ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, **Калёкина Романа Анатольевича** 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 исследования

Системный подход к исследованию биологического материала при экспертизе случаев летального отравления всегда необходим, но часто не обеспечен результатами предварительных исследований в достаточном объеме и глубине разработки. Данная проблема касается и достаточно распространённой среди лекарственных средств группы – блокаторов кальциевых каналов.

Широкое применение блокаторов кальциевых каналов, их высокая токсичность, многочисленные случаи летального отравления обусловливает необходимость изучения этих соединений в судебно-химическом отношении. До настоящего времени остаются недостаточно разработанными вопросы изолирования данных соединений из объектов биологического происхождения, их обнаружения, идентификации и количественного определения. А существующие методики анализа рассматриваемых веществ являются недостаточно селективными и чувствительными.

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

Научные положения диссертационной работы Квачахия Лексо Лориковича основаны на результатах проведенных экспериментов с использованием современных инструментальных методов анализа. Выводы диссертации вытекают из результатов исследования, подтверждены фактическим материалом, грамотно аргументированы. Основные положения диссертации были представлены на международных конференциях, а результаты работы широко опубликованы в журналах из списка Высшей аттестационной комиссии и в изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus и AGRIS.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

В диссертационной работе Квачахия Лексо Лориковича использовались современные инструментальные методы анализа. Достоверность полученных результатов и применимость разработанных методик подтверждена их валидацией в соответствии с действующими международными требованиями, предъявляемыми к биоаналитическим методикам.

Разработан методологический системный подход к исследованию рассматриваемой группы лекарственных средств при проведении судебно-химического и химико-токсикологического анализа.

Впервые автором для блокаторов кальциевых каналов производных трех химических групп показана возможность получения окрашенных продуктов типа ионных ассоциатов и молекулярных комплексов в реакциях с донорами электронной плотности (производными тетразолия и полиэтиленгликолями) после их перевода в дериваты кислотного характера за счет введения электрофильных заместителей.

Впервые автором для блокаторов кальциевых каналов производных трех химических групп изучены и систематизированы закономерности межфазового распределения в системах жидкость – жидкость, жидкость –

твердая фаза, жидкость – газ, что нашло применение в методиках изолирования, очистки и анализа.

Диссертантом впервые для блокаторов кальциевых каналов производных трех химических групп изучены и систематизированы закономерности поглощения электромагнитного излучения в УФ и ИК областях спектра, изолирования агентами различной химической природы.

К элементам научной новизны выполненной диссертации следует отнести также установленные Квачахия Л.Л. закономерности распределения рассматриваемых токсикантов в организме теплокровных и характер устойчивости исследуемой группы соединений в трупном материале в зависимости от температуры и структурных особенностей.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Автором впервые на основе собственных экспериментальных данных предложена схема изолирования и очистки получаемых извлечений из биологического материала, подобрана универсальная и частная система для разделения и очистки аналитов. Изучены распределение, токсикокинетика, сохраняемость аналитов и предложены рекомендации по выбору внутренних органов для проведения судебно-химического исследования на рассматриваемую группу блокаторов кальциевых каналов.

Теоретически обоснованы и экспериментально подтверждены методики изолирования, идентификации и количественного определения веществ группы блокаторов кальциевых каналов (амлодипина, нифедипина, нимодипина, фелодипина, исрадипина, лерканидипина, верапамила и дилтиазема) в биологических жидкостях (кровь, плазма), трупных органах (печень). Для ряда предложенных методик определения блокаторов кальциевых каналов в вещественных доказательствах и биологических матрицах проведены валидационные мероприятия.

Использование данных схем анализа рассматриваемой группы блокаторов кальциевых каналов позволяет диагностировать острые

отравления в плане оказания своевременной и целенаправленной помощи пострадавшим или установить факты немедицинского применения или отравления с летальным исходом.

Проведена апробация и внедрение результатов диссертации Квачахия Л.Л. в практическую деятельность ряда экспертных учреждений Российской Федерации (бюро судебно-медицинской экспертизы Курской области, Липецкого областного наркологического диспансера управления здравоохранения Липецкой области, филиала № 3 (г. Самара) ФГКУ 111 Главного государственного центра судебно-медицинских и криминалистических экспертиз МО РФ).

По материалам диссертации разработаны, утверждены на федеральном уровне и изданы 3 информационных письма об определении наиболее токсичных блокаторов кальциевых каналов (нифедипина, амлодипина, верапамила и дилтиазема) при судебно-химическом исследовании биологического материала.

Результаты исследований по определению аналитов в объектах биологического происхождения в виде отдельных методик также внедрены в учебную и научную работу кафедр фармацевтической, токсикологической и аналитической химии и фармакологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедры фармации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова».

Структура и содержание диссертации

Диссертация Квачахия Лексо Лориковича имеет традиционное построение, её объём составляет 441 страниц. Диссертация включает введение, обзор литературы, 5 глав экспериментального характера, основные

методологические принципы судебно-химического исследования, алгоритм систематического хода исследования биологического материала, общие выводы, список литературы (328 источников, 284 из них – иностранных авторов), список сокращений и условных обозначений, приложение. Работа хорошо снабжена цифровой (20 таблиц в тексте диссертации и 134 таблиц в приложении) и иллюстративной (165 рисунков в тексте и 6 – в приложении) информацией.

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, обсуждаются научная новизна, теоретическая и практическая значимость, сформулированы цель и задачи исследования, описаны основные положения, выносимые на защиту, представлены сведения о внедрении результатов исследования, а также публикациях по теме работы и апробации полученных результатов

Глава 1 Обзор литературы. Обзор посвящен изучению научной литературы, описывающей блокаторы кальциевых каналов трех химических групп по токсикологическим, физико-химическим и фармакологическим характеристикам. Большое внимание автором уделяется информация по современному состоянию исследований в области судебно-химического и химико-токсикологического анализа лекарственных средств рассматриваемой группы.

Глава 2. В главе подробно описывается идентификация блокаторов кальциевых каналов физико-химическими методами.

Глава 3. Данная глава посвящена разработке подходов и оптимизации условий для количественного определения лекарственных веществ из группы блокаторов кальциевых каналов.

Глава 4. Глава посвящена разработке подходов к экстракционной и хроматографической очистке блокаторов кальциевых каналов и оценке её эффективности.

Глава 5. Проведен большой объем работы по исследованию закономерностей и разработке методологии определения блокаторов кальциевых каналов в биологическом материале

Глава 6. Автором в данной главе впервые изучены стабильность блокаторов кальциевых каналов в гнилостно-разлагающемся биологическом материале, а также распределение анализируемых соединений в организме теплокровных животных при введении им полулетальных доз токсикантов.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа построена логично, поставленные задачи исследования выполнены полностью, общие выводы обоснованно вытекают из полученных результатов работы. Все таблицы, рисунки, представленные в работе, информативны, не дублируют друг друга, сопровождаются соответствующими комментариями.

Несмотря на общее положительное впечатление от работы, при ее рассмотрении возник ряд вопросов и замечаний:

Вопросы:

1. На стр. 56 указано использование 8 концентраций в интервале 0,00025-0,02% для исследования электронной спектрофотометрией. Почему был выбран этот диапазон концентраций? Как он коррелируется с токсическими и летальными концентрациями и удельным показателем поглощения?
2. Возможно ли применение предложенной производной электронной спектрофотометрии при наличии других лекарственных препаратов в биологических объектах?
3. Какой предел обнаружения методом тонкослойной хроматографии для изучаемых веществ?
4. При разработке методики ВЭЖХ в условиях не разделения пиков «нифедипин-нимодипин» и «фелодипин-верапамил» использовалось

изократическое элюирование, а почему не исследовался градиентный режим элюирования?

5. В главе 3 указаны пределы количественного определения. Это количество в пробе или в мл биологической жидкости, изъятой у потерпевшего?
6. Почему при разработке методики количественного определения методами ВЭЖХ и ГХ-МС не использовали внутренний стандарт?
7. В пункте 4.1.2. приведен пример на двух модельных веществах – дилтиазема и фелодипина. Почему были выбраны именно они и почему не было взято больше веществ?
8. Почему при исследовании методом ТСХ использовали только проявитель УФ-свет (λ=254 нм) и не использовали реактивы в качестве проявителей?
9. На стр. 137 указано «0,015 этой смеси», но не понятно мл, мкл или чего-то другого?

Замечания:

1. На стр. 87 указана фраза «в той или иной мере», лучше придерживаться научной терминологии, а абстрактные предположения не указывать по тексту.
2. На стр. 88 при использовании метода ВЭЖХ пики «нифедипин-нимодипин» и «фелодипин-верапамил» частично разделившиеся. Следовало указать по тексту или в выводах рекомендации по использованию данного метода, чтобы не получить ложноположительный результат.
3. По тексту указано «m/Z», следовало указывать «m/z».
4. На рисунках 20, 21 и 22 необходимо было указать данные по осям ординат и абсцисс.
5. Рисунки с 26 по 73 сложно читабельны и сложны для понимания. Следовало сгруппировать их по общему признаку и за счет этого сравнение и анализ данных для читателя был бы более удобный.

6. Литературу, указанную в пункте 5.2.2 необходимо было также указать в списке использованной литературы.
7. В списке использованной литературы встречаются источники 1977 и 1980 гг. Вероятно они уже утратили актуальность в рамках рассмотрения текущих целей и задач диссертационного исследования.

В тексте диссертации присутствуют отдельные грамматические и пунктуационные ошибки, которые представляются случайными, а также некоторые стилистически неудачные выражения. Эти недостатки, впрочем, не касаются научной идеи диссертации, её основных положений и выводов, поэтому не снижают общего научно-теоретического и практического уровня данной работы.

Содержание диссертационной работы Квачахия Л.Л., представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук, полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заключение

Диссертационная работа Квачахия Лексо Лориковича на тему «Разработка методологии судебно-химического анализа лекарственных веществ из группы блокаторов кальциевых каналов», является законченной научно-квалификационным работой, в которой решена важная научно-практическая проблема – разработка методологии определения блокаторов кальциевых каналов при судебно-химическом определении биологического материала.

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
(14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия),
заведующий лабораторией судебно-химических и
химико-токсикологических исследований
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Российский центр судебно-медицинской экспертизы»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации

_____ Калёкин Роман Анатольевич

«24» 08 2021 г.

Подпись д.фарм.н. Калёкина Р.А. «Заверяю»
Начальник ОК ФГБУ «РЦСМЭ»
Минздрава России

_____ Кухоль Татьяна Николаевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский центр судебно-медицинской экспертизы»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 125284, г. Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13
Тел.: +7 (495) 945-21-69
Электронная почта: mail@rc-sme.ru