

ВІДГУК

офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, професора Парченко Володимира Володимировича на дисертацію Аносової Людмили Сергіївни на тему «Хіміко-токсикологічне дослідження клопідогрелю», представлену в спеціалізовану вчену раду Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 - фармацевтична хімія та фармакогнозія

Актуальність теми дисертації та її зв'язок з державними чи галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки. У структурі загальної смертності в усьому світі серцево-судинні захворювання займають лідируючі позиції. Так за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я в останні роки 16,8 мільйона або одна третина всіх смертей у світі припадала на різні форми серцево-судинних захворювань. В екологічно несприятливих регіонах збільшується поширеність патологій серцево-судинної системи, так як крім доставки та перенесення різноманітних речовин, одна з первинних реагус на умови, які змінюються.

Біля 80 % лікарських засобів для лікування патологій серцево-судинної системи у більності країн Західної Європи, США та Канади виписують лікарі загальної практики, а не кардіологи. При цьому систематично хіміко-токсикологічні дослідження клопідогрелю не проводились. Тому, актуальним є створення схеми проведення токсикологічного дослідження біологічних об'єктів на наявність клопідогрелю. Дисертаційна робота Аносової Людмили Сергіївни на тему «Хіміко-токсикологічне дослідження клопідогрелю» присвячена вирішенню саме цієї проблеми.

Дослідження виконано у відповідності до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету за темою «Хімічний синтез і аналіз біологічно-активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження» (номер державної реєстрації 0103U000475).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність

одержаних автором результатів не викликає сумніву, тому що при виконанні дисертаційної роботи застосовувались сучасні фізичні та фізико-хімічні методи аналізу – високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) з мультихвильовим УФ-спектрофотометричним детектуванням, УФ-спектрофотометрія, екстракційна спектрофотометрія у видимій області спектра, тонкошарова хроматографія. Пробопідготовка біологічних рідин та біологічного матеріалу здійснювалася методом екстракції.

Наукові положення та висновки, сформульовані у дисертаційній роботі, ґрунтуються на одержаних результатах. Висновки за окремими розділами та загальні висновки є науково обґрунтованими, викладені автором чітко та коректно.

Новизна дисертаційних досліджень. Вперше здійснене систематичне хіміко-токсикологічне дослідження клопідогрелю що включало пробопідготовку різних біологічних матриць, токсикологічний скринінг методом ТІХ, ідентифікацію методами ВЕРХ. Дисертантом вперше встановлений ступінь ізоляції клопідогрелю та його метаболіту з біологічного матеріалу загальноприйнятими методами та запропонований спеціальний метод ізоляції клопідогрелю, який базується на елююванні досліджуваних речовин хлороформом із зневодненого біологічного матеріалу.

Аносовою Л. С. вперше встановлено ступінь екстракції клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти органічними розчинниками з водних розчинів залежно від pH водного середовища, розроблено ефективні методики ізоляції клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти з біологічних рідин та запропоновано оптимальні умови очистки методом ТІХ.

Дисертантом встановлено параметри хроматографічної рухливості досліджуваних клопідогреля та його метаболіту у ТІХ-системах, які застосовуються у практиці судово-токсикологічних досліджень, досліджено взаємодію клопідогрелю та його метаболіту з рядом хромогенних реагентів,

що дозволило запропонувати схему здійснення токсикологічного скринінгу речовини антиагрегатної дії.

Здобувачем запропоновано умови виявлення клопідогрелю за продуктами його метаболізму методом ТШХ.

Аносовою Л. С. розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти у біологічних об'єктах методами УФ-спектрофотометрії, екстракційної спектрофотометрії у видимій області спектра з метиловим оранжевим та ВЕРХ з мультихвильовим УФ-спектрофотометричним детектуванням.

Вперше запропоновано схему проведення токсикологічного дослідження для виявлення і визначення клопідогрелю у біологічному матеріалі та біологічних рідинах.

Новизну дисертаційних досліджень підтверджено актами впровадження та методичними рекомендаціями «Хіміко-токсикологічний аналіз біологічного матеріалу на клопідогрель».

Практичне значення результатів дослідження. Розроблені дисертантом методики пробопідготовки для аналізу біологічних об'єктів, виявлення та кількісного визначення клопідогрелю та його метаболіту методами ТШХ та ВЕРХ, УФ- та екстракційної спектрофотометрії у видимій області спектра можуть бути використані у відділеннях судово-медичної токсикології бюро судово- медичних експертиз, а також токсикологічних лабораторіях лікарень для аналітичної діагностики отруєнь лікарськими речовинами серцево-судинної дії.

Розроблені методики хіміко-токсикологічного дослідження клопідогрелю впроваджено в навчальний процес кафедри клінічної біохімії та судово- медичної токсикології Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 05.11.2013р), кафедри аналітичної хімії та аналітичної токсикології Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 18.11.2013р), кафедри неорганічної та токсикологічної хімії Запорізького державного медичного університету (акт впровадження від

21.11.2013р), кафедри фармації Івано-Франківського державного медичного університету (акт впровадження від 29.10.2013р) , кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Луганського державного медичного університету (акт впровадження від 18.11.2013р), кафедри фармації та фармакології Донецького національного медичного університету (акт впровадження від 03.11.2013 р), кафедри токсикологічної та аналітичної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (акт впровадження від 21.11.2013 р), в практичну роботу відділень судово-медичної токсикології Херсонської (акт впровадження від 18.12.2014р) , Житомирського (акт впровадження від 03.11.2013р), Черкаської (акт впровадження від 18.11.2013р) та Харківського обласного бюро судово-медичної експертизи (акт впровадження від 28.10.2013).

Повнота викладу основних результатів дисертаций в наукових фахових виданнях. Експериментальні дослідження добре висвітлені: за матеріалами дисертацій опубліковано 11 наукових робіт, у тому числі 5 статей, з яких 2 – за кордоном, 1 методичні рекомендації, 5 тез доповідей на наукових форумах різного рівня.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертаций та автореферату, завершеності дисертаций в цілому. Дисертаційна робота складається зі вступу, шести розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Загальний обсяг дисертації 220 сторінок. Список літератури містить 149 джерел.

Перший розділ присвячено аналізу публікацій стосовно отруєнь клопідогрелем в Україні та у світі відносно до широти їх застосування, токсичних властивостей; систематизовано дані з фізико-хімічних властивостей, токсикокінетичних параметрів, біоаналітичних методів їх визначення. Зроблено висновок, що аналітичні аспекти токсикології ряду клопідогрелю розроблені недостатньо, систематичні хіміко-токсикологічні дослідження клопідогрелю та його метаболіту не проводились, обґрунтована доцільність здійснення експериментального дослідження вказаної речовини

та створення системного підходу до практики хіміко-токсикологічного аналізу препрату, визначено метаболіт, який буде використовуватися в якості «маркеру» для дослідження.

В другому розділі обґрунтовано вибір біологічних об'єктів (кров, тканина печінки та сеча) та методів хіміко-токсикологічного аналізу, реагенти та обладнання, які були використані при виконанні дисертації.

В третьому розділі описано токсикологічний скринінг клопідогрелю та його метаболіту методом тонкошарової хроматографії. Визначені хроматографічні параметри у скринінгових ТІХ-системах на трьох типах хроматографічних пластин та на їх основі обрано оптимальні рухомі фази. Встановлено забарвлення продуктів взаємодії антиагреганту з хромогенними реактивами, які запропоновані ТЛАГТ для систематичного ТІХ-скринінгу. Посланням даних хроматографічних параметрів та реакцій забарвлення створена схема розділення клопідогреля від його метаболіту, та інших лікарських засобів, які можуть сумісно призначаться лікарем. Для стандартизації умов скринінгу підібрані референтні речовини для досліджуваних ТІХ-систем, на їх основі обчислені скорельовані значення R_f клопідогрелю та його метаболіту у біологічних витяжках.

З метою розробки методик скринінгу клопідогрелю та його активного метаболіту клопідогрель карбонової кислоти в судово-хімічній практиці вивчено їх взаємодію з реагентами, які застосовуються для виявлення органічних сполук, що містять гетероатоми нітрогену, сульфуру та ароматичні конденсовані цикли, та широко застосовуються в хіміко-токсикологічному аналізі.

Четвертий розділ присвячено кількісному визначеню клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти методами УФ-спектрофотометрії, екстракційної фотометрії, уніфікованим методом ВЕРХ. Розроблені методики кількісного визначення валідовано за такими параметрами, як діапазон лінійності, межі виявлення та кількісного визначення, селективність, правильність та прецизійність. Встановлено, що за умов проведення

додаткової очистки, розроблені методики характеризуються достатньою чутливістю відносно очікуваних летальних концентрацій досліджуваних речовин у зазначених біологічних об'єктах.

В п'ятому розділі досліджувалися умови екстракції клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти з водних розчинів органічними розчинниками. Обрані оптимальні умови ізоляції клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти із біологічного матеріалу, обрані органічні розчинники в залежності від pH середовища.

Шостий розділ присвячено виділенню клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти з біологічних об'єктів (тканини печінки, кров, сеча). Розроблені оптимальні умови ізоляції та екстракційної очистки біологічних екстрактів від ендогенних компонентів матриці, ТІХ-очистки з послідовним використанням двох рухомих фаз.

Наводиться схема проведення токсикологічного дослідження біологічних об'єктів на вміст клопідогрелю.

Робота Аносової Л.С. відрізняється значним фактичним матеріалом, оригінальними сучасними підходами до вирішення задач. Загальні висновки логічно витікають із основного змісту дисертації.

Автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом відповідає основним положенням дисертації.

Проте, поряд з позитивною характеристикою дисертаційної роботи є деякі запитання та зауваження:

1. Які препарати на Вашу думку можуть бути ідентифіковані разом з клопідогрелем при сунутній терапії захворювання?
2. У тексті дисертації зустрічаються поодинокі друкарські помилки та неточності.

Проте, наведені зауваження не є суттєвими та не впливають на загальну позитивну оцінку рецензованої роботи, яка написана сучасною науковою українською мовою, добре оформлена.

Висновок про відповідність дисертації вимогам «Порядку присудження наукових ступенів». На основі вищевикладеного можна зробити висновок, що дисертаційна робота Аносової Людмили Сергіївни на тему «Хіміко-токсикологічне дослідження клопідогрелю» є завершеною науковою роботою, яка за актуальністю тематики, обсягом виконаних досліджень, новизною отриманих результатів, ступенем обґрунтованості наукових положень і рекомендацій, результатами впровадження, повнотою викладення результатів роботи у фахових виданнях, теоретичним і практичним значенням відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24. 07.2013 р., а її автор, Аносова Людмила Сергіївна, заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

доктор фармацевтичних наук, професор,

професор кафедри природничих

дисциплін для іноземних студентів

та токсикологічної хімії Запорізького

державного медичного університету



ласноручний підпис

В.В. Нарченко

ПІДТВЕРДЖУЮ

зач. відділу кадрів Запорізького

державного медичного університету

20 р. Підліс

*Руденко В.В.
Руденко Людмила*