

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора химических наук,
Нехорошева Сергея Викторовича на диссертационную работу
Кривошекова Сергея Владимировича на тему
«Определение гексафторида серы в крови методом хромато-масс-спектрометрии»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по
специальности 02.00.02 - Аналитическая химия

Основной проблемой современности в области разработки лекарственных средств является надлежащее исполнение всех этапов фармацевтической разработки: от доклинических исследований до внедрения в клиническую практику. Внедрение надлежащих практик сопряжено с разработкой новых методов исследования и их валидацией. Разработанный на базе СибГМУ и ТПУ препарат для ультразвуковой визуализации очагов воспаления на основе гексафторида серы (ГС) перед внедрением в клиническую практику требует прохождения полного цикла фармакологических испытаний.

Фармакологические исследования, лежащие в основе разработки регистрационного досье, должны отражать, в том числе, изучение фармакокинетических параметров. Первоочередной задачей фармакокинетических исследований является разработка биоаналитических методов, являющихся совокупностью операций по извлечению аналита и отработке оптимальных параметров определения, а также определение метрологических параметров методик и их валидности для использования в области фармакологии.

Обзор литературы по методикам количественного определения ГС показал, что в настоящее время отсутствует экспрессный, не трудоемкий и не требующий дополнительного вспомогательного оборудования метод определения ГС в крови экспериментальных животных в условиях потоковости анализов.

В этой связи диссертационная работа Кривошекова С.В., направленная на разработку параметров детектирования гексафторида серы и изучение его извлечения из крови экспериментальных животных, является актуальным исследованием и, по своей сути, представляет собой методику количественного определения гексафторида серы в крови методом хромато-масс-спектрометрии, пригодную для использования в практике биоаналитических лабораторий.

Диссертационная работа Кривошекова С.В. изложена на 118 страницах машинописного текста, содержит 37 таблиц и 29 рисунков; состоит из введения, пяти глав, заключения и выводов, списка использованных литературных источников, включающего 109 наименований, 2 приложений.

В **первой главе** автором представлен обзор литературы по физико-химическим свойствам, нормативам содержания и областям применения ГС, методам его количественного определения в различных объектах, методам пробоподготовки образцов крови и особенностям газохроматографического анализа. Также приведены современные тенденции пробоподготовки образцов со сложной матрицей. На основании проведенного литературного обзора сформулированы цели и задачи исследования. Во **второй главе** автор приводит описание методик проведения эксперимента, характеристика реактивов и аппаратуры, способа приготовления раствора гексафторида серы, а также изучена его стабильность. **Третья глава** посвящена изучению хроматографического поведения ГС и параметров его детектирования. Также приведено обоснование выбора внутреннего стандарта. Приведены результаты определения рабочих условий экстракции ГС из образцов крови и изучения стабильности рабочих градуировочных и экспериментальных образцов. Дана оценка влиянию матичного эффекта на получаемый результат анализа в разработанных условиях. В **четвертой главе** автор представляет метрологические характеристики хромато-масс-спектрометрической методики определения гексафторида серы в крови. Автором определены предел обнаружения (3,6 ppb) и предел количественного определения (7,3 ppb), а также значения показателей повторяемости ($\leq 12\%$), внутрилабораторной прецизионности ($\leq 14\%$), правильности ($\leq 9\%$) и точности ($\leq 29\%$) в диапазоне определяемых содержаний 0,06 – 15 мкмоль/дм³. В **пятой главе** представлены результаты апробации методики определения ГС в крови экспериментальных животных при изучении фармакокинетики лекарственного средства на основе ГС, определен полупериод элиминации у кроликов и крыс, а также установлено отсутствие эффекта кумуляции ГС в организме.

Таким образом, в данной работе разработан и предложен хромато-масс-спектрометрический метод определения гексафторида серы, с его жидкость-жидкостной экстракцией гептаном и использованием в качестве внутреннего стандарта – толуола.

Следует отметить, что поставленная диссертантом цель работы достигнута, а полученные результаты отличаются существенной **новизной**, которая заключается в

изучении возможности применения жидкость-жидкостной экстракции гексафторида серы из образцов крови; определении рабочих параметров хромато-масс-спектрометрической системы; разработке методики анализа крови для определения ГС. Кроме этого, автором были установлены метрологические характеристики разработанной газохроматографической методики определения гексафторида серы в крови.

Следует отметить также, что степень **обоснованности научных положений и выводов** не вызывает никаких сомнений, так как они подтверждаются многочисленными экспериментальными данными, полученными с помощью современных инструментальных методов количественного химического анализа.

По диссертационной работе Кривошекова С.В. необходимо сделать следующие замечания и задать вопросы:

1. В диссертации на стр. 37 одним из трех требований к выбору внутреннего стандарта является следующее: «2. Концентрацию вещества-стандарта в анализируемой пробе нужно подбирать таким образом, чтобы отношение площадей пиков стандарта и анализируемого компонента было близким к единице.». Учитывая, что в хроматографии градуировочный множитель для определяемого соединения относительно стандартного вещества может в несколько раз отличаться от единицы, то необходимо получить пояснения автора о преимуществах «близости» площадей пиков стандарта и анализируемого компонента при выборе концентрации стандарта в анализируемой пробе, перед «близостью» их концентраций.
2. В связи с чем в разделе 2.1, который называется «Описание реактивов, стандартных образцов и материалов», описываются помимо реактивов и материалов еще и весы, дозаторы, газовый хроматограф и программное обеспечение?
3. В таблице 7 приводятся некоторые физико-химические свойства пяти «хороших» растворителей для разработки методики определения гексафторида серы, после чего автор без объяснения причин констатирует: «Таким образом, наилучшими растворителями для разработки методики определения ГС являются гептан и изооктан, ...». Необходимо объяснить сделанный выбор. Кроме этого, в таблице 7 и в «Списке сокращений и условных обозначение» не удалось найти расшифровку параметра «XLogP3».
4. На стр. 42 указано, что по информации, полученной из библиографического источника № 27, концентрация насыщенного раствора гексафторида серы в гептане составляет 1608 мкл/мл. Эксперименты автора показывают, что гептан насыщается

гексафторидом серы до концентрации $71,3 \pm 0,7$ ммоль/дм³. Каким образом предлагается сравнивать эти значения, имеющие различную размерность?

5. В разделе 2.2.2, посвященном изучению стабильности насыщенного раствора гексафторида серы при хранении в открытом сосуде, нет информации о форме сосуда использованного в экспериментах, а также о уровне его заполнения раствором. В тоже время известно, что эти параметры оказывают существенное влияние на скорость испарения и количественный состав многокомпонентной жидкости.
6. На стр. 49 автор некорректно утверждает, что ограничением метода газовой хроматографии является невозможность варьировать состав подвижной фазы, в то время, как изменять состав подвижной фазы в этом виде хроматографии можно, но химический состав газа-носителя оказывает весьма незначительное влияние на удерживание веществ и на их разделение.
7. В результате экспериментального выбора условий масс-спектрометрического детектирования гексафторида серы автором был выбран режим селективного ионного мониторинга по иону 127 m/z (стр. 54). В разделе 3.2 указано, что для газохроматографического определения гексафторида серы в качестве внутреннего стандарта автором был выбран толуол. В тоже время автор в работе не объясняет, каким образом можно для толуола, обладающего молекулярной массой 92 г/моль, получить аналитический сигнал от масс-спектрометрического детектора, работающего в режиме селективного ионного мониторинга по выбранному иону с 127 m/z.

Несмотря на сделанные замечания, оформление диссертационной работы претензий не вызывает, работа написана достаточно ясно, с использованием общепринятой терминологии. Содержание диссертационной работы полностью отражено в публикациях аналитического профиля. Результаты докладывались на международных и всероссийских научно-практических конференциях.

Автореферат полностью отражает все полученные научные результаты и выводы, сделанные в диссертационном исследовании.

На основании вышеизложенного можно заключить, что диссертация работа на тему «Определение гексафторида серы в крови методом хромато-масс-спектрометрии» выполнена на высоком научном уровне, полностью соответствует критериям, установленным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»

утвержденным Постановлением Правительства РФ No 842 от 24 сентября 2013 г, а ее автор, Кривошеков Сергей Владимирович, безусловно заслуживает присвоения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 - Аналитическая химия.

«28» 11 2018 г.

С.В. Нехорошев

Официальный оппонент:

Нехорошев Сергей Викторович,

доктор технических наук по специальности 05.11.13 – Приборы и методы контроля природной среды, веществ, материалов и изделий,
ведущий научный сотрудник

проблемной научно-исследовательской лаборатории Бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа - Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия».

Адрес для переписки: 628011, г. Ханты-Мансийск, ул. Мира, 40.

Тел.: 8-912-939-65-02

E-mail: serg-nehor@rambler.ru

Подп
сп

За С.В. заверен
кадров
Таймская