

ОТЗЫВ

официального оппонента Калёкина Романа Анатольевича на диссертационную работу Безъязычной Антонины Александровны на тему: «Разработка методик анализа некоторых цефалоспоринов в традиционных и иммобилизованных формах и биологических объектах» 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 Минздрава России (Сеченовский университет)

Актуальность избранной темы

В современной терапии большинства инфекционных заболеваний в настоящее время применяются антибиотики цефалоспоринового ряда третьего и четвертого поколений благодаря их высокой эффективности и широте спектра антимикробной активности. Перспективным направлением в современной терапии различных патологий является использование систем целенаправленной и контролируемой доставки в организм лекарственных средств, позволяющих значительно снизить их системную токсичность и удлинить время полувыведения препаратов. Описаны случаи летального исхода от аллергической реакции немедленного типа на антибиотики данного ряда. Для выяснения причины летального исхода пациентов, принимавших цефтриаксон, цефепим или цефпиром в традиционных или иммобилизованных формах, решающее значение имеют результаты химико-токсикологического исследования, так как картина отравления не является характерной и типичной. Несмотря на токсическое значение цефтриаксона, цефепима и цефпирома, методы их выделения и методики определения в биологическом материале с использованием современных физико-химических методов разработаны недостаточно.

В связи с вышеизложенным, не вызывает сомнения актуальность и своевременность диссертационного исследования Антонины Александровны Безъязычной.

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

Анализ диссертационной работы Безъязычной А.А. показывает, что все разделы выполнены на современном научном уровне с использованием современных физико-химических методов анализа. Положения и выводы научно обоснованы. Используются обращеннофазовая высокоэффективная жидкостная хроматография и спектроскопические методы анализа (ИК- и УФ-спектры). Общие выводы сформулированы логически и соответствуют поставленным задачам выпаленного диссертационного исследования.

Основные положения данного диссертационного исследования доложены и обсуждены на международной научно-практической конференции «Новшества в медицине и фармакологии», г. Тюмень (декабрь 2017 г.), на 7-ой Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2018», г. Воронеж (март 2018 г.).

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 8 статей, из которых 3 в журналах, входящих в список ВАК РФ.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Автором впервые разработана методика идентификации и количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиром в традиционных и иммобилизованных формах и биологических объектах. Предложены доступные, экономические и экспрессивные методики анализа исследуемых цефалоспориновых антибиотиков, которые возможно применять в условиях химико-токсикологических лабораторий.

Разработанные методики изолирования, обнаружения и количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиром апробированы в работе бюро судебно-медицинской экспертизы.

Достоверность приведенных результатов исследований подтверждается необходимым количеством экспериментов. Методами статистической обработки установлена воспроизводимость 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

Методики идентификации цефтриаксона сочетанием методов хроматографии в тонком слое гидроксилорированного сорбента и электронной спектрофотометрии и методика определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в лекарственных формах методом обращеннофазовой ВЭЖХ внедрены и апробированы в работе Курского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора (акты внедрения № 1, 2 от 25.09.2019 г.); методика химико-токсикологического определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в тканях органов и биологических жидкостях при проведении судебно-химического исследования внедрена и апробирована в работе ОБУЗ «Бюро СМЭ» Курской области (акт внедрения № 44 от 27.09.2019 г.); схема валидации методики количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы, извлеченного из биологического материала, методом обращеннофазовой ВЭЖХ и методика количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы, извлеченного из биологического материала, методом обращеннофазовой ВЭЖХ внедрены и апробированы в работе ООО Испытательного центра «ФАРМОБОРОНА» (акты внедрения № 10, 11 от 03.10.2019 г.); методика количественного определения цефепима и цефпиромы в лекарственных формах методом электронной спектрофотометрии и методика идентификации цефтриаксона в лекарственных формах методами ТСХ и электронной спектрофотометрии внедрены и апробированы в научной работе на кафедре фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО ВГМУ имени Н.Н. Бурденко Минздрава России (акты внедрения № 4, 5 от 01.10.2019 г.); методика изолирования цефтриаксона, цефепима и цефпиромы из биожидкостей и определения методами ТСХ и УФ-спектрофотометрии и методика изучения сохраняемости некоторых цефалоспориновых антибиотиков в биологическом материале при различных температурных

режимах внедрены и апробированы в учебной (практические занятия) и научной работе на кафедре фармацевтической, токсикологической и аналитической химии ФГБУ ВО КГМУ Минздрава России (акты внедрения № 14, 15 от 02.10.2019 г.).

Объем и структура диссертационной работы

Представленная диссертационная работа построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), описания материалов и методов исследования (2 глава), экспериментальной части (5 глав), общих выводов, список литературы включает 179 источников, (137 из которых зарубежные), списка используемых сокращений и приложения. Работа иллюстрирована 31 рисунками и включает 23 таблицы.

Общая характеристика работы

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

В главе 1 (обзор литературы) представлена классификация цефалоспориновых антибиотиков, схема получения и применения цефалоспоринов, основная химическая структура объектов исследования и их физические свойства, методики идентификации и количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы, а также возможность использования направленного транспорта антибактериальных средств в организм.

Автор делает вывод о том, что литературные данные свидетельствуют о широком применении цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в медицинской практике, но, при определенных условиях эти препараты, могут

вызывать аллергические реакции немедленного типа. Для химико-токсикологического анализа необходимы методики определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы в традиционных и иммобилизованных формах и биологических объектах.

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

Глава 2 содержит сведения об объектах и методах исследования, а также об оборудовании, реактивах, посуде и вспомогательных материалах используемых при проведении анализов.

В третьей главе предложены фотометрические и хроматографические методы идентификации объектов исследования. Представлены результаты анализа исследуемых соединений методом обращеннофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Глава 4 посвящена разработке методики количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы методом УФ-спектрофотометрии и обращеннофазовой ВЭЖХ. Предложены оптимальные условия хроматографирования исследуемых соединений методом обращеннофазовой ВЭЖХ.

В главе 5 предложены различные хроматографические методы очистки и концентрирования объектов исследования. Разработаны схемы очистки цефтриаксона, цефепима и цефпиромы с применением нормальнофазовой и обращеннофазовой тонкослойной хроматографии, а также с применением макроколоночной (препаративной) жидкостной хроматографии с использованием обращеннофазового сорбента под воздействием низкого давления.

Глава 6 посвящена подбору условий изолирования объектов исследования из биологического материала и их идентификации и количественному определению методом УФ-спектрофотометрии и обращеннофазовой ВЭЖХ. Проведена валидация разработанной методики количественного определения цефтриаксона, цефепима и цефпиромы,

извлеченных из биологического материала, методом обращеннофазовой ВЭЖХ. Доказано, что разработанная методика является доступной и отвечает требуемым критериям валидации.

В главе 7 представлена методика получения эритроцитарных носителей и определения содержания исследуемых веществ в инкубационной жидкости и в клеточных носителях. Приведены результаты распределения цефтриаксона, цефепима и цефпирома в свободном виде и включенных в эритроцитарные носители, как в организме здоровых теплокровных животных, так и с моделированным токсическим поражением почек. Изучены особенности сохраняемости исследуемых соединений при различных температурных режимах.

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

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями государственных стандартов Российской Федерации. Диссертационная работа хорошо иллюстрирована, материал изложен логично и структурированно. Диссертационная работа, включает, как теоретическое обоснование, так и огромный экспериментальный материал, выполненный в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ. Диссертационная работа представляет собой законченное научное исследование.

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

1. В пункте 3.1.2 для наглядности уместно было бы привести рисунки УФ-спектров исследуемых веществ.
2. При использовании методов очистки установлен уровень потерь исследуемых веществ, а насколько чистыми извлечения являются ?

Проводилось ли сравнение между очищенными и неочищенными извлечениями?

3. Почему выбрано было 2-х кратное настаивания при изолировании, если при 3-х и 4-х кратном изолировании степень экстракции еще продолжает увеличиваться?

4. На основании чего выбирались количества исследуемых веществ для добавления в модельные смеси, в особенности большие количества при изучении сохраняемости?

5. При изучении сохраняемости указано, что каждые 24 часа проводилось тщательное перемешивание, как физически проходило перемешивание при использовании температурного режима минус 12 градусов?

6. Почему специфичность проводилась только в отношении компонентов биологической матрицы? Почему подобная оценка не проводилась в отношении препаратов, сопутствующих приему исследуемых веществ, а также входящих в список из приказа №1021 ?

7. Некоторые разделы заканчиваются таблицами, а подытоживание результатов в этих разделах приведено в середине, что несколько усложняет восприятие текста и информации.

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

Заключение. Таким образом, диссертационная работа Безъязычной Антонины Александровны на тему: «Разработка методик анализа некоторых цефалоспоринов в традиционных и иммобилизованных формах и биологических объектах» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по возможности разработки методик анализа некоторых цефалоспориновых антибиотиков в традиционных и иммобилизованных формах и биологических объектах,

имеющей существенное значение для специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, что соответствует п. 9 «Положение о присуждении ученых степеней» утвержденное Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, (с учетом изменений, утвержденных Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, от 01.10.2018 №1168), а ее автор, Безъязычная Антонина Александровна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:
доктор фармацевтических наук
(14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),
главный научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Российский центр судебно-медицинской экспертизы»
Министерства здравоохранения Российской Федерации


Роман Анатольевич Калёкин

Подпись Калёкина Р.А. заверяю
Начальник ОК ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России





Татьяна Николаевна Кухоль

Почтовый адрес:
125284, г. Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13.
Тел.: +7 (495) 653-13-37
Эл.почта: himija@rc-sme.ru