

ВІДГУК

офіційного опонента, кандидата фармацевтичних наук, доцента

Поляк Ольги Богданівни

на дисертаційну роботу **Аносової Людмили Сергіївни** на тему

«Хіміко-токсикологічне дослідження клопідогрелю»,

представлену до спеціалізованої Вченої ради 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. В більшості країн світу серцево-судинні захворювання (ССЗ) є основною причиною смерті їх громадян. До таких країн належить і Україна, в якій близько 70 % людських смертей викликані різними серцево-судинними захворюваннями, в тому числі і атеротромбозом. Клопідогрель – представник антитромбоцитарних (антиагрегантних) засобів, який ефективно застосовується в комплексному лікуванні ССЗ (гострий коронарний синдром, ішемічний інсульт, транзиторна ішемічна атака та захворювання периферичних артерій, тощо). Особливо актуальне застосування даного препарату під час лікування пацієнтів з ускладненнями ССЗ, викликаними COVID-19.

В літературі описані неодноразові випадки отруєння клопідогрелем, також його використовують з метою суїцидів. Проте, відносно систематичних хіміко-токсикологічних досліджень даного токсиканта літературні дані відсутні. У зв'язку з цим тему дисертації слід вважати актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота Аносової Л. С. виконана на кафедрі аналітичної хімії і аналітичної токсикології у відповідності з планами науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Хімічний синтез і аналіз біологічно активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження», номер державної реєстрації 0103U000475 і Проблемної комісії «Фармація» НАМН та МОЗ України.

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше проведено систематичне хіміко-токсикологічне дослідження клопідогрелю, що відповідає загальній концепції і методології ХТА та включає експериментальне обґрунтування вибору об'єктів дослідження, розробку ефективних методів ізоляції токсикантів з біологічних об'єктів, способів очищення одержаних вилучень від домішок різної природи, чутливих та селективних методик виявлення та кількісного визначення токсикантів у вилученнях з біологічних об'єктів у токсичних концентраціях.

Дисертантом вперше визначено 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 ізолювання клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти з біологічних рідин та запропоновано оптимальні умови очистки методом ТШХ.

Дисертантом встановлено параметри хроматографічної рухливості досліджуваних клопідогреля та його метаболіту у ТШХ-системах, які застосовуються у практиці судово-токсикологічних досліджень, досліджено взаємодію клопідогрелю та його метаболіту з рядом хромогенних реактивів, 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 одержаних результатів. 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 експертіз, а також токсикологічних лабораторіях лікарень для аналітичної діагностики отруєнь лікарськими речовинами серцево- судинної дії.

Фрагменти роботи впроваджено у навчальну та науково-дослідницьку діяльність кафедр ряду ВНЗ України: клінічної біохімії та судово- медичної токсикології Харківської медичної академії післядипломної освіти, кафедри аналітичної хімії та аналітичної токсикології Національного фармацевтичного університету, кафедри неорганічної та токсикологічної хімії Запорізького державного медичного університету, кафедри фармації Івано-Франківського державного медичного університету, кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Луганського державного медичного університету, кафедри фармації та фармакології Донецького національного медичного університету, кафедри токсикологічної та аналітичної хімії

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, в практичну роботу відділень судово-медичної токсикології Херсонського, Житомирського, Черкаського та Харківського обласного бюро судово-медичної експертизи (акти впровадження від 05.11.2013, 18.11.2013, 21.11.2013, 29.10.2013, 18.11.2013, 03.11.2013, 21.11.2013, 18.12.2014, 03.11.2013, 18.11.2013, 28.10.2013).

Ступінь обґрутованості та достовірності наукових положень, висновків, сформульованих у дисертації. Обґрутованість наукових висновків та положень дисертації базується на достатньому обсязі експериментально одержаних даних, їх всебічному аналізі в рамках сучасних підходів і класичних положень до здійснення хіміко-токсикологічного аналізу. Матеріал дисертаційної роботи викладений логічно та послідовно, характеризується внутрішньою узгодженістю викладених результатів.

Достовірність одержаних у роботі результатів забезпечується використанням сучасних інструментальних методів, коректною обробкою одержаних результатів із застосуванням сучасних метрологічних алгоритмів, відповідно до вимог Номенклатурної комісії з аналітичної хімії Міжнародної спілки з теоретичної та прикладної хімії (ІЮПАК) та Державної фармакопеї України та не викликає жодних сумнівів, а зроблені висновки на їх основі обґрутовані та відображають зміст дисертації.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті. Наукові положення та висновки дисертації апробовано на вітчизняних та зарубіжних конференціях. Опубліковані наукові праці в повній мірі відображають зміст дисертації – 5 статей (3 статті у фахових виданнях України та 2 статті у фахових іноземних виданнях), 5 тез доповідей у збірниках матеріалів вітчизняних та зарубіжних наукових конференцій та 1 методичні рекомендації.

Кількість фахових публікацій відповідає вимогам до кандидатських дисертацій. Зміст дисертаційної роботи повністю розкрито в наукових публікаціях та в авторефераті. Структура та оформлення дисертаційної роботи відповідає діючим вимогам.

Відповідність змісту автореферату та опублікованих праць основним положенням дисертації. Автореферат є ідентичним щодо основних положень дисертації, його зміст відповідає змісту дисертації. В авторефераті висвітлено наукові положення, пропозиції, рекомендації та висновки, що викладені в дисертації. Опубліковані праці відображають результати дослідження.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційна робота викладена на 220 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту - 168 сторінок), складається зі вступу, 6 розділів, висновків, списку використаних джерел та 3 додатків. Список використаних джерел містить 149 найменувань, з них 60 кирилицею та 89 латиною.

Дисертація оформлена акуратно, матеріал роботи викладено послідовно, доступно і вдало проілюстровано рисунками..

У *першому* розділі роботи (огляд літератури, 27 сторінок) проведено аналіз джерел літератури щодо метаболізму, токсикологічних властивостей, методів та методик аналізу, а також випадків отруєння клопідогрелем. Зроблено висновок, що аналітичні аспекти токсикології ряду клопідогрелю розроблені недостатньо, систематичні хіміко-токсикологічні дослідження клопідогрелю та його метаболіту не проводились, одержані за даним розділом висновки без сумніву стали основою для комплексного підходу вирішення поставлених наукових задач. Матеріали огляду джерел свідчать про те, що дисертант добре орієнтується у наукових питаннях, пов'язаних з вивченням обраних токсикантів.

В другому розділі (9 сторінок) дисертантом обґрунтовано методологію ХТА на клопідогрель. Також охарактеризовано обрані об'єкти досліджень, реактиви та методи аналізу, які було використано в роботі, зокрема хроматографічні (ТШХ та ВЕРХ), спектральні (УФ-спектрофотометричний та екстракційно-фотометричний) та методи ізолювання лікарських речовин з біологічного матеріалу.

Третій розділ дисертаційної роботи (21 сторінка) присвячений токсикологічному скринінгу клопідогрелю та його метаболіту методом тонкошарової хроматографії. Визначено хроматографічні параметри у скринігових ТШХ-системах на трьох типах хроматографічних пластинок та на їх основі обрано оптимальні рухомі фази. Встановлено забарвлення продуктів взаємодії антиагреганту з хромогенними реактивами, які запропоновані ТІАFT для систематичного ТШХ-скринінгу. Поєднанням даних хроматографічних параметрів та реакцій забарвлення створена схема розділення клопідогрелю від його метаболіту, та інших лікарських засобів, які можуть сумісно призначатися лікарем. Для стандартизації умов скринінгу підібрано референтні речовини для досліджуваних ТШХ-систем, на їх основі обчислено 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, і широко застосовуються в хіміко-токсикологічному аналізі.

Четвертий розділ дисертаційної роботи (54 сторінки) присвячений розробці методик кількісному визначення клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти методами УФ-спектрофотометрії, екстракційної фотометрії, уніфікованим методом ВЕРХ. Розроблені методики кількісного визначення валідовано за такими параметрами: 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 дисертаційної роботи (8 сторінок) здобувачем досліджувалися умови екстракції клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти з водних розчинів органічними розчинниками. Обрано оптимальні умови ізолювання клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти із біологічного матеріалу, органічні розчинники в залежності від pH середовища.

Шостий розділ (33 сторінки) присвячено виділенню клопідогрелю та клопідогрель карбонової кислоти з біологічних об'єктів (тканини печінки, кров, сеча). Розроблено оптимальні умови ізолювання та екстракційної очистки біологічних екстрактів від ендогенних компонентів матриці, ТШХ-очистки з послідовним використанням двох рухомих фаз.

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

Загальні висновки логічно витікають із основного змісту дисертації.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто зроблено літературний та патентно-інформаційний пошук, сплановано та виконано експеримент, проведено статистичну обробку отриманих результатів, їх аналіз та систематизацію, розроблено структура та зміст дисертаційної роботи, сформульовано висновки.

Разом з науковим керівником сформульовано мету і завдання дослідження, розроблено методичні підходи, згідно з якими було обрано сучасні фізико-хімічні та хімічні методи дослідження.

Таким чином, в роботі Аносової Л. С. і мета, і шляхи її досягнення, можна вважати актуальними. Стверджую, що поставлені в роботі завдання реалізовані повністю і на високому науковому рівні. Звертаю уваги на великий об'єм експериментальної частини та ретельність проведення експерименту. Дисертація оформлена відповідно з вимогами.

Високо оцінюючи експериментальний рівень дисертаційної роботи, слід, проте, зробити деякі зауваження:

- Доречно було провести вивчення динаміки кількісного вмісту визначуваних речовин в біологічному матеріалі при зберіганні.
- На мою думку, відомі літературні дані про ідентифікацію та кількісне визначення клопідогрелю у лікарських формах методом ВЕРХ, які описано на початку експериментального розділу 4.6 (Кількісне визначення клопідогрелю методом ВЕРХ), доречніше було подати у Вступі (огляді літератури).
- Активація хроматографічних пластинок і насичення камери парами розчинників проводилися не згідно ДФУ 2 видання.
- У списку використаних джерел зустрічається література більше ніж 10-річної давності.

Проте, зазначені зауваження є частковими, легко виправляються і не впливають на основні положення і висновки, зроблені в роботі, та на загальну високу позитивну оцінку роботи.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Розроблені автором методики проведення

пробопідготовки біологічних об'єктів, виявлення та кількісного визначення клопідогрелю, схема проведення токсикологічного дослідження для виявлення і визначення цієї лікарської речовини рекомендовано використовувати у практичній діяльності судово- медичної токсикології бюро судово- медичних експертиз, а також токсикологічних лабораторій, лікарень для аналітичної діагностики отруєнь препаратами для лікування серцево- судинної системи.

На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Аносової Людмили Сергіївни «Хіміко-токсикологічне дослідження клопідогрелю» є завершеною науковою працею і за актуальністю тематики, обсягом виконаних досліджень, новизною одержаних результатів, ступенем обґрунтованості наукових положень і рекомендацій, результатами впровадження, повнотою викладення результатів роботи у фахових виданнях, теоретичним і практичним значенням відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, які висуваються до кандидатських дисертаций, а її автор – **Аносова Людмила Сергіївна** – заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

кандидат фармацевтичних наук, доцент,
доцент кафедри фармацевтичної хімії
Тернопільського національного
 медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

О. Б. Поляк

Підпис доцента О. Б. Поляк засвідчує:

Особистий підпис

Заступник ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
 медичного університету

