



Федеральное медико-биологическое агентство  
(ФМБА России)  
Федеральное государственное унитарное  
предприятие  
"Научно-исследовательский институт  
гигиены, профпатологии и экологии человека"  
Федерального медико-биологического агентства  
(ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России)

188 663, Ленинградская область, Всеволожский район,  
г.п. Кузьмоловский, ст. Капитолово, корп. №93  
т/факс (812) 449-61-77; (812) 449-62-80; (812) 606-62-81; (812) 606-62-83  
E-mail: gpech@fmbamail.ru; niigpech@rihophe.ru

ИНН 4703008032, КПП 470301001 ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России филиал ОПЕРУ ОАО Банк ВТБ в Санкт-Петербурге г. Санкт-Петербург, р/с 40502810236000000178 к/с 30101810200000000704  
БИК 044030704 ОКПО: 11170739, ОКВЭД: 73.10, ОКФС 12, ОКОПФ 65241, ОКОГУ 1320760, ОКАТО 41212558000

« 06 » \_\_ 05 \_\_ 2019 г № 2.10-19/583

УТВЕРЖДАЮ:

и.о. директора ФГУП «НИИ ГПЭЧ»  
ФМБА России, доктор медицинских  
наук, профессор



А.С.Радилов

**ОТЗЫВ**

ведущей организации на диссертационную работу Азарян Алисы Андреевны на тему «Хромато-масс-спектрометрическое определение некоторых ксенобиотиков и катехоламинов в биологической жидкости человека», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия

**Актуальность темы диссертационной работы и соответствие научной специальности «аналитическая химия»**

Разработка методик определения токсикологически актуальных соединений в биологических жидкостях человека находится в ряду наиболее важных приложений аналитической химии. Немедицинское употребление

психоактивных веществ и стимуляторов является одной из острых социальных проблем современности. От того, насколько оперативно сообщество аналитиков будет реагировать на этот вызов, во многом зависит эффективность работы служб, призванных с ним бороться. Практика работы химико-токсикологических лабораторий такова, что обнаружение «дизайнерских» психоактивных веществ может проводиться ими в соответствии с авторскими методиками, опубликованными в рецензируемых изданиях. Таким образом, диссертационное исследование А.А.Азарян в совокупности с публикациями по теме работы чрезвычайно актуальны и отвечают запросу практики. Обнаружение и идентификация недекларированных лекарственных средств в биологически активных добавках (БАД), распространяемых не только через интернет, но и легально в аптечной сети, также отвечает важной задаче, пока не решаемой на государственном уровне. Разработка научно-методического обеспечения для контроля БАД на содержание искусственных недекларируемых ингредиентов требует накопления экспериментального опыта в этой области химического анализа, что также обуславливает актуальность исследований соискателя. Таким образом, диссертация А.А.Азарян выполнена на актуальную тему и в полной мере соответствует специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

### **Объем, структура и содержание диссертационной работы**

Диссертационная работа изложена на 124 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу и 19 рисунков, состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части и обсуждения результатов, общих выводов и списка цитируемой литературы, состоящего из 145 наименований.

Литературный обзор в полной мере отвечает содержанию работы. В таблице 1 представлены методики обнаружения и идентификации «аптечных наркотиков» в биожидкостях человека. Таблица позволяет получить систематизированные сведения по этой актуальной проблеме в компактной форме. Литературный обзор завершается выводами, из которых закономерно вытекают задачи диссертационного исследования, решению которых посвящена 2 глава, состоящая из семи разделов. В разделе 2.1 суммированы материалы и методы исследования, в разделе 2.2 обоснован выбор метода исследования для определения токсикологически актуальных ксенобиотиков и катехоламинов в биологических жидкостях человека, разделы 2.3 – 2.7

посвящены непосредственному изложению и обсуждению результатов исследований. Скрининг и идентификация наркотических и психоактивных веществ в продуктах спортивного питания (раздел 2.3) – большая экспериментальная работа, итогом которой явилась полезная практическая информация о содержании запрещенных веществ в жиросжигателях и предтренировочных комплексах, систематизированная в таблице 6. В разделах 2.4 и 2.5 представлены процедуры определения тестостерона и эфедрина (раздел 2.4), а также наиболее актуальных наркотических средств (раздел 2.5) в моче человека. В разделе 2.6 обоснован выбор метода гидрофильной ВЭЖХ в сочетании с тандемным масс-спектрометрическим детектированием, представлена и метрологически охарактеризована соответствующая методика. Раздел 2.7 посвящен определению катехоламинов в моче с применением экстракционной дериватизации непосредственно на патронах для твердофазной экстракции. Все аналитические процедуры, разработанные соискателем, апробированы в анализе искусственно приготовленных и реальных образцов.

### **Научная новизна исследований и полученных результатов**

Все исследования выполнены на аналитической платформе хроматомасс-спектрометрии и содержат ряд новых подходов к реализации этого метода. Оригинальная методика определения катехоламинов в моче человека в виде производных, получаемых непосредственно на патронах для твердофазной экстракции, позволяет сократить время и существенно повысить селективность и чувствительность ВЭЖХ-МС/МС анализа.

Определение фенибута, прегабалина, габапентина,  $\alpha$ -PVP, 4-MEC, MDPV, цикломеда, тропикамида, дифенилпирролидина, атропина и скополамина в моче человека и продуктах спортивного питания в рамках унифицированного подхода является новым аналитическим решением, позволяющим проводить количественное определение достаточно большой группы аналитов с существенно различающимися физико-химическими характеристиками.

### **Практическая значимость работы**

Аналитические процедуры, разработанные А.А.Азарян, могут быть применены в практике химико-токсикологического анализа и допингового контроля. Проанализированные соискателем образцы БАД позволяют

получить представление о том, какие именно недеklarированные субстанции наиболее часто встречаются в составе БАД, доступных для потребителя. Профили катехоламинов в моче являются важным диагностическим признаком, позволяющим обнаружить метаболические нарушения, вызванные как неконтролируемым приемом некоторых препаратов, так и эндогенными причинами.

### **Достоверность результатов, обоснованность выводов и рекомендаций**

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается использованием современного высокотехнологичного оборудования, аналитических стандартов определяемых веществ, положительных результатов метрологических оценок и валидационных испытаний разработанных методик и их успешной апробацией при анализе реальных образцов. Положения, выносимые на защиту, отвечают цели и задачам работы, характеризуются научной новизной, теоретически обоснованы и экспериментально доказаны. Выводы закономерно вытекают из экспериментальных результатов. Работа А.А.Азарян является оригинальным, самостоятельным, завершенным исследованием. Структура и объем диссертационной работы, выводы, опубликованные соискателем статьи полностью отражают и подтверждают научные положения, рассматриваемые в данной диссертации. Автореферат отражает содержание диссертации. Оформление диссертации и автореферата соответствует установленным требованиям.

По материалам диссертации опубликовано 4 статьи, 6 тезисов докладов и получен 1 патент РФ на изобретение. Статьи опубликованы в высокорейтинговых журналах: «Chromatographia» и «Журнал Аналитической химии». Представленные в диссертационной работе материалы обсуждены на профильных конференциях.

Необходимо отметить, что работа А.А.Азарян является законченным научным исследованием и в полной мере отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с паспортом специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Вместе с тем, при ознакомлении с работой возникает ряд вопросов и замечаний:

1. По утверждению автора «Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) позволяет проводить идентификацию различных ксенобиотиков в криминалистических и токсикологических лабораториях с последующим подтверждением полученных результатов с помощью методов газовой хромато-масс-спектрометрии». По нашему опыту, если определяемые ксенобиотики неизвестны, первоначально в скрининге применяют ГХ-МС, а ВЭЖХ-МС/МС уже в подтверждающем режиме. Если ксенобиотики и их метаболиты нелетучи и не образуют летучих производных (как, например, мельдоний), ГХ-МС вообще не дает полезной информации.
2. В разделе «Практическая значимость» автор ограничивается упоминанием об аттестованной и внедренной в практику методике определения мельдония. Практическая ценность работы значительно шире: сведения о запрещенных ингредиентах в БАД и процедуры их обнаружения, методики определения широкой группы запрещенных веществ в моче, диагностическая ценность профиля катехоламинов в моче.
3. Характеризуя методику определения мельдония в моче как оригинальную, нужно было конкретно указать, чем методика отличается от опубликованных аналогов, также основанных на применении гидрофильной ВЭЖХ-МС/МС. В частности, от методики C. Görgens, S. Guddat, J. Dib, H. Geyer, W. Schänzer, M. Thevis // *Drug Test. Anal.* –2015. –V. 7. –P. 973–976 (ссылка № 116 в списке литературы). Попутно отметим, что мельдоний является структурным аналогом  $\gamma$ -бутиробетаина, но не «полным аналогом», как неоднократно указывается в работе.
4. Все аналитические процедуры, разработанные при выполнении диссертационного исследования, относятся к анализу мочи, другие биологические жидкости в качестве биоматриц упоминаются только в литобзоре. Возможно, название работы следовало конкретизировать.
5. При определении психоактивных веществ в качестве внутреннего стандарта была выбрана аминофенилмасляная кислота, которая «полностью метаболизируется». Выбор внутреннего стандарта нельзя назвать удачным. Есть медленные и очень медленные метаболиты по отношению к этому веществу, особенно среди

наркозависимых, у которых могут быть «выключены» некоторые ферменты.

6. Габапентин при определении мельдония – также не вполне удачный внутренний стандарт, поскольку нельзя заведомо исключить его присутствие в любой биопробе. Кроме того, психоактивное вещество в качестве внутреннего стандарта, связано с неоправданными проблемами для лабораторий. В целом можно сказать, что выбор лекарственных средств в качестве внутренних стандартов возможен при исследовании фармакокинетики или биоэквивалентности с участием добровольцев, когда прием каких-либо лекарственных средств, тем более, психоактивных веществ, исключается. В химико-токсикологическом анализе, как и в допинговом контроле, можно использовать только внутренние стандарты, которые заведомо будут отсутствовать в исследуемых биопробах.
7. Характеризуя методику определения психоактивных веществ в моче, автор указывает, что «чувствительность предложенной методики можно назвать несколько избыточной». Это утверждение нуждается в пояснении. Для беспороговых субстанций, к каковым относятся психоактивные вещества, избыточной чувствительности быть не может.
8. В работе указано, что «концентрации аналитов (катехоламинов) находили по градуировочным графикам, полученным в день анализа». Означает ли это, что градуировочные характеристики были нестабильными?
9. Соискатель сообщает, что при анализе реальных образцов мочи «концентрации соединений составили для: адреналина  $65 \pm 10$ , дофамина  $258 \pm 38$ , октопамина  $73 \pm 11$  нг/мл. Как соотносятся границы определяемых концентраций аналитов, которые устанавливали экспериментально: для 9-флуоренил-метоксикарбонил адреналина 2.5; для 9-флуоренил-метоксикарбонил октопамина 5; для 9-флуоренил-метоксикарбонил дофамина 25 нг/мл, с существенно более высокими уровнями биогенного фона этих соединений в моче?

### **Заключение**

Высказанные замечания носят частный характер и не отражаются на общей положительной оценке исследования. Диссертационная работа Азарян Алисы Андреевны «Хромато-масс-спектрометрическое определение

некоторых ксенобиотиков и катехоламинов в биологической жидкости человека» вносит существенный вклад в теорию и практику химико-токсикологического анализа, является законченной научно-квалификационной работой на актуальную тему. Экспериментальный материал, представленный в работе, по объему и качеству заслуживает самой высокой оценки. На основании выполненных автором исследований решены актуальные задачи, связанные с обнаружением и идентификацией наиболее часто употребляемых запрещенных веществ в составе БАД и основной матрицы химико-токсикологического анализа - мочи. Разработка методики определения катехоламинов в моче является ценным вкладом в аналитический инструментарий метаболомики.

Диссертация представляет законченное самостоятельное научное исследование. По объему, актуальности, уровню научных и практических результатов диссертационная работа «Хромато-масс-спектрометрическое определение некоторых ксенобиотиков и катехоламинов в биологической жидкости человека» соответствует требованиям п. 9 и п. 14 "Положения о порядке присуждения учёных степеней", утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 года № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Азарян Алиса Андреевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Отзыв заслушан и одобрен на заседании Ученого совета ФГУП «НИИ ГПЭЧ» (протокол № 3 от 25.04.2019 г.)

Заведующая лабораторией аналитической токсикологии,  
доктор химических наук



Е.И.Савельева

Почтовый адрес: 188 663, Ленинградская область, Всеволожский район,  
г.п. Кузьмолловский, ст. Капитолово, корп. №93  
тел.: (812) 449-61-77, доб. 240  
E-mail: niigrech@rihophe.ru