погрешность определения составляет $\pm 0,90$ %.

В главе пятой представлены результаты разработки методик определения посторонних примесей в субстанции КОН-1. Для установления двух возможных примесей (метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты и 4-бромбензальдегида) предложена методика обращенно-фазной ВЭЖХ. Для определения примеси 3-аминопропанола (3-АПР) выбран спектрофотометрический метод в видимой области спектра на основе реакции с нингидрином. Установлены оптимальные условия определения примесей. Проведена валидация разработанных методик.

В шестой главе приведены результаты эксперимента по изучению стабильности субстанции КОН-1 при хранении в естественных условиях. Проведенные исследования позволили сделать вывод о стабильности субстанции КОН-1 в течение не менее 3 лет. Изучение стабильности субстанции КОН-1 продолжается.

Научная новизна. На основании комплексного химико-фармацевтического исследования нового биологически активного соединения КОН-1 разработаны способы оценки качества субстанции этого соединения.

Установлены физические константы, УФ-, ИК- и ПМР-спектральные характеристики КОН-1. Нормированы показатели, характеризующие подлинность и доброкачественность субстанции КОН-1, предложены реакции идентификации. Разработаны и валидированы титриметрическая и две спектрофотометрические методики количественного определения субстанции соединения КОН-1.

Найдены оптимальные условия обнаружения и установлено предельное содержание возможных посторонних примесей в субстанции исследуемого БАС методами ВЭЖХ и спектрофотометрии в видимой области.

Установлены оптимальные условия оценки микробиологической чистоты соединения КОН-1.

Изучена стабильность и установлен срок годности субстанции КОН-1.

Практическая значимость и внедрение результатов работы. Диссертантом нормированы показатели качества субстанции КОН-1, предложены рациональные методики оценки установленных показателей. Разработан проект ФСП.

Проведена апробация методик ФСП на фармацевтическом предприятии ЗАО «Медисорб» (г. Пермь).

Стандартизованные в соответствии с установленными требованиями серии субстанции КОН-1 переданы для проведения фармакокинетических исследований на кафедре токсикологической химии и физиологии с основами анатомии ГБОУ ВПО ПГФА.

Отдельные фрагменты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической химии ФОО ГБОУ ВПО ПГФА; использованы при разработке учебно-методического информационного комплекса «Анализ по функциональным группам (енольный гидроксил)».

Апробация работы. Результаты и основные положения диссертационной работы обсуждены на Российских конференциях с международным участием и межвузовских научно-практических конференциях (г. Москва, Санкт-Петербург, Пермь, Курск, Екатеринбург, Чебоксары, Казань).

Полнота публикаций. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 11 статей, в том числе в изданиях Перечня ВАК – 3, и 4 тезисов докладов. Публикации в полной мере отражают содержание диссертации. Автореферат полностью соответствует основным положениям диссертационной работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 –

фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта специальности - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Степень обоснованности и достоверности научных результатов, положений и выводов диссертации. Анализ диссертационной работы Кляшевой О.Н. показывает, что все разделы выполнены на высоком научном уровне, в достаточной степени подтверждены экспериментальными данными. Основные экспериментальные исследования проведены автором или при его непосредственном участии. Научные положения, выводы, рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, являются достаточно обоснованными, доказательными и достоверными. Диссертантом использованы современные методы анализа (УФ-, ИК-, ЯМР¹H-спектроскопия, титриметрия, ВЭЖХ, спектрофотометрия в УФ- и видимой области, микробиологическое исследование), а при обработке результатов – методы математической статистики. Осуществлена валидация разработанных методик в соответствии с требованиями ОФС «Валидация методов анализа». По результатам работы составлены проект ФСП на субстанцию КОН-1.

В целом диссертантом выполнен большой объем теоретических и экспериментальных исследований. Работа построена логично, хорошо оформлена и легко читается.

Однако при рассмотрении диссертации возникли следующие вопросы и замечания:

1. В работе не указаны выход соединения КОН-1 при его лабораторном синтезе и способ очистки субстанции.
2. Для подтверждения подлинности КОН-1 не использованы реакции доказательства брома в соединении.
3. При установлении состава продукта реакции КОН-1 – железо (III) проводилось ли выделение его из раствора? Изучался ли его элементный состав?

4. Диссертантом установлено, что введение аскорбиновой кислоты в реакционную массу 3-аминопропанола с нингидрином значительно увеличивает интенсивность поглощения конечного продукта. Чем это можно объяснить?
5. Можно ли для количественного определения КОН-1 в составе гранулята использовать метод ВЭЖХ?
6. В оформлении диссертационной работы имеются некоторые погрешности:
 - плохо читаются расчетные формулы на стр. 68 и 82;
 - не обозначены оси графиков на рисунках 3.5 и 5.4 – 5.15.

Высказанные замечания не принципиальны, носят дискуссионный характер и не снижают ценности выполненных исследований.

Заключение. На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Кляшевой Ольги Николаевны «Разработка методик анализа и стандартизация нового биологически активного соединения КОН-1, проявляющего ноотропное действие» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную на высоком теоретическом и экспериментальном уровне. Автором проведен большой объем приоритетных исследований, совокупность которых можно квалифицировать как решение важной задачи, имеющей значение для фармацевтической отрасли, заключающейся в разработке методик анализа и установлении норм качества нового биологически активного соединения с выраженной ноотропной активностью. По актуальности поставленных задач, научному уровню их решения, объему и новизне исследований, степени обоснованности, достоверности и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Кляшевой Ольги Николаевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, и ее автор заслуживает присуждения ученой степени

кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 –
фармацевтическая химия, фармакогнозия.

26 августа 2015 г.

Официальный оппонент:

Доктор фармацевтических наук (14.04.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия), профессор, заведующая кафедрой аналитической и
органической химии ГБОУ ВПО «Тюменский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Кобелева Татьяна Алексеевна

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования «Тюменский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 625023, Тюменская область, г. Тюмень, ул. Одесская, д. 54
Телефон: 8 (3452) 20-21-97, факс: 8 (3452) 20-62-00
e-mail: tgma@tyumsma.ru

Подпись д.ф.н., профессора Ко

Ученый секретарь Ученого Со

С.В. Платицына