



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

«РОССИЙСКИЙ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ имени Д.И. Менделеева»  
(РХТУ им. Д.И. Менделеева)

Миусская пл., д. 9, Москва, 125047 Тел. 8(499) 978-87-33 факс 8(495) 609-29-64 E-mail: rector@muctr.ru www.muctr.ru  
ОКПО 02066492 ОГРН 1027739123224 ИНН/КПП 7707072637/770701001

09.02.2017 № ЕЮ-01/300

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. ректора ФГБОУ ВО

«Российский химико-

технологический университет

им. Д.И. Менделеева»

член-корр. РАН, проф.

д.х.н. Юртов Евгений Васильевич

28 января 2017



### О Т З Ы В

ведущей организации ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева» 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

Противодействие незаконному обороту наркотиков было и остается одним из приоритетных направлений правоохранительной деятельности. Данной проблеме уделяется постоянное внимание со стороны органов государственной власти, органов местного самоуправления, общественных объединений и организаций.

Достаточно актуальным вопросом является необходимость выработки мер оперативного реагирования с целью пресечения незаконного оборота массово появившихся в последние годы психоактивных веществ типа «спайсов»:

искусственно синтезированных соединений, воздействующих на каннабиноидные рецепторы и воспроизводящих действие тетрагидроканнабинола – активного вещества марихуаны, гашиша и подобных наркотических средств. Вариация данных веществ может достигать нескольких тысяч различных соединений, что значительно затрудняет борьбу с их распространением.

В рассматриваемой работе автором сделана попытка систематизировать воедино комплекс соответствующих химических и токсикологических исследований, предложены пути решения данной проблемы, приведены алгоритмы возможных исследований, обсуждены получаемые результаты на предмет их практической значимости.

Отдавая должное объему работы и научной обоснованности теоретической проработки проекта рецензируемых методических рекомендаций, на наш взгляд, следует подробнее отметить следующие основные моменты, на наш взгляд, имеющие значение.

Несмотря на то, что работа автора основана на практическом материале в области судебно-токсикологической экспертизы, она интересна для самого широкого круга практикующих экспертов и научных работников, включая экспертов профильных судебно-экспертных учреждений МВД России, Минюста России, ФСБ России, Минобороны России, таможенной службы и других министерств и ведомств. Также, несмотря на тот факт, что в большинстве указанных ведомств токсикологическая экспертиза в перечень видов (родов) выполняемых судебных экспертиз не включена. Практические разделы проработаны достаточно квалифицированно, даны рекомендации по непосредственному проведению экспериментов, аппаратурному оформлению и вариации соответствующих методик.

Представленная на отзыв диссертационная работа Григорьева А.М. посвящена развитию хроматомасс-спектрометрических методов обнаружения ксенобиотиков и их производных в биологических образцах, направляемых на исследование в лаборатории химико-токсикологического и судебно-химического профилей для установления причин возможной интоксикации. Быстрое развитие

ХМС методов, удешевление аппаратной базы, чрезвычайно высокая емкость и достоверность получаемых результатов делает их применение единственно возможным решением для детального анализа биообразцов – смесей сложного и многообразного состава при огромным и постоянно увеличивающимся числе контролируемых соединений. Первым шагом при создании ХМС методики анализа является определение характеристик аналитов (масс-спектров, условий их получения, значений удерживания при выбранных условиях разделения). Эта задача осложнена не только труднодоступностью стандартных соединений, но и их отсутствием в тех распространенных случаях, когда эти вещества обнаруживаются впервые. Поэтому обнаружение подобных соединений в биообразцах, определение структур и иных необходимых характеристик в пределах возможностей ХМС методов необходимо для включения их в поисковую ХМС библиотеку, применяемую при автоматизированном качественном анализе, а также для синтеза стандартных соединений, требуемых для создания методик количественного определения. Решение подобных задач определяет **актуальность и практическую значимость** диссертационной работы. Можно отметить некоторую парадоксальность ситуации, в которой выполнена данная работа: ее актуальность и значимость определяются успехами, достигаемыми в иных областях науки (и, в частности, биохимии), позволяющими направленно синтезировать биологически активные – психотропные – соединения, распространяемые на нелегальных рынках.

**Научная новизна** работы базируется на сумме подходов, разработанных автором и позволившим обнаруживать множество неизвестных ранее соединений в аутентичных биообразцах.

Единственным объединяющим признаком соединений, свойства которых автор определяет в своей работе, является наличие биологической активности. Однако этот признак не подразумевает структурного подобия, позволяющего сводить результаты в единую обобщенную систему, и поэтому в диссертации отсутствует литературный обзор, выделенный в виде главы. Такая организация материала кажется необычной, однако, в начале каждой главы автор приводит

необходимые литературные сведения, являющиеся основой по ее тематике и представляющие собой специализированные обзоры. Материал изложен на 321 странице и разделен на пять основных глав, имеет введение, общие выводы, список цитируемой литературы и приложение. Каждая глава заканчивается заключением, обобщающем полученные результаты. Ввиду разнообразия подходов, экспериментальные условия описаны в каждой главе отдельно, причем приложение содержит только те экспериментальные условия, которые являются общими для всей работы. Диссертация содержит значительное число таблиц (49) и рисунков (179), в которых большей частью указываются характеристики обнаруженных соединений. Современность и высокая технологичность применяемых автором экспериментальных методов (жидкостная и газовая хроматография, совмещенная с масс-спектрометрией; методы ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопии) а также выбор объектов анализа – аутентичные образцы крови и мочи человека, отбираемые для проведения химико-токсикологических и судебно-химических экспертиз – свидетельствуют о высокой достоверности результатов.

Основные результаты работы доложены на 19 конференциях, а также опубликованы в русских и международных журналах (20 высоко цитируемых статей) и одной монографии.

В целом, диссертационная работа Григорьева А.М. содержит три последовательных смысловых блока:

- идентификация известных соединений при обзорном автоматизированном анализе методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии с применением сторонних и сформированных автором поисковых библиотек;
- идентификация соединений, о возможности образования которых известно ранее, но характеристики которых труднодоступны;
- выявление не описанных ранее соединений – метаболитов и продуктов деградации синтетических каннабимиметиков, а также артефактов, образующихся при пробоподготовке и хроматографическом элюировании.

Основные способы решения задач этой последовательности рассматриваются автором в **первой главе**. Автором представлена обоснованная и поддерживаемая мнениями других исследователей критика жестких подходов, принятых для идентификации аналитов рядом профессиональных организаций. Утверждается, что обязательное использование стандартных соединений и декларированное методиками ограничение факторов совпадения (Match Factor) малопригодно при качественном ХМС анализе тех биологических образцов, важнейшим свойством которых является нормально-положительный результат: ввиду легкой доступности лекарственных и многих наркотических средств моча и кровь людей в большинстве случаев содержит те или иные вещества. Вместо этого предлагается использование ГХ-МС библиотек при обязательном проведении подтверждающих анализов, выполняемых после изменения условий разделения, способов дериватизации и других стадий пробоподготовки, а также учет присутствия веществ, сопутствующих ксенобиотикам – метаболитам, продуктам деградации и артефактам. Такой подход представляется практически важным.

Решение более сложной задачи – поиск неизвестных ранее соединений – не может быть достигнуто исключительно классическими инструментами, которыми располагает аналитическая химия, поскольку аналитик изначально не располагает характеристиками этих соединений. Следовательно, возможность этого решения предполагает важнейшую первичную стадию: поиск представительных образцов. Автор справедливо утверждает, что обнаружение неизвестных ранее ксенобиотиков в биообразцах, осложненное процессами их химической и биохимической трансформации может выполняться только на основании достаточной информации об истории происхождения этих образцов.

Материал, излагаемый во **второй главе**, и относящийся к первому смысловому блоку (идентификация известных соединений) кажется несколько выходящим за рамки общей темы диссертации, заявленной автором. Однако следует учесть, что вопросы удерживания – важный фактор, ограничивающий ценность ГХ-МС библиотек и затрудняющий их использование. Отсутствие

стандартизированных условий ГХ разделения неизбежно влечет за собой необходимость приведения величин удерживания, содержащихся в библиотеках к тем условиям, которые приняты в конкретной аналитической лаборатории. Автором предложены простые способы коррекции индексов удерживания при изменении условной полярности ГХ фазы и температуры, позволяющие получать практически значимые величины в более чем 60% случаев и пригодные для принятия оперативных решений об идентификации соединения. Объяснение наблюдаемых зависимостей индексов удерживания от температуры и полярности фазы, предпринятое на основании определения характеристик зон конвергенции гомологических рядов, более относится к области физической химии. Тем не менее, полученный результат согласуется с наблюдаемыми эффектами, и, следовательно, описание проведенной автором работы пригодно для включения в текст диссертации.

**В третьей главе** автор рассматривает ситуацию, нередко возникающую при проведении химико-токсикологических и судебно-химических экспертиз и заключающуюся в возможном отсутствии исходного ксенобиотика в биообразцах. Это характерно для соединений нестабильных или подверженных интенсивной биотрансформации. В этом случае для вынесения заключений о характере исходного ксенобиотика, попавшего в организм, предлагается обнаружение продуктов его трансформации. Автором описаны решения, относящиеся к четырем ксенобиотикам и потребовавшие идентификации продуктов их трансформации, структуры которых базировались на основании химических свойств исходных соединений, известных ранее.

**Четвертая и пятая главы**, составляющие важнейшую часть диссертации, посвящены теме определения характеристик метаболитов синтетических каннабимиметиков — новых психоактивных и полностью метаболизируемых соединений. Учитывая отсутствие информации о метаболических путях исходных соединений и о ХМС характеристиках метаболитов, экскретируемых с мочой, автором предложены решения сложнейших задач. Представленный обширный экспериментальный материал позволил выявить около 300 соединений,

являющихся продуктами биотрансформации 14 синтетических каннабимиметиков индольной и индазольной природы. Для определения их структур автором варьировались способы ионизации (электронный и электрораспылительный варианты), что существенно повышало достоверность выводов. Химическая модификация выявляемых соединений позволяла получать уточняющую информацию об особенностях структур в тех случаях, когда стандартные ХМС подходы оказывались недостаточными. Трудно переоценить практическую пользу представленной динамики экскреции выявленных метаболитов с мочой человека. Поскольку обычным способом употребления синтетических каннабимиметиков является курение, автором учтена возможность не-биохимической трансформации ксенобиотиков, и, в первую очередь, термолиза. В наибольшей степени это относится к тетраметилциклопропановому производному UR-144, для которого идентифицированы продукты химической и термической деградации, в действительности попадающие в организм человека и выявлены соответствующие им метаболиты.

Диссертационная работа Григорьева А.М. содержит значительное количество экспериментальных данных. Сложность их интерпретации, заключающаяся в определении структур неизвестных ранее соединений в значительной степени автором преодолена, и сделанные выводы следует считать достоверными. Практические следствия работы — в первую очередь, ХМС характеристики обнаруженных соединений — необходимы для автоматизированного анализа биообразцов с целью определения причин интоксикации. Эти результаты применимы для использования в любых лабораториях, занятых практическим определением ксенобиотиков в биологических образцах и, в первую очередь, для судебно-химических и химико-токсикологических лабораторий. Они будут полезны для научно-исследовательских учреждений, занятых в области фармакологии, токсикологии, наркологии, биохимии и иных учреждений медицинского профиля, а также для любых специалистов и работников, интересующихся данной областью знаний. Считаю безусловным то, что полученные данные совершенно необходимы для

синтеза стандартных соединений, использование которых позволит проводить количественное определение производных ксенобиотиков в биообразцах.

К представленной работе есть ряд замечаний.

1. Автор практически не уделяет внимания описанию возможных ошибок при выполнении идентификации аналитов, приводящих к появлению ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

2. Как отмечено выше, автором выявлены более 300 метаболитов и иных производных рассмотренных ксенобиотиков, и их индексы удерживания сведены в соответствующие таблицы. Однако автор приводит лишь часть масс-спектров обнаруженных соединений, и такой подход несколько снижает доказательную базу диссертации.

3. В главе 2 автор обсуждает вопросы формирования ХМС библиотек и приводит рекомендуемые ГХ условия. В этом случае было бы полезным привести список соединений, включенных в базовые версии библиотек.

В качестве замечания так же следует отметить, что практическая отработка проведена на объектах классов нафтоиндолов, фенилацетилиндолов, бензоиндолов (так называемая «JWH-серия» первой генерации), а также объектах алканоильной и «индазольной» серии, т.е., на «синтетических канабиноидах», имевших активное хождение на территории Российской Федерации в период 2009-2011 года, и практически не затронуты контролируемые вещества, встречающиеся в настоящее время (структурные аналоги пировалерона, замещенные и свободные кето-фенэтиламины, соединения с циклопропанкарбонильными заместителями, 3-замещенные индол- и индазолкарбоксамиды, индолкарбоксилаты, нафтоилпирролы и т.п.), в связи с чем диссертанту и его последователям открывается широкое поле для дальнейшего совершенствования и отработки предлагаемых методик.

Перечисленные замечания не оказывают существенного влияния на общую оценку работы, в которой представлены практически важные и своевременные аналитические решения. Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что диссертация Григорьева А.М. «Хроматомасс-спектрометрические методы



выявления метаболитов лекарственных средств и синтетических каннабимиметиков», является завершенной исследовательской работой, выполненной на высоком научном уровне, отвечает паспорту специальности 02.00.02 – Аналитическая химия, а по актуальности, объему экспериментальной работы, научной новизне и практической значимости соответствует всем 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. Автор, Григорьев Андрей Михайлович, заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия (химические науки).

Секретарь каф. экспертизы в допинг- и  
наркоконтроле РХТУ им. Д.И.Менделеева, лаборант

Трефилова Валерия Владимировна,

Зав. каф. экспертизы в допинг- и

наркоконтроле РХТУ им. Д.И.Менделеева, доцент, к.т.н.

Коваленко Алексей Евгеньевич

Отзыв на диссертацию Григорьева А.М. подготовлен доцентом, к.т.н. Коваленко А.Е., рассмотрен и утвержден на заседании кафедры «Экспертизы в допинг- и наркоконтроле» Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева 20 января 2017 года, протокол №.1

Подпись А.Е. Коваленко, В.В. Трефиловой удостоверяю:  
И.О. Ученого секретаря  
ГООУ ВПО РХТУ

Вартанян Мария Александровна

125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9. ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», кафедра экспертизы в допинг- и наркоконтроле.

тел.: +7(495) 4952426 E-mail: aekov@muctr.ru

Дата 28 января 2017



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

“РОССИЙСКИЙ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ имени Д.И. Менделеева”  
(РХТУ им. Д.И. Менделеева)

Миусская пл., д. 9, Москва, 125047 Тел. 8(499) 978-87-33 факс 8(495) 609-29-64 E-mail: rector@muctr.ru www.muctr.ru  
ОКПО 02066492 ОГРН 1027739123224 ИНН/КПП 7707072637/770701001

№ Ф.10.26.48/242

Председателю диссертационного совета  
Д 501.001.88 на базе ФГБОУ ВО  
«Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова»,  
академику РАН Золотову Ю.А.

Глубокоуважаемый Юрий Александрович!

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Российский химико-технологический университет им.  
Д.И. Менделеева» согласно выступить в качестве ведущей организации по  
защите докторской диссертации Григорьева Андрея Михайловича на тему:  
«Хроматомасс-спектрометрические методы выявления метаболитов  
лекарственных средств и синтетических каннабимиметиков» по специальности  
02.00.02 – Аналитическая химия.

Сведения о ведущей организации прилагаются.

Приложение: приложение №1 на 2 листах

И.о. ректора Федерального  
государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
образования «Российский химико-  
технологический университет  
им. Д.И. Менделеева»  
член-корр. РАН, проф., д.х.н.



Е.В. Юртов

02.00.02 – Аналитическая химия

Сведения о ведущей организации прилагаются

Приложение: приложение №1 на 2 листах

Сведения о ведущей организации

по диссертации Григорьева Андрея Михайловича «Хромато-масс-спектрометрические методы выявления метаболитов лекарственных средств и синтетических каннабимиметиков», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия

Полное название организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева»
Сокращенное название организации в соответствии с уставом	ФГБОУ ВО «РХТУ им. Д.И. Менделеева»
Ведомственная принадлежность	Министерство образования и науки Российской Федерации
Место нахождения	г. Москва, Миусская площадь, д. 9
Почтовый индекс, адрес организации	125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9
Телефон	+7 (499) 978-86-57
Адрес электронной почты	rector@muctr.ru
Адрес официального сайта в сети Интернет	http://www.muctr.ru
Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	
1.	Коваленко А. Е., Майбурова А. С., Колотухина А. А., Кузнецова А. А. Сравнительное исследование гашиша и установление общности источника его происхождения. // Бутлеровские сообщения. 2016. Т.46. №6. С.110-112.
2.	Долгов К.С., Киричек А.В. Исследование новообразования алифатических спиртов группы C1-C5 в биологическом материале и изучение динамики их концентраций в постмортальном периоде. // Бутлеровские сообщения. 2016. Т.46. №6. С.11-18
3.	Естенова Ж.Р., Коваленко А.Е., Андреева Н.В., Борзова Ю.В. Экспертное исследование «дизайнерских наркотиков» на примере α-пирролидиновалерофенона, производного N-метилэфедрона. // Бутлеровские сообщения. 2016. Т.46. №6. С.129-132.

4. Колотухина А. А., Майбурова А.С., Филатова И.А., Баберкина Е.П. Оптимизация условий пробоподготовки для анализа аминокислотного состава продуктов животного происхождения. // Бутлеровские сообщения. 2016, Т.46. №6. С.133-135.
5. Михура И.В., Формановский А.А., Румянцева М.М., Борисова Г.А. Производные n-этиламида 3-индолкарбоновой кислоты. // Бутлеровские сообщения. 2016, Т.46. №6. С.71-73.
6. Шилова Е.Ю., Шабалина А.Э., Киричек А.В. Определение половых стимуляторов тадалафила и силденафила в фальсифицированных биологически активных добавках к пище. // Бутлеровские сообщения. 2014, Т.38. №4. С.126-133.
7. Шестакова С.В., Новиков А.М., Коледова А.Ю., Коваленко А.Е. Химическое исследование синтетических каннабиноидов ряда индазол-3-карбоксамидов на примере АВ-PINACA и его производных. // Бутлеровские сообщения. 2014, Т.38. №4. С.153-157.
8. Коваленко А.Е., Кардонский Д.А., Еганов А.А., Степанова О.Г., Шестакова С.В., Плешакова И.И. Разработка газохроматографического метода определения три-н-бутилфосфата в антигемофильных препаратах. // Бутлеровские сообщения. 2014, Т.38. №4. С.79-82.
9. Коваленко А.Е., Кардонский Д.А., Еганов А.А., Степанова О.Г., Шестакова С.В., Плешакова И.И. Газохроматографическое определение твин-80 в готовых лекарственных формах препаратов, полученных на основе плазмы крови человека. // Бутлеровские сообщения. 2014, Т.38. №4. С.83-86.
10. Смолянский А.С., Загайнов В.А., Бирюков Ю.Г., Степанова О.Г., Магомедбеков Э.П., Трахтенберг Л.И. Структурные свойства слоев нано-/микрочастиц серебра, синтезированных на поверхности ядерных фильтров методом аэрозольного напыления // Научный журнал: Композиты и наноструктуры, том 6, № 3, 2014 с 137-147
11. Коваленко А.Е., Винарский В.А., Юрченко Р.А., Кузовлев В.Ю., Гладырев В.В. Масс-спектрометрия и хромато-масс-спектральный анализ // М., Издательство РХТУ, 2013, с. 152