

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

диссертационного совета ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

аттестационное дело № 74.01-05/021-2024

решение диссертационного совета от «20» марта 2024 года, № 8

о присуждении Кильдюшкину Даниилу Андреевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата фармацевтических наук.

Диссертация «Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями» в виде рукописи по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология принята к защите «14» февраля 2024 года (протокол заседания № 3) диссертационным советом ДСУ 208.002.02 на базе ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, строение 2 (Приказ ректора № 0864 от 18.07.2022 г.).

Соискатель Кильдюшкин Даниил Андреевич, 1997 года рождения, в 2020 году с отличием окончил ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по специальности 33.05.01 Фармация, квалификация провизор.

В 2023 году окончил программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре на кафедре фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый

МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по направлению 33.06.01 «Фармация», квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь».

В настоящее время не работает.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук выполнена на кафедре фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Научные руководители:

кандидат фармацевтических наук, доцент, **Петухов Алексей Евгеньевич**, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), институт фармации имени А.П. Нелюбина, кафедра фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева, доцент кафедры;

кандидат биологических наук, **Литвин Евгений Александрович**, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России, лаборатория прикладной и фундаментальной фармакологии, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Гаевая Людмила Михайловна – доктор фармацевтических наук, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел качества и технологии лекарственных средств, лаборатория стандартизации и контроля качества лекарственных средств, ведущий научный сотрудник

Калёкин Роман Анатольевич – доктор фармацевтических наук, ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России, лаборатория судебно-химических и химико-токсикологических исследований, заведующий лабораторией

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в своем положительном отзыве, подписанном профессором, заведующим кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, доктором фармацевтических наук Сливкиным Алексеем Ивановичем и доцентом, заведующим кафедрой клинической фармакологии и клинической фармакологии, доктором медицинских наук Бузламой Анной Витальевной, указало, что диссертационная работа Кильдюшкина Даниила Андреевича на тему «Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований по разработке методик качественного и количественного определения порфиринов, а также их применения в клинической практике и в рамках персонализированной медицины, содержится решение задачи, имеющей существенное значение для фармацевтической химии, фармакологии и клинической фармакологии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Кильдюшкин Даниил Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по

специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

На автореферат поступили отзывы от:

Хаитова Мусы Рахимовича, члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора, директора ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» ФМБА России;

Белоусова Михаила Валерьевича, доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармацевтического анализа ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Костюшева Дмитрия Сергеевича, кандидата биологических наук, заведующего лабораторией генетических технологий в создании лекарственных средств ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет);

Кошечкиной Анны Сергеевны, кандидата фармацевтических наук, научного сотрудника лаборатории метаболомного и протеомного анализа ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи».

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат. В отзыве доктора фармацевтических наук, профессора Белоусова Михаила Валерьевича содержатся вопросы уточняющего характера.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что оппоненты являются известными специалистами в данной области и имеют публикации в рецензируемых журналах.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации выбрано в качестве ведущей

организации в связи с тем, что одно из научных направлений, разрабатываемых данным учреждением, соответствует профилю представленной диссертации.

По теме диссертации опубликовано 8 работ, в том числе 1 научная статья в журнале, включённом в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которой должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук; 2 научные статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 2 иные публикации по результатам исследования, 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежная конференция).

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Кильдюшкин Д.А.** Разработка и валидация методики количественного определения порфиринов и их предшественников методом ВЭЖХ с ультрафиолетовой детекцией в плазме крови человека / **Д.А. Кильдюшкин, Е.А. Литвин, А.М. Суханова [и др.]** // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2023. – Т.57. – №7. – С. 55 – 60. [**Scopus**].

2. Пузикова А.И. Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в диагностике порфирий. / А.И. Пузикова, Е.А. Литвин, **Д.А. Кильдюшкин [и др.]** // **Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.** – 2021. – Том 20. – № 3. – С. 140 – 144. [**Scopus**].

Кильдюшкин Д.А. Разработка и валидация методики количественного определения порфиринов методом ВЭЖХ-УФ в моче / **Д.А. Кильдюшкин, А.Е. Петухов, Е.А. Литвин** // **Фармакокинетика и фармакодинамика.** – 2022. – №2. – С. 36 – 45. [**Перечень ВАК при Минобрнауки России**].

Общий объём публикации составляет 2,2 печатных листа.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны чувствительные и селективные методики качественного и количественного определения эндогенных порфиринов, являющихся маркерами группы заболеваний, называемых порфирии;

предложены оптимальные условия извлечения порфиринов из мочи и плазмы крови пациентов, хроматографического разделения и детектирования для количественного определения порфиринов методом ВЭЖХ-УФ;

предложены обновленные нормы содержания порфиринов в моче и плазме крови пациентов;

доказана перспективность использования разработанной хроматографической методики для проведения фармакокинетических исследований или терапевтического лекарственного мониторинга, а также применения разработанных методик для превентивной диагностики заболеваний у пациентов с похожей на порфирии симптоматикой;

доказана возможность единовременной идентификации 9 порфиринов в 8 точках нарушения биосинтеза гема, за счет оптимизации методики путем использования внутреннего стандарта (2-винил-4-гидроксиметил-дейтеропорфирин IX);

введен методологический подход к селективному определению лекарственных средств, производных порфиринов, или их фармакологически активных метаболитов в присутствии эндогенных порфиринов, что позволяет изучать фармакокинетику, а также проводить терапевтический лекарственный мониторинг;

введены методические рекомендации относительно лекарственной терапии порфирий.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Доказана эффективность применения разработанных методик с целью определения биохимической составляющей порфирий при диагностике их типов;

применительно к проблематике диссертации результативно использован современный физико-химический метод анализа: ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектором;

изложена система практических рекомендаций по фармакотерапии пациентов с подозрениями на порфирии, исключая порфириногенные лекарственные средства;

раскрыта возможность применения метода ВЭЖХ в исследовании фармакокинетики и проведении терапевтического мониторинга лекарственных средств порфириновой природы;

изучены данные, которые подтверждают перспективность темы по дальнейшему исследованию диагностики порфирий с помощью расширения числа аналитов в различных биообъектах пациента;

проведена модернизация условий извлечения порфиринов из мочи и плазмы крови пациентов, хроматографического разделения и детектирования с целью их количественного определения методом ВЭЖХ-УФ.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены методики качественного и количественного определения порфиринов методом ВЭЖХ-УФ в учебный процесс кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института Фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин «токсикологическая химия» и «медицинская химия» по направлениям подготовок (специальностей) 33.05.01 Фармация (Акт № 000196 от 08.02.2023); в рабочий процесс Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачёва (Акт № б/н от 22.03.23); в рабочий процесс Института иммунологии в Лаборатории фармакологии и клинической разработки № 51 (Акт № 20/07-23 от 20.07.23);

определено, что разработанные методики качественного и количественного определения обладают диагностической специфичностью равной 79% и чувствительностью – 100% при 95% доверительном интервале;

созданы обновленные нормы содержания порфиринов в моче и плазме крови пациентов;

представлена способность методики селективно разделять протопорфирин IX (активный метаболит препарата Аласенс®); мезопорфирин IX (компонент лекарственного средства станнсопорфин) от эндогенных и сопутствующих соединений;

представлены валидационные характеристики разработанных методик, отвечающие общепринятым параметрам и критериям отечественных и международных рекомендаций по валидации биоаналитических методик;

другие научные достижения, свидетельствующие о научной новизне и значимости полученных результатов: результаты диссертационного исследования были неоднократно представлены и обсуждены на российских и международных научных конференциях.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены с использованием современных инструментальных методов анализа (ВЭЖХ-УФ) на проверенном оборудовании (Хроматограф Waters Acquity UPLC H-CLASS со следующими модулями: диодно-матричным детектором ACQ-PDA eλ, термостатом ACQ-СМ, автосамплером ACQ-FTN и насосным блоком ACQ-QSM); поверенных средствах малой механизации (автоматические пипетки, центрифуги), что позволяет получить результаты, отвечающие требованиям Руководства ЕМЕА/СНМР/ЕWР/192217/2009 и рекомендациями FDA Bioanalytical Method Validation (2013); обработка хроматограмм проводилась при помощи поставляемого ПО к прибору: Empower версии 3.0.;

теория построена на глубоком анализе доступных литературных источников (127 источников, включающие 18 на русском языке и 109 на иностранных языках), выявлении недостатков и достоинств ранее предложенных методик; возможности применения разработанных методик для качественного и количественного определения порфиринов;

идея базируется на выборе метода, исходя из физико-химических свойств порфиринов для создания точной, чувствительной, селективной и быстрой методики качественного и количественного обнаружения порфиринов в биоматериале пациентов с целью изучения фармакокинетики лекарственных средств на основе порфиринов, терапевтического лекарственного мониторинга и диагностики порфирий (в рамках персонализированной медицины);

использованы программное обеспечение Origin 7.0, Microsoft Excel, Medstatistic для математической и статистической обработки полученных результатов исследования. Диагностическая чувствительность и специфичность были рассчитаны с применением программного обеспечения MedCalc;

использованы современные методы инструментального анализа соединений; выявлена возможность единовременной идентификации 9 порфиринов, как лекарственных средств (фармакологически активных метаболитов), так и маркеров порфирий, за счет оптимизации методики с использованием внутреннего стандарта (2-винил-4-гидроксиметил-дейтеропорфирин IX).

Личный вклад соискателя состоит в:

изучении и критическом обобщении литературных данных по существующим методикам определения порфиринов, по их физическому строению и фармакологическому применению;

разработке и валидации методик в различных биологических жидкостях (моче и плазме крови) по параметрам: селективность, линейность, прецизионность, правильность, нижний предел количественного определения,

влияние биологической матрицы, предел обнаружения, аналитическая область методики и устойчивость;

проведении статистической обработки всех полученных результатов;

разработке обновленных норм содержания порфиринов в исследуемых биожидкостях условно здоровых пациентов;

оценке диагностической ценности метода, а также *обосновании* применения разработанных методик для проведения терапевтического лекарственного мониторинга и фармакокинетики препаратов, содержащих порфирины;

разработке рекомендаций относительно лекарственной терапии группы заболеваний, называемых порфирии.

Диссертация и автореферат подготовлены автором лично.

Вклад автора является основополагающим на всех этапах исследования: от информационного поиска до проведения исследований и представления полученных результатов в публикациях, докладах, внедрения в учебную и рабочую деятельность. Автору принадлежит ведущая роль в выполнении экспериментальной части, сборе, обработке и обобщении полученных результатов.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и полностью соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

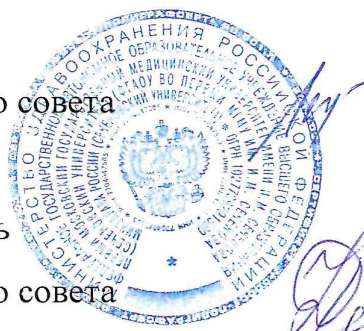
В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было, членами диссертационного совета был задан ряд вопросов уточняющего характера, на которые соискатель Кильдюшкин Даниил Андреевич дал исчерпывающие ответы.

На заседании 20 марта 2024 года по результатам защиты диссертационный совет принял решение: за решение актуальной научно-практической задачи по разработке, оптимизации и применении методик качественного и количественного определения порфиринов в различных биожидкостях организма, что имеет существенное значение для отечественной фармацевтической науки, присудить Кильдюшкину Даниилу Андреевичу ученую степень кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, присутствовавших на заседании, из них 11 докторов наук по специальностям рассматриваемой диссертации (8 человек по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) и 3 человека по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки)), из 24 человек, входящих в состав совета (3 доктора наук дополнительно введены в состав совета для разовой защиты), проголосовали: «за» - 20, «против» - нет, «недействительных бюллетеней» - нет.

Председатель

диссертационного совета



Краснюк Иван Иванович

Ученый секретарь

диссертационного совета

Демина Наталья Борисовна

21 марта 2024 г.