



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)

Профессора Попова ул., д.14, лит. А
Санкт-Петербург, 197376
Телефон (812) 499-39-00. Факс: (812) 499-39-03
E-mail: rectorat.main@pharminnotech.com

ОКПО 00481985, ОГРН 1037828029007
ИНН 7813045875, КПП 781301001

26 11 2018 № 13-2131

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации, доктор
фармацевтических наук, профессор

С.В. Кривошеков
«26» ноября 2018 г.
О.И.С. Выходил
Численность
№ 10378
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертационной работы Кривошекова Сергея Владимировича на тему «Определение гексафторида серы в крови методом хромато-масс-спектрометрии», представленную в диссертационный совет Д 212.269.04 на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Актуальность темы исследования

Актуальность данного исследования обусловлена необходимостью надлежащей оценки эффективности и безопасности лекарственных средств. В рамках проведения доклинических исследований проводится оценка фармакокинетических параметров, что применил в своей работе диссертант для нового препарата на основе гексафторида серы (ГС) в эксперименте на опытных животных. Гексафторид серы – газообразное вещество и представляет собой сложный аналитический объект, требующий особых условий проведения анализа. Разработка методики определения газообразного вещества не из паровой фазы является актуальным направлением аналитических исследований призванных упростить рутинные анализы.

Несмотря на широкую проработанность методов определения гексафторида серы в различных объектах окружающей среды, в литературе отсутствует описание экспрессного, не трудоемкого и не требующего специального оборудования метода определения ГС в биологических средах (кровь) методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Указанное определяет актуальность, научную и практическую значимость темы диссертации С.В. Кривошекова, посвященной изучению хромато-масс-спектрометрического определения гексафторида серы и разработке методики его

количественного определения в крови. В рамках сформулированной проблемы диссертантом поставлены и успешно решены задачи, включающие изучение хроматографических свойств гексафторида серы и выбор рабочих условий для его хромато-масс-спектрометрического определения; исследование физико-химических закономерностей пробоподготовки образцов крови для извлечения ГС из биологической матрицы; исследование влияния компонентов матрицы на степень извлечения ГС; разработку методики количественного хромато-масс-спектрометрического определения гексафторида серы в крови и расчет основных метрологических характеристик.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов.

К основным достижениям, определяющим **научную новизну** диссертационной работы, относятся результаты исследования закономерностей аналитического сигнала гексафторида серы от параметров хромато-масс-спектрометра; изучена возможность применения метода жидкость-жидкостной экстракции ГС из образцов крови с помощью гептана и разработан алгоритм пробоподготовки. Впервые показана возможность определения гексафторида серы в крови методом хромато-масс-спектрометрии из образцов жидких проб. Несомненный интерес представляют также результаты определения фармакокинетических параметров нового средства для ультразвуковой диагностики.

Теоретическая и научно-практическая значимость работы, возможные конкретные пути их использования.

Практическая значимость проведенного исследования связана с разработкой экспрессной хроматографической методики определения гексафторида серы в крови. Предложенная методика не требует применения дорогостоящего оборудования и сложной пробоподготовки, а также характеризуются хорошей чувствительностью и точностью. Немаловажным аспектом является внедрение результатов исследования в работу ряда организаций. Так, проведена метрологическая экспертиза методики количественного определения гексафторида серы ФГБУЗ ГЦГ и ФМБА России и рекомендована к аттестации. Высокий научный уровень и практическую значимость отражает факт внедрения разработанной методики в практику работы НИИ ФиРМ им. Гольдберга и Центра внедрения технологий СибГМУ.

Методика расширяет арсенал методов изучения фармакокинетики лекарственных средств на основе ГС. Результаты данного исследования могут быть использованы в дальнейшем при определении гексафторида серы в крови добровольцев на этапе клинических исследований нового лекарственного препарата.

Соответствие работы паспорту научной специальности.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности специальности 02.00.02 - аналитическая химия, а именно области исследований: 2. Методы анализа, 7. Теория и практика пробоотбора и пробоподготовки в аналитической химии, 8. Методы маскирования, разделения и концентрирования 16. Клинический анализ.

Личный вклад автора.

Личный вклад автора состоит в постановке задач и проведении исследований с последующим комплексным анализом полученных результатов. Проанализирован значительный список литературы – 118 литературных источников. В выполненной работе диссертантом непосредственно осуществлены мониторинг основных параметров, аналитическая и статическая обработка полученных результатов; представлено научное обоснование и выводы.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций.

Рассмотрев материалы диссертационной работы можно констатировать, что методы исследования выбраны корректно в соответствии с поставленными задачами. Экспериментальные исследования выполнены с применением современного метода анализа (хромато-масс-спектрометрия), что соответствует современным требованиям к экспериментальным фармакокинетическим исследованиям и свидетельствует об их достаточном научном уровне. Полученные экспериментальные данные статистически обработаны. Выводы диссертационной работы сделаны на основе полученных данных, изложены логично, последовательно и являются научно обоснованным. Считаю, что достоверность результатов и выводов возражений не вызывает.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность.

Диссертационная работа Кривошекова С.В. характеризуется целостностью и направленностью испытаний на решение поставленных задач.

Работа имеет традиционную структуру и подробное распределение по главам и разделам. Диссертация изложена на 118 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов, 3-х глав с результатами исследований и обобщающего заключения. Список литературы насчитывает 109 источников. Работа иллюстрирована 37 таблицами и 29 рисунками. Ряд информационного и табличного материала вынесено в 2 Приложения.

Стиль написания демонстрирует хороший уровень подготовки и планирования эксперимента, владение автором современными инструментальными методами исследования и обработки полученных результатов.

Во **Введении** диссертации раскрыта актуальность выбранной темы исследования, определена цель и задачи для ее достижения, дана характеристика научной новизны, практической значимости, сформулированы положения, выносимые на защиту. Приведены сведения о личном вкладе соискателя, благодарности коллегам, грантовой поддержке, апробации диссертации на конференциях, ее структуре и публикациях, в которых изложены основные полученные результаты.

Глава 1 (Обзор литературы) 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 охарактеризованы

мировые тенденции при анализе образцов со сложной матрицей. На основании проведенного литературного обзора сформулированы цели и задачи исследования.

В **главе 2** диссертант приводит описание используемых реактивов, методик проведения эксперимента, характеристики аппаратуры, способа приготовления раствора гексафторида серы, а также результаты изучения его стабильности.

Глава 3 диссертационного исследования посвящена изучению хроматографического поведения ГС в изотермическом режиме элюирования на колонках с различной неподвижной фазой и параметров его детектирования. Также дано обоснование выбора внутреннего стандарта. Приведено обоснование выбора колонки HP-1ms и параметров хромато-масс-спектрометрического определения ГС. Приведены результаты оценки матричного эффекта и определения рабочих условий экстракции ГС из образцов крови, обеспечивающие максимальную степень извлечения анализируемого объекта. Проведено изучение стабильности рабочих градуировочных и экспериментальных образцов в различных условиях хранения. Определено отсутствие влияния эффекта матрицы крови на получаемый результат в разработанных условиях проведения анализа

В **главе 4** представлены метрологические характеристики хромато-масс-спектрометрической методики определения гексафторида серы в крови, в том числе приведен расчет предела обнаружения (3,6 ppb) и предела количественного определения (7,3 ppb), значения которых сопоставимы со значениями ПО и ПКО в методиках анализа образцов воздуха.

В **главе 5** представлены результаты апробации методики определения ГС в крови экспериментальных животных, определены основные фармакокинетические параметры нового лекарственного средства на основе ГС.

В «**Заключении и основных выводах**» обобщены основные результаты работы, которые соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Сформулированные выводы логичны, обоснованы и следуют из представленных данных. Оценивая диссертационную работу С.В. Кривощекова в целом, следует отметить, что она является завершенным научным исследованием, в котором автор продемонстрировал системный подход к разработке методики определения гексафторида серы в крови с использованием метода хромато-масс-спектрометрии, умение использовать широкий спектр современных методов анализа и грамотно интерпретировать полученные результаты. Диссертационная работа С.В. Кривощекова написана хорошим научным языком и характеризуется достаточно лаконичным, четким построением предложений, логичностью построения эксперимента и его изложения, обоснованностью выводов.

По материалам диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК (из них 2 статьи переведены на английский язык) и 1 патент.

Автореферат достаточно полно отражает основное содержание диссертации.

Отмечая актуальность, научную и практическую значимость диссертационной работы Кривошекова С.В., следует высказать некоторые замечания и вопросы:

1. Для режима мониторинга выделенных ионов рекомендовано использовать ион с 127 m/z, который соответствует фрагменту $[SF_5]^+$. Однако на стр.14 диссертации указано, что данный параметр мониторинга рекомендован многими авторами. Т.о. параметры масс-спектрометрического детектирования были выбраны исходя из рекомендаций литературы?
2. Термический способ экстракции ГС из крови показал степень извлечения 96%, однако Вы акцентируете внимание на его трудоемкости. В чем заключается основная сложность при проведении термического способа экстракции?
3. Использовали ли Вы другие методы интенсификации процесса экстракции, например УЗ-баню?
4. Чем обусловлен диапазон концентраций градуировочных растворов использованных при изучении стабильности?
5. С какой целью при изучении мешающих факторов матрицы Вами была использована кровь двух видов животных?
6. Автором проведена валидационная оценка предложенной аналитической методики (в интерпретации автора – метрологические характеристики). Однако автор приводит параметр «правильности» и «точности», которые в соответствии с основными рекомендательными документами по проведению валидации аналитических методик представляют единый параметр (различный перевод). В соответствии с какой нормативной документацией автором проведена валидационная оценка и, соответственно, использована терминология? И почему валидационные показатели интерпретированы в диапазоне «точность не превышает 30%, повторяемость – 12%» и т.д. Что являлось критерием приемлемости?
7. В заключении сказано, что полупериод элиминации ГС составил 2,35 мин, а на стр. 18 автореферата – 5,8 мин. Поясните, какой из приведенных критериев верен, если учесть, что на графике данный показатель составляет около 6 минут.

Однако приведенные замечания не носят принципиального характера и не уменьшают научной и практической ценности диссертационной работы.

Заключение.

Диссертационная работа Кривошекова Сергея Владимировича «Определение гексафторида серы в крови методом хромато-масс-спектрометрии» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой поставлена и решена важная для науки задача имеющая значение для развития хроматографических методов анализа биологических объектов

По актуальности, научной новизне, уровню и объему проведенных исследований, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации

от 24 сентября 2013 г. №842 (с учетом изменений, внесенных в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, **Кривошеков Сергей Владимирович**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 - аналитическая химия.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Минздрава России «22» ноября 2018 г., протокол № 4. На заседании присутствовало 11 человек, решение принято единогласно.

Начальник испытательной лаборатории
(Центр контроля качества лекарственных средств),
доцент кафедры фармацевтической химии
ФГБОУ ВО СПХФУ, доктор фармацевтических наук
(15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия),
доцент

Тернинко Инна Ивановна

«26» ноября 2018 г.

197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации; Сайт организации: <http://www.spcpu.ru/>
тел. рабочий: +7(812) 499-39-00 (добавочный 3300, 3301)
E-mail: inna.terninko@pharminnotech.com

Подпись руки

Тернинко И.И.

удостоверяю

26.11.2018

Начальник отдела документации

Павлов И.В.

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России