

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Ярошенко Дмитрия Вадимовича на тему:

### **«Нивелирование влияния биологической матрицы при определении лекарственных препаратов в плазме крови методом хромато-масс-спектрометрии»»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Диссертационная работа Д.В. Ярошенко посвящена установлению влияния матричных эффектов на результаты хромато-масс-спектрометрического определения ряда лекарственных препаратов различной природы в плазме крови и поиску путей устранения влияния этих эффектов.

Актуальность постановки такого исследования, как в теоретическом, так и в практическом плане сомнений не вызывает.

Несмотря на все достоинства и возможности хромато-масс-спектрометрических методов, следует отметить, что компоненты биологической матрицы могут элюироваться совместно с определяемыми аналитами, влияя на ионизационные процессы, и проявляясь в виде мешающих эффектов различной природы. При этом состав биологических жидкостей может существенно отличаться для различных доноров, поэтому определение лекарственных средств для изучения фармакокинетических процессов представляет весьма сложную задачу. Именно на выявление и устранение влияния компонентов неизвестной природы, присутствующих в биологической матрице при определении в плазме крови лекарственных препаратов на результаты хромато-масс-спектрометрического анализа направлено данное диссертационное исследование.

В обзоре литературы, предшествующем изложению собственных результатов, рассмотрены требования к физико-химическим методам анализа при определении лекарственных препаратов в биологических жидкостях; особое внимание уделено масс-спектрометрическим методам, способам ионизации в ВЭЖХ-МС, проблеме матричного эффекта и способам его устранения. Исходя из глубокой проработки и осмысления литературных данных, автор очень четко формулирует задачи диссертационной работы применительно к своим сложным объектам исследования.

Для решения поставленной задачи Д.В. Ярошенко потребовалось запланировать и выполнить большое количество предварительных исследований по оптимизации условий хромато-масс-спектрометрического определения аналитов и выбору стратегии пробоподготовки.

Диссертантом предложена градация матричных эффектов при хромато-масс-спектрометрическом определении лекарственных веществ в плазме крови: подавление или усиление ионизации, нарушение линейности градуировочной зависимости, неудовлетворительная сходимость результатов для биологических образцов разных доноров, влияние на процессы фрагментации.

Следует отметить большой объем экспериментальных исследований, проведенных соискателем при выполнении диссертационной работы, выполненных и изложенных на высоком научном уровне.

Мотивы выбора методов исследования представляются весьма обоснованными. В работе применяли различные современные методы анализа, что позволило получить надежные экспериментальные данные. Достоверность и надежность основных результатов работы сомнений не вызывает.

Научная новизна выполненного диссертационного исследования заключается в следующем.

Впервые предложен вариант устранения неудовлетворительной сходимости результатов для образцов плазмы крови различных доноров при определении цисплатина в форме трехлигандного комплекса платины и диэтилдитиокарбамата (DDTC) – Pt(DDTC)<sub>3</sub><sup>+</sup>. Обоснован выбор осколочного иона (MRM-переход  $m/z$  475→58) для решения проблемы плохой повторяемости значений матричного фактора при МС/МС-определении силденафила.

Обнаружено нарушение линейности градуировочной зависимости вследствие влияния компонентов биологической матрицы на процессы ионизации в масс-спектрометрии. Интересным решением устранения этого эффекта явилось снижение объема вводимой пробы при определении циклосерина и сорбционного концентрирования на катионообменном сорбенте Waters Oasis MCX при пробоподготовке плазмы крови, в процессе которого осуществлялся перевод используемого сорбента в аммонийную форму: ионы аммония выполняли роль конкурирующего агента, снижая взаимодействия молекул аналита с сорбентом.

Это, в свою очередь, позволило увеличить степени извлечения лекарственных препаратов до 85-92%.

Автором работы достигнуто устранение матричного эффекта подавления ионизации при совместном хромато-масс-спектрометрическом определении капецитабина и 5-фторурацила в плазме крови с получением высоких степеней извлечения аналитов благодаря применению сорбционного концентрирования на сверхсшитом полистироле PuroSep.

Не умаляя научной новизны работы, следует особо подчеркнуть ее большую практическую значимость. Важно отметить, что все предложенные прикладные решения, описанные в работе, реализованы в разработанных методиках определения лекарственных веществ в плазме крови. Найденные методические решения востребованы при проведении клинических исследований по изучению фармакокинетики лекарственных препаратов.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, 3 глав с обсуждением полученных результатов, списка принятых сокращений и используемых биомедицинских терминов, заключения и списка цитируемой литературы (135 наименований). Работа изложена на 153 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу и 62 рисунка.

Результаты исследований Д.В. Ярошенко опубликованы в 4 статьях в рекомендованных ВАК рецензируемых научных изданиях и 8 тезисах докладов. Автор докладывал о результатах работы на представительных научных конференциях.

Содержание диссертации достаточно полно отражено в автореферате и публикациях.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе Д.В. Ярошенко, четко обоснованы, достоверны и логично вытекают из полученных автором результатов исследования. Выводы соответствуют цели и поставленным задачам исследования.

Наряду с неоспоримыми достоинствами проделанной работы возникли ряд вопросов и замечаний:

1. Из текста диссертации не совсем ясно, как полученные результаты по обнаружению и устранению матричного эффекта, сопоставимы с данными

других исследователей, работающих в этом направлении?

2. Чем объясняется роль сверхсшитого полистирола при сорбционном концентрировании аналитов, обеспечившего по сравнению с другими сорбционными материалами столь высокие степени извлечения лекарственных препаратов и степень очистки?
3. При чтении диссертации встречаются неточности редакционного характера, хотя их число и невелико.

Приведенные выше вопросы и замечания не носят принципиального характера и не снижают высокой научной ценности работы.

Результаты диссертационной работы Д.В. Ярошенко могут быть включены в лекционные курсы по аналитической химии, хроматографии и физико-химическим методам анализа на химических факультетах Московского и Санкт-Петербургского университетов, использованы для внедрения в Санкт-Петербургском институте физиологии им. И.П. Павлова, Иркутском государственном университете, в Санкт-Петербургском государственном технологическом институте (Техническом университете), Центре контроля качества и сертификации лекарственных препаратов, Северо-западном государственном университете им. И.И. Мечникова.

Диссертационная работа Ярошенко Дмитрия Вадимовича «Нивелирование влияния биологической матрицы при определении лекарственных препаратов в плазме крови методом хромато-масс-спектрометрии», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия, является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий. Она имеет существенное значение для аналитической химии лекарственных препаратов в биологических средах.

По научной новизне, практической значимости и объему выполненных исследований диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор достоин присуждения искомой степени по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Обнинский институт атомной энергетики – филиал Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (ИАТЭ НИЯУ МИФИ)

Заведующая кафедрой фармацевтической и  
радиофармацевтической химии,

доктор фармацевтических наук, доцент  Наталья Борисовна Эпштейн

Почтовый адрес: 249040, г. Обнинск, Калужской области, Студгородок, 1

Телефон: 8(910)5181454

Электронная почта: [NBEPshtej@mephi.ru](mailto:NBEPshtej@mephi.ru)

18.09.2014 г.

Подпись Н.Б. Эпштейн заверяю

Ученый секретарь Ученого совета

ИАТЭ НИЯУ МИФИ

доктор физико-математических наук, профессор



В.Л. Шаблов