

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию Анастасии Валерьевны Ластовка
«Исследование физико-химических свойств, разработка и валидация
аналитических методик контроля производного (-)-изопулегола –
соединения с высокой анальгетической активностью»
диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.02 – аналитическая химия**

Прежде всего, хотел бы отметить общее весьма положительное впечатление о диссертации Ластовка А.В. как об актуальной работе, результаты которой востребованы на всех этапах и стадиях разработки, производства и исследования как специфических медицинских и фармацевтических свойств, так и общих физических и химических свойств нового обезболивающего средства или «соединения 1», с его непроизносимым названием: (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-диметил-2-(тиофен-2-ил) октагидро-2*H*-хромен-4-ол.

Диссертация отличается большим объемом выполненных исследований, использованием разнообразных физических и химических методов, современных аналитических приборов и другого аналитического оборудования. Исследования проведены целенаправленно, их подготовка, экспериментальное выполнение и обсуждение результатов проведены тщательно и всесторонне. Основные результаты работы опубликованы в достаточно полном объеме, докладывались и обсуждались на различных научных конференциях. Хочу отметить, что работа Ластовка А.В. была высоко оценена и в коллективе НИОХ СО РАН: на конкурсе молодых ученых института в 2017 году эта работа заняла 1-е место и ее автору присуждена стипендия им. Акад. Н.Н. Ворожцова.

СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Диссертация А.В. Ластовка состоит из 2-х глав: первая содержит литературный обзор по теме диссертации, вторая – ее экспериментальную часть.

1-я глава диссертации – литературный обзор – содержит подробный анализ сведений о составе, содержании различных примесей и методах их определения в фармацевтических препаратах. Обсуждаются различные аспекты определения остаточных органических растворителей в продуктах синтеза методом газовой хроматографии. Валовой элементный состав фармацевтических препаратов определяют фотометрическими методами и методом атомно-абсорбционной спектроскопии, применяют рентгенофлуоресцентный и нейтронно-активационный методы, атомно-эмиссионную и масс-спектрометрию с индуктивно-связанной плазмой. В соответствии с требованиями отечественной и зарубежных фармакопей обсуждаются вопросы и методы

определения допустимых количеств суточного воздействия примесей лекарственных средств на организм человека и при разных способах их введения.

2-я глава диссертации посвящена исследованию физико-химических свойств, разработке и валидации аналитических методик контроля соединения 1, полученного в результате синтеза. Это физиологически активное вещество, синтезированное впервые, потребовало подробного исследования его различных физико-химических свойств, начиная с описания внешнего вида, цвета, запаха. Получены данные о растворимости соединения 1 в растворителях разной полярности, определены показатели прозрачности, цветности и рН растворов соединения 1, потери массы при его высушивании, а также термические характеристики. Главное внимание во второй главе уделено разработке комплекса методик определения чистоты и содержания действующего вещества. Как это принято в фармацевтической науке и практике и в соответствии с требованиями фармакопей, проводили *валидацию* разработанных методик. Эта концепция и процедура, неизвестные ранее в аналитической химии под таким наименованием, заключаются в формировании хорошо известного в химии набора статистических показателей для оценки качества аналитических методик: их правильности, прецизионности, специфичности, пределов обнаружения и количественного определения компонентов проб, а также линейности градуировочных графиков.

Атомную структуру соединения 1 определяли методами рентгеновской дифрактометрии, УФ- и ИК-спектроскопии, методом ^1H и ^{13}C ЯМР.

Проведена идентификация органических примесей и определение содержания действующего вещества методом ВЭЖХ-УФ. Установлено, что содержание возможных органических примесей находится ниже найденных пределов обнаружения, а среднее значение содержания действующего вещества составляет не менее 99.6%. Разработана методика и проведено определение валового элементного состава элементных примесей методом атомно-эмиссионной спектрометрии с микроволновой плазмой. Установлено, что в анальгетике содержание V, Co, As, Mo, Ru, Pd, Ag, Cd, Pt и Hg, как наиболее нежелательных примесей, было ниже экспериментально установленных пределов их обнаружения. Для решения всех этих задач анализа использовали большой арсенал современных физических, химических и физико-химических методов, в списке которых более 15-ти.

Четко и содержательно сформулированы основные результаты проведенных исследований. В них перечислены все разработанные методики анализа примесей, возможно содержащихся в соединении 1, а также полученные с их помощью сведения о свойствах этого соединения. Все эти сведения позволили разработать стандартный образец вещества для выпускающего его предприятия и приступить к формированию

соответствующих разделов регистрационного досье на фармацевтическое соединение 1 анальгетического действия.

Результаты всей суммы впервые проведенных исследований синтезированного анальгетика, можно сказать, уже «по определению» являются новыми. Некоторые из этих результатов получены с помощью стандартных методов, но в значительной части и эти методы потребовали творческого подхода, который автор диссертации проявил на всех этапах химического анализа нового, впервые синтезированного объекта – при обнаружении компонентов состава этого объекта, их идентификации и при количественном определении.

ЗАМЕЧАНИЯ К ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЕ

1. Медицинские положения и терминология затрудняют быстрое чтение диссертации, но взбадривают и знакомят с новыми понятиями. Пример такого отрывка: «Получено новое производное монотерпеноида (-)-изопулегола (далее непроизносимая и не читаемая формула соединения). Это соединение сочетает высокую анальгетическую активность в тестах висцеральной боли «уксусные корчи» и «горячая пластинка» и низкую острую токсичность, имеет эффект пролонгированного действия при пероральном введении».

2. Всю диссертацию пронизывает понятие валидации, с которым оппонент встретился впервые. В университетских учебниках по аналитической химии он отсутствует. Из Большого англо-русского словаря можно узнать, что слово валидация переводится на русский язык как утверждение, ратификация, легализация, придание законной силы, обоснованность. Автор диссертации определяет этот термин как «экспериментальное доказательство того, что при использовании методики можно получить достоверные результаты». В диссертации сказано: «Методики определения должны быть специфичными, правильными и воспроизводимыми. Это можно проверить, определив *валидационные показатели*. Оценка правильности проводится тремя способами: анализ стандартных образцов, сравнение с результатами другого метода, правильность которого доказана, и способ «введено-найдено»». Но для оценки специфичности, правильности, воспроизводимости и других качеств методик должны быть четко указаны концентрационные пределы содержания определяемых компонентов в объектах анализа. Эти пределы определяют медицинские критерии, а не валидационные показатели. По мнению оппонента концепция валидации – это концепция не химиков-аналитиков, а фармацевтов и метрологов и напоминает известную ситуацию, в которой телега поставлена впереди лошади. Определение пределов допустимого концентрационного состава продуктов синтеза нового медицинского препарата как нейтрального, полезного и вредного – это, в первую очередь, задачи для медицинских

специалистов. Они и решают эти задачи при обязательном участии специалистов-аналитиков. Эта совместная работа требует большого труда и времени. Только после проведения такой работы могут появиться заключительные требования ко всем методикам химического анализа нового медицинского препарата.

3. Понятие «методика анализа» в концепции валидации не расшифровано. Но, дело в том, что конечные результаты анализа появляются не при применении той или иной методики анализа, а как результат завершения всего процесса анализа. На всех стадиях анализа используют разнообразные методы и методики, выбор и применение которых зависят от физических и химических свойств анализируемого вещества как в целом, так и отдельных его компонентов. Хорошо известно, что для получения статистических выводов и правил необходимо опираться на весьма большое число экспериментальных данных. При использовании валидированных методик, по различным объективным причинам аналитики могут проводить минимальное число экспериментов и обычно ограничиваются 2 – 3 результатами параллельно проведенных анализов. И эти результаты всегда расходятся. Если в допустимой малой степени, то используют среднее значение таких результатов. Если расхождение признается недопустимым, то проводят выяснение его возможных причин. И, чаще всего, оказывается, что эти причины не связаны с методикой анализа как таковой, а являются следствием недопустимых оплошностей при выполнении анализа, приборных погрешностей или являются следствием неоднородности состава пробы анализируемого вещества. Такой повсеместно используемый практический подход к оценке результатов анализа вполне оправдан и имеет равные права с валидацией. Он быстрее, эффективнее и, что немаловажно, дешевле и позволяет выяснять причины расхождения данных, а не просто констатировать вид расхождений в результате статистических расчетов, при которых, кстати, значительно выпадающие результаты отбрасываются как случайные. Процессы анализа всегда необратимы. В соответствии с основными положениями неравновесной термодинамики результаты таких процессов непредсказуемы, а случайные выбросы имеют те же «права», что и т.н. закономерные. Выпадающие результаты часто помогают выяснению причин значительных расхождений результатов анализа.

Завершая этот раздел отзыва, замечу, что по теме валидации оппонент не имеет претензий к диссертанту, который действовал согласно обязательным требованиям фармакопей различных государств, в том числе Российской Федерации, Соединенных Штатов Америки, Европейской фармакопеи, как и других международных фармацевтических и медицинских документов.

4. В диссертации не обсуждается вопрос об изомерах как исходного соединения, так и об изомерах целевого продукта синтеза. Известно, что исходное соединение для синтеза имеет 3 изомера. Могут ли существовать изомеры нового соединения?

5. Автор диссертации приводит единственный хроматографический пик как доказательство единственности нового соединения. Но это не абсолютное доказательство, так как одинаковые по составу вещества могут образовывать на одних хроматографических сорбентах общий пик и разделяться на других сорбентах, как это происходит, например, в условиях двумерной хроматографии.

6. В диссертации приведены данные, доказывающие однородность состава основного вещества. Но для примесей такие данные отсутствуют. Между тем, для твердых гетерофазных веществ всегда проявляется неоднородное распределение примесей в их общей массе.

7. Определенное недоверие вызывает возможность для разработанного автором диссертации качественного способа – по цветной реакции – проводить определение подлинности исследуемого соединения.

8. Возникает вопрос: отражается ли присутствие органических примесей в соединении 1 на результатах элементного анализа этого соединения, если его содержание в продукте синтеза составляет не менее 99.6%?

9. В диссертации встречаются неудачные выражения и словосочетания. Например, «Разработана и валидирована ВЭЖХ-УФ методика идентификации технологических примесей и определения процентного содержания *действующего вещества в новом соединении*»?

Сделанные замечания по диссертации никак не отражаются на общей весьма положительной ее оценке как с точки зрения научной содержательности, актуальности и практической значимости, так и большого объема выполненных исследований и обстоятельного обсуждения полученных результатов. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы. Диссертационная работа А.В. Ластовка соответствует паспорту специальности 02.00.02 – аналитическая химия. По материалам диссертации опубликовано четыре статьи: две в отечественных журналах, рекомендованных ВАК РФ, и две в зарубежных журналах, входящих в перечень индексируемых в международной информационно-аналитической системе научного цитирования Web of Science.

Считаю, что диссертация «Исследование физико-химических свойств, разработка и валидация аналитических методик контроля производного (–)-изопулегола – соединения с высокой анальгетической активностью» соответствует требованиям п.9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства

РФ от 24 сентября 2013 г., №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Ластовка Анастасия Валерьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Согласен на обработку персональных данных.

Доктор химических наук, профессор
Главный научный сотрудник
аналитической лаборатории
ФГБУН ФИЦ Института катализа им. Г.К. Борескова
Сибирского отделения РАН
05.03.2020



Малахов Владислав Вениаминович

630090, г. Новосибирск,

Просп. Акад. Лаврентьева, д. 5;

Тел. +7 (383) 330 8160

Email: malakhov@catalysis.ru

Подпись Малахова В.В. заверяю

Ученый секретарь

ФГБУН ФИЦ Института катализа им. Г.К. Борескова СО РАН

Доктор химических наук, профессор

05.03.2020 г.



Козлов Д.В.