

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, Шохина Игоря Евгеньевича на диссертацию **Горяинова Сергея Владимировича** на тему **«Анализ профиля оксипинов в биологических образцах как новый подход к изучению механизмов действия лекарственных средств»**, представленную в диссертационный совет ПДС 0300.021 на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

### **Актуальность темы выполненной работы**

Одним из ключевых факторов патогенеза широкого спектра заболеваний, включая онкологические и неврологические, является воспаление. Мишенью широко известных лекарственных средств противовоспалительного действия, таких как аспирин, ибупрофен, индометацин и др. является регуляция биосинтеза оксипинов, при этом и новые препараты, разрабатываемые как регуляторы процессов воспаления при различных заболеваниях, также влияют на состав оксипинов. В последние годы развитие масс-спектрометрических подходов к анализу оксипинов дало возможность изучать их биологическую активность как в контексте изучения механизмов действия лекарственных средств (ЛС), так и рассматривать их как потенциальные биомаркеры широкого спектра заболеваний, включая неврологические, онкологические патологии, болезни, связанные с нарушением метаболизма и др. Диссертационная работа Горяинова Сергея Владимировича посвящена разработке подходов к анализу профиля оксипинов в различных биологических образцах, т.к. углубленное и комплексное исследование различных аспектов биосинтеза оксипинов в модельных системах для изучения молекулярных механизмов развития различных социально-значимых заболеваний и изучение механизмов

действия ЛС, воздействующих на профиль оксипинов, на сегодняшний день является актуальной и перспективной задачей.

Исходя из перечисленного, диссертационная работа Горяинова С.В. актуальна, имеет научную ценность и практическую значимость.

### **Достоверность и новизна результатов диссертации**

Достоверность результатов обеспечена спланированным дизайном исследования. Результаты, полученные с использованием метода ВЭЖХ-МС/МС, являются достоверными, поскольку разработанная методика удовлетворяет критериям приемлемости параметров валидации.

Основные достижения диссертанта, определяющие их новизну, состоят в том, что разработаны условия пробоподготовки клеточных культур и биожидкостей для количественного определения оксипинов, а также разработана и валидирована методика количественного определения оксипинов в различных матрицах методом ВЭЖХ-МС/МС. Впервые проведен сравнительный анализ профиля оксипинов внутриглазной жидкости и слезной жидкости человека при глаукоме, исследованы профили оксипинов в моделях повреждения роговицы и увеита на модельных животных, детально охарактеризовано изменение профиля оксипинов при обработке клеточных культур ЛС – агонистами ядерных рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором (PPAR): PPAR $\alpha$  (фенофибрат, GW6471); PPAR $\beta$  (GW501516, GSK0660); PPAR $\gamma$  (росиглитазон, GW9662), а также исследованы молекулярные механизмы действия перспективных лекарственных средств на основе дейтерированных аналогов полиненасыщенных жирных кислот.

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

Диссертационная работа выполнена с учетом современных научно-методических требований, что делает приведенные выводы обоснованными.

Все результаты обработаны с использованием программного обеспечения высокотехнологичного оборудования и методами статистического анализа.

В работе использовались сертифицированные референсные материалы определяемых соединений и оборудование надлежащим образом было зарегистрировано в государственном реестре средств измерений и имеет соответствующие свидетельства о поверке СИ.

Положения и выводы в диссертации Горяинова С.В. базируются на достаточном объеме экспериментальных данных. Основные результаты диссертационного исследования достаточно полно обсуждены на научно-практических конференциях различного уровня.

### **Ценность для науки и практики результатов работы**

По результатам диссертационной работы разработана и апробирована новая технология, позволяющая исследовать механизмы действия новых лекарственных средств и молекулярные механизмы возникновения и развития различных социально-значимых заболеваний, ассоциированных с воспалением. Полученные диссертантом результаты представляют интерес для внедрения в учебный процесс в медицинских и фармацевтических ВУЗах. Полученные результаты также можно использовать в практике работы лабораторий фармакокинетики, клинической фармакологии и метаболомного анализа для исследования различных патологий и оценки эффективности действия лекарственных веществ различных классов, а также для установления механизмов возникновения и развития социально-значимых заболеваний, ассоциированных с воспалительным процессом.

Следует отметить, что результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс дополнительного профессионального образования НОРЦ «Фармация» РУДН (программы ДПО «Спектроскопические методы анализа», «Хроматографические методы анализа»).



## **Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати**

По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 7 работ в рецензируемых научных журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus (все – в журналах первой/второй квартилей, Q1/Q2).

## **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Содержание автореферата полностью соответствует и отражает основные положения и выводы диссертации. Автореферат диссертации и диссертационная работа Горяинова Сергея Владимировича соответствуют заявленной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

## **Замечания по работе**

Диссертационная работа построена логично, выводы соответствуют результатам проведенного исследования. При рассмотрении работы возникли следующие вопросы и замечания:

1. Каким образом установлены времена удерживания оксилипинов и оптимизированы параметры детектирования для оксилипинов, если не использовались их СО?
2. Раздел 2.3.2. – изотопологи указаны в материалах? Процедура получения и гидролиза сложных эфиров валидирована?
3. Раздел 2.3.5. – неизвестным остаётся антикоагулянт, невозможно понять, прибавлялся ли антиоксидант, хотя ранее отмечена нестабильность оксилипинов.
4. П. 2.4. – каков объём аликвоты? Какова была аликвота дейтерированных ВС, какова концентрация раствора?
5. «Затем отбирали аликвоту супернатанта» - объём?
6. Зачем перед упариванием прибавляли глицерин?

7. Раздел 2.5, стр. 47 – не ясно, как корректировали настройки и какие на это имелись основания.
8. Ссылка 15 - draft руководства FDA, которое уже вышло в 2018 в утвержденной версии. Ссылка [14] уже не актуальна, как и ссылка [134]. Отсутствует ссылка на руководство ICH M10, хотя именно там можно найти наиболее чёткие на сегодняшний день рекомендации по валидации методик определения веществ, являющихся эндогенными молекулами.
9. Валидация, в сущности, проведена в отношении дейтерированных внутренних стандартов. Корректно ли называть их внутренними стандартами, ведь использован подход «суррогатный аналит»?
10. Валидация проведена в целом по принципу «суррогатный аналит». Это один из возможных подходов при определении эндогенных соединений. Чтобы считать этот подход применимым, следует доказать близость к единице отношений интенсивностей MRM-переходов нативного аналита к тождественным MRM-переходам меченного изотопами аналита. В работе в явном виде этой информации не приведено.

### **Заключение**

Диссертационное исследование Горяинова Сергея Владимировича является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи по разработке методологии количественного определения оксипинов в различных биологических образцах методом ВЭЖХ-МС/МС, имеющей важное значение для изучения молекулярных механизмов развития различных социально-значимых заболеваний и механизмов действия ЛС, воздействующих на профиль оксипинов. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, согласно п. 2.2 раздела II (кандидатская) Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский

университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Горяинов Сергей Владимирович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Официальный оппонент**

доктор фармацевтических наук  
(14.04.02 - фармацевтическая химия,  
фармакогнозия)

Общество с ограниченной ответственностью  
«Центр Фармацевтической Аналитики»,  
генеральный директор

Шохин Игорь Евгеньевич

21.05.2024

Подпись. Шохина И. Е. заверяю

Директор исследовательского центра, кандидат фармацевтических наук  
Комаров Тимофей Николаевич



117149, Российская Федерация, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8,  
+7 916 416-60-12, i.shohin@cpha.ru