

9	№ 1230/02-23-102
листов	10 10 20 25
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" заведующего кафедрой токсикологической химии Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия», доктора фармацевтических наук, профессора Малковой Тамары Леонидовны по диссертации Аносовой Людмилы Сергеевны соискателя на тему: «Разработка методик анализа клопидогрела и его основного метаболита для целей химико-токсикологических исследований», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия	

ОТЗЫВ

официального оппонента

заведующего кафедрой токсикологической химии Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия», доктора фармацевтических наук, профессора Малковой Тамары Леонидовны по диссертации Аносовой Людмилы Сергеевны соискателя на тему: «Разработка методик анализа клопидогрела и его основного метаболита для целей химико-токсикологических исследований», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования.

Широкая распространенность сердечно-сосудистых патологий, занимающих лидирующие позиции в структуре смертности населения, обуславливает массовое применение антитромбоцитарных препаратов, среди которых клопидогрел занимает особое место. Данное лекарственное средство является обязательным компонентом терапии острых коронарных синдромов, инфаркта миокарда, ишемического инсульта, а также применяется в послеоперационном периоде при стентировании коронарных артерий. Повсеместное использование клопидогрела в клинической практике неизбежно приводит к увеличению случаев его неправильного применения, передозировки и развития токсических реакций.

Существенную проблему при проведении химико-токсикологического анализа представляет сложная метаболическая трансформация клопидогрела в организме. Образуются два основных метаболита: высокоактивное, но крайне нестабильное тиоловое производное, и стабильная клопидогрель карбоновая кислота. Используемые в экспертной практике методы судебно-химического исследования зачастую не учитывают наличие карбоксильного метаболита, хотя именно это соединение может служить достоверным индикатором приема клопидогрела при расследовании случаев острых и хронических отравлений. Особую значимость приобретает вопрос

генетического полиморфизма фермента CYP2C19, определяющего индивидуальные особенности метаболизма клопидогрела. Нарушения биотрансформации могут приводить как к опасному накоплению препарата с риском геморрагических осложнений, так и к недостаточной активации с последующим снижением терапевтического эффекта.

Разработка методик определения клопидогрела и его основного метаболита в биологических средах (кровь, моча, ткани) позволит существенно повысить качество химико-токсикологической экспертизы при установлении точных причин отравлений, выявлении фактов злоупотребления препаратом, объективной оценке случаев, требующих доказательства причинно-следственной связи между приемом клопидогрела и развитием тяжелых осложнений, в том числе с летальным исходом.

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Выполненные в рамках диссертационной работы исследования имеют научную новизну. Разработаны принципиально новые подходы к определению клопидогрела и его основного метаболита – клопидогрель карбоновой кислоты в биологических средах (кровь, моча, тканевые матрицы). Оптимизированы классические методы изолирования (Васильевой, Крамаренко, Стаса-Отто) с учетом современных требований химико-токсикологического анализа, что позволило существенно повысить эффективность процессов экстракции.

Разработанная аналитическая схема с использованием хроматографических (ТСХ, ВЭЖХ) и спектральных методов демонстрирует методологическую завершенность, охватывая все этапы исследования – от пробоподготовки до количественного определения, позволяя одновременно выявлять и нативное вещество, и его основной метаболит. Предложен инновационный выделения липофильных соединений, включающий элюирование хлороформом их обезвоженного биоматериала с последующей очисткой методом ТСХ.

Впервые изучены фармакокинетические особенности и стабильность клопидогрела и его метаболита в биологическом материале, получены новые экспериментальные данные о фармакокинетических параметрах изучаемых соединений в организме лабораторных животных, что имеет высокую значимость на этапе интерпретации результатов экспертизы.

Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования.

Проведенное исследование вносит существенный вклад как в развитие теоретических основ современного химико-токсикологического анализа, так и в решение актуальных практических задач судебно-медицинской экспертизы и клинической токсикологии. Основная научная ценность работы заключается в создании комплексной системы взаимодополняющих аналитических методик, включающей современные хроматографические (тонкослойная и высокоэффективная жидкостная хроматография) и спектрофотометрические методы исследования.

Особое практическое значение имеет возможность применения разработанных методик в системе судебно-медицинской экспертизы при проведении посмертных исследований, а также в токсикологическом мониторинге. Сочетание высокой чувствительности и специфичности с относительной простотой и надежностью выполнения делает эти методы перспективными для внедрения в рутинную лабораторную практику.

Результаты диссертационной работы внедрены в практическую работу отделений судебно-медицинской токсикологии Донецкой Народной Республики (акт внедрения от 11.01.24), учебный процесс кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Луганского государственного медицинского университета им. Святителя Луки (акт внедрения от 22.01.24).

Российским центром судебно-медицинской экспертизы в 2024 году утверждены и рекомендованы к внедрению Методические рекомендации «Методика химико-токсикологического и судебно-химического анализа

клопидогрела и его метаболита клопидогрель карбоновой кислоты в биологических жидкостях».

Основные результаты работы доложены на семи Всероссийских и международных научно-практических конференциях (Пермь, Грозный, Кемерово, Рязань, Чита, Воронеж), что говорит о высокой степени апробации результатов исследования.

Таким образом, полученные результаты обладают значительным междисциплинарным потенциалом, охватывая широкий спектр задач – от фундаментальных исследований метаболизма лекарственных средств до практических аспектов судебно-медицинской экспертизы и клинической токсикологии, что определяет их комплексную теоретическую и практическую ценность.

С научной точки зрения работа расширяет фундаментальные представления о метаболических превращениях клопидогрела в организме и закономерностях его распределения в различных биологических матрицах. Разработанные принципы пробоподготовки и анализа создают важную методологическую основу для дальнейших исследований в области химико-токсикологической экспертизы производных тиенопиридина. Работа в целом соответствует высоким научным стандартам и вносит существенный вклад в развитие химико-токсикологического анализа лекарственных средств.

Личный вклад автора, с моей точки зрения, является определяющим. Диссертантом проведен анализ как имеющихся научных данных отечественной и зарубежной литературы, так и полученных результатов собственных исследований с формулированием обобщений и выводов. Спланированы совместно с научным руководителем и выполнены все стадии эксперимента на базе Пятигорского медико-фармацевтического института. Разработанные методики нашли применение в работе судебно-медицинских учреждений Донецкой Народной Республики и учебном процессе Луганского государственного медицинского университета.

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

Диссертационная работа Аносовой Л.С. выполнена на достаточно высоком научном уровне. Для получения научных результатов автор корректно использует современные методы фармацевтического анализа, высокоточное поверенное оборудование. Результаты экспериментальных исследований отвечают поставленным задачам, при этом использованы современные методики сбора и обработки исходной информации, регистрации полученных результатов исследования с использованием программного обеспечения и библиотек данных.

Достоверность полученных результатов подтверждается: применением современных валидированных аналитических методов, статистически значимым объемом экспериментальных данных, их аргументированным анализом, хорошей воспроизводимостью результатов.

Все положения, выдвинутые на защиту, научно обоснованы. Выводы вытекают из полученных результатов, аргументированы и согласуются с задачами исследования. Представленные в диссертационной работе научные положения и выводы отличаются высокой степенью доказательности, что достигается за счет системного подхода к решению поставленных исследовательских задач.

Публикации. Список публикаций автора включает 14 научных работ, из которых 5 – опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Оценка содержания диссертации.

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, 5 глав собственных исследований, заключения, выводов и библиографического указателя, включающего 30 отечественных и 127 зарубежных источников, приложения. Работа иллюстрирована 31 таблицей, 36 рисунками и 2 схемами.

Во введении автор подробно раскрывает актуальность изучения методов анализа клопидогрела, обосновывая необходимость разработки новых подходов для нужд судебно-медицинской экспертизы. Четко сформулированные цель и задачи исследования определяют структуру и направленность всей работы.

Первая глава представляет собой всесторонний обзор литературных данных, включающий физико-химические характеристики клопидогрела, его фармакологические свойства и клиническое применение. Особое внимание уделено механизмам метаболизма препарата и существующим методам его анализа, что позволяет выявить нерешенные проблемы в данной области.

Во второй главе содержится детальное описание использованных в исследовании методов и материалов. Автор приводит полные характеристики применяемого оборудования, реактивов и условий проведения эксперимента, что обеспечивает возможность воспроизведения результатов.

Третья глава посвящена разработке и оптимизации методик определения клопидогрела и его метаболита. В ней представлен комплексный аналитический подход, сочетающий три взаимодополняющих метода: тонкослойную хроматографию, УФ-спектрофотометрию и высокоэффективную жидкостную хроматографию.

Четвертая глава содержит результаты исследования условий экстракции изучаемых соединений. Автор анализирует влияние различных факторов (природа растворителя, pH среды, наличие электролитов) на эффективность процессов извлечения веществ из биологических матриц.

В пятой главе описаны инновационные методы выделения клопидогрела и его метаболита из сложных биологических образцов. Особый интерес представляет разработанная методика очистки на основе тонкослойной хроматографии с использованием двухфазной системы.

Шестая глава интегрирует все полученные результаты в единую схему химико-токсикологического анализа. Предложенная методика позволяет

одновременно определять как сам препарат, так и его основной метаболит, что существенно повышает эффективность экспертных исследований.

Выводы работы логически вытекают из представленных экспериментальных данных и подтверждены статистической обработкой результатов. Практические рекомендации основаны на успешной апробации разработанных методов в реальных условиях.

Приложения к диссертации содержат документальные свидетельства внедрения результатов исследования.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Построение диссертационной работы традиционно, логично и соответствует предъявляемым требованиям. В целом положительно оценивая выполненное исследование, следует высказать некоторые замечания, пожелания и задать вопросы:

1. С моей точки зрения, раздел «Актуальность темы» во введении излишне детализирован с учетом того, что весь обзор литературы посвящен только клопидогрелу и его метаболитам, включая особенности фармакодинамики и фармакокинетики.

2. Таблица 1 имеет неточности представления в ней некоторых данных. В столбце 1 указаны авторы публикаций со ссылками, которые не соответствуют ссылкам в списке литературы по диссертации.

3. При приготовлении модельной пробы печени объект измельчали до размера 1 мм. Каким образом достигали такой степени измельчения?

4. Вами были модифицированы методики изолирования клопидогрела и клопидогрель карбоновой кислоты из биологического материала. Чем была вызвана замена этилового спирта на метиловый при использовании метода Стаса-Отто?

5. В таблицах по метрологической обработке результатов проведенного анализа количество значащих цифр после запятой должно

быть идентичным для всех представленных в соответствующем столбце данных (таблицы 8, 10).

6. В начале главы 5 (стр. 86-88) вряд ли стоило приводить общие сведения об особенностях химико-токсикологического анализа наиболее часто используемых биологических объектов со ссылками на литературные источники, не имеющие прямого отношения к исследуемому веществу. Эти сведения лучше было бы разместить в литературном обзоре. Как правило, в экспериментальных главах приводятся ссылки только на публикации соискателя ученой степени.

Перечисленные замечания и высказанные вопросы не имеют принципиального значения, не снижают значимости проведенных исследований, достоверности результатов и достоинств выполненной работы, а носят уточняющий характер.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации.

Содержание автореферата Аносовой Л.С. полностью соответствует основным положениям и выводам диссертации.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно пункту 4. Разработка методов анализа лекарственных веществ и их метаболитов в биологических объектах для фармакокинетических исследований, эколого-фармацевтического мониторинга, судебно-химической и наркологической экспертизы.

Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»

Таким образом, диссертационная работа Аносовой Людмилы Сергеевны на тему: «Разработка методик анализа клопидогрела и его основного метаболита для целей химико-токсикологических исследований», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия,

является завершенной научно-квалификационной работой, имеющей существенное значение для развития фармацевтической науки и практики, в которой решена актуальная научная задача по разработке методов анализа клопидогрела и его метаболитов в биологическом материале для целей химико-токсикологической и судебно-химической экспертизы.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Аносовой Людмилы Сергеевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 16.10.2024 № 1382), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Аносова Людмила Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой токсикологической химии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук
(3.4.2. Фармацевтическая
химия, фармакогнозия,
3.4.3. Организация
фармацевтического дела),
профессор

 Тамара Леонидовна Малкова

23.09.2025 г.

Почтовый адрес: 614990, Российская Федерация, Пермский край, г. Пермь,
ул. Полевая, д. 2
Телефон: (342)282-58-65, +79222421907
e-mail: kaftox1@mail.ru



23.09.2025



с отводом
сигналом
10.10.2025
