

УТВЕРЖДАЮ

и.о. проректора по научной работе и инновациям



профессор НИТПУ «Национальный исследовательский
политехнический университет», д.т.н.,

Степанов Борисович Степанов

24 08 2018 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Национальный исследовательский Томский
политехнический университет» (НИ ТПУ)

Диссертация «Определение гексафторида серы в крови методом хромато-масс-спектрометрии» выполнена в Исследовательской школе химических и биомедицинских технологий НИ ТПУ.

В период подготовки диссертации Кривошеков Сергей Владимирович обучался в очной аспирантуре Национального исследовательского томского политехнического университета с 2013 г и работал в ГБОУ ВПО СибГМУ в Центральной научно-исследовательской лаборатории в должности младшего научного сотрудника.

В 2013 г окончил с отличием Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» по направлению подготовки «Химия».

Справка об обучении в аспирантуре и о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2018 г. Федеральным государственным автономным образовательным учреждением высшего образования «Национальный исследовательский томский политехнический университет».

Научный руководитель – Юсубов Мехман Сулейман оглы, доктор химических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный

исследовательский томский политехнический университет», Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, директор.

На заседании присутствовали: Трусова М.Е., д-р хим. наук; Юсубов М.С., д-р хим. наук, Слепченко Г.Б., д-р хим. наук; Колпакова Н.А, д-р хим. наук; Короткова Е.В., д-р. хим. наук; Романенко С.В., д-р хим. наук; Ляпков А.А., канд. хим. наук; Постников П.С., канд. хим. наук; Дорожко Е.В., канд. хим. наук; Родригес Контрерас Рауль Давид, PhD; Сургутская Н.С., канд. хим. наук; Кукурина О.С., канд. хим. наук; Гиндуллина Т.М., канд. хим. наук.

В ходе обсуждения работы были заданы следующие вопросы, на которые докладчик дал исчерпывающие ответы:

1. В чем заключается научная новизна выполненной работы?
2. Каков срок хранения экстрактов?
3. Какой способ ионизации был использован?
4. Проводилось ли сравнение получаемых результатов с другими методами?
5. Чем обоснован выбор детектора?
6. В каком состоянии находится SF_6 в гептане? Что он из себя представляет?
7. Как определяли момент насыщения раствора газом?
8. Каково парциальное давление гексафторида серы в насыщенном растворе? Почему не определяли константу Генри?
9. Обоснуйте выбор одного из двух подходящих сорбентов.
10. Сколько минут длится эффект контрастирования при использовании препарата?
11. Поясните термин «вортекс».
12. Какое время занимает анализ с момента забора крови?
13. Проводилась ли отдельно оценка ошибок при пробоподготовке и определении?
14. Не получалось ли сократить время анализа?
15. Оценивали ли влияние веществ, экстрагируемых из крови вместе с гептаном?
16. Поясните единицу измерения дозировки препарата.
17. Изучались ли кинетические параметры при определении стабильности используемых растворов гексафторида серы?

Оценка выполненной работы

Представленная работа выполнена на высоком научном уровне с привлечением передовых подходов и тенденций, а также с применением современного научного оборудования. Автор диссертации является вполне

сложившимся научным сотрудником, способным решать поставленные научные задачи. Научные положения и выводы выполненной Кривошековым С.В. работы не вызывают сомнения.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность исследования

Внедрение новых лекарственных средств в современных условиях надлежащих практик (GMP, GLP) сталкивается с проблемой разработки чувствительных и селективных методов определения действующих веществ на этапе доклинических исследований с целью стандартизации лекарственных препаратов, а так же при изучении их фармакологических свойств (в частности – фармакокинетики).

Гексафторид серы (ГС) – высший фторид серы(VI), применяемый во многих областях народного хозяйства. Так, например, он используется в высокоэнергетической электронике в качестве сигнализатора утечек; за счет уникальных свойств (скорость звука в среде ГС составляет 6 м/с) его используют в качестве действующего вещества эхоконтрастных лекарственных средств для ультразвуковой диагностики. На сегодняшний день известен ряд препаратов на основе ГС, например Sonovue (Bracco, Италия). Группой ученых ТПУ и СибГМУ разработан первый отечественный препарат на основе ГС для ультразвуковой визуализации очаговых воспалительных процессов. Прежде, чем испытания начнутся на людях, новый препарат обязан пройти все стадии доклинических исследований (ДКИ) с использованием животных. Результаты доклинических и клинических испытаний, включая исследование фармакокинетики, используются для принятия важных решений, подтверждающих эффективность лекарственного средства.

На этапе ДКИ, должна быть оценена фармакокинетика лекарственного средства (ЛС) на опытных животных. Изучение фармакокинетических параметров основывается на измерении содержания действующего вещества в организме экспериментальных животных в зависимости от времени, и чем точнее и правильнее будет проводиться это измерение, тем качественней можно будет перенести исследование препарата на человека. Таким образом, первоочередная задача фармакокинетических исследований нового препарата на основе ГС сводится к разработке методов количественного определения действующего вещества – гексафторида серы.

Несмотря на многообразие описанных в литературе хроматографических методов определения гексафторида серы, в настоящее время отсутствует экспрессный, не трудоемкий и не требующий специализированного оборудования метода определения ГС в биологических средах (кровь) методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Таким образом, актуальной задачей является разработка высокочувствительной и селективной методики определения гексафторида серы методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием в образцах со сложной биологической матрицей (кровь).

Личный вклад соискателя

Основные экспериментальные результаты, приведенные в диссертации, получены самим автором или при его непосредственном участии. Автором выполнены исследования по изучению масс-спектрометрических и хроматографических характеристик гексафторида серы, по разработке методики количественного определения гексафторида серы в крови, по оценке пригодности использования методики в клинической практике для определения содержания гексафторида серы, по применению разработанной методики для анализа реальных образцов крови экспериментальных животных. Обсуждение полученных результатов и подготовка материалов для публикаций проводилась совместно с научным руководителем, научным консультантом и соавторами. Соавторы не возражают против использования соискателем совместных работ.

Достоверность научных положений и выводов

Результаты диссертационной работы Кривошекова С.В., научные положения и выводы являются достоверными и обоснованными. Положения и выводы подтверждены современным хроматографическим методом исследования (ГХ/МС). Разработанная методика апробирована на реальных образцах крови экспериментальных животных при определении фармакокинетики лекарственного препарата на основе гексафторида серы. Проведена метрологическая экспертиза, по результатам которой методика рекомендована к аттестации.

Научная новизна

Впервые установлены закономерности влияния температуры источника ионов масс-спектрометрического детектора и режима сканирования ионов на аналитический сигнал гексафторида серы.

Впервые изучена возможность применения гептана для жидкость-жидкостной экстракции ГС из образцов крови при пробоподготовке для газохроматографического анализа.

Впервые применен подход жидкость-жидкостной экстракции ГС из образцов крови, на основе которого разработан алгоритм пробоподготовки образцов крови для дальнейшего газохроматографического определения ГС.

Впервые предложена газохроматографическая методика определения ГС в крови и определены ее метрологические характеристики.

Впервые с использованием разработанной газохроматографической методики определены фармакокинетические параметры нового УЗИ-контрастного препарата.

Практическое значение работы

Разработана экспрессная хроматографическая методика количественного определения гексафторида серы в крови. Выбранные условия анализа крови при определении гексафторида серы нивелируют матричный эффект. Разработанная методика расширяет арсенал методов изучения фармакокинетики лекарственных средств на основе ГС. Определены метрологические характеристики, которые соответствуют предъявляемым к биоаналитическим методикам требованиям. Проведена метрологическая экспертиза методики количественного определения гексафторида серы ФГБУЗ ГЦГ и Э ФМБА России и рекомендована к аттестации.

Методика внедрена в практику работы НИИФиРМ им. Гольдберга и Центра внедрения технологий СибГМУ для изучения фармакокинетических параметров лекарственных средств на основе ГС.

С помощью разработанной методики проведено изучение фармакокинетики ЛС на основе гексафторида серы, произведенного в Центра внедрения технологий СибГМУ, в рамках доклинических исследований, поддержанных грантом Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (Государственный контракт от «17» марта 2014 г. № 14.N08.12.0027). Полученные с использованием разработанной методики результаты, позволили рассчитать фармакокинетические параметры ЛС в эксперименте на различных видах животных.

Ценность научных работ

Ценность научной работы соискателя состоит в разработке алгоритма анализа образцов крови для экспрессного, не трудоемкого определения содержания гексафторида серы, который является действующим веществом лекарственных средств для ультразвуковой визуализации очаговых

воспалительных процессов. Разработанная методика пригодна для использования в клиническом анализе и рекомендована к аттестации.

Полнота опубликования результатов

По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 4 статьи в журналах из перечня ВАК (из них 2 статьи переведены на английский язык), 1 патент Российской Федерации и 2 доклада и тезиса докладов на международных и всероссийских конференциях. Список важнейших работ:

1. Кривошеков, С.В. Валидация методики определения гексафторида серы в образцах плазмы экспериментальных животных / С.С. Власов, С.В. Кривошеков, М.К. Заманова, М.В. Белоусов, А.М. Гурьев, М.С. Юсубов // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – №4(17). – С.174-179
2. Кривошеков, С.В. Валидация методики количественного определения гексафторида серы в новом контрастном препарате методом газовой хроматографии / С.В. Кривошеков, М.С. Ларькина, С.С. Власов, Л.А. Дрыгунова, А.М. Гурьев, М.В. Белоусов, М.С. Юсубов // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – Т.51. – № 3. – С.41-44
3. Газосодержащее контрастное средство для ультразвуковой диагностики: пат. 2619353 Российская Федерация: МПК А61К49/22 / Кривошеков С.В., Юсубов М.С., Белоусов М.В., Гурьев А.М. и др.; заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России. – №2016120846; ; заявл.27.05.2016; опубл. 15.05.2017, Бюл. № 14
4. Кривошеков, С.В. Характеристика полисахаридных комплексов василька шероховатого (*Centaurea scabiosa* L.) и василька ложнопятнистого (*Centaurea pseudomaculosa* Dobrocz.) / М.С. Ларькина, С.В. Кривошеков, А.М. Гурьев, Т.В. Кадырова, Е.В. Ермилова, В.В. Коцерубская, М.С. Юсубов // Химия растительного сырья. – 2016. – № 2. – С.19-24
5. Кривошеков, С.В. Водорастворимые полисахариды травы люцерны посевной *Medicago sativa* (Fabaceae) флоры Красноярского края / К.И. Ровкина, С.В. Кривошеков, А.М. Гурьев, М.С. Юсубов, М.В. Белоусов // Химия растительного сырья. – 2017. – №2. – С.57-64

Диссертация полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 «Аналитическая химия».

Диссертация «Определение гексафторида серы в крови методом хромато-масс-спектрометрии» Кривошекова Сергея Владимировича, выполненная в

Исследовательской школе химических и биомедицинских технологий, рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 «Аналитическая химия».

Заключение принято на расширенном заседании Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий. Присутствовало на заседании 13 чел. Результаты голосования: «за» - 13 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 2 от 14.06.2018 г.

Секретарь заседания, к.х.н.

Наталья Сергеевна Сургутская

Зам. председателя научного семинара,
д-р хим. наук, заместитель
директора ИШХБТ

Марина Евгеньевна Трусова