

ОТЗЫВ

официального оппонента Ремезовой Ирины Петровны на диссертационную работу Крючкова Василия Борисовича на тему: «Исследование цефоперазона в биологических объектах методами электрофореза», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в диссертационный совет Д 208.040.09 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Актуальность избранной темы

В настоящее время для лечения некоторых инфекционных заболеваний, а также для противoinфекционной профилактики в хирургии применяется цефоперазон. Описаны случаи острых отравлений цефоперазоном вплоть до летального исхода. Для выяснения причины отравлений лиц, принимавших цефоперазон, решающее значение приобретают результаты химико-токсикологического исследования, так как картина отравления не является характерной. Несмотря на токсикологическое значение цефоперазона, методы его выделения и обнаружения в биологических объектах с использованием современных физико-химических методов разработаны недостаточно.

Для исключения послеоперационных раневых осложнений необходим контроль за уровнем содержания цефоперазона в тканях операционного поля. Необходима разработка методик его определения в биологических объектах с использованием современных чувствительных физико-химических методов, позволяющих определить терапевтическую его концентрацию. Для этих целей применяют электромиграционные методы.

Поэтому тема диссертации является, несомненно, актуальной, а проведенные исследования – своевременными.

Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

В отечественной и зарубежной литературе имеются разрозненные работы по исследованию цефоперазона в области химико-токсикологического анализа. Анализ отечественной и зарубежной литературы свидетельствует о том, что не были проведены систематические исследования по разработке методик изолирования, идентификации и количественного определения цефоперазона в биологических объектах. Кроме того, полученные данные невозможно сравнивать из-за различного диапазона значения концентраций цефоперазона даже в одном и том же биологическом объекте. Все указанное позволило сформулировать цели и задачи настоящей работы.

Достоверность и новизна исследований, полученных результатов

Диссертационная работа выполнена на достаточно высоком научном уровне. Автором впервые разработана методика предварительного скринингового обнаружения цефоперазона в ряду цефалоспориновых антибиотиков методом электрофореза на бумаге («ПВЭФ-1»). Предложены доступные, экономичные и экспрессные методики идентификации (подтверждающего исследования) и количественного определения цефоперазона, позволяющие их применять в условиях отечественных химико-токсикологических лабораторий.

Разработанные методики изолирования, обнаружения и количественного определения цефоперазона апробированы на клинических объектах (тканях операционного поля).

В ходе выполнения работы были использованы методы электрофореза на бумаге и капиллярный электрофорез, при этом с целью дополнительного концентрирования цефоперазона был использован приём «стекинга» в процессе электрофореза. Достоверность проведенных результатов исследований подтверждается необходимым числом экспериментов по изучению оптимальных условий изолирования цефоперазона. Методами

статистической обработки установлена воспроизводимость и правильность результатов исследований. Проведенный анализ полученных результатов и выводов диссертационной работы свидетельствует о том, что они отличаются новизной и достоверностью.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Выполненные исследования имеют теоретическое и практическое значение. Впервые теоретически обоснованы оптимальные методики изолирования цефоперазона из внутренних органов и биологических жидкостей, основываясь на его физико-химических свойствах. Предложены методики обнаружения цефоперазона в извлечениях, а также методики его количественного определения с использованием электрофоретических методов, которые валидированы.

Методики изолирования, идентификации и количественного определения цефоперазона в биологических объектах апробированы в условиях судебно-химического отделения ГБУЗ ЯО «Ярославское областное бюро судебно-медицинской экспертизы» (акты внедрения от 14.09.2016, 13.10.2016, 10.10.2016, 10.11.2016), химико-токсикологической лаборатории ГБУЗ ЯО «Ярославская областная клиническая наркологическая лаборатория» (акты внедрения от 23.09.2016, 10.11.2016, 13.10.2016, 05.12.2016); судебно-химического отделения ГБУЗ ВО «Бюро судмедэкспертизы» г. Владимира (акты внедрения от 08.02.2017).

Проект информационного письма «Химико-токсикологический анализ цефоперазона в моче методом капиллярного электрофореза» направлен для утверждения в Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский центр судебно - медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Представленная диссертационная работа построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части (5 глав), общих выводов, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 36 рисунком и 37 таблицами. Список литературы включает 244 источника, из них 101 на иностранных языках. В приложение включены акты внедрения и проект информационного письма «Химико-токсикологический анализ цефоперазона в моче методом капиллярного электрофореза».

Во введении обоснована актуальность темы, представлена информация о степени разработанности темы исследования, определены цель и задачи исследования, сформулирована научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов исследования, представлена методология и методы исследования, определены основные положения, выносимые на защиту, приведена информация о степени достоверности и апробации результатов, личном вкладе автора, соответствии диссертации паспорту научной специальности, публикациям.

В главе 1 (обзор литературы) описано применение, фармакокинетика и побочные действия цефоперазона, профилактика послеоперационных осложнений при хирургических вмешательствах, аналитические методы исследования антибиотиков цефалоспоринового ряда, применение электрофореза для анализа веществ в биологических объектах.

Автор делает вывод о том, что литературные данные свидетельствуют о широком применении цефоперазона в медицинской практике, но, при определённых условиях этот препарат, может вызывать осложнения и аллергические реакции. Для оптимального использования цефоперазона в хирургической и пульмонологической практике необходим его терапевтический лекарственный мониторинг. Для химико-токсикологического анализа, позволяющего установить факт отравлением

цефоперазоном, и терапевтического лекарственного мониторинга представляет интерес разработка анализа с использованием электромиграционных методов.

Обзор литературы изложен на современном уровне и соответствует теме исследования. Ссылки на литературные источники достоверны.

Глава 2 содержит сведения об объектах исследования, методах исследования: условия проведения анализа цефалоспориновых антибиотиков методом электрофореза на бумаге, условия проведения исследования цефоперазона методом капиллярного электрофореза, статистическая обработка результатов исследований.

В **третьей главе** предложены оптимальные условия предварительного этапа электрофореза-скрининга ряда цефалоспориновых антибиотиков – стандартов с использованием электрофореза на бумаге. Предложены условия идентификации цефоперазона в присутствии цефтриаксона, цефотаксима, цефазолина. Представлены результаты анализа исследуемых соединений в составе модельных биологических смесей на предварительном этапе и подтверждающем исследовании.

Глава 4 посвящена изучению возможности идентификации и количественного определения цефоперазона методом капиллярного электрофореза. Разработана методика идентификации цефоперазона методом капиллярного электрофореза. Предложена методика количественного определения цефоперазона с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель – 105М», характеризующаяся высокой чувствительностью, селективностью и экспрессностью, требующая минимальных затрат растворов и реагентов. Проведена валидация методики. Результаты отвечают современным требованиям критериев приемлимости.

В **главе 5** представлены результаты по разработке идентификации и количественного определения цефоперазона в модельных смесях методом капиллярного электрофореза. Предложены экспрессные методики пробоподготовки, идентификации и количественного определения

цефоперазона в биологических объектах (моча, кровь, печень) на базе отечественной электрофоретической системы («Капель – 105М»). Условия экстрагирования цефоперазона из биологических объектов, дополнительное концентрирование антибиотика непосредственно в капилляре (приём «стекинга»), позволили уменьшить объём биологических жидкостей (до 0,1мл) и веса ткани (до 0,1г). Проведена сравнительная характеристика методик экстрагирования цефоперазона из ткани печени. Доказано, что методики идентификации и количественного определения цефоперазона в моче, плазме крови, печени являются доступными, специфичными и валидными по критериям сходимости, правильности.

Глава 6 посвящена разработке методик идентификации и количественного определения цефоперазона в клинических объектах (тканях операционного поля) с помощью капиллярного электрофореза. Автором доказано, что внутривенно введённый за 20 минут до операции антибиотик, эффективно пенетрирует во все ткани операционного поля и определяется спустя 60 минут. Показано, что наибольшая концентрация цефоперазона определяется в коже, апоневрозе и брюшине. Представленные электрофоретические методики определения цефоперазона в клинических объектах позволяют объективно контролировать уровень содержания антибиотика в тканях операционного поля и биологических жидкостях, с целью противoinфекционной профилактики и лечения гнойных хирургических инфекций.

Общие выводы по диссертационному исследованию подкреплены убедительными и обоснованными результатами собственных исследований и соответствуют поставленным задачам.

В целом положительно оценивая выполненное исследование, следует высказать некоторые замечания, пожелания и задать вопросы:

1. Константа диссоциации цефоперазона составляет 5,2. Почему автором в качестве экстрагента предлагается раствор натрия гидроксида с рН

9,0? Степень извлечения цефоперазона при таком значении рН не будет максимальной.

2. В главе 4 (стр. 83-84) экспериментальной части описаны способы определения прецизионности и правильности цефоперазона, приведены формулы расчета. Целесообразно было бы этот материал привести в главе 2 или дать ссылки на соответствующие нормативные документы, поскольку это общепринятые подходы.

3. Почему автор использовал именно такие значения концентраций цефоперазона (4 уровня) при определении правильности и прецизионности (стр. 86, 87, 102, 120)?

4. Таблица 5.4. дублирует рисунок 5.3 (стр.99), также таблица 5.12 дублирует рисунок 5.6 9 (стр.112), таблица 5.18 дублирует рисунок 5.9 (стр.123). На наш взгляд достаточно оставить калибровочные графики для более наглядного восприятия информации, не приводить таблицы с четырьмя значениями площади пика в зависимости от концентрации. На графике должно быть приведено среднее их значение.

5. В методике изолирования цефоперазона из печени (стр. 116) автор предлагает на первом этапе настаивании к объекту добавить водный раствор натрия гидроксида до рН 9,0, затем на втором этапе экстракции добавить 10% раствор хлороводородной кислоты до рН 2,0. Константа диссоциации цефоперазона составляет 5,2. Обоснуйте переход изолируемого вещества в органический растворитель.

Перечисленные замечания не имеют принципиального значения, не снижают значимости проведенных исследований, достоверности результатов и достоинств выполненной работы.

Заключение

Таким образом, диссертация Крючкова Василия Борисовича на тему: «Исследование цефоперазона в биологических объектах методами электрофореза» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится

решение научной задачи по изучению возможности применения электрофореза на бумаге и капиллярного электрофореза как методов удовлетворяющих требованиям аналитической токсикологии и клинической лабораторной практики для анализа цефоперазона в биологических объектах, имеющей существенное значение для специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, что соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335), а ее автор, Крючков Василий Борисович, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Доктор фармацевтических наук (14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),
доцент, профессор кафедры фармацевтической
и токсикологической химии Пятигорского
медико-фармацевтического института –
филиала федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
«Волгоградский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Ремезова Ирина Петровна

357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина 11,
Тел. (8793)39-10-87, e-mail: i.p.remezova@pmedpharm.ru

