

В диссертационный совет Д 501.001.88
при федеральном государственном бюджетном
образовательном учреждении высшего
образования «Московский государственный
университет им. М.В. Ломоносова»
от Григорьева Андрея Михайловича

Настоящим даю согласие выступить официальным оппонентом на защите диссертации Шевляковой Олеси Александровны на тему: «Определение флавоноидов горянки и их метаболитов методом тандемной хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

О себе сообщаю следующие сведения:

1. Григорьев Андрей Михайлович, гражданин РФ.
2. Кандидат химических наук (02.00.02–Аналитическая химия), судебный эксперт (эксперт-химик) судебно-химического отдела.
3. Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Бюро судебно-медицинской экспертизы».
4. Адрес места работы:
111401, г. Москва, 1-ая Владимирская ул., д.33, корп.1; тел. 8(499) 688-87-61
chrzond4250@yandex.ru
<http://www.sudmedmo.ru/>
5. Основные работы по профилю оппонируемой диссертации:

Grigoryev A., Savchuk S., Melnik A., Moskaleva N., Dzhurko J., Ershov M., Nosyrev A., Vedenin A., Izotov B., Zabirova I., Rozhanets V. Chromatography–Mass Spectrometry Studies on the Metabolism of Synthetic Cannabinoids JWH-018 and JWH-073, Psychoactive Components of Smoking Mixtures // J. Chromatogr. B. 2011. V. 879. P. 1126-1136.

Grigoryev A., Savchuk S., Melnik A., Simonov A., Rozhanets V. Gas and liquid chromatography–mass spectrometry studies on the metabolism of the synthetic phenylacetylindole cannabimimetic JWH-250, the psychoactive component of smoking mixtures // J. Chromatogr. B. 2011. V. 879. P. 2519-2526.

Grigoryev A., Kavanagh P., Melnik A. The detection of the urinary metabolites of 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-(2-iodophenyl)methanone (AM-694), a high affinity cannabimimetic, by gas chromatography – mass spectrometry // Drug Test. Anal. 2013. V. 5. P. 110-115.

Kavanagh P., Grigoryev A., Melnik A., Simonov A. The identification of the urinary metabolites of 3-(4-methoxybenzoyl)-1-pentylindole (RCS-4), a novel cannabimimetic, by gas chromatography/mass spectrometry // J. Anal. Toxicol. 2012. V. 36. P. 303-311.

Grigoryev A., Kavanagh P., Melnik A., Savchuk S., Simonov A. Gas and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Detection of the Urinary Metabolites of UR-144 and Its Major Pyrolysis Product // Journal of Analytical Toxicology. 2013. V. 37. N. 5. P. 265-276.

Grigoryev A., Kavanagh P., Pechnikov A. Human urinary metabolite pattern of a new synthetic cannabimimetic, methyl 2-(1-(cyclohexylmethyl)-1H-indole-3-carboxamido)-3,3-dimethylbutanoate // Forensic Toxicol. 2016. V. 34. P. 316-328.

Кандидат химических наук
02.00.02–Аналитическая химия

Григорьев А.М.

Подпись кандидата химических наук А.М. Григорьева удостоверяю:

подпись А.М. Григорьева
А.В. Смирнова



ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата химических наук

Григорьева Андрея Михайловича на диссертационную работу

Шевляковой Олеси Александровны «Определение флавоноидов горянки и их метаболитов методом тандемной хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук 02.00.02 – Аналитическая химия

Диссертация О.А. Шевляковой посвящена одному из частных вопросов анализа растительного сырья и готовых форм, получаемых из него – определению пренилированных флавоноидов в препаратах горянки. Выбранную тему следует считать актуальной по следующим причинам:

- необходимость наличия методик анализа разнообразных растительных форм, используемых в пищевой и фармацевтической промышленности при учете многочисленности соединений, находящихся в них и считающихся биологически активными;

- необходимость корректировки аналитических схем с учетом появления новых методов подготовки проб и аппаратного оформления, что нередко приводит к увеличению достоверности получаемой информации;

- необходимость контроля состава сырья и готовых форм ввиду их разнообразия и распространения фальсификатов.

Автор тщательно и скрупулезно спланировала и выполнила работу. Научная новизна заключается в исследовании процессов ионизации и фрагментации пренилированных флавоноидов горянки и их гликозидов, определение характеристичных ионов-продуктов и оптимизация условий фрагментации. Данный сегмент описан достаточно детально и аргументированно. Это же касается выбора способа подготовки проб: автором определены коэффициенты извлечения аналитов для методов твердофазной и жидкостно-жидкостной экстракции, причем во втором случае применялись экстрагенты различного состава. Для каждого способа подготовки проб были определены матричных факторы,

влияющие на чувствительность и правильность анализа. На основании полученных данных предложена и аттестована методика измерений содержания икариина, икаритина, икаризида I, икаризида II, эпимедина А, эпимедина В и эпимедина С в растительном сырье и в биологически активных добавках. Работоспособность методики проиллюстрирована посредством анализа трех препаратов горянки, что указывает на практическую значимость проведенного исследования.

Несколько обособленно от основного направления исследований выглядит работа по оптимизации процессов экстракции флавоноидов горянки из растительного сырья сверхкритичной углекислотой. Однако, следует отметить, что данное исследование (1) актуально ввиду перспективности метода; (2) выполнено на высоком уровне и позволило получить хорошие результаты; (3) является очевидным продолжением после разработки методики анализа смесей, содержащих флавоноиды горянки.

Весьма интересным в научном плане выглядит исследование экскреции флавоноидов горянки с мочой крыс, и – в особенности – поиск метаболитов этих флавоноидов, включая интерпретацию структур на основе результатов хроматомасс-спектрометрических данных. Автором обнаружены соединения, предположительно являющиеся моногидроксилированными метаболитами всех шести вводимых флавоноидов. Приемы, использованные для определения характеристик структур найденных метаболитов, являются достаточно аргументированными и не вызывают возражений.

Важной особенностью всей работы следует считать применение современного высокотехнологического аналитического оборудования, и, в первую очередь – масс-спектрометров, включающих узел орбитальной ионной ловушки и ориентированных, главным образом, на работу с не охарактеризованными соединениями.

Диссертация прекрасно оформлена, поддержана значительным числом публикаций, а изложенный в ней материал хорошо структурирован.

К данной работе есть ряд замечаний и вопросов.

Общие замечания.

1. Полагаю, что следовало уделить больше внимания хроматографической части (включая применение твердофазной экстракции) ввиду ее важности при работах со сложными смесями биологического происхождения. В целом, обращенно-фазовая жидкостная хроматография мало пригодна для разделения изомеров по положению функциональных групп, имеющих одинаковую массу и нередко встречающихся в смесях метаболитов. Возможное соэлюирование подобных изобаров не позволяет получать корректные масс-спектры.

2. Как отмечено выше, в своей работе автор использовала современное и высокотехнологичное – и, следовательно, дорогостоящее оборудование. Возможно, разработку и аттестацию методик измерения содержания следовало бы проводить с помощью более дешевых (а значит, распространенных) инструментов? Такой подход повысил бы востребованность проделанной работы.

3. Использование программных продуктов (в частности, предназначенных для предсказания характеристик метаболитов) безусловно, полезно в плане снижения объема малоквалифицированных работ. Их можно рассматривать как справочное пособие. Однако, ввиду сложности и разнообразия метаболических процессов, полагаю, что сопоставлять структуры обнаруженных метаболитов следует не с результатами работы таких программ, а с публикациями исследований *in vivo* и *in vitro*.

Частные замечания.

1. В работе присутствует ряд терминологических несоответствий, например: «получение тандемных масс-спектров в режиме зависимого сканирования».

ИЮПАК (2013) рекомендует термин «data-dependent acquisition», который можно было бы перевести как «информационно-зависимая регистрация»

Следует отметить, что получение масс-спектров высоких порядков возможно не только с помощью тандемных масс-фильтров, но и ионных ловушек (МС/МС во времени).

2. Стр. 44 «кислота серная концентрированная»

Обычно указывают минимальную допустимую концентрацию.

3. Стр. 46 «гибридным масс-спектрометром QExactive с квадрупольным масс-анализатором и с орбитальной ионной ловушкой высокого разрешения»

квадрупольным масс-фильтром, т.к. анализатором можно считать всю ЖХ-МС систему, либо масс-спектрометр

Заключение о соответствии диссертации требованиям Положения о порядке присуждения учёных степеней.

Указанные недостатки не оказывают существенного влияния на оценку общего уровня научной и практической значимости представленного исследования. Диссертантом проделана значительная и разнообразная работа. Ее основным достоинством можно считать успешные аналитические подходы, найденные диссертантом для решения сложных задач – определения флавоноидов горянки в растительном сырье, включая процессы экстракции и последующего анализа получаемых экстрактов, а также обнаружения метаболитов в моче крыс.


По актуальности, объёму проведённой работы, научной новизне и практической значимости диссертация Шевляковой Олеси Адександровны «Определение флаворноидов горянки и их метаболитов методом тандемной хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия, удовлетворяет требованиям нормативных документов ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям и установленным п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842,

а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук. Результаты работы могут быть использованы для определения флавоноидов горянки в растительном сырье, биологически активных добавках и лекарственных средствах для подтверждения качества и ограничения попыток фальсификации.

Судебный эксперт (эксперт-химик) судебно-химического отдела
Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской
области «Бюро судебно-медицинской экспертизы»

кандидат химических наук

(02.00.02 – Аналитическая химия)



Григорьев Андрей Михайлович

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской
области «Бюро судебно-медицинской экспертизы»

111401, г. Москва, 1-ая Владимирская ул., д.33, корп.1

тел. 8(499) 688-87-61

E-mail: chrzond4250@yandex.ru

Подпись кандидата химических наук Андрея Михайловича Григорьева

удостоверяю:

И.О. зам. нач. по кадрам



15.09.16