

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Темердашева Азамата Зауалевича

«Хроматомасс-спектрометрические методы в аналитической токсикологии и допинг-контроле», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия (Химические науки)

Психоактивные, сильнодействующие и наркотические вещества были известны с глубокой древности и их использовали в лекарственных и иных целях. С начала 60-х гг. наблюдается рост активности исследований в области синтеза новых соединений, отсутствующих в природе, но имеющих некоторое структурное подобие нейромедиаторам и природным психоактивным соединениям. Однако целый ряд исследований, проведенных в то время лег в основу разработки новых, так называемых «дизайнерских наркотиков». Низкие эффективные концентрации, невысокая стоимость производства и легальность в первые месяцы после их появления на рынке позволили им быстро выйти на уровень уже известных наркотических средств, а, порой, и превзойти их по популярности среди людей, страдающих наркотической зависимостью.

Наиболее распространенными методами их определения как в нативном виде, так и в форме метаболитов являются хроматомасс-спектрометрические методы анализа, среди которых несомненным лидером по количеству приборов в лабораториях является метод газовой хроматомасс-спектрометрии низкого разрешения на основе квадрупольных масс-анализаторов с источником электронной ионизации.

Несмотря на такие общеизвестные достоинства метода, как наличие библиотек масс-спектров, высокая эффективность и селективность разделения, его применение в целях идентификации новых соединений имеет ряд ограничений, в частности, среди которых не только отсутствие возможности установления элементной композиции, но и непредсказуемость

термической стабильности аналитов и их метаболитов, а также их физико-химических свойств, обуславливающих экстрактивность.

Принимая во внимание сложность рассматриваемых в диссертационном исследовании матриц (растительное сырье, вспомогательные препараты для спортсменов, биологические жидкости, продукты питания), а также широкий спектр потенциальных аналитов, разработка новых подходов к их экспрессному анализу является **крайне актуальной** задачей. Наиболее подходящими для этого являются методы тандемной масс-спектрометрии и масс-спектрометрии высокого разрешения, которые и были использованы Темердашевым Азаматом Зауалевичем для решения поставленных в диссертационной работе задач.

Работа логически структурирована и включает в себя подробный литературный обзор, в котором автор приводит исчерпывающую информацию о существующих методах и подходах к определению различных классов наркотических, сильнодействующих и психоактивных веществ, а также новых допинг-агентов. В разделах, посвященных экспериментальной части исследования подробно расписаны условия анализа и этапы оптимизации пробоподготовки в целях достижения большей степени извлечения или очистки проб от матричных компонентов.

Немаловажно также наличие описания путей попадания запрещенных Всемирным антидопинговым агентством (ВАДА) препаратов в организм человека. Зачастую спортсмен не изучает состав БАДов, предлагаемых ему к употреблению, и не может обеспечить тщательный контроль чистоты продуктов питания от различного рода ветеринарных препаратов.

Интересен предложенный автором работы подход, основанный на применении твердофазной аналитической дериватизации. Предложенный подход позволил значительно сократить время пробоподготовки, совместив его с очисткой пробы, что позволило снизить матричные эффекты и добиться низких пределов обнаружения.

Диссертационное исследование представлено на 374 страницах машинописного текста, включает 78 рисунков, 80 таблиц, 4 приложения и 621 источник в списке цитируемой литературы. В **автореферате работы и публикациях** полностью отражено содержание диссертации.

В литературном обзоре обсуждены вопросы базовой классификации, качественного и количественного анализа наркотических средств природного и синтетического происхождения в объектах природного и синтетического происхождения, а также различных биологических матрицах с использованием методов хроматомасс-спектрометрии. Отмечена резко возросшая роль масс-спектрометрии высокого разрешения для проведения нецелевого скрининга.

В экспериментальной части и обсуждении результатов описаны объекты исследования, используемые реактивы и материалы, средства измерения, приведены основные метрологические характеристики разработанных методов. Рассмотрены некоторые методические аспекты нового подхода пробоподготовки – твердофазной аналитической дериватизации, значительно облегчающего процедуру очистки проб и повышающего чувствительность анализа. Показаны возможности дисперсионной жидкость-жидкостной микроэкстракции в отношении извлечения стероидных гормонов и селективных модуляторов андрогенных рецепторов из мочи.

Достаточно большое внимание уделено аспектам применимости предлагаемых подходов в условиях рутинного анализа: обсуждены как стабильность результатов при потоковом исследовании однотипных проб, так и способы уменьшения нагрузки на детектор с целью увеличения стабильности получаемых результатов.

Рассмотрена возможность применения минерального и ферментативного гидролиза, обсуждены преимущества и недостатки данных методов подготовки проб для отдельно взятых классов веществ.

Особое внимание во всех главах экспериментальной части уделяется критериям качественного и количественного анализа. В качестве эталонных значений выбраны критерии ВАДА, которые, в ряде случаев, еще и расширились с целью повышения информативности.

Отмечена важность применения внутрилабораторного контроля качества, продемонстрирована вариативность результатов в различных рабочих диапазонах, приведена валидация в соответствии с требованиями FDA. Продемонстрирована возможность количественного анализа с использованием альтернативных внутренних стандартов, не меченных стабильными изотопами, что особенно важно для рутинных лабораторий.

Научная новизна результатов исследования заключается в следующем:

- Разработан комплексный подход целевого и нецелевого скрининга различных ксенобиотиков с использованием методов газовой и жидкостной хроматомасс-спектрометрии, включая жидкостную хроматомасс-спектрометрию высокого разрешения.

- Предложена методология полного цикла анализа образцов - от нативных веществ, их смесей, растворов, средств и препаратов на их основе, растительных материалов до их обнаружения в биологических жидкостях в нативном виде и форме метаболитов.

- Предложена аналитическая схема определения 52 наиболее распространенных наркотических и психоактивных средств природного и синтетического происхождения (тропановые, опиийные алкалоиды, α -аминоарилкетоны, а также ряд производных N алкилиндолилкетонов, N-алкилиндазолилкетонов) в различных объектах, включающая скрининг, идентификацию и определение аналитов хроматографическими методами.

- Для всех изученных наркотических соединений выявлены минимум два MRM-перехода при их исследовании методом УВЭЖХ-МС/МС, которые, в совокупности с установленными индексами удерживания и основными характеристичными ионами их ГХ-МС определения, позволяют проводить достоверное обнаружение следовых количеств аналитов.

– Изучены возможности различных вариантов нецелевого скрининга при изучении метаболизма ксенобиотиков, а также для целей аналитической токсикологии. Изучены особенности пробоподготовки мочи и спортивного питания методами дисперсионной жидкость-жидкостной микроэкстракции и твердофазной аналитической дериватизации.

– Выявлены и идентифицированы представители новых классов допинг-агентов: рилизинг-пептидов гормона роста, селективных модуляторов андрогенных рецепторов, некоторых стимуляторов и наркотических веществ. Показана возможность унификации методик скрининга широкого спектра допинг-агентов – анаболических стероидов, глюкокортикостероидов, селективных модуляторов андрогенных рецепторов и их метаболитов, наркотиков и стимуляторов.

Практическая значимость заключается в разработке методики скрининга и определения некоторых наркотических средств природного и синтетического происхождения, включая новые, «дизайнерские» катиноны и синтетические каннабиноиды, отвечающие требованиям экспрессности, точности и надежности. Разработанные методики используются в экспертно-криминалистическом центре Главного управления МВД России по Краснодарскому краю и бюро судебно-медицинской экспертизы г. Краснодара.

Разработанная методика определения мельдония в моче с использованием УВЭЖХ-МС/МС с электрораспылительной ионизацией в режиме гидрофильной хроматографии валидирована, метрологически аттестована и внесена в Федеральный реестр аттестованных методик измерений.

Методика определения мельдония в молоке использовалась для проведения исследования в рамках урегулирования спора с РУСАДА в целях демонстрации возможности контаминации продуктов питания запрещенными веществами. Исследование выполнено в рамках обращения юридической группы «КлеверКонсалт».

Показана возможность применения скрининга некоторых наркотических и психоактивных веществ в биологических жидкостях для химико-токсикологических и антидопинговых лабораторий.

Предложена методика определения некоторых наркотических и психоактивных веществ в биологических жидкостях.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, что обуславливается применением высокоточного современного аналитического оборудования, анализом литературных данных, детальным описанием полученных результатов экспериментов и валидацией всех разрабатываемых в работе методик.

Соответствие паспорту специальности 02.00.02 – аналитическая химия. Диссертационная работа Темердашева А.З. соответствует пункту 2 «Методы химического анализа», пункту 10 «Анализ органических веществ и материалов», пункту 13 «Анализ пищевых продуктов», пункту 15 «Анализ лекарственных препаратов» паспорта специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Темердашевым А.З. опубликованы 26 статей в высокорейтинговых отечественных и зарубежных журналах и более 20 тезисов докладов на Всероссийских и международных конференциях, получены 4 патента на изобретение, результаты его исследования включены в качестве самостоятельной главы в учебник по аналитической химии.

Однако, учитывая большой объем экспериментальных и теоретических данных, представленных в работе, возник ряд **вопросов и замечаний**:

1. Какова вероятность возникновения ложноположительного или ложноотрицательного результата при использовании двух методов – ГХ-МС и ВЭЖХ-МСВР в случае нецелевого анализа? Не станет ли появление термолабильных соединений, например, причиной ложного результата?

2. Рассмотренная методология реализуема только с использованием квадруполь-времяпролетных масс-спектрометров, но не рассматривает применения орбитальных ловушек, которые имеют большее разрешение на

низких массах. С чем это связано? Возможно ли расширение этого подхода и на них?

3. Большинство наркотических соединений обладает достаточно информативными спектрами электронной ионизации. Будут ли также эффективны спектры соудирательной диссоциации, чтобы составить полноценные библиотеки масс-спектров?

4. Исходя из содержания диссертации и автореферата, можно сделать вывод, что нецелевой скрининг в ВЭЖХ-МС/МС – это некая попытка заменить библиотеки масс-спектров в ГХ-МС, применение которых понятно и удобно для большинства специалистов в области хроматомасс-спектрометрии. Каковы перспективы нецелевого скрининга?

5. Описанная методология помогает, скорее, установить последовательную взаимосвязь между объектами, нежели объединяет разные объекты одним подходом. В самой работе присутствуют и описаны несколько различных методологических подходов, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки.

Сделанные замечания не ставят под сомнение качество выполненных исследований и не сказываются на общей положительной оценке всей работы. Полученные результаты имеют важное теоретическое и практическое значение и могут быть использованы в целях токсикологических, криминалистических экспертиз и допинг-контроля, являясь основой для разработки новых, современных подходов к анализу биологических объектов и изъятых в ходе оперативных действий, материалов.

Диссертационная работа Темердашева Азамата Зауалевича «Хроматомасс-спектрометрические методы в аналитической токсикологии и допинг-контроле» полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 с

изменениями от 01 октября 2018 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор достоин присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия (Химические науки).

Савчук Сергей Александрович
доктор химических наук, судебный эксперт
отделения судебно-химической экспертизы
ФГКУ «111 Главный государственный центр
Судебно-медицинских и криминалистических
экспертиз» Минобороны России
д.х.н. 02.00.02 – Аналитическая химия



07.06.2021 e-mail: serg-savchuk@yandex.ru; тел.: 8-903-740-93-90

Подпись Савчука Сергея Александровича заверяю:
Начальник отдела организационно-планового и методического
ФГКУ «111 Главный государственный центр судебно-медицинских
и криминалистических экспертиз» Минобороны России
105094, г. Москва, Хоспитальная пл., д. 3

« 7 » июня 2021 г.



В.Попов

