

## ОТЗЫВ

официального оппонента заведующего лабораторией судебно-химических и химико-токсикологических исследований федерального государственного бюджетного учреждения «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, Калёкина Романа Анатольевича по диссертации Карпова Александра Вячеславовича на тему: «Разработка методических подходов метрологической оценки отдельных этапов анализа в контроле качества лекарственных средств и судебно-химической экспертизе», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности

### 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

#### 1. Актуальность выполненного исследования

Количественный химический анализ с метрологической точки зрения представляет собой сложное косвенное измерение, для выполнения которого применяется, как правило, несколько измерительных приборов и вспомогательных устройств, осложненное к тому же непосредственным вмешательством человека в процесс измерения, которое часто играет определяющую роль.

Исследование метрологических характеристик аналитической методики направлено на определение точности путем оценки систематических и случайных влияний на единичные результаты. Традиционно в химической метрологии рассматривают две составляющие точности: правильность и прецизионность. Все более распространенным становится представление точности через единую числовую характеристику – «неопределенность измерения».

Поиск потенциального источника погрешностей заставляет химика-аналитика оценивать каждый отдельный этап анализа по количеству вносимых ошибок, а в дальнейшем выполнять поиск методов их снижения – параметров оптимизации.

В контроле качества лекарственных средств и судебно-химической экспертизе пробоподготовка считается наиболее сложным этапом аналитического исследования, поскольку она влияет на всю аналитическую методику. В большинстве случаев пробоподготовка представляет собой сложную процедуру, состоящую из нескольких этапов. Она является потенциальным источником ошибок и в итоге определяет либо удовлетворительный результат, либо ставит его под сомнение.

Одним из вариантов нивелирования погрешностей аналитической методики является планирование эксперимента – это оптимальное управление экспериментом в условиях неполной информации о механизме процесса. В настоящее время в исследованиях широко применяются методы планирования эксперимента, которые позволяют с минимальными затратами материальных, временных и человеческих ресурсов получить всю информацию, необходимую

14	№	1230102-23-36
листов	12	05 20 23
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации тел./факс +7(846) 374-10-03		



для построения адекватных математических моделей исследуемых объектов и процессов.

Большое значение для автоматизации аналитического процесса и дальнейшего его управления имеет установление связи между всеми этапами анализа, а также между аналитиком и техническим устройством, которое обеспечивается с помощью компьютерных программ.

Для задач химической метрологии в РФ доступны ряд программных продуктов – лабораторных систем, например, LabWare LIMS, 1C: LIMS Управление лабораторией предприятия, Lab5725X. Данные системы поддерживают все современные стандарты и протоколы, компании-разработчики предоставляют библиотеки модулей, расширяющих как базовую функциональность, так и специальную, предназначенную для определенной отрасли: контроля качества лекарственных средств, биоаналитических исследований, экотоксикологического контроля.

Очевидными недостатками данных продуктов являются финансовая и функциональная привязка потребителя к компании-разработчику – данные системы являются платными, ориентированы на крупнопоточные производственные лаборатории, требуют гибкой настройки под текущие задачи лаборатории, а также избыточная функциональность для контроля качества лекарственных средств, судебно-химической экспертизы.

Данные вопросы являются важными научными задачами специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

## **2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность**

Автором диссертации даны сравнительные оценки метрологических характеристик при реализации различных методических подходов к определению и расчету содержания анализируемого вещества для методик количественного анализа с применением спектрофотометрии, газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием и тонкослойной хроматографии с компьютерной денситометрией.

Разработан алгоритм оценки систематической ошибки аналитических методик при количественном определении целевых веществ методом УФ-спектрофотометрии в лекарственных препаратах, а также в биологических жидкостях методами газовой хроматографии с масс-селективным детектированием, тонкослойной хроматографии с компьютерной денситометрией.

Показано, что ошибки на этапе пробоподготовки для аналитических методик количественного определения лекарственных препаратов и аналитов в биологических жидкостях методами твердо-жидкостной и жидкость-жидкостной экстракции вносят значительный вклад в общую погрешность методики.

Впервые обоснован алгоритм теоретической оценки погрешности пробоподготовки в контроле качества лекарственных препаратов и биологических жидкостей в судебно-химической экспертизе. Дана

сравнительная оценка метрологических характеристик при реализации различных методических подходов к определению и расчету содержания анализируемого вещества для методик количественного анализа с применением УФ-спектрофотометрии, газовой хроматографии с масс-селективным детектированием, тонкослойной хроматографии с компьютерной денситометрией.

Получены математические модели (множественной линейной регрессии) влияния внешних факторов на степень извлечения (экстракции) из пробы целевого вещества при пробоподготовке методами твердо-жидкостной и жидкость-жидкостной экстракции.

Предложены схемы математического планирования эксперимента, а также пути оптимизации методик количественного определения целевого вещества на примерах анализа лекарственных препаратов, содержащих диосмин, а также биологических жидкостей при судебно-химическом исследовании на верапамил.

Разработана компьютерная программа для ЭВМ «ChemPlan 1.0», которая позволяет формировать матрицу эксперимента в зависимости от количества учитываемых факторов с их трехуровневой градацией (низкий, средний, высокий).

Степень достоверности научных положений определяется представительностью и достоверностью первичных аналитических данных; корректностью сбора информации; использованием современных физико-химических методов анализа и статистических методов исследования; репрезентативностью выборки; апробацией и подтвержденным внедрением результатов в практику. Обработки результатов исследований проведена методом статистического анализа данных. Сформулированные в диссертации выводы аргументированы и логически вытекают из результатов анализа и четко аргументированы.

### **3. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе, как и их достоверность, обусловлена использованием в работе современных адекватных методов исследования, существенным объемом экспериментальных данных, их непротиворечивостью с теоретическими положениями, тщательно выполненной статистической оценкой экспериментальных данных с применением программного обеспечения Statistica 10.0. Следует отметить, что диссертантом проведен большой объем экспериментальной работы.

### **4. Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования**

Теоретическая значимость результатов исследования заключается в формировании у аналитиков: компетенций в сфере математического



планирования эксперимента для различных схем многофакторного анализа, а также методических принципов оценки погрешности отдельных этапов анализа в контроле качества лекарственных препаратов и в судебно-химической экспертизе.

Сформулированные в работе методические принципы являются практическими рекомендациями по разработке методик количественного анализа объектов исследования в контроле качества лекарственных средств и судебно-химической экспертизе.

При использовании компьютерной программы для ЭВМ «ChemPlan 1.0» расчетные процедуры планирования и оптимизации автоматизируются, что в дальнейшем в рутинной аналитической практике позволит упростить и ускорить внедрение и совершенствование аналитических методик.

По результатам исследования издано информационное письмо «Планирование процедуры жидкость-жидкостной экстракции в судебно-химической экспертизе», утвержденное ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России и рекомендованное к применению в практике судебно-химической экспертизы.

Алгоритм с применением математического планирования этапа пробоподготовки при помощи программы «ChemPlan 1.0» апробирован и внедрен в практическую деятельность ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» и ООО «Лекарь», филиала № 3 ФГКУ «111 Главного государственного центра судебно-медицинских и криминалистических экспертиз Минобороны России», учебный процесс в Пермской фармацевтической академии, Курском государственном медицинском университете, Башкирском государственном медицинском университете.

Карповым А.В. разработана компьютерная программа для ЭВМ «ChemPlan 1.0», которая позволяет формировать матрицу эксперимента в зависимости от количества учитываемых факторов с их трехуровневой градацией (низкий, средний, высокий).

## **5. Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, общих выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 124 отечественных и 60 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 54 таблицами и 27 рисунками.

Во введении обоснована актуальность темы, определены цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, дана информация по структуре работы и ее соответствии паспорту специальности, приведены сведения о публикациях и апробации работы.

В главе 1 представлен обзор литературы по основным метрологическим аспектам количественного химического анализа в контроле качества лекарственных средств и судебно-химической экспертизе. В качестве одного из



моментов отмечено использование программного обеспечения для химической метрологии.

Глава 2 включает в себя описание объектов и методов, используемых при проведении экспериментальных исследований.

В главе 3 определены метрологические характеристики методик количественного определения диосмина в лекарственных препаратах методом УФ-спектрофотометрии и верапамила в крови, методами, применяемыми в судебно-химической экспертизе.

В главе 4 представлен статистический анализ метрологических характеристик методик количественного определения в контроле качества лекарственных средств и судебно-химической экспертизе (на примерах определения диосмина в лекарственных препаратах и верапамила в крови).

Глава 5 посвящена обоснованию алгоритмов оценки погрешности и планирования пробоподготовки для методик количественного определения в контроле качества лекарственных средств и судебно-химической экспертизе.

Выводы по диссертационному исследованию подкреплены убедительными и обоснованными результатами собственных исследований.

В приложении диссертации представлены копии свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ, акты внедрения и другие документы, подтверждающие практическую значимость проведенного исследования.

По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 4 работы в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, из них 1 статья опубликована в журнале, индексируемом в международной базе Scopus. Получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ, 1 информационное письмо, утвержденное Российским центром судебно-медицинской экспертизы.

Алгоритм с применением математического планирования этапа пробоподготовки при помощи программы «ChemPlan 1.0» апробирован и внедрен в практическую деятельность ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» и ООО «Лекарь» (акты внедрения от 27.09.2022 г.), филиала № 3 ФГКУ «111 Главного государственного центра судебно-медицинских и криминалистических экспертиз Минобороны России» (акт внедрения от 21.10.2022 г.), учебный процесс в Пермской фармацевтической академии (акт внедрения от 01.12.2022 г.), Курском государственном медицинском университете (акт внедрения от 08.12.2022 г.), Башкирском государственном медицинском университете (акт внедрения от 07.12.2022 г.).

Несмотря на общую положительную оценку по диссертационной работе Карпова А.В. возникли некоторые вопросы и замечания.

Вопросы:

1. На сколько в этом направлении возможно использование искусственного интеллекта и нейронных сетей в решении данных задач в настоящее время и на сколько, учитывалась их роль в ближайшем будущем?

2. В диссертационной работе приводятся исследования при количественном определении с разной концентрацией, например, на стр. 33 градуировочная зависимость изучалась для диосмина в диапазоне 0,0002-0,003% и верапамила 500-5000 нг/мл и далее еще несколько раз по тексту. Как Вами выбирался диапазон, что учитывалось при его выборе и коррелируется ли он с задачами практических специалистов?
3. Вы исследуете извлечение из крови при определении концентрации изучаемых веществ методом УФ-спектрофотометрии. Учитывалось ли Вами влияние эндогенных веществ из биологических объектов на результаты исследования?
4. На стр.71 приведены средние значения концентрации верапамила в крови при анализе методами ГХ-МС и ТСХ. Почему погрешность использования разными методами значительно отличается?
5. В связи с чем среднее полученное значение концентрации верапамила отличается и почему больше при исследовании методом ТСХ?
6. На стр.104 приведены основные факторы, влияющие на процесс жидкость-жидкостной экстракции, однако отсутствует фактор кратности экстрагирования, который может существенно оказать влияние на степень экстракции исследуемого вещества. Почему он Вами не учитывался?
7. В табл.12 Приложения «Прогностическая оценка погрешности...» относительная погрешность отборе аликвоты 1 мл (пипетка) составляет 1%, а для отмериваний мерными колбами на 250 и 500 мл составляет 0,12% и 0,10% соответственно. Согласно ГОСТу 1770-74 для мерных колб объемом 250 и 500 мл минимальная погрешность составляет 1,25 и 2,5 мл соответственно, что является 0,5%. Как удалось достичь снижения относительной ошибки на этапе отмеривания при анализе?

Замечания:

1. В списке литературы №№ 14 и 15 присутствуют источники по валидации аналитических методик, однако отсутствует научный источник «Барсегян С.С., Саломатин Е.М., Плетенева Т.В., Максимова Т.В., Долинкин А.О. Методические рекомендации по валидации аналитических методик, используемых в судебно-химическом и химико-токсикологическом анализе биологического материала. Методические рекомендации. Москва: РЦСМЭ; 2014». Поскольку в настоящее время данная литература является основополагающей для методик судебно-химического и химико-токсикологического анализа, то необходимо было на него также ориентироваться при выполнении диссертационной работы.

Однако, указанные замечания и вопросы не носят принципиального характера и не снижают ценности диссертационной работы. Их следует расценивать, скорее, в качестве дискуссионных.

## **6. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации**



Содержание автореферата Карпова Александра Вячеславовича полностью соответствует содержанию диссертации и отражает ее основные положения и выводы.

### **7. Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»**

Таким образом, диссертационная работа Карпова Александра Вячеславовича на тему: «Разработка методических подходов метрологической оценки отдельных этапов анализа в контроле качества лекарственных средств и судебно-химической экспертизе», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармации, в области фармацевтической химии, по разработке методических подходов к метрологической оценке отдельных этапов анализа в контроле качества лекарственных средств и судебно-химической экспертизе.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Карпова Александра Вячеславовича соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

#### **Официальный оппонент:**

Заведующий лабораторией судебно-химических  
и химико-токсикологических исследований  
федерального государственного бюджетного учреждения  
«Российский центр судебно-медицинской экспертизы»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
125284, г. Москва, ул. Поликарпова, д.12/13,  
тел. (495)945-21-69, (495)945-00-97  
e-mail: himija@rc-sme.ru  
доктор фармацевтических наук  
14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия)



 **Калёкин Роман Анатольевич**

Подпись Калёкина Романа Анатольевича заверяю –  
начальник ОК ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России

« 05 » 05 2023 г.

 Кухоль Татьяна Николаевна

*С отзовом ознакомлен 12.05.2023* 