

## УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной и международной  
деятельности ФГАОУ ВО Первый МГМУ  
им. И.М. Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет)  
кандидат медицинских наук, доцент



Д.В. Бутнару

27 сентября 2023 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### **ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)**

на основании решения заседания 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).

Диссертация «Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук выполнена на базе научно-исследовательской лаборатории 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) и лаборатории прикладной и фундаментальной фармакологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской

гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Кильдюшкин Даниил Андреевич, 1997 года рождения, гражданство Российской Федерации, окончил ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в 2018 году по специальности «33.05.01 Фармация».

В 2020 году зачислен в число аспирантов 1-ого курса на очную форму обучения по основной профессиональной образовательной программе высшего образования программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по специальности 14.04.02. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Отчислен из аспирантуры в 2023 году в связи с окончанием обучения. В настоящее время не работает.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов №1604/Ао от 26 января 2023 года выдана в ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

#### **Научные руководители:**

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

Литвин Евгений Александрович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории прикладной и фундаментальной фармакологии, ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России.

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями», представленного на соискание ученой степени кандидата

фармацевтических наук по специальностям 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия; 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология, принято следующее заключение:

#### **Оценка выполненной соискателем работы**

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 по специальностям 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология; 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия представляет собой законченное, самостоятельное исследование, полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена к защите.

#### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Порфирии – группа орфанных метаболических заболеваний, возникающих в результате нарушения биосинтеза гема. Общей характеристикой данных патологических состояний является накопление порфиринов и их предшественников преимущественно в тканях, наиболее активных в биосинтезе гема, – печени и костном мозге. По качественному и количественному составу предшественников гема можно определить тип заболевания и, как следствие, правильно подобрать лечение. Большая часть порфирий имеет наследственный характер передачи.

При исследовании и лечении данной патологии возникают трудности, причинами которых являются низкая диагностируемость и латентность протекания. Решением этих проблем является создание и дальнейшее использование универсальных и чувствительных методов обнаружения маркёров порфирии в биоматериале пациентов. Немаловажной является способность такого метода к предотвращению провоцирования спорадических порфирий. Они возникают в ответ на применение лекарственных препаратов,

подвергающихся метаболизму системой цитохрома Р-450 (СУР): НПВП, барбитураты, некоторых антибиотики, сульфаниламиды, и др.

Порфирины – водорастворимые соединения, благодаря чему их возможно разделять при помощи хроматографии. Для их химического строения (тетрапиррольные макроциклы) характерно наличие полосы Core ( $\approx 400$  нМ), что предполагает использование различных методов спектроскопии. Комбинирование высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием оптимально подходит для определения таких маркёров в пробах. Разработка подходов для выявления порфирий с использованием метода обращённо-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием обеспечит исключительную гибкость и доступность по сравнению с другими существующими методами. Данный метод удобен простотой пробподготовки образца и проведения самого анализа.

#### **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Автор принимал непосредственное участие на всех этапах исследования: от сбора информации до проведения научных экспериментов. Полученные результаты автор представил в публикациях и докладах; внедрил в учебную и рабочую деятельность.

Автору принадлежит ведущая роль в выполнении экспериментальной части, сборе, обработке и обобщении полученных результатов. Лично автором проведены валидации методов в различных биологических жидкостях (моче и плазме крови), проведён анализ полученных образцов потенциально здоровых добровольцев методом ВЭЖХ-УФ, рассчитана диагностическая ценность метода, а также обосновано применение методики определения сразу в обоих биоматериалах, представлены рекомендации относительно лекарственной терапии данной группы заболеваний.

#### **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Точность и достоверность полученных первичных данных в ходе проведения настоящего исследования обеспечивается применением

современных методов анализа, что подтверждается в ходе валидации разработанных методик. Оборудование, применяемое в ходе настоящего исследования, имело действующие свидетельства о поверке и регистрации в Реестре средств измерения, что также дает возможность сделать заключение о достоверности результатов исследования.

### **Научная новизна результатов проведенных исследований**

Предложена высокоселективная методика качественного и количественного определения порфиринов и их предшественников в моче и плазме крови методом ВЭЖХ-УФ. Оптимизированный метод позволяет определить одновременно 9 маркёров в 8 точках нарушения биосинтеза гема. Разработанная методика отличается от других методов диагностирования порфиринов применением внутреннего стандарта, который не мешает при определении; возможностью определения большего количества изомеров различных типов порфиринов, что обеспечивает вариативность при определении патологии. Проведена валидация методик качественного и количественного определения биомаркёров порфирий в плазме крови и моче человека методом ВЭЖХ-УФ по основным требованиям, подпадающим под критерии отечественных и международных рекомендаций по валидации биоаналитических методик.

### **Практическая значимость проведенных исследований**

Практическая ценность исследования заключается в разработке универсального и простого метода определения порфиринов и их предшественников, применимого к различным биологическим жидкостям человека. Разработанный метод позволяет определять одновременно 9 маркёров в 8 точках нарушения биосинтеза гема. Он также отличается от других методов диагностирования порфиринов применением внутреннего стандарта, который не мешает при определении, возможностью определения большего количества изомеров различных типов порфиринов, что обеспечивает вариативность при определении патологии. Это позволяет целостнее увидеть биохимическую составляющую заболевания, чтобы точнее диагностировать

тип порфирии. Использование разработанного метода в межбольничных диагностических лабораториях позволит оперативно и достоверно выявлять пациентов с порфириями, что поможет назначить персонализированную фармакотерапию как порфирий, так и сопутствующих заболеваний у таких пациентов. Данный метод пригоден в качестве инструмента персонализированной медицины перед назначением лекарственной терапии, не провоцирующей развитие спорадических типов порфирий.

### **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

Возможность применения разработанного метода после прямого направления на анализ при подозрении диагноза порфирии. Использование метода в качестве дополнительной диагностики при подозрении заболеваний, у которых клинические проявления схожи с симптомами порфирий.

Целесообразно использовать разработанный метод для превентивной диагностики пациентов на порфирины перед назначением лекарственных препаратов, способных провоцировать порфирии.

### **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Кильдюшкина Даниила Андреевича на тему «Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями» внедрены 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 дисциплины «специальная фармацевтическая химия», читаемая студентам по направлениям подготовок (специальностей) 33.05.01 Фармация (Акт № 196 от 08.02.2023); внедрены в рабочий процесс Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачёва (Акт № б/н от 22.03.23); внедрены в рабочий процесс Лаборатории фармакологии и клинического разработки № 51, Федеральное государственное бюджетное

учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии»  
Федерального медико-биологического агентства (Акт № 20/07-23 от 20.07.23).

### **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертационная работа Кильдюшкина Даниила Андреевича на тему: «Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями» соответствует научным специальностям 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия по пунктам 3 и 4; 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология по пунктам 12 и 20.

### **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

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

Оригинальные научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Университета/ВАК при Минобрнауки России:

1) **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.

Оригинальные научные статьи в научных изданиях, включенных в международные, индексируемые базы данных Scopus:

1) 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, Т.В. Корочкина, В.И. Гегечкори, А.Е. Петухов // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2023. – Т.57. – №7. – С. 55-60. [Scopus].

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

Иные публикации по теме диссертационного исследования:

1) **Кильдюшкин, Д.А.** Порфирии эритропоэтического происхождения: особенности и методы терапии заболеваний / Д.А. Кильдюшкин, Е.А. Литвин, А.Е. Петухов // **Лечение и Профилактика.** – 2022. – Т.12. – №2. – С. 57-60. [Перечень ВАК при Минобрнауки России].

2) **Кильдюшкин, Д.А.** Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями / Д.А. Кильдюшкин, Е.А. Литвин // **Научное знание современности.** – 2021. – Т.12. – №60. – С. 23-24.

Материалы конференций по теме диссертационного исследования

1) **Kildyushkin, D.A.** Determinations of Porphyrins in Biological Fluids of Patients by HPLC for Diagnostic Purposes / Д.А. Kildyushkin, Е.А. Litvin, А.Е. Petuckov // **Updates International Pharmacy Acta Proceedings of Pharmacy Updates 2022.** – 2022. – С. 105.

2) **Кильдюшкин, Д.А.** Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями / Д.А. Кильдюшкин, А.Е. Петухов, Е.А. Литвин // Сборник тезисов VIII Международного молодежного научного медицинского форума «Белые цветы», Казань, Россия, 2021. – С. 1104-1105.

3) **Кильдюшкин, Д.А.** Определение порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом ВЭЖХ с диагностическими целями / Д.А. Кильдюшкин, А.Е. Петухов, Е.А. Литвин // **Материалы I Международной научно-практической конференции, посвященной памяти профессора**



П. В. Кузнецова «Хроматография в химии, медицине и биологии: актуальные вопросы, достижения и инновации», Кемерово, Россия, 2021. – С. 115-119.

**Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:**

- 1) Конференция молодых ученых Сеченовского университета и ВГМУ «Фармация. Вызовы времени» (Витебск, ноябрь 2021 г.);
- 2) 5-й Ежегодный конгресс «IPharmS» (Тегеран, февраль 2022);
- 3) Международная научно-практическая конференция «Педиатрия и фармация XXI века: проблемы и их решения» (Самарканд, ноябрь 2022);

### **Заключение**

Диссертация соответствует требованиям п. 21 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 06.06.2022 г. № 0692/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на автора(ов).

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Кильдюшкина Даниила Андреевича «Создание подходов определения порфиринов в биологических жидкостях пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диагностическими целями» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология; 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заключение принято на заседании 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)

Присутствовало на заседании 21 чел.

Результаты голосования: «за» – 21 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 12 от 3 июля 2023 г.

**Председательствующий на заседании**

Доктор биологических наук, доцент, профессор  
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)



М.В.Белова