

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.101.16  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «КУБАНСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО  
ОБРАЗОВАНИЯ РФ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 30.05.2019 № 4

о присуждении Азарян Алисе Андреевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Хромато-масс-спектрометрическое определение некоторых ксенобиотиков и катехоламинов в биологической жидкости человека» по специальности 02.00.02 – аналитическая химия (химические науки) принята к защите 26 марта 2019, протокол № 2, диссертационным советом Д 212.101.16 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный университет» Министерства науки и высшего образования РФ, 350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149, приказ о создании № 420-368 от 14.03.2008 г, о подтверждении полномочий № 714/НК от 02.11.2012 г.

Азарян Алиса Андреевна, 1991 года рождения, в 2015 году окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный университет»; с 2015 года и по настоящее время обучается в аспирантуре на кафедре аналитической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный университет», работает преподавателем кафедры аналитической химии в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный университет» Министерства науки и высшего образования РФ.

Диссертация выполнена на кафедре аналитической химии факультета химии и высоких технологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный университет» Министерства науки и высшего образования РФ.

Научный руководитель – кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии факультета химии и высоких технологий федерального

государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный университет» Темердашев Азамат Зауалевич  
Официальные оппоненты:

**Шпигун Олег Алексеевич** – чл.-корр. РАН, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией хроматографии ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова";

**Апполонова Светлана Александровна** – кандидат химических наук, заведующая лабораторией фармакокинетики и метаболомного анализа ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – **Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России** (г. Санкт-Петербург) в своем положительном заключении, подписанном доктором химических наук, заведующей лабораторией аналитической токсикологии Савельевой Еленой Игоревной, указала, что диссертационная работа является завершенной научно-квалификационной работой по специальности 02.00.02 – аналитическая химия, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий. Работа соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным п. 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени по специальности 02.00.02 – аналитическая химия (химические науки).

Соискатель имеет 11 опубликованных работ, все по теме диссертации, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, отнесенных к Перечню ВАК РФ, и 1 патент РФ на изобретение.

Наиболее значимыми опубликованными работами являются:

1. Azaryan, A. LC–MS/MS determination of catecholamines in urine using FMOC-Cl derivatization on solid-phase extraction cartridge / A. Azaryan, T. Ligor, B. Buszewski, A. Temerdashev, E. Dmitrieva, E. Gashimova // *Chromatographia*. – 2018. – V. 81. – № 11. – P. 1487–1494.
2. Темердашев, А.З. Применение методов хромато-масс-спектрометрии для контроля спортивного питания и препаратов, реализующихся через интернет / А.З.



Темердашев, А.А. Азарян, А.В. Лабутин, М.А. Дикунец, И.О. Зверева, И.И. Подольский, Г.Т. Беродзе, И.А. Балабаев // Журн. аналит. химии. – 2017. – Т. 72. – № 11. – С. 1032.

3. Азарян, А.А. Определение мельдония в моче человека методом ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием / А.А. Азарян, А.З. Темердашев, Е.В. Дмитриева // Журн. аналит. химии. – 2017. – Т. 72. – № 10. – С. 885.
4. Азарян, А.А. Определение некоторых катинонов, тропановых алкалоидов и «аптечных наркотиков» в моче / А.А. Азарян, А.З. Темердашев, Е.В. Светличная, А.Г. Кальницкий, И.А. Балабаев // Журн. аналит. химии. – 2016. – Т. 71. – № 9. – С. 995.

**В отзыве** профессора кафедры ботаники, химии и экологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», доктора химических наук, профессора Гусаковой Натальи Николаевны и доцента кафедры аналитической химии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», доктора химических наук, доцента Алексенко Светланы Сергеевны имеются вопросы:

1. В тексте автореферата (стр. 13) отмечено, что на рис. 2,3 представлены хроматограммы проб по способу «разбавил и вколол», а в подписях указано проведение кислотного гидролиза мочи. Как проводилась подготовка проб?

2. В подписях к рис. 2 и 3 не указаны идентифицированные компоненты. Являются ли представленные данные одной и той же пробы?

3. В таблице 4 указан предел обнаружения одного из производных катехоламина с более высоким значением по сравнению с нижней границей диапазона линейности.

**В отзыве** судебного эксперта судебно-химического отдела ГБУЗ Московской области «Бюро судебно-медицинской экспертизы», доктора химических наук, Григорьева Андрея Михайловича имеются замечания:

1. Рис. 2-4, 6. Было бы правильным указывать абсолютную интенсивность вместо относительной. Так, на Рис. 4 (верхняя часть) высокая концентрация мельдония может быть понятной только по вероятной перегрузке хроматографической системы.

2. Рис. 2, 3. Не указаны разделяемые соединения.

3. Стр. 12, Минеральный гидролиз. Соляная кислота – соединение с высокой коррозионной активностью, а ее концентрация во вводимой пробе составляет около 2 М. Правильен ли подобный подход?

4. Стр. 12, последний абзац. Смысл второго предложения не ясен. Метаболиты могут существовать как в свободной (фаза I), так и в конъюгированной (фаза II) формах. Например, метаболизм фазы I для PVP и (в меньшей степени) MDPV весьма интенсивен. Возможно, имелись ввиду только те метаболиты, которые образованы конъюгированием исходных соединений (атропин и скополамин)?

5. Использование англицизмов («супернатант», «бланковый») и арго («эппендорф») выглядит излишним.

**В отзыве** директора Центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика» Северного (Арктического) федерального университета имени М.В. Ломоносова, кандидата химических наук, доцента Косякова Дмитрия Сергеевича имеются следующие замечания:

1. Отсутствует описание методологии скрининга наркотических и психоактивных веществ в продуктах спортивного питания. Из текста автореферата невозможно понять какой тип скрининга имел место – целевой или нецелевой. Если речь идет о целевом скрининге, какие конкретные анализы были предметом целевого поиска и по каким критериям они отбирались?

2. При описании разработанных методик (за исключением определения катехоламинов) не приведены их важнейшие метрологические характеристики;

3. Имеются другие незначительные недочеты и опечатки, например, отсутствуют пояснения к рисункам 2 и 3 (пики каких анализов изображены и почему их становится больше при разбавлении раствора), при описании гидрофильной хроматографии не указано на какой колонке проводили разделение.

**В отзыве** ведущего научного сотрудника кафедры аналитической химии химического факультета ФБГОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктора химических наук, профессора Пирогова Андрея Владимировича возникли вопросы:

1. Хотелось бы видеть в автореферате больше информации о поиске условий анализа, выборе колонок и т.п. А также - и в чем именно состоит научная новизна работы (за исключением разработки методик)?

2. Что именно автор понимает под термином «эффективность дериватизации» и почему она в одном случае значимо больше 100%?

3. Есть несколько замечаний по стилистике изложения. Так, на стр. 6 «литературный обзор» лучше заменить на «обзор литературы». В тексте автореферата термин «буфер» - на «буферный раствор».



**В отзыве** заведующего кафедрой неорганической химии и химической технологии факультета экологии и химической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», доктора химических наук, профессора Нифталиева Сабухи Илич-оглы имеются замечания:

1. Для контроля наркотических веществ и такого рода компонентов в лекарственных препаратах, используемых не по назначению, применяли метод ВЭЖХ-МС/МС с электрораспылительной ионизацией. Изучались ли другие соединения для проведения исследований в качестве внутреннего стандарта, кроме аминифенилмасляной кислоты?

2. На стр. 19 и 20 соискатель приводит данные определяемых концентраций аналитов разработанным способом. В частности, для адреналина и октопамина (соответственно  $65 \pm 10$  и  $73 \pm 11$  нг/мл). Какая относительная погрешность детектирования?

**В отзыве** главного научного сотрудника лаборатории лабораторией химических сенсоров и определения газообразующих примесей ГЕОХИ РАН им. В.И. Вернадского, доктора технических наук, профессора Зуева Бориса Константиновича имеются вопросы:

1. На стр. 19 автореферата приведена таблица 4, в которой представлены некоторые метрологические характеристики определения. В пояснительном тексте под таблицей указывается, что предел обнаружения «установлен экспериментально» с использованием 3 $\sigma$ -критерия, но не дается никаких пояснений, как рассчитывается «предел определения» и «диапазон линейности градуировочной зависимости». Неясно также, почему нижняя граница определяемых содержаний в точности соответствует для 9-флуоренилметоксикарбонил адреналина его пределу обнаружения, а для 9-флуоренилметоксикарбонил дофамина оказывается на 1 порядок величины меньше, чем предел обнаружения. Для самой таблицы 4 целесообразно привести число образцов и доверительную вероятность, использованную при расчете градуировочной зависимости. На стр. 13 указано, что «концентрации аналитов в пробах существенно превышают линейный диапазон графика», хотя следовало бы говорить о повышении верхней границы диапазона определяемых содержаний. В таблице 5, столбце 4 фигурирует измеряемая в процентах «воспроизводимость». Однако обычно для оценки воспроизводимости используют безразмерное относительное стандартное отклонение сходимости, в то время, как воспроизводимость измерений является размерной величиной.

2. По тексту автореферата в постановочной части работы многократно упоминаются «биологические жидкости человека», а при обсуждении результатов фигурирует только вторичная моча человека. Возможно, в тексте диссертации упоминаются и другие биологические жидкости, но из автореферата этого понять не удалось.

**В отзыве** профессора кафедры органической химии Института химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», доктора химических наук, профессора Карцовой Людмилы Алексеевны возникли вопросы:

1. Как проверялась полнота минерального гидролиза (второй предлагаемый диссертантом путь пробоподготовки образцов)?
2. Что вкладывается в понятие «аналитическая дериватизация»?
3. Смысловая нагрузка термина «разбавил и вколочил» понятна, но стилистически (и терминологически) – не совсем удачно.

**В отзыве** заведующего кафедрой аналитической и фармацевтической химии Института химии ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет», доктора химических наук, профессора Рамазанова Арсена Шамсудиновича имеются следующие вопросы:

1. На рис. 2 и 3 представлены хроматограммы образца мочи после кислотного гидролиза при разбавлении в 20 и 100 раз соответственно, на хроматограмме образца разбавленного в 20 раз зарегистрированы 3 пика, а на разбавленном в 100 раз 5 пиков, времена удерживания только 2 соединений на рис. 2 совпадают с временами удерживания на рис. 3. Как это можно объяснить?

2. Какие вещества в результате анализа идентифицированы в образце мочи?

**В отзыве** профессора кафедры химии ФГБОУ ВО «Липецкий государственный технический университет», доктора химических наук, профессора Ермолаевой Татьяны Николаевны и доцента кафедры химии ФГБОУ ВО «Липецкий государственный технический университет», кандидата химических наук, доцента Фарафоновой Ольги Вячеславовны имеются следующие вопросы:

1. Непонятен термин «разбавил и вколочил», достаточно было указать, что анализ проводили сразу после разбавления пробы.

2. Вызывают сомнения метрологические характеристики, приведенные в таблице 4, например, для 9-флуоренилметоксикарбонил дофамина предел обнаружения 25 нг/мл, предел определения 50 нг/мл, а диапазон линейности 2,5-500 нг/мл, аналогично и для других соединений.



**В отзыве** директора ГБУ РБ Управление государственного аналитического контроля, доктора химических наук, профессора Сафаровой Валентины Исаевны имеется вопрос:

1. Из автореферата непонятно, введены ли в практику разработанные методики определения наркотических соединений, психоактивных веществ и производных катехоламинов в моче человека.

**В отзыве** заведующей кафедрой физической химии и хроматографии ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», доктора химических наук, профессора Онучак Людмилы Артемовны имеются следующие замечания и вопросы:

1. На стр. 4 в задачах исследования указано, что обнаружение психоактивных веществ, допинг-агентов и запрещенных ВАДА соединений будет осуществляться методами ВЭЖХ-МС/МС и ГХ-МС, однако в автореферате не представлены результаты, полученные с помощью ГХ-МС.

2. Проводилось ли сопоставление разработанной методики определения мельдония в моче с регламентированной методикой его определения при допинг-контроле? Какими преимуществами обладает предложенная авторами методика?

**В отзывах** профессора химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, доктора химических наук, профессора кафедры аналитической химии Дмитриенко Станиславы Григорьевны и старшего научного сотрудника кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, доктора химических наук Апяри Владимира Владимировича; заведующего центром коллективного пользования «Приборно-аналитический», доктора химических наук, доцента Якубы Юрия Федоровича; профессора кафедры аналитической химии и химической экологии ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», доктора химических наук, профессора Суминой Е.Г. замечания отсутствуют.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в области научных исследований, выполненных соискателем, и подтверждается сферой их профессиональной деятельности, наличием публикаций в данной сфере, в том числе профильных монографий и статей в соответствующих рецензируемых журналах, а также их согласием выступить в качестве ведущей организации и официальных оппонентов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**Разработаны:**

- методика определения некоторых наркотических и психоактивных веществ в биологической жидкости человека;
- методика хромато-масс-спектрометрического определения мельдония в моче человека;
- методика ВЭЖХ-МС/МС определения производных катехоламинов в моче человека, включающая дериватизацию исследуемых соединений на патроне для твердофазной экстракции и определение аналитов.

**Предложены:**

- аналитическая схема хромато-масс-спектрометрического определения ксенобиотиков - фенибута, прегабалина, габапентина,  $\alpha$ -PVP, 4-MEC, MDPV, цикломеда, тропикамида, дифенилпирролидина, атропина и скополамина в биологической жидкости человека и продуктах спортивного питания;
- способ определения катехоламинов в моче в виде производных.

**Доказана:**

- возможность хромато-масс-спектрометрического определения производных катехоламинов в моче человека с применением аналитической дериватизации на патроне для твердофазной экстракции;
- возможность достоверного анализа различных видов продуктов спортивного питания и вспомогательных препаратов, проведение скрининговых исследований для идентификации психоактивных веществ, допинг-агентов и запрещенных ВАДА соединений.

**Введены:**

- методики хромато-масс-спектрометрического определения некоторых ксенобиотиков и нейротрансмиттеров в моче человека, отличающиеся экспрессностью, высокой точностью и надежностью.

**Теоретическая значимость** исследования обоснована тем, что:

**доказаны**

- возможность создания методик идентификации наркотических и психоактивных веществ в испытуемых образцах на основе современных методов высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием и газовой хромато-масс-спектрометрии;



– возможность применения разработанной методики определения мельдония в моче человека в практике допинг-контроля и клинической диагностики.

**применительно к проблематике диссертации результативно использованы** метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием и метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием;

**Изложены:**

– подходы к оптимизации различных условий подготовки проб биологических жидкостей;

– результаты исследований спортивного питания и биологически активных добавок для установления факта фальсификации продукции и обнаружения не декларированных компонентов.

**Раскрыты:**

– особенности скрининга проб биологических жидкостей с целью обнаружения в них психоактивных веществ, допинг-агентов, запрещенных ВАДА;

– особенности оптимальных условий разделения некоторых наркотических и психоактивных соединений в биологической жидкости человека.

**Изучены:**

– условия одновременного определения наркотических и психоактивных веществ в биологических жидкостях человека;

– профили катехоламинов в моче, как важный диагностический признак для обнаружения метаболических нарушений, вызванных неконтролируемым приемом некоторых препаратов и эндогенными причинами.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

**Разработаны:**

– методика измерений массовой концентрации мельдония в моче человека методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием;

– оригинальная методика определения катехоламинов в моче человека в виде производных, получаемых непосредственно на патронах для твердофазной экстракции.

**Определены:**

– метрологические характеристики разработанных хромато-масс-спектрометрических методик определения некоторых ксенобиотиков и катехоламинов в биологической жидкости человека.

**Созданы:**

– аналитическая схема хромато-масс-спектрометрического определения некоторых ксенобиотиков в моче человека и продуктах спортивного питания;

– способ определения катехоламинов в моче человека с применением твердофазной аналитической дериватизации.

**Представлены:**

– экспресс-методики определения некоторых ксенобиотиков и катехоламинов в моче человека и продуктах спортивного питания в рамках унифицированного подхода, позволяющего проводить определение большой группы аналитов с различающимися физико-химическими характеристиками.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

**Для экспериментальных работ** результаты получены с использованием сертифицированного и поверенного научного оборудования, а также стандартных веществ, обоснованы калибровки, показана воспроизводимость и правильность результатов исследования.

**Теория** базируется на известных данных о определении некоторых ксенобиотиков в биологических жидкостях человека, физико-химических свойствах определяемых соединений, а также возможности применения современных аналитических методов анализа их состава, что подтверждено полученными экспериментальными данным и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

**Идея** базируется на современных подходах применения возможностей теории и практики методов высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием и газовой хромато-масс-спектрометрии;

**Использовано** сравнение авторских и литературных данных, полученных ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике;

**Установлено**, что результаты, полученные в ходе выполнения работы, не противоречат независимым литературным данным, относящимся к области определения некоторых ксенобиотиков и катехоламинов в моче человека;

**Использованы** компьютеризированные методики сбора и обработки экспериментальных данных.



Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах подготовки диссертации; получении исходных экспериментальных данных, их обработке, обсуждении и интерпретации; апробации результатов исследования, подготовке публикаций по выполненной работе.

На заседании 30 мая 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Азарян А.А. ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 9 докторов наук по специальности защищаемой диссертации, участвующих в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 16, против 0, недействительных бюллетеней нет.

Председателя диссертационного совета

д-р хим. наук, профессор



З.А. Темердашев

Ученый секретарь диссертационного совета,  
канд. хим. наук, доцент

Н.В. Киселева

30.05.2019