

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук,
Дворской Оксаны Николаевны
на диссертационную работу **Квачахия Лексо Лориковича** на тему
**«Разработка методологии судебно-химического анализа
лекарственных веществ из группы блокаторов кальциевых
каналов»**,
представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.01 на базе
федерального государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования Первый Московский
государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский
университет) на соискание ученой степени доктора фармацевтических
наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия,
фармакогнозия

Актуальность темы диссертации

Блокаторы кальциевых каналов (БКК) являются часто используемой в медицинской практике группой лекарственных средств для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Несмотря на многие положительные фармакологические характеристики, БКК проявляют различную степень токсичности по отношению к теплокровным животным и человеку. Отсутствие специфических антидотов позволяет отнести отравления антагонистами ионов кальция к разряду наиболее опасных как для детей, так и для взрослых.

В последние десятилетия описаны многочисленные случаи отравлений людей БКК, в том числе с летальным исходом, зарегистрированы на территории США, Германии, Дании, Италии, России, Польши, Марокко и ряда других стран. Среди этих отравлений можно выделить случайные, суицидальные, произошедшие вследствие ошибок при лечении и изменения способов введения.

Обращает на себя внимание рост случайных и суицидальных

отравлений БКК малолетних детей и подростков. Активное применение БКК и постоянное накопление данных о летальных отравлениях препаратами данной группы, делает актуальной проблему разработки методологических подходов к доказательству присутствия данной группы соединений в биологическом (трупном) материале.

В связи с этим разработка методологии анализа блокаторов кальциевых каналов в судебно-химическом аспекте является важной задачей, с которым автор успешно справился в ходе проведения экспериментов.

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

Диссертационная работа Квачахия Лексо Лориковича выполнена на современном уровне с использованием различных физико-химических методов. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов базируется на представленном фактическом материале. Задачи, поставленные диссертантом в соответствии с целью работы, согласуются с выводами автора и подтверждаются результатами проведенных исследований.

Подтверждением высокого научного уровня работы служит апробация ее результатов на конференциях различного уровня, а также достаточное количество публикаций по теме исследования, которые опубликованы в рецензируемых журналах, включенных в перечень ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, и в журналах, входящих в международные базы данных.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

Достоверность полученных результатов определяется, прежде всего, достаточным объемом выполненных исследований. Диссертационная работа отличается корректностью сбора информации;

широким применением современных высокотехнологичных методов анализа и статистических методов исследования, валидацией разработанных методик в соответствии с фармакопейными требованиями и международными принципами, применимыми к биоаналитическим, судебно-химическим и химико-токсикологическим методикам, а также апробацией и подтвержденным внедрением результатов в практику.

Диссертантом впервые разработана и предложена методология судебного-химического исследования блокаторов кальциевых каналов производных 1,4-дигидропиридина, фенилалкиламина и бензотиазепина, обеспечивающая объективность и надёжность доказательства отравлений рассматриваемыми соединениями.

Впервые изучены особенности взаимодействия объектов исследования с рядом цветообразующих реагентов, исследованы хроматографические свойства исследуемых веществ в тонких слоях и колонках сорбентов при использовании различных подвижных фаз, особенности поглощения веществами электромагнитного излучения в различных частях спектра, закономерности изолирования изолирующими агентами различной химической природы. Предложена схема изолирования и очистки получаемых извлечений из биологического материала.

Установлены закономерности жидкость-жидкостной экстракции аналитов из водных и водно-органических фаз гидрофобными растворителями, а также хроматографической подвижности БКК указанных химических групп в полупрепаративной колонке сорбента «Силасорб С-18».

Диссертантом проведены системные токсикокинетические исследования в отношении анализируемых токсикантов и выявлены характерные особенности их устойчивости в разлагающемся трупном материале.

Научная новизна работы подтверждена получением патента на изобретения РФ.

Значимость результатов исследований для науки и практики, возможные пути их применения

Теоретическая значимость работы состоит в предлагаемой методологии, обеспечивающей системный подход к определению БКК производных 1,4-дигидропиридина, бензотиазепина и фенилалкиламина при судебно-химическом исследовании биологического материала на основе изолирования ацетоном в режиме настаивания и очистки сочетанием экстракционных и хроматографических методов.

Результаты исследований токсикокинетики анализируемых соединений позволяют прогнозировать во времени уровень и локализацию изучаемых аналитов в органах и крови отравленных ими организмов.

На основе выявленных особенностей устойчивости БКК в трупном материале возможно ориентировочное определение времени, прошедшего с момента отравления, и выбор температурного режима сохранения биологических вещественных доказательств в течение необходимого срока.

Оценка содержания диссертации

Построение диссертационной работы Квачахия Л.Л. имеет традиционный характер. Работа состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части (5 глав), общих выводов, списка литературы, включающего 328 источника, из них 284 иностранных. Работа изложена на 441 странице машинописного текста, содержит 20 таблиц в тексте диссертации и 134 таблицы в Приложении, 165 рисунков в тексте и 6 – в Приложении.

Первая глава диссертационной работы посвящена анализу литературных источников отечественных и зарубежных авторов по вопросам обнаружения блокаторов кальциевых каналов в различных

биологических объектах, идентификации и количественного определения, их токсикологическим характеристикам.

Вторая глава включает разработку подходов и оптимизацию условий для качественного определения лекарственных веществ из группы блокаторов кальциевых каналов различными химическими и физико-химическими методами.

Третья глава включает разработку подходов и оптимизацию условий для количественного определения лекарственных веществ из группы блокаторов кальциевых каналов различными физико-химическими методами.

Проведена валидация разработанных методик спектрофотометрического, ВЭЖХ и ГХ-МС определения. Установлена приемлемость методик по критериям линейности (коэффициент корреляции во всех случаях превышает 0,99), стабильности, правильности и прецизионности.

В четвёртой главе исследованы закономерности экстрагирования блокаторов кальциевых каналов с $pK_a > 8$ в зависимости от природы органического экстрагента, pH среды водного слоя, кратности экстрагирования. Выявлены закономерности хроматографической активности блокаторов кальциевых каналов в колонке сорбента «Силасорб С-18» 30 мкм при использовании двухкомпонентных полярных элюентов, состоящих из гидрофильного модификатора (ацетонитрил, диоксан-1,4 или ацетон) и воды.

Обнаружена зависимость между величиной pK_a аналита и его времени нахождения в колонке сорбента. Наиболее удерживаемыми являются вещества с $pK_a > 8,0$ (амлодипин, лерканидипин, верапамил и дилтиазем).

Установлено существование прямопропорциональной зависимости объёмов удерживания аналитов от полярности подвижной фазы и от объёмного соотношения «органический растворитель-вода».

В пятой главе приведены данные по разработке методик определения аналитов производных 1,4-дигидропиридина, бензотиазепина и фенилалкиламина в биоматрицах на основе извлечения ацетоном, очистки экстракцией из водно-ацетоновых смесей и полупрепаративной колоночной хроматографией с использованием методов ГХ-МС и ВЭЖХ. Проведена валидация разработанных методик определения аналитов в различных биоматрицах. Установлено соответствие методик валидационным критериям линейности, правильности, прецизионности. На здоровых добровольцах показана возможность применения разработанных универсальных и частных методик для определения блокаторов кальциевых каналов в крови человека после введения терапевтических доз различных аналитов.

В главе шестой диссертантом впервые изучены распределение анализируемых соединений в организме теплокровных животных при введении им полулетальных доз анализируемых соединений, а также устойчивость блокаторов кальциевых каналов в гнилостно-разлагающемся биологическом материале при различных температурных режимах.

В конце диссертации автором впервые на основе разработанных методологических подходов к судебно-химическому анализу блокаторов кальциевых каналов предложено два варианта алгоритма систематического хода исследования биоматериала при отравлениях соединениями рассматриваемых химических групп на основе использования универсальных и частных методик определения данных аналитов в биологических матрицах.

Результаты диссертации опубликованы в открытой печати в виде 31 печатной работы, среди которых 20 публикаций в журналах,

рекомендуемых ВАК РФ для публикации материалов докторских диссертаций, 7 из них - в изданиях, индексируемых реферативной базой SCOPUS и 1 – в AGRIS.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении работы

Давая общую оценку, следует отметить, что диссертационная работа Квачахия Л.Л. выполнена на высоком научном и методическом уровне и имеет большую научно-практическую значимость.

Однако при ознакомлении с работой возникли следующие вопросы и замечания:

1. При наличии в диссертации предполагаемого раздела МЕТОДИКИ, озвученном на стр.53, логично было методики привести в нем, а не по тексту во всех разделах экспериментальной части. Аналогично это касается и режима работы приборов и используемого оборудования. Дабы не грузить описательную часть эксперимента.

2. Изучалась ли Вами возможность изолирования блокаторов кальциевых каналов из трупного материала классическими методами А.А. Васильевой, Стаса-Отто, В.Ф. Крамаренко и насколько эффективны данные методы по отношению к изучаемым соединениям?

3. Почему доказательство отравлений блокаторов кальциевых каналов строится на обнаружении в органах и биожидкостях исходных отравляющих веществ и не учитываются их метаболиты? Образуются ли активные метаболиты при метаболизме БКК?

4. Считаю, что исследования ИК-спектров БКК должны были быть применимы Вами к реальным биологическим образцам и войти в алгоритм исследования реальных объектов с БКК в главе 5. В противном случае возникает вопрос целесообразности этих исследований на чистых субстанциях. То же в полной мере относится и к хромогенным реакциям.

5. В диссертационной работе нет обозначения того, какие образцы были использованы в исследованиях, описанных в 5 главе. Сколько?

Каким образом были получены и есть ли одобрение этической комиссии на работу с ними?

6. Поясните моделирование привитой фазы C_{14} - C_{15} для тонкослойной обращено-фазовой хроматографии обработкой вазелиновым маслом сорбента ТСХ – 1А на пластинках «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ, при наличии вариантов промышленных пластин для ТСХ с обращенной фазой, к примеру «Плазмохром RP-3»?

7. В чем преимущества Вашей системы гексан-диоксан-тетрахлорметан (1:1:1) при использовании тонкослойной хроматографии?

8. Не совсем корректно сравнивать результаты ваших исследований, частных и направленных на изолирование конкретно БКК, с методикой, предложенной Мелентьевым А.Б., основанной на экстракции смесью хлороформ-бутанол-2 (6:1) [Мелентьев А.Б., 2002] по причине того, что она – скрининговая и, соответственно, предназначена для других целей.

9. Учитывая использование для извлечения целевых соединений из тканей ацетона, было ли выявлено образование оснований Шиффа с первичной аминогруппой для амлодипина?

10. В диссертации использованы различные варианты приведения концентраций, например, в Табл.17 на стр.158 – мкг/г, в Табл.18 на стр.193 и Табл.19 на стр.194 – мкг/кг, в Табл.20 на стр.196 – г на 100 г объекта, Рис.148-155 – мг на 100 г биоматериала, что затрудняет восприятие информации и сопоставление приведенных данных.

11. В разделе изучения устойчивости изучаемых аналитов на Рис.156-163 отсутствует обозначение осей.

12. В выводах на Стр.247 приведен интервал температур при изучении устойчивости аналитов в биологическом материале от - 20°C до 36 °C, в то время как в экспериментальной части нижняя температура указывается как - 25°C.

13. В конце работы хотелось бы видеть схематичное отображение разработанных алгоритмов в виде рисунков для оптимального визуального восприятия разработанной методологии анализа БКК.

14. В тексте рецензируемой работы также встречаются стилистически неудачно сформулированные выражения и отдельные опечатки.

Представленные замечания, в целом, имеют субъективный характер, вопросы носят уточняющий характер, что не сказывается на итоговом благоприятном впечатлении от диссертации.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует и отражает основные положения диссертации, и так же, как и диссертация Квачахия Л.Л. полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертация Квачахия Лексо Лориковича на тему «Разработка методологии судебно-химического анализа лекарственных веществ из группы блокаторов кальциевых каналов», представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научно-практической проблемы, заключающейся в разработке методологии судебно-химического определения блокаторов кальциевых каналов с использованием современных физико-химических методов.

Диссертационная работа Квачахия Л.Л. полностью соответствует требованиям п. 15 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский

государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
 Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский
 Университет), утвержденного приказом ректора № 0094/Р от 31.01.2020,
 предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Квачахия Лексо
 Лорикович, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора
 фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая
 химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Доктор фармацевтических наук, доцент
 (14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия),
 заведующий кафедрой Фармации и химии
 Федерального государственного бюджетного
 образовательного учреждения высшего образования
 «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства
 здравоохранения Российской Федерации



Дворская Оксана Николаевна

«25» августа 2021 г.

Подпись Дворской Оксаны Николаевны заверяю
 Ученый секретарь Ученого совета федерального
 государственного бюджетного образовательного
 учреждения высшего образования
 «Южно-Уральский государственный
 медицинский университет»,

кандидат медицинских наук, доцент

Дубинец Ирина Дмитриевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
 образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
 Министерства здравоохранения Российской Федерации
 Адрес: 454092, Российская Федерация, Уральский федеральный округ, Челябинская
 область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64
 Тел. +7 (351) 232-73-71
 Электронная почта: kanc@chelsma.ru

