

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГУП «ВНИИМ
им. Д.И. Менделеева»
Хапов Н.И.
«26» августа 2015 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу ПРАСОЛОВА Ильи Сергеевича по теме: «ОБНАРУЖЕНИЕ СТЕРОИДОВ ЭКЗОГЕННОЙ ПРИРОДЫ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЧИ ЧЕЛОВЕКА. МЕТОДОМ ИЗОТОПНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности: 02.00.02 — Аналитическая химия.

Актуальность работы

К настоящему времени все больший интерес проявляется к измерению изотопных отношений углерода в различных веществах и объектах. Для геохимии это уже традиционные измерения с устоявшейся техникой и методическим обеспечением. В последние 10-15 лет это направление активно развивается и в контексте решения задач органического анализа. Так, уже существуют международные стандарты и методики посвященные определению подлинности вин на основе измерения изотопных отношений углерода в углекислом газе, спирте или сахарах. В рамках деятельности Международного Комитета по Количеству Вещества (CCQM) организованы сличения по измерению изотопных отношений углерода в компонентах меда (опять же для решения задач определения подлинности).

Однако в перечисленных выше работах, как правило, речь идет о препаративном выделении органических компонентов с последующим их окислением и измерением изотопных отношений в углекислом газе. В случае биомедицинских исследований, в том числе и при выполнении допингового контроля, появляется необходимость внедрения методов, сочетающих в едином цикле хроматографическое разделение, окисление аналита (или аналитов) с последующей их регистрацией и измерением изотопных

отношений углерода. Таким образом, исследования и разработки новых методических подходов комплексных измерений изотопных отношений углерода для микрокомпонентов в сложных матрицах представляется весьма актуальной задачей. В аспекте выполнения допингового контроля, в частности, касающейся выявления наличия экзогенных стероидов той же самой химической структуры, что и эндогенные, методы изотопной хромато-масс-спектрометрии можно считать практически единственными, позволяющими адекватно решать эту проблему. Таким образом, все вышеизложенное позволяет говорить об **актуальности диссертационной работы Прасолова И.С.**

Представленная на отзыв работа Прасолова И.С. состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, четырех глав с обсуждением результатов, заключения, выводов, списка цитируемой литературы (96 источников). Диссертация написана хорошим литературным языком, оформлена в соответствии с принятыми требованиями, литературный обзор дает представление о состоянии вопроса, связанного с теоретическими и практическими основами метода изотопной масс-спектрометрии, особенностями метаболизма стероидных гормонов и приемами пробоподготовки, используемыми при определении стероидов. В соответствующей главе 2 (экспериментальная часть) достаточно подробно представлены материалы и методы, используемые при выполнении диссертационной работы, позволяющие говорить, что все исследования проводились на высоком техническом и инструментальном уровне. Следует подчеркнуть, что наряду с коммерческими реактивами и препаратами для основных экспериментов в работе были использованы материалы Национального метрологического института Австралии, что позволяет говорить об обеспечении прослеживаемости результатов выполняемых измерений. Диссертантом также выполнен ряд валидационных

экспериментов с использованием известных охарактеризованных методик измерений. Таким образом, **достоверность полученных и представленных в диссертации Прасолова И.С. экспериментальных данных не вызывает сомнений.**

Научная новизна работы. Основной целью диссертационной работы Прасолова И.С. являлось разработка способа обнаружения стероидов экзогенной природы в моче человека методом изотопной хромато-масс-спектрометрии. Важно подчеркнуть, что речь идет не просто об экзогенных стероидах, например, синтетических анаболических стероидах (типа 19-нортестостерон), а о стероидах с той же самой химической структурой, что и у эндогенных стероидов. Автором изучены хроматографические свойства целевых соединений и оптимизированы условия их селективного выделения из мочи методами жидкостно-жидкостной или твердофазной экстракции с последующим фракционированием методами, по сути, полупрепаративной ВЭЖХ. Показано, что для метода ГХ/С/ИМС традиционные методы дериватизации имеют ограничения и оптимальной процедурой получения производных является ацетилирование. Особое внимание при отработке всех процедур автор уделял минимизации эффекта изотопного фракционирования в процессе пробоподготовки.

Разработанные методические подходы позволили выполнить анализ более 900 образцов мочи спортсменов и на этой основе определить референтные интервалы разницы изотопного состава в парах «эндогенный маркер/целевое соединение». Выявлены закономерности биотрансформации 6 прогормональных препаратов и установлены наиболее информативные маркеры свидетельствующие об употреблении этих препаратов (для целей допингового контроля).

Практическая значимость результатов работы

Важнейшим практическим выходом представленной на защиту диссертации является разработка методики достоверного определения наличия экзогенных стероидов в моче на основе метода изотопной хромато-масс-спектрометрии. Указанная методика валидирована и аттестована в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО/МЭК 17025 и внедрена в практику работы ФГУП «Антидопинговый центр». В период проведения Олимпийских и Паралимпийских игр в Сочи методика была использована при проведении допингового контроля спортсменов. Проведенные международные межлабораторные сличительные эксперименты показали удовлетворительную сходимость результатов и подтвердили характеристики методики.

Выполненные разработки могут представлять интерес для предприятий, выполняющих контроль подлинности продукции, в первую очередь предприятий пищевой и винодельческой промышленности. Так же следует отметить перспективу применения разработанных принципов применения изотопной хромато-масс-спектрометрии для исследования механизмов метаболизма не только андрогенных стероидов, но и для таких групп как эстрогены или кортикостероиды.

Представленные в диссертации материалы также могут быть использованы в учебном процессе для включения в соответствующие курсы ВУЗов по современным физико-химическим методам, хроматографии, масс-спектрометрии и т.п.

Вопросы и замечания

- В работе в качестве основного метода измерений изотопных отношений выбран метод изотопной масс-спектрометрии. Однако в настоящее время для измерения изотопных отношений, по крайней мере в диоксиде углерода, все большее применение находят ИК-спектральные

методы. Известные приборы фирмы «Picarro» (США) существенно дешевле изотопных масс-спектрометров. Хотелось бы получить комментарии диссертанта по этому вопросу.

- Все эксперименты в диссертационной работе проведены на андрогенных стероидах или их метаболитах. В соответствии с представленными результатами изотопные отношения для всех исследованных эндогенных стероидов примерно одинаковы. Будут ли они сохраняться и для других групп стероидов?
- Одним из достижений автора является аттестованная и валидированная методика. Однако, ни в диссертации, ни тем более в автореферате не представлены в обобщенном виде ее основные характеристики. Вероятно, следовало хотя бы в приложении привести саму методику или копию сертификата о метрологической аттестации с соответствующими данными по метрологическим характеристикам.
- И, наконец, вопрос скорее философского характера. Возможен ли синтез стероидов, относимых к категории допинговых веществ с изотопным отношением близким к естественному – эндогенному. Т.е. насколько скоро современная фармацевтическая промышленность сможет обойти и это препятствие созданное современными антидопинговыми службами.

Указанные выше замечания существенно не влияют на общее, абсолютно положительное впечатление от представляемой к защите работы, которая является завершенным научным исследованием.

Заключение

В целом, с точки зрения актуальности, научной новизны, практической значимости, объема проведенных исследований работа Прасолова И.С. удовлетворяет требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук. Положения, выносимые на защиту, вполне обоснованы, а выводы, сделанные автором, убедительно

подтверждены экспериментальным материалом. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации, основные результаты которой апробированы в виде сообщений на международных симпозиумах и конференциях и опубликованы в периодической печати (7 работ, в том числе 3 статьи в периодической печати). Диссертационная работа Прасолова И.С. может рассматриваться как квалификационная работа и удовлетворяет критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013г.", а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 — «Аналитическая химия».

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден на заседании секции Ученого совета 25 августа 2015 г. протокол №1.

Руководитель отдела государственных эталонов в области физико-химических измерений ФГУП «ВНИИМ им. Д.И.Менделеева»
доктор технических наук, профессор Л.А.КОНОПЕЛЬКО

Адрес: 190005 Санкт-Петербург, Московский пр., д.19;

E-mail: lkonop@b10.vniim.ru

Тел. : 8(812)-315-11-45

Подпись Л.А.Конопелько "ЗАВЕРЯЮ"

Зам. директора ФГУП

«ВНИИМ им. Д.И.Менделеева»



Кустиков Ю.А.