

ОТЗЫВ 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

Ключевой концепцией диссертационной работы А.М. Григорьева является характеристика относительно новой (известна с 2004 г.) группы наркотических веществ – синтетических каннабимиметиков. Автором охарактеризовано более десятка ее представителей, но в биологических образцах исходные соединения обнаружить обычно не удается, что обусловлено высокими скоростями и многообразием направлений их метаболизма. Из всех рассмотренных соединений только одно [CP47,479(C8)] было обнаружено в моче в неизменном виде. Эта особенность принципиально отличает задачу автора от большинства современных аналитических работ такого профиля. Кроме того, она послужила причиной принципиального изменения логической схемы химико-токсикологического анализа: вместо выявления следов исходных соединений контроль должен осуществляться по продуктам их биотрансформации.

Автор неоднократно упоминает сложности решаемых им задач. Например, на стр. 18 отмечено, что нередко сами факты попадания ксенобиотиков в организм не очевидны.

Актуальность проделанной автором огромной работы не вызывает сомнений. Из формулируемых автором нескольких ее целей и задач, безусловно, важнейшими представляются определение и систематизация аналитических характеристик метаболитов (всего более 300) рассматриваемых синтетических каннабимиметиков. Аналогичным образом, среди нескольких положений **научной новизны** ключевым следует считать выявление соединений, являющихся потенциальными метаболитами или продуктами деструкции лабильных токсикантов

и лекарственных средств. Возможность применения рекомендаций автора для системного химико-токсикологического анализа биологических сред не вызывает сомнений. *Положения, выносимые на защиту*, полностью согласуются с содержанием работы.

Необходимо подчеркнуть, что число, химическая природа и структуры метаболитов рассмотренных синтетических каннабимиметиков до начала работы А.М. Григорьева оставались неизвестными. Принципиально, что, по современным представлениям, неоднозначное установление структуры метаболитов, в частности, неопределенная локализация гидроксильных групп в различных фрагментах молекул вполне допустимы. Так, например, представлены результаты в работах такого автора как Н. Maurer, десять публикаций которого цитированы в списке литературы диссертации. Важно отметить, что это не недостаток выбора аналитических методов или работы в целом, а один из объективных «уровней» представления результатов идентификации органических соединений. Главным же представляется то, что в итоге автору удалось определить важнейшие аналитические параметры идентифицированных метаболитов, прежде всего их газохроматографические индексы удерживания. На этом моменте следует остановиться несколько подробнее.

Значительная часть современных хроматографических публикаций отражает результаты определения конкретных аналитов в различных объектах. Однако если такие результаты не сопровождаются представлением хроматографических параметров в форме межлабораторных инвариантов, то их использование последователями эквивалентно необходимости полного воспроизведения работы, начиная с поиска образцов сравнения и определения их хроматографических параметров. Представление же результатов в форме индексов удерживания означает 1) возможность непосредственного практического использования этих данных и 2) возможность их контроля и (при необходимости) уточнения. Кроме очевидных признаков *научно-практической направленности и значимости* таких данных, нельзя не отметить их соответствие ещё одному классификаци-

онному признаку диссертации – *достоверности результатов* и рекомендаций работы, что определяется именно представлением хроматографических параметров в форме индексов удерживания.

Содержание диссертации отличается логичным структурированием, что существенно облегчает восприятие большого объема информации. Прежде всего, автор отказался от специальной главы, посвященной обзору литературы, что представляется в данном случае совершенно оправданным. Функцию такого обзора в известной степени выполняет глава 2, посвященная построению и преобразованию ГХ и ГХ-МС библиотек. Специальная глава (№ 3) посвящена обсуждению трудно обобщаемых особенностей хроматографического определения продуктов деградации лабильных соединений (нереистотоксин, дротаверин, кветиапин и димедрол). В главах 4 и 5 по единой схеме рассмотрены результаты выявления метаболитов индольных, индазольных и других каннабимиметиков. Каждая глава заканчивается краткими методическими замечаниями и заключением по сути рассматриваемых в ней вопросов.

В главах, посвященных синтетическим каннабимиметикам, их метаболиты систематизированы по химическим подтипам, в том числе, моногидрокси-, дигидрокси-, тригидрокси- (для JWH-073), моногидрокси- с карбонильной группой в боковой цепи (лучше использовать выражение «в алкильном фрагменте»), дигидродиольные (по нафтильному фрагменту), N-дезалкильные, моно- и дигидрокси-N-дезалкильные и другие. На текущем этапе рассмотрения проблемы идентификации и систематизации метаболитов такая классификация представляется вполне оправданной.

Еще одним выделяемым автором элементом *научной новизны* работы является концепция температурной конвергенции (как синоним использован термин «энтальпийно-энтропийная компенсация») параметров удерживания, продемонстрированной на примере гомологов нескольких рядов. Этот фрагмент работы вряд ли можно считать главным, его связь с «генеральной линией» характеристики метаболитов синтетических каннабимиметиков неочевидна, но он привле-

кателен именно своей «элегантностью». К сожалению, именно с этим фрагментом связаны несколько не совсем корректных формулировок, попавших даже в выводы диссертации, равно как и довольно большое число вопросов. Например, в выводе № 2 присутствует фраза «Обоснован рост индексов удерживания при увеличении температуры и полярности хроматографической фазы». Поскольку автор не считает, что он впервые обосновал эти положения, что следует из его ответов на соответствующий вопрос предварительного отзыва, то данный фрагмент вывода нужно было формулировать аккуратнее. Там же (в выводе № 2) присутствует утверждение «Показана зависимость величин коэффициентов распределения (K^*) от температуры для широкого диапазона температур», которое в такой формулировке также неприемлемо. В дополнение к этому на стр. 36 читаем «... значения $\lg K^*$ уменьшаются, постоянны и даже увеличиваются с ростом температуры (для разных фаз) ...». За этим следует фраза «Такое поведение *легко объяснимо вероятным изменением* свойств неподвижных фаз» (выделение мое, И.З.). Вероятным изменением свойств действительно можно легко объяснить все что угодно.

Одним из принципиальных моментов являются рекомендации по пересчету индексов удерживания, определенных на неполярных фазах (полидиметилсилоксаны), в значения для слабополярных фаз (полидиметилсилоксаны, содержащие 5 % фенильных групп) (стр. 44 и далее). Для этого предложено использовать линейное регрессионное уравнение 2.12 (стр. 46). Отмечено, правда, что в результате применения такого подхода удастся пересчитать более 60 % значений индексов. Следовательно, около 40 % значений не удастся скорректировать рекомендуемым способом. Комментируя этот раздел, стоит отметить вторую публикацию автора системы индексов удерживания в хроматографии (Wehrli A., Kovats E. Helv. Chim. Acta. 1959. Vol. 7. № 7. P. 2709-2736), которая посвящена использованию разностей индексов удерживания для групповой идентификации аналитов. Иными словами, для соединений различной химической природы даже для комбинации неполярных и слабополярных неподвижных фаз

такие разности могут варьировать в широких пределах, так что отбрасывание минимальных и максимальных значений представляется принципиально некорректным.

Большой объем и многоплановость диссертационной работы в известной степени объясняют встречающиеся в тексте неточности, неудачные формулировки и погрешности терминологии. Трудно проинтерпретировать, например, такие выражения как «нерешенная проблема жидкого состояния» (стр. 31), «описание процессов на поверхностях полужидких фаз» (стр. 32), «положительная зависимость» (это о зависимости индексов удерживания от температуры на стр. 32), «зона эксклюзии аналитов» (стр. 32), «изменение относительного логарифмического удерживания членов ряда линейно, по крайней мере, для соседних гомологов» (стр. 34), концентрационный коэффициент распределения (стр. 81) и другие. На стр. 67 присутствует фраза «Соединения IV и V проявляют свойства однозарядных катионов», а на стр. 15 – «... при гидролизе освобождаются группы ...».

Между рисунками 3.14 и 3.15 каким-то образом появился рис. 3.21.

Примером не совсем удачной терминологии можно считать «... пики (зоны) с затянутым тылом». Возможно, что для описания асимметричных хроматографических пиков более подобает выражение «с уширенным (или асимметричным) обратным склоном».

На стр. 40 утверждается «... как показали наши измерения ..., наиболее зависимы от температуры индексы удерживания полиароматических углеводов» (проиллюстрировано таблицей). По этому поводу хотел бы отметить, что система индексов, предложенная Ли и Новотным более сорока лет назад, специально предназначена для компенсации этой температурной зависимости. Что в таком случае иллюстрируют «наши измерения»?

Не вполне понятно, чем отличаются рисунки 2.6 и 2.7, подписи к которым одинаковы, но расположения точек отличаются. Кроме того, на втором из них нет обозначений на осях координат.

Признаком енолизации молекулярных ионов сульфоксидов и сульфидов следует считать не столько образование ионов $[M - H]^+$, сколько $[M - OH]^+$ (стр. 65). На стр. 67 обсуждаются значения pK_a производных нереистотоксина, но не сказано ничего про их определение. Не вполне понятно утверждение, что сульфон V замещает в подвижной фазе меньшее число молекул ацетонитрила по сравнению с сульфоксидом IV (стр. 69).

На стр. 80 несколько необычное удерживание фенантридиновых производных объяснено противоположным действием энтальпийных и энтропийных факторов. При этом, правда, неясно, чем обусловлено подобное противоположное действие этих факторов. Выявленные особенности вполне можно объяснить в рамках представлений о размерах систем сопряжения в молекулах. Например, среднее значение индекса удерживания 2-фенилнафталина на стандартных неполярных фазах равно 1938, а у 2-бензилнафталина (1962) оно больше не на 100, а всего на 24 ед. индекса вследствие разрушения единой системы сопряжения.

При обсуждении трансформации UR-144 (начиная со стр. 244) несколько раз упомянуты и изображены на рисунках протонированные по атому кислорода структуры, например II.2 на рис. 5.1, на рис. 5.4 и в обсуждении в тексте. При наличии в молекуле третичного атома азота протонирование атома кислорода невозможно. На рис. 5.8 (стр. 254) четыре из шести структур корректно изображены протонированными по атому азота индольного фрагмента молекулы.

Соединению UR-144 посвящены выводы № 6 и № 10. Логичнее было бы как-то их сгруппировать.

Перечисленные выше комментарии представляются не столько принципиальными критическими замечаниями, сколько содержанием раздела «результата-

ты и их обсуждение», предусмотренного в структуре большинства научных публикаций. Следовательно, они не могут изменить положительную в целом оценку диссертационной работы. Ее содержание соответствует паспорту специальности 02.00.02 – Аналитическая химия; сделанные в результате ее выполнения выводы вполне обоснованы.

Резюмируя изложенное выше, следует отметить, что по актуальности, характеру решаемых задач, объему проведенной работы, научной новизне, практической значимости, оригинальности подходов, уровню интерпретации полученных результатов, диссертация Андрея Михайловича Григорьева «Хромато-масс-спектрометрические методы выявления метаболитов лекарственных средств и синтетических каннабимиметиков», представленная на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия, отвечает критериям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней ВАК Минобрнауки РФ (утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 в редакции от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Профессор кафедры органической химии
Института химии
Санкт-Петербургского государственного
университета, д.х.н.



Зенкевич Игорь Георгиевич

Университетский просп., 26,
Санкт-Петербург 198504
izenkevich@yandex.ru

23.12.2016 г.

Личную подпись

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА

Н. И. МАШТЕЛА



23.12.2016

В диссертационный совет Д 501.001.88
при федеральном государственном бюджетном
образовательном учреждении высшего
образования «Московский государственный
университет им. М.В. Ломоносова»
от Зенкевича Игоря Георгиевича

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. Зенкевич Игорь Георгиевич, гражданин РФ.
2. Доктор химических наук (02.00.03 – Органическая химия), профессор кафедры органической химии Института химии Санкт-Петербургского государственного университета.
3. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет».
4. Служебный адрес:
Университетский проспект 26, 198504 Санкт-Петербург; служ. тел. (812) 428-4045
izenkevich@yandex.ru
izenkevich@mail15.com
5. Основные работы по профилю оппонируемой диссертации:
 - Pavlovskii A.A., Heberger K., Zenkevich I.G. Anomalous temperature dependence of gas chromatographic retention indices of polar compounds on non-polar phases // J. Chromatogr. A. 2016. V. 1445. P. 126-134;
 - Zenkevich I.G. Mathematical transformations of recurrent relations for different types of homologues // J. Chemometr. 2016. V. 30. P. 217-225;
 - Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A. Temperature dependence of gas chromatography retention indices as one of the main factors determining their interlaboratory reproducibility // Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces. 2015. V. 51. № 6. P. 1058-1064;
 - Zenkevich I.G., Pavlovskii A.A. Overloading control of gas chromatographic systems // J. Sep. Sci. 2015. V. 38. P. 2848-2856;
 - Zenkevich I.G. Prevention of a dangerous tendency in the presentation of the results of GC-MS identification // Anal. Bioanal. Chem. 2013. V. 405. P. 3075-3083;
 - Kornilova T.A., Ukolov A.I., Kostikov R.R., Zenkevich I.G. A simple criterion for gas chromatography/mass spectrometric analysis of thermally unstable compounds, and reassessment of the by-products of alkyl diazoacetate synthesis // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2013. V. 27. № 3. P. 461-466.

Доктор химических наук
02.00.02 – Органическая химия

И.Г. Зенкевич

Подпись И.Г. Зенкевича удостоверяю:

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА КАДРОВ №3

Н. И. МАШТЕНА