

## **О Т З Ы В**

**официального оппонента на диссертационную работу Григорьева  
Андрея Михайловича «Хроматомасс-спектрометрические методы  
выявления метаболитов лекарственных средств и синтетических  
каннабимиметиков», представленную на соискание ученой степени  
доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая  
химия**

Безусловная актуальность представленной диссертационной работы следует из значительного числа новых структурно-разнообразных психоактивных средств, появляющихся в последние десятилетия на нелегальных рынках. Обнаружение этих соединений в биологических объектах, и в том числе, в крови и моче, затруднено не только недостаточным знанием аппаратно-ориентированных аналитических характеристик ксенобиотиков, но и рядом процессов, приводящих к отсутствию исходных соединений в образцах ввиду биотрансформации или малой стабильности. Выявление получающихся продуктов, расшифровка их структур необходимы для формирования предположений о характере исходных соединений, попадающих в организм. Характеристики продуктов трансформации ксенобиотиков применяются для создания поисковых хроматомасс-спектрометрических библиотек, используемых при автоматизированном обзорном анализе биообъектов.

**Целью диссертационной работы** Григорьева А.М. является создание системы скрининга биологических образцов методами ГХ-МС и ЖХ-МС/МС для целей химико-токсикологического анализа, включая создание поисковых библиотек для автоматизированного обнаружения аналитов, методик подготовки проб, алгоритмов выявления и определения структурных характеристик аналитов, а также выявления метаболитов лекарственных средств и синтетических каннабимиметиков.



**Научная новизна** работы очевидна; автором предложены и обоснованы способы коррекции значений удерживания для поисковых ГХ-МС библиотек, выявлены потенциальные метаболиты и продукты деградации ряда лабильных и полностью метаболизируемых токсикантов, в том числе соединений, относящихся к группе новых психоактивных средств – синтетических каннабимиметиков.

**Достоверность и обоснованность** результатов исследования, научных положений и выводов обусловлена применением современного высокотехнологичного оборудования, исследованием значительного числа аутентичных биообразцов а также последующими публикациями других исследователей, специализирующихся в данной области.

Диссертационная работа Григорьева А.М. имеет как **теоретическое**, так и **практическое значение**.

Материалы, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, представляют интерес для организаций медицинского или исследовательского профиля, занимающихся анализом биологических образцов с целью обнаружения соединений, имеющих токсикологическое, лекарственное или наркологическое значение, в том числе их метаболитов, продуктов деградации или иных биомаркеров, указывающих на возможность поступления подобных соединений в организм человека.

Диссертационная работа Григорьева А.М. состоит из введения, 5 глав, общих выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Она представлена на 321 странице, включает 179 рисунков и 49 таблиц.

Во **введении** автором обоснованы актуальность выбранной темы и выбор основных экспериментальных методов – газовой и жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Также сформулированы цель и задачи исследования, представлены научная новизна и практическая значимость, указаны основные положения, выносимые на защиту.

В **первой главе** сформулированы основные подходы, применяемые в данной работе для обнаружения ксенобиотиков и их производных (продуктов



биотрансформации и деградации, артефактов пробоподготовки) в моче и сыворотке крови. Выбор подходов определяется существованием предварительной информации об анализатах.

Для повышения достоверности обнаружения известных соединений методом газовой хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС) рекомендуется варьирование способов пробоподготовки, дериватизации, вида применяемой неподвижной фазы, а также проведение коррекции параметров удерживания при изменении условий разделения. В случае отсутствия исходного соединения в анализируемых образцах, вызванного интенсивной биотрансформацией или деградацией предлагается проведение поиска характерных биомаркеров, наличие которых позволяет предположить вид исходного ксенобиотика. Автором критически рассмотрены методы идентификации, опубликованные в научной литературе, и сделан вывод о недопустимости жестко детерминированного подхода к обнаружению ксенобиотиков, что объясняется недостатками существующих методов идентификации и разнообразием анализатов.

Для выявления неизвестных ранее соединений автором предложена общая методология, предполагающая использование максимально полной информации об образцах, включая сведения о распространении новых психоактивных соединений, предположений об их возможном метаболизме и хроматомасс-спектрометрических характеристиках, а также способы установления их структур.

Во **второй главе** автор излагает способы построения и преобразования поисковых ГХ-МС библиотек, предназначенных для автоматизированного обзорного анализа биообразцов. Для коррекции параметров удерживания (индексы) при изменении условий разделения предлагается использование линейной зависимости. Наблюдаемые зависимости индексов удерживания от температуры и вида неподвижной фазы автор обосновывает с помощью определения характеристик зон конвергенции гомологических рядов.



В третьей главе представлены результаты обнаружения и идентификации биомаркеров ряда соединений, имеющих лекарственное и токсикологическое значение и подверженных интенсивному метаболизму или деградации. Автор приводит хроматомасс-спектрометрические характеристики биомаркеров (индексы удерживания, измеренные в разных условиях и масс-спектры, получаемые в условиях электронной ионизации). Несмотря на то, что большинство аналитов, рассмотренных в данной главе, известны ранее, их характеристики труднодоступны и поэтому представленная информация актуальна для случаев, когда исследуемые биообразцы не содержат исходных ксенобиотиков.

В четвертой главе автор приводит результаты выявления метаболитов новых психоактивных соединений – синтетических каннабимиметиков нафтоиндольного, фенилацетилиндольного и бензоиндольного рядов. Эта глава, равно как и последующая (пятая) посвящены главной теме представленной работы – поиску и выявлению неизвестных ранее соединений, выполняемых на основании подходов, рассмотренных в первой главе. Для получения приведенных результатов автором исследовано множество аутентичных образцов мочи и сыворотки крови человека и крыс, а из списка обнаруженных метаболитов выбраны биомаркеры, пригодные для вынесения предварительных заключений о характере исходных ксенобиотиков.

В пятой главе автор расширяет тему выявления метаболитов синтетических каннабимиметиков, рассматривая алканоильные и некоторые индазольные каннабимиметики. Помимо этого, данная глава содержит результаты исследования термолиза тетраметилциклопропанового каннабимиметика UR-144, заключающиеся в идентификации продуктов. Также выявлены метаболиты продуктов термолиза. На основании исследования образцов мочи человека и рассмотрения выявленных метаболитов предложены биомаркеры, обнаружение которых может свидетельствовать о попадании исходных соединений в организм человека.



В приложении содержится описание общих экспериментальных подходов, применяемых методик и условий анализа.

Диссертация хорошо оформлена и содержит достаточное количество рисунков. Основные подходы и полученные результаты исследований достаточно полно изложены в автореферате. Список публикаций по теме работы содержит 20 статей, опубликованных в русских и международных журналах, рекомендуемых ВАК РФ и две книги. Результаты работы доложены на 19 Международных и Всероссийских конференциях. Автореферат и публикации дают полное представление о новизне, объеме выполненной работы, практической значимости результатов и вкладе автора.

Автором поставлена фундаментальная задача – идентификация неизвестных соединений методом хроматомасс-спектрометрии. Учитывая то, что эта задача требует построения структур аналитов на основании масс-спектров, то она по определению некорректна и не имеет строгого решения. Но, поскольку автор искал решения в узкой практической области, то ему удалось «несколько снизить область притязаний», и, фактически, эту задачу решить. Несколько сужая область объектов исследования, опираясь на закономерности образования и структуры метаболитов, можно построить структуры исходных соединений, актуальные для решения практических задач идентификации веществ, которыми – добровольно или принудительно – был отравлен пациент. Полагаю, что автор решил поставленную задачу, по крайней мере, в пределах, предоставляемых возможностями современного хроматомасс-спектрометрического метода. Автор смог уйти от подхода, при котором используются стандартные соединения, и показал, что в ряде областей, проведя предварительные исследования и составив библиотеки, можно воспользоваться только интерпретацией масс-спектров. Конечно, в будущем (говоря о практическом применении такого подхода) можно будет рекомендовать его и для отравляющих веществ, лекарственных препаратов и, наверное, для исследования лабильных природных соединений.

По работе имеются следующие замечания.



1. Было бы полезно составить и включить в текст диссертации общую схему или описание хотя бы одного конкретного этапа «идентификации», иллюстрирующего совместное использование хроматографических и масс-спектрометрических данных.

2. Следовало добавить, что первый этап «идентификации» - построение структуры на основе закономерностей протекания химических реакции, в частности, реакций трансформации.

3. При рассмотрении ГХ поведения термически нестабильных соединений следовало отметить, что степень термолиза определяется состоянием колонки – ее старением и загрязнением.

4. Следовало бы уделить большее внимание методической части работы для упрощения использования ее практических следствий.

Однако, приведенные замечания практически не снижают ценность представленной работы, достоверности экспериментальных результатов и корректности заключений, сделанных на их основе.

Диссертационная работа Григорьева А.М. «Хроматомасс-спектрометрические методы выявления метаболитов лекарственных средств и синтетических каннабимиметиков» по актуальности, объему экспериментальной работы, научной новизне и практической значимости отвечает всем требованиям, предъявляемым ВАК. Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что диссертация Григорьева А.М. «Хроматомасс-спектрометрические методы выявления метаболитов лекарственных средств и синтетических каннабимиметиков», является законченной исследовательской работой, выполненной на высоком научном уровне, отвечает паспорту специальности 02.00.02 – Аналитическая химия (Химические науки) и соответствует критериям, предъявляемым к докторским диссертациям, установленным п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. в редакции от 21 апреля 2016 г., а её автор, Григорьев Андрей Михайлович, заслуживает присуждения ученой



степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 –  
Аналитическая химия.

**Официальный оппонент**

Заведующий лабораторией

физико-химических основ хроматографии и

хромато-масс-спектрометрии

ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии

имени А.Н. Фрумкина РАН»

д.х.н. 02.00.04 – Физическая химия,

профессор



Буряк Алексей Константинович

**Почтовый адрес:**

119071, Россия, г. Москва,

Ленинский проспект, 31, корп. 4, Федеральное

государственное бюджетное учреждение наук

«Институт физической химии и электрохимии

имени А.Н. Фрумкина РАН»,

Лаборатория физико-химических основ

хроматографии и хромато-масс-спектрометрии.

проф. **Буряк Алексей Константинович** –

д.х.н. 02.00.04 – Физическая химия.

Тел. +7 (495) 952-00-65

e-mail: [AKBuryak@ipc.rssi.ru](mailto:AKBuryak@ipc.rssi.ru), [akburyak@mail.ru](mailto:akburyak@mail.ru)



В диссертационный совет Д 501.001.88  
при федеральном государственном бюджетном  
образовательном учреждении высшего образования  
«Московский государственный университет имени  
М.В. Ломоносова»  
от Бурыка Алексея Константиновича

Настоящим даю согласие выступить официальным оппонентом на защите диссертации Григорьева Андрея Михайловича на тему: «Хроматомасс-спектрометрические методы выявления метаболитов лекарственных средств и синтетических каннабимиметиков», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 — Аналитическая химия.

О себе сообщаю следующие сведения:

1. Бурык Алексей Константинович, гражданин РФ.
2. Доктор химических наук (02.00.04 – Физическая химия),
3. Профессор
4. Директор ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН».
5. Адрес места работы:  
119071, г. Москва, Ленинский проспект, 31, корп. 4; ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН».  
Телефон: 8 (495) 330-19-29.  
Адрес электронной почты: [AKBuryak@ipc.rssi.ru](mailto:AKBuryak@ipc.rssi.ru)
6. Основные работы по профилю оппонируемой диссертации:
  - Белоусова З.П., Осянин В.А., Пурыгин П.П., Варфоломеева В.В., Ульянов А.В., Бурык А.К. Термодесорбционное масс-спектрометрическое исследование изомерных производных N-азолилметилбензойных кислот. Сорбционные и хроматографические процессы. 2011. Т. 11. № 3. С. 300-308.
  - Чамян К.Р., Парамонов С.А., Ревельский И.А., Бурык А.К. Анализ пентоксифиллина методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией. Сорбционные и хроматографические процессы. 2011. Т.11. № 5. С. 641-648.
  - Островская В.М., Середа В.В., Прокопенко О.А., Бурык А.К., Сергеев С.М., Столяров И.П. Индикаторные трубки для определения антидетонационных присадок в автомобильных бензинах. Химия и технология топлив и масел. 2013. Т. 579. № 5. С. 49-52.
  - Белякова Л.Д., Бурык А.К., Ларионов О.Г. Хроматография - метод исследования химии поверхности и процессов на межфазных границах. Физикохимия поверхности и защита материалов. 2013. Т. 49. № 6. С. 551.
  - Бурык А.К., Сердюк Т.М. Хромато-масс-спектрометрия в ракетно-космической отрасли. Успехи химии. 2013. Т. 82, № 4, С. 366-392.
  - Гончарова И.С., Бурык А.К., Худяков С.А. Методы жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии в исследовании продуктов трансформации пластификаторов противоморозных добавок в бетон, образующихся в процессе эксплуатации. Физикохимия поверхности и защита материалов. 2014. Т. 50. № 1. С. 99-108.
  - Зенкевич И.Г., Ульянов А.В., Голуб С.Л., Бурык А.К. Хроматографическая составляющая идентификации продуктов превращений 1,1-диметилгидразина в присутствии серы. Журнал общей химии. 2014. Т. 84. № 6. С. 923-931.
  - Островская В.М., Бурык А.К., Перегудов А.С., Ульянов А.В. Тетраденатные 5,7-дихлор-8-гидрокси- 2-хинолилгидразоны. Журнал общей химии. 2015. Т.85, № 3, стр. 618-621.

Доктор химических наук  
02.00.04 – Физическая химия



А.К.Бурык