

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной деятельности
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
доктор медицинских наук, профессор

Т.А. Демура



« 7 » _____ 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

на основании решения совместного заседания кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 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 кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Диссертация «Разработка подходов к анализу фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье методом хромато-масс спектрометрии» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук выполнена на кафедре химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

ИЗ архива

Фатеенкова Ольга Владимировна, 1996 года рождения, гражданство Российской Федерации, окончила государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения России (Сеченовский университет) в 2018 году по специальности «Фармация».

В 2020 году принята в число аспирантов 1 курса на заочную форму обучения по основной профессиональной образовательной программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению 33.06.01 Фармация. Отчислена из аспирантуры в 2024 году в связи с окончанием обучения.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов №1891/Аз выдана в ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Научный руководитель:

Савватеев Алексей Михайлович, кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

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

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Разработка подходов к анализу фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье методом хромато-масс спектрометрии» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, принято следующее заключение:

• **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертационное исследование О.В. Фатеенковой является завершённой научно-квалификационной работой, направленной на решение важных задач по разработке и валидации методики определения фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье методом высокоэффективной жидкостной

хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) высокого разрешения для повышения уровня безопасности лекарственного растительного сырья и препаратов растительного происхождения. Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям

На основе разработанной методики исследовали распределение и персистентность фосфорорганических пестицидов малатиона и диазинона в морфологических частях лекарственных растений; проводили количественное определение остаточных количеств фосфорорганических пестицидов в образцах аптечного лекарственного растительного сырья корневищ с корнями валерианы лекарственной, цветков ноготков лекарственных и листьев крапивы двудомной и в лекарственных препаратах, изготовленных из сырья дикорастущих лекарственных растений; на основе полученных данных разработаны рекомендации по использованию крапивы двудомной в качестве маркерного растения в лекарственном растениеводстве.

- **Актуальность темы диссертационного исследования**

В настоящее время отмечается повышенный интерес к применению препаратов растительного происхождения. Разнообразное фармакологическое действие, малое количество побочных эффектов, а также относительно низкая стоимость создают спрос на препараты растительного происхождения - по оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 65%-85% населения используют лекарственные растения в качестве лечебных средств.

Экологическая чистота растительных лекарственных препаратов является актуальным вопросом фармации. Руководящие принципы ВОЗ по надлежащей практике культивирования и сбора (GACP) лекарственных растений предполагают использование только разрешенных пестицидов в минимально разрешенном количестве. Однако, лекарственное растительное сырье (ЛРС) заготавливается как от культивируемых, так и от дикорастущих растений, что не позволяет в полной мере проконтролировать безопасное использование пестицидов. Таким образом, существует риск заражения сырья остаточными

количествами пестицидов. Использование загрязненных пестицидами лекарственных препаратов может нанести непоправимый вред здоровью людей. Одним из широко используемых классов пестицидов являются фосфорорганические соединения, патогенный механизм действия которых заключается в фосфорилировании по типу конкурентного ингибирования белкового фрагмента ацетилхолинэстеразы, содержащейся в нервных тканях и отвечающей за передачу нервного импульса, в результате чего в синаптической щели происходит накопление ацетилхолина, возникает нарушение нормального прохождения нервных импульсов. При хронических отравлениях фосфорорганическими соединениями наблюдаются изменения со стороны сердечно-сосудистой системы (синусовая аритмия, артериальная гипотония), развитие астеновегетативного синдрома.

Анализ содержания остаточных количеств пестицидов в лекарственных растениях показали, что, несмотря на стратегию минимизации использования пестицидов при выращивании лекарственных растений, во множестве образцов были обнаружены следы пестицидов. Причем содержание нормируемых в фармакопеех России и Европы остаточных количеств таких фосфорорганических пестицидов (ФОП) как Хлорпирифос-метил, Диметоат, Профенофос, Квиналфос превышало предельно допустимый уровень содержания в ЛРС.

В XV Государственной Фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ XV) в общей фармакопейной статье «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» установлены пределы допустимого содержания 33 ФОП. Однако, в настоящее время отсутствуют унифицированные методики по определению ФОП в ЛРС. Разработанные анализы-мониторинги проводятся в основном для пищевых продуктов. Для анализа лекарственных растений в статьях предложены схожие методики. Так, например, хорошо зарекомендовала себя комбинация метода подготовки проб QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe - Быстро, Просто, Дёшево, Эффективно, Надежно и Безопасно) для анализа методом хромато-масс спектрометрии.

Следует отметить, что существующие инструментальные методы по определению ФОП в ЛРС не лишены недостатков с точки зрения чувствительности, селективности и простоты пробоподготовки. В них не учитывается сложность и избирательность работы с различными матрицами ЛРС. Для получения достаточной для анализа величины аналитических сигналов, при применении таких инструментальных методов, необходимо добиваться высокой степени извлечения из различных типов ЛРС.

Все это определяет актуальность разработки унифицированной методики определения распространенных ФОП в ЛРС высокоселективным и чувствительным методом хромато-масс-спектрометрии.

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

Автору принадлежит ведущая роль в планировании и выполнении экспериментальных исследований, а также в анализе, обобщении и публикации их результатов. Автором лично проведена разработка, валидация, а также экспериментальная апробация методики определения ФОП в ЛРС и лекарственных растительных препаратах методом ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения.

Непосредственно автором проведен эксперимент по выращиванию и обработке ФОП лекарственных растений в Ботаническом саду ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и определение ФОП в полученном сырье. Автором исследовались аптечные образцы ЛРС и образцы сухих и густых экстрактов из дикорастущего ЛРС.

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Достоверность полученных результатов, выводов и положений, выносимых на защиту, обусловлена применением в исследовании ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения, позволяющего точно определять молекулярные массы фрагментов исследуемых веществ. Подлинность синтезированных дейтерированных внутренних стандартов подтверждалась помощью спектроскопии ядерного

магнитного резонанса (ЯМР) и ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения. Повторяемость и воспроизводимость методики в ходе выполнения диссертационной работы соответствуют критериям валидации, определенным ГФ РФ XV. Статистический анализ и оценка результатов выполнены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Научные положения, выводы и рекомендации подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представлены в 17 таблицах и 52 рисунках.

- **Научная новизна результатов исследования**

Разработана и валидирована методика количественного определения фосфорорганических пестицидов (малатиона, малаоксона, диазинона, диметоата, ометоата, пиримифос-метила, пиримифос-этила, фозалона, хлорпирифос-метила) в ЛРС и лекарственных растительных препаратах методом ВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения с использованием дейтерированных аналогов фосфорорганических пестицидов в качестве внутренних стандартов (ВС), отличающаяся высокой чувствительностью и селективностью.

Разработан простой и оперативный метод подготовки проб для извлечения ФОП из растительной матрицы. При помощи валидированной методики описаны и изучены биораспределение и персистентность малатиона и диазинона в различных частях лекарственных растений валерианы лекарственной, ноготков лекарственных и крапивы двудомной.

- **Практическая значимость проведенных исследований**

Для изучения персистентности ФОП и их биораспределения в различных частях лекарственных растений (валерианы лекарственной, крапивы двудомной и ноготков лекарственных) проведен эксперимент с самостоятельным выращиванием и обработкой пестицидами лекарственных растений на базе Ботанического сада ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Доказана актуальность изучения проблемы накопления ФОП в лекарственных растениях.

Результаты диссертационной работы имеют практическую значимость для химиков-экспертов, выполняющих определение остаточных количеств пестицидов в ЛРС, лекарственных растительных препаратах и в сельскохозяйственной продукции, а также для применения в научных исследованиях в области физиологии растений для изучения распределения ФОП в подземных и надземных органах растений, персистентности ФОП и для формирования методических рекомендаций к применению ФОП в лекарственном растениеводстве. В результате внедрения аналитической методики определения остаточных ФОП в растительном сырье в практику Научно-технического центра радиационно-химической безопасности и гигиены Федерального медико-биологического агентства России усовершенствовано обеспечение контроля качества лекарственных средств, медицинских изделий, специализированной пищевой продукции, косметических средств и сырья для их производства.

Внедрение разработанной аналитической методики в практику федерального государственного бюджетного учреждения «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации для проведения судебно-химических и химико-токсикологических экспертиз по установлению остаточных количеств ФОП в растительном сырье расширило возможности центра в определении ФОП, в том числе при проведении арбитражных анализов.

Полученные в ходе экспериментов результаты могут быть использованы в качестве основы для разработки методик анализа расширенного состава ФОП и изучения их биораспределения и персистентности для широкого круга лекарственных растений.

- **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

Разработанная методика определения ФОП в ЛРС методом ВЭЖХ-МС/МС является основой для дальнейшего определения остаточных количеств ФОП в ЛРС и препаратах растительного происхождения.

Полученные в исследовании данные о биораспределении и персистентности ФОП малатиона и диазинона в морфологических частях лекарственных растений

валерианы лекарственной, ноготков лекарственных и крапивы двудомной позволили дополнить имеющуюся информацию о способностях ФОП распределяться и оставаться в тканях растений в неизменном виде в течение длительного времени.

Разработанные методы синтеза дейтерированных аналогов ФОП малатиона, хлорофоса и дихлофоса для использования их в качестве внутренних стандартов позволили увеличить точность определения ФОП в ЛРС.

Материалы диссертации доложены, обсуждены и одобрены на международных и всероссийских научно-практических конференциях.

- **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Основные научные положения, выводы и практические рекомендации диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин: Методы фармакопейного анализа (№12, обязательная часть), читаемой студентам по направлению подготовки 33.05.01 Фармация; Химия биологических активных веществ (№4, обязательная часть), читаемой студентам по направлению подготовки 19.03.01 Медицинская биотехнология; Химия биологически активных веществ (№12, обязательная часть), читаемой студентам по направлению подготовки 30.05.01 Медицинская биохимия. Акт о внедрении б/н от 20 апреля 2024 г.

Основные научные положения, выводы и практические рекомендации диссертационного исследования внедрены и используются в обеспечении контроля качества лекарственных средств, медицинских изделий, специализированной пищевой продукции, косметических средств и сырья для их производства Научно-технического центра радиационно-химической безопасности и гигиены Федерального медико-биологического агентства России. Акт о внедрении б/н от 20 февраля 2024 г.

Основные научные положения, выводы и практические рекомендации диссертационного исследования внедрены и используются в рабочем и учебном

процессе федерального государственного бюджетного учреждения «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Акт о внедрении б/н от 15 февраля 2024 г.

- **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Научные положения диссертации соответствуют пунктам 5 и 7 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

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

По результатам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 оригинальные научные статьи и 1 иная публикация в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, Chemical Abstracts; 1 патент; 5 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Оригинальные научные статьи в научных изданиях, включенных в международные индексируемые базы данных Web of Science, Scopus, Chemical Abstracts:

1) Разработка методов синтеза малатиона-d6, хлорофоса-d6 и дихлофоса-d6 для использования в качестве внутренних стандартов при анализе лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов / В.И. Крылов, В.А. Яшкир, А.В. Браун, И.И. Крылов, **О.В. Фатеенкова**, Савватеев А.М. // **Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.** – 2023. – Т.13. – № 3. – С. 411 – 418.

[Chemical Abstracts]

2) Анализ распределения и персистентности фосфорорганических пестицидов малатиона и диазинона в лекарственном растительном сырье / А.М. Савватеев, **О.В. Фатеенкова**, А.В. Браун, В.Л. Белобородов, И.В. Гравель // **Разработка и регистрация лекарственных средств.** – 2024. – Т.13. – № 3. – С. 103 – 116.

[Scopus]

3) Determination of Nine Organophosphorus Pesticides in Medicinal Plant Raw Materials by High Resolution HPLC–MS/MS / **O.V. Fateenkova**, A.M. Savvateev,

A.V. Braun, V.L. Beloborodov, I.V. Gravel // **Journal of Analytical Chemistry**. – 2024. – Т.79. - №8. – Р. 1096 – 1107. [**Scopus, Web of Science, Chemical Abstracts**]

Иные публикации по теме диссертационного исследования:

1) Нормирование остаточных фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье (обзор) / **О.В. Фатеенкова**, А.М. Савватеев, В.Л. Белобородов, И.В. Гравель // **Разработка и регистрация лекарственных средств**. – 2022. – Т.11. – № 3. – С. 137 – 151. [**Scopus, обзорная**]

Патент:

1) Патент № 2827397 Российская Федерация, МПК G01N 30/06, G01N 30/32, G01N 30/34, G01N 30/72. Способ определения фосфорорганических пестицидов в растительном сырье : № 2023117763 : заявл. 05.07.2023: опубл. 25.09.2024 / **Фатеенкова О.В.**, Савватеев А.М., Браун А.В., Белобородов В.Л., Гравель И.В.

Материалы конференций по теме диссертационного исследования:

1) **Фатеенкова, О.В.** Разработка методики определения фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье / О.В. Фатеенкова, Н.П. Садчикова, В.Л. Белобородов, А.М. Савватеев // Сборник научных трудов Международной научной конференции, «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения». Москва, Россия, 2020. – С. 293 – 302.

2) **Фатеенкова, О.В.** Определение фосфорорганических пестицидов в корневищах с корнями валерианы: оценка матричного эффекта / О.В. Фатеенкова, А.М. Савватеев, В.Л. Белобородов, И.В. Гравель // Сборник научных трудов Международной научно-практической онлайн-конференции «Экологические и фармакогностические вопросы выращивания лекарственных растений». Пятигорск, Россия, 2022. – С. 186 – 192.

3) **Фатеенкова, О.В.** Изучение характеристик малатиона-d6, хлорофоса-d6 и дихлофоса-d6 как стандартов в анализе лекарственного растительного сырья / Фатеенкова О.В., Савватеев А.М. // Сборник тезисов IX Международного молодежного научного медицинского форума «Белые цветы». Казань, Россия, 2022. – С. 898 – 899.

- 4) **Фатеенкова О.В.** Разработка методики определения фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье, содержащем полифенольные соединения / О.В. Фатеенкова, А.М. Савватеев, В.Л. Белобородов, И.В. Гравель // Материалы XI Международного симпозиума «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты». Москва, Россия, 2022. – С. 63.
- 5) Савватеев, А.М. Методика определения содержания фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье / А.М. Савватеев, **О.В. Фатеенкова**, И.В. Гравель, В.Л. Белобородов // Сборник тезисов I Международной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии в современных реалиях». Москва, Россия, 2023. – С. 77-79.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

- 1) Международная научная конференция «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (Москва, 17-18 декабря 2020 г.);
- 2) Международная научно-практическая онлайн-конференция «Экологические и фармакогностические вопросы выращивания лекарственных растений» (Пятигорск, 18-19 марта 2022 г.);
- 3) IX Международный молодежный научный медицинский форум «Белые цветы» (Казань, 13-15 апреля 2022 г.);
- 4) XI Международный симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 11-15 апреля 2022 г.);
- 5) I Международная конференция «Интеграционные связи фармацевтической экологии в современных реалиях» (Москва, 14-16 ноября 2023 г.)

Заключение

Диссертация соответствует требованиям п. 21 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), утвержденном приказом

ректора Сеченовского Университета № 0692/Р от 06.06.2022 г., и не содержит заимствованного материала без ссылок на авторов.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Фатеенковой Ольги Владимировны «Разработка подходов к анализу фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье методом хромато-масс спектрометрии» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заключение принято на совместном заседании кафедры химии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 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 кафедры фармацевтического естествознания Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Присутствовало на заседании: 21 человек.

Результаты голосования: «за» - 21 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол №19 от 28 августа 2024 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