

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.109.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук по диссертации Л.С. Фотеевой на соискание ученой степени кандидата химических наук

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета № 4 от 13.11.2014 г.

О присуждении *Фотеевой Лидии Сергеевне*, гражданке России, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация ***Капиллярный электрофорез как метод идентификации форм существования, оценки фармакологических свойств и анализа препаратов противоопухолевых комплексов металлов*** по специальности **02.00.02 – аналитическая химия** принята к защите 9 сентября 2014 г., протокол № 3, диссертационным советом Д.002.109.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук, 119991, ГСП-1, Москва, В-334, ул. Косыгина, 19. Приказ о создании совета № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель *Фотеева Лидия Сергеевна*, 1982 года рождения, в 2007 г. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева. С 2007 г. работает младшим научным сотрудником в лаборатории концентрирования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН).

Диссертация выполнена в лаборатории концентрирования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН).

Научный руководитель – доктор химических наук ТИМЕРБАЕВ Андрей Роландович, ведущий научный сотрудник лаборатории концентрирования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

ПИРОГОВ Андрей Владимирович – доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры аналитической химии Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

ШТЫКОВ Сергей Николаевич – доктор химических наук, профессор химического факультета СГУ им. Н.Г. Чернышевского, кафедра аналитической и экологической химии.

дали **положительные отзывы** на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ФГБУН ИБХ РАН), Москва в своем **положительном заключении**, подписанном Назимовым Игорем Владимировичем, кандидатом химических наук, руководителем Группы аналитической химии белка, указала, что диссертационная работа, посвященная развитию капиллярного электрофореза как метода изучения и доклинической разработки противоопухолевых соединений на основе комплексов металлов, является своевременной и актуальной. В работе решен ряд задач по развитию методологии капиллярного электрофореза (КЭ) с целью исследования процессов, сопровождающих введение и метаболизм противоопухолевых комплексов металлов. Полученные соискателем результаты очень важны для дальнейшего развития научных исследований в области аналитической химии и имеют практическую ценность, как в рамках аналитической химии, так и для медицинской химии.

Соискатель имеет **40** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **38**, в том числе **14** статей в рецензируемых научных журналах и изданиях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. M. Matczuk, **L.S. Foteeva**, M. Jarosz, M. Galanski, B.K. Keppler, T. Hirokawa, A.R. Timerbaev, Can neutral analytes be concentrated by transient isotachopheresis in micellar electrokinetic chromatography and how much? // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1345. P. 212-218.
2. A.R. Timerbaev, **L.S. Foteeva**, K. Pawlak, M. Jarosz, Metallo(proteo)mic studies by capillary electrophoresis using separation capillary as a reactor. // Metallomics. 2011. V. 3. No. 8. P. 761-764.
3. **L.S. Foteeva**, D.A. Trofimov, O.V. Kuznetsova, C.R. Kowol, V.B. Arion, B.K. Keppler, A.R. Timerbaev, A quantitative structure-activity approach for lipophilicity estimation of antitumor complexes of different metals using microemulsion electrokinetic chromatography. // J. Pharm. Biomed Anal. 2011. V. 55. No. 3. P. 409-413.
4. **L.S. Foteeva**, Z. Huang, A.R. Timerbaev, T. Hirokawa, Focusing of anionic micelles using sample-induced transient isotachopheresis: Computer simulation and experimental verification in MEKC. // J. Sep. Sci. 2010. V. 33. No. 3. P. 637-642.
5. **Л.С. Фотеева**, А.Р. Тимербаев, Применение капиллярного электрофореза для анализа металлосодержащих лекарственных средств. // Журн. аналит. химии. 2009. Т. 64. № 12. С. 1236-1243.
6. J.K. Abramski, **L.S. Foteeva**, K. Pawlak, A.R. Timerbaev, M. Jarosz, A versatile approach for assaying in vitro metallodrug metabolism using CE hyphenated with ICP-MS. // Analyst. 2009. V.134. No. 10. P. 1999-2002.
7. **L.S. Foteeva**, N.V. Stolyarova, A.R. Timerbaev, B.K. Keppler, Capillary electrophoretic assay for the stability of tris(8-quinolinolato)gallium(III) in tablet formulations. // J. Pharm. Biomed. Anal. 2008. V. 48. No. 1. P. 218-222.

В работах представлены: разработка метода концентрирования нейтральных комплексов металлов непосредственно в разделяющем капилляре путем фокусировки

мицелл в условиях изотахофореза: компьютерное моделирование процесса, экспериментальное подтверждение фокусировки мицелл и концентрирования, определение сконцентрированного комплекса галлия в биологических жидкостях методом мицеллярной электрокинетической хроматографии; изучение реакционной способности комплексов галлия и рутения по отношению к сывороточным белкам с помощью капиллярного электрофореза и гибридного метода капиллярного электрофореза в сочетании с индуктивно связанной плазмой с масс-спектрометрическим детектированием (КЭ-ИСП-МС), разработка условий метода КЭ-ИСП-МС для изучения биохимических реакций, идентификация белковых форм металлов в модельных системах и в реальных биожидкостях (кишечный сок, сыворотка крови); изучение реакций биотрансформаций комплексов металлов с использованием капилляра как реактора химической реакции – разработка и использование метода аффинного капиллярного электрофореза для изучения устойчивости белковых аддуктов противоопухолевых комплексов галлия и рутения по отношению к биовосстановителям крови; обзор литературных данных по применению капиллярного электрофореза для анализа металлосодержащих лекарственных средств; применение мицеллярной электрокинетической хроматографии для определения противоопухолевого комплекса галлия в готовой лекарственной форме (таблетке); способ определения липофильности для комплексов металлов методом микроэмульсионной электрокинетической хроматографии и др.

На диссертацию и автореферат поступило 6 отзывов. Все отзывы положительные. Краткий обзор отзывов с отражением критических замечаний.

Положительных отзывов без замечаний – 4.

1. Заведующий кафедрой аналитической химии Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева; доктор химических наук, профессор **Кузнецов В. В.**,
2. Старший научный сотрудник Лаборатории биоэлементоорганической химии, кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, кандидат химических наук **Назаров А.А.**
3. Руководитель отдела разработок, обучения и сервиса Группы компаний аналитического приборостроения Люмэкс (ООО «Люмэкс-маркетинг»), кандидат химических наук **Комарова Н.В.**
4. Заведующий кафедрой аналитической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Кубанского государственного университета, г. Краснодар, доктор химических наук, профессор **Темердашев З. А.**

Положительных отзывов с замечаниями - 2

1. Заведующий лабораторией генетических и иммунных методов анализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института аналитического приборостроения Российской академии наук, доктор химических наук, профессор **Курочкин В.Е.**

- На рис. 4 продемонстрирована электрофореграмма белковых аддуктов галлия, образующихся в сыворотке крови на которой присутствует только два пика без обозначения их природы и отсутствуют как минимум еще три пика других белков (стандартной при измерении сыворотки крови методом капиллярного электрофореза является детекция не менее пяти белков).
- На рисунке 5 отсутствует обозначение оси ординат, ось ординат рис. 3 имеет ошибочное обозначение «поглощение», часть рисунков имеет обозначение осей на русском и английском.
- Выводы о механизме внутриклеточных превращений комплекса галлия были бы убедительными, если бы исследовались реальные пробы (а не те, когда комплекс вводится в сыворотку крови).

2. Доцент кафедры аналитической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, кандидат химических наук **Шаповалова Е.Н.** и старший преподаватель кафедры аналитической химии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова к.х.н. **Прохорова А.Ф.**

- В автореферате упоминается о методологии анализа. Однако в автореферате не представлен раздел, который резюмировал бы основные стадии проведения анализа методом КЭ;
- На стр.4 указано «Развит комбинированный метод, сочетающий КЭ и ИСП-МС, для изучения взаимодействия комплекса рутения (III) с белками крови». Вместе с тем известны более ранние работы, посвященные сочетанию КЭ и ИСП-МС для исследования взаимодействия тяжелых металлов и их комплексов с белками.
- В части, посвященной развитию капиллярного зонного электрофореза, упоминается об использовании высокосолевых фоновых электролитов. При этом не указывается температура, при которой проводилось инкубация и разделение.
- Не вполне ясна роль растворителя (в частности, пропан-2-ола) в фоновом электролите, использованном для оценки липофильности комплексов галлия.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными и практическими достижениями в области методов химического анализа, таких как химические, физико-химические, капиллярный электрофорез, хроматография, масс-спектрометрия, ядерно-физические методы, аналитическая химия белков, а также биохимия и химия лекарственных препаратов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- усовершенствована методология капиллярного электрофореза – в варианте сочетания с масс-спектрометрией с индуктивной связанной плазмой – для вещественного анализа комплексов металлов, обладающих противоопухолевым действием, что позволило проследить их превращения при взаимодействии с белками, в том числе в сыворотке крови;
- разработан оригинальный метод концентрирования комплексов металлов непосредственно в разделяющем капилляре, пригодный для анализа биологических жидкостей методом мицеллярной электрокинетической хроматографии;
- доказана перспективность двух комплексных соединений – рутения(III) и галлия – в качестве химиотерапевтических средств и даны рекомендации по их клинической разработке.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- расширена область применения метода капиллярного электрофореза и обоснованы его преимущества при анализе форм металлов, существующих в биологических объектах;
- раскрыт механизм биопревращений комплексов металлов противоопухолевого действия в сыворотке крови, идентифицированы формы металлов, отвечающие за транспорт соответствующих химиотерапевтических средств к раковой клетке, и сформулированы требования по разработке препаратов медицинского назначения на основе комплексов металлов;
- обоснована возможность концентрирования нейтральных соединений в условиях изотахофоретической фокусировки.

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

- создан универсальный подход – на основе метода капиллярного электрофореза – для оценки необходимых фармакологических свойств химиотерапевтических комплексов металлов, включающий определение их устойчивости в физиологической среде, скорости и степени связывания с сывороточными белками и относительной гидрофобности;
- разработан способ оценки срока годности твердых лекарственных форм (на примере таблеток с 8-оксихинолином галлия) при помощи мицеллярной электрокинетической хроматографии, который может быть рекомендован для контроля качества других металлосодержащих химиотерапевтических средств;
- представлены методические рекомендации по скринингу и выбору наиболее перспективных комплексных соединений для использования в противоопухолевой химиотерапии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- экспериментальные результаты получены на современном сертифицированном оборудовании;
- воспроизводимость результатов исследований и анализов, включающих различные варианты пробоподготовки, лежит в интервале от 2,5 до 4 %;
- для доказательства правильности полученных результатов проведено их сопоставление с данными, полученными с помощью независимых методов, а также литературными данными;
- установлено совпадение закономерностей по исследованию метаболизма и механизма доставки противоопухолевых комплексов галлия и рутения(III) к опухоли, полученных в диссертации, с данными, опубликованными в зарубежных источниках.

Личный вклад соискателя состоит в:

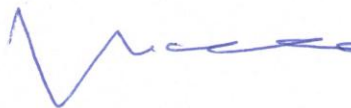
- общей постановке задач и в выборе методологии их решения;
- разработке принципов и методик исследования;
- проведении всех экспериментов по капиллярному электрофорезу, а также участии в экспериментах по применению газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием;
- в анализе, математической обработке и интерпретации полученных данных и их обсуждении;
- подготовке основных публикаций по результатам выполненной работы.

Дальнейшее использование разработок Фотеевой Л.С. **рекомендуется** в профильных заведениях, занимающихся поиском и разработкой новых лекарственных препаратов. Методологию, развитую соискателем в диссертации, и основные результаты ее исследований целесообразно использовать в аналитических лабораториях, научно исследовательских институтах и в учебных учреждениях высшего профессионального образования, подготавливающих специалистов по профилю специальностей аналитическая химия и медицинская химия.

Диссертационная работа Фотеевой Л.С. ***Капиллярный электрофорез как метод идентификации форм существования, оценки фармакологических свойств и анализа препаратов противоопухолевых комплексов металлов*** на соискание ученой степени кандидата химических наук представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, утвержденным *Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.* Работа содержит решение важной задачи, состоящей в расширении аналитических возможностей метода капиллярного электрофореза при исследовании комплексов металлов и анализе их лекарственных форм с целью более эффективной разработки в качестве противоопухолевых химиотерапевтических средств. Содержание работы соответствует специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **22** человек, из них **15** докторов наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия, в том числе **7** докторов, обеспечивающих химические науки, участвовавших в заседании, из **30** человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – **22**, против – **нет**, недействительных бюллетеней – **нет**.

Председатель диссертационного совета,
академик РАН, доктор химических наук



Мясоедов Б.Ф.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук



Захарченко Е.А.

13.11.2014 г.