



ФМБА РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-клинический центр токсикологии
имени академика С.Н. Голикова
Федерального медико-биологического агентства»
(ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России)
Бохтерева ул., д. 1, Санкт-Петербург, 192019
Тел./факс (812) 365-06-80
e-mail: info_toxicol@fmba@mail.ru; <http://www.toxicology.ru>
ОКПО 01898061; ОГРН 1037825009090;
ИНН/КПП 7811057064/781101001



УТВЕРЖДАЮ
Врио директора
ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова
ФМБА России

В.Л. Рейшок

«17» _____ 11 _____ 2022 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального государственного бюджетного учреждения
«Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова
Федерального медико-биологического агентства»
по диссертации Подольской Е.П.
«Разработка аналитической системы и методологии химического анализа в
формате «лаборатория на мишенн»
на соискание ученой степени доктора технических наук**

Диссертационная работа «Разработка аналитической системы и методологии химического анализа в формате «лаборатория на мишенн» на основе наноструктур, содержащих атомы металлов» выполнена на базе лаборатории биомедицинской масс-спектрометрии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт аналитического приборостроения Российской академии наук» (ИАП РАН) и лаборатории химической и токсикологической диагностики – испытательного центра экологических исследований химико-аналитического отдела Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России), переименованного на основании приказов Федерального медико-биологического агентства от 25.05.2020, №31у, от 23.04.2020 №24у в Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика

С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России).

Соискатель – Подольская Екатерина Петровна, 16.08.1974 года рождения в период подготовки диссертации к защите работала в ФГБУН ИТ ФМБА России в должности ведущего научного сотрудника с 2017 г. по настоящее время, и в должности инженера, научного сотрудника, старшего научного сотрудника и ведущего научного сотрудника в федеральном государственном бюджетном учреждении «Институт аналитического приборостроения Российской академии наук» с 2003 г. по настоящее время.

В 1996 году окончила Санкт-Петербургский государственный университет химический факультет по специальности «Химия», диплом химика ЭВ№619465. С 1997 по 2000 год проходила обучение в аспирантуре на кафедре неорганической химии Санкт-Петербургского государственного университета и в 2001 году защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук СПбГУ, диплом кандидата химических наук КТ№057406 (решение диссертационного совета СПбГУ 07.06.2001 № 3). В настоящее время работает в должности ведущего научного сотрудника в лаборатории химической и токсикологической диагностики – испытательного центра экологических исследований химико-аналитического отдела ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России и по совместительству в лаборатории биомедицинской масс-спектрометрии ИАП РАН.

Научный консультант: без научного консультанта.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа посвящена решению актуальной проблемы: разработке специализированных высокопроизводительных инструментальных решений и аналитических подходов, интегрированных в формат «лаборатория на мишени», с использованием наноструктур, содержащих атомы металлов, позволяющих повысить чувствительность и производительность МАЛДИ масс-спектрометрического анализа.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертация

Подольская Е.П. проанализировала литературные данные по проблеме, предложила и обосновала направление и разработала дизайн научного исследования, приняла непосредственное участие в выполнении экспериментальных работ, провела

статистическую обработку полученных результатов и представила их в научных публикациях, в том числе в высокорейтинговых журналах, докладах на отечественных и зарубежных конференциях. Разработан ряд новых металл-аффинных и металл-оксидных нанодисперсных материалов и проведена их характеристика: определены состав и структура, исследованы физико-химические характеристики, оценены сорбционные свойства. Исследованы специфичные и селективные свойства разработанных структур как металл-аффинных сорбентов. Автором лично разработаны методы функционализации поверхности МАЛДИ мишени с использованием созданных новых материалов и проведена характеристика покрытий. Разработаны методические подходы в формате «лаборатория на мишени», позволяющие проводить металл-аффинную экстракцию непосредственно на поверхности мишени с последующим МАЛДИ-МС анализом, а также дериватизацию жирных кислот, что способствует увеличению выхода ионов при MALDI и повышению эффективности масс-спектрометрического анализа. Проведено сравнение специфичных и селективных свойств разработанных покрытий.

Исследования проводились в рамках выполнения научно-исследовательских работ (НИР) по государственным заданиям по темам: «Принципы построения масс-спектрометрических систем и методов анализа для физики и биотехнологии наноматериалов» 2010-2012гг, «Развитие масс-спектрометрических методов и разработка новых ионно-оптических схем приборов для физико-химических, медико-биологических и нанотехнологических применений» 2013-2015гг, «Новые масс-спектрометрические подходы к медицинской диагностике и исследованию изотопных эффектов в биологии и разработка принципиальных элементов масс-спектрометров для их решения» 2016-2018гг, «Теоретические основы и принципы практической реализации масс-спектрометрических комплексов для технологических, энергетических и медицинских применений» 2019-2021гг, «Развитие масс-спектрометрических методов для медико-биологических применений: новые решения для молекулярной, изотопной и элементной масс-спектрометрии» 2022-2024гг, проводившихся в ИАП РАН; «Разработка методов получения, оценка эффективности и безопасности комплекса биологически активных веществ бурых водорослей Белого моря», «Разработка аналитических подходов для определения долгоживущих продуктов метаболизма галогенсодержащих ксенобиотиков алкилирующего действия с использованием методов металл-аффинной хроматографии и МАЛДИ-МС спектрометрии», 2021-2023 гг, в

рамках федеральной целевой НТ программы «Разработка хроматографических колонок, содержащих специфические металл-аффинные сорбенты, предназначенных для поиска и идентификации токсичных химических соединений в объектах окружающей среды и биологическом материале» 2012-2014 гг, проводившихся в ФГБУН ИГ ФМБА России, а затем в ФГБУ НКЦГ им. С.Н. Голякова ФМБА России.

Степень достоверности результатов проведенного исследования

Достоверность полученных в ходе исследования результатов обеспечивается обоснованным дизайном исследования, корректностью подтверждающих основные выводы и научные положения методов, применявшихся для решения поставленных задач, большим объемом экспериментальных данных, полученных с применением современных инструментальных средств, контролируемые условия экспериментов, воспроизводимостью результатов, адекватными методами анализа и статистической обработки результатов.

Научная новизна исследований

Предложены новые подходы к функционализации поверхности МАЛДИ мишени: электрораспыление нанодисперсных оксидов в нормальных условиях в бескапельном режиме с динамическим делением потока и формирование мультимолекулярных структур на основе коллапсированных монослоев стеаратов металлов. Выявлен механизм формирования монослоев стеаратов металлов, на поверхности МАЛДИ мишени. Продемонстрирована возможность использования нанодисперсных оксидов переходных металлов, синтезированных золь-гель методом, и монослоев Ленгмюра на основе стеаратов металлов в качестве металл-аффинных сорбентов, как в режиме пакетной хроматографии, так и в формате «лаборатория на мишени». Разработана новая методика МАЛДИ-МС анализа свободных жирных кислот, в виде монокарбоксилатов бария. Идентифицированы аддукты глобина человека с хлорсодержащими соединениями, которые могут использоваться как потенциальные биомаркеры интоксикации, и показана возможность их специфичной экстракции методом металл-аффинной хроматографии в формате «лаборатория на мишени».

Теоретическая значимость работы

Систематизированные литературные и полученные экспериментальные данные по составу, структурам и способам нанесения на твердую подложку функционализирующих покрытий, содержащих атомы металла и обладающих металл-

аффинными свойствами, позволили впервые разработать научно-методические подходы к созданию прочно сцепленных с подложкой из нержавеющей стали покрытий без дополнительной подготовки поверхности для проведения МАЛДИ-МС анализа. Теоретически обосновано и экспериментально подтверждено, что электрораспыление водно-ацетонитрильной суспензии нанодисперсных оксидов в бескапельном режиме с динамическим делением потока жидкости при нормальных условиях позволяет сократить сроки и повысить эффективность пробоподготовки. Впервые продемонстрирована возможность формировать на твердой подложке объемные мультимолекулярные структуры на основе коллапсированных самоорганизующихся регулярных монослоев стеаратов металлов с применением технология Ленгмюра. Описан механизм формирования слоев при данном подходе – наблюдается самопроизвольное перемещение монослоев с полусферической поверхности водной субфазы на подложку под действием силы тяжести. На примере аддуктов глобина человека с хлорсодержащими ксенобиотиками, впервые показана возможность специфического связывания хлорсодержащих соединений со структурами на основе оксидов металлов и монослоев стеаратов металлов. Впервые установлена возможность участия токсичных продуктов окисления диклофенака и амодиахина в патогенезе интоксикаций за счет образования аддуктов с глобином человека.

Практическая значимость работы

Полученные результаты могут быть использованы в медицинских и научно-исследовательских учреждениях для разработки новых методов диагностики интоксикаций (в том числе ретроспективной), при доклинической оценке потенциальной токсичности биологически активных веществ, а также в фармацевтических компаниях для контроля качества лекарственных средств и биологически активных веществ и в пищевой промышленности для контроля качества продуктов питания.

Методика анализа свободных жирных кислот в виде их монокарбоксилатов бария с помощью метода МАЛДИ масс-спектрометрии внедрена и используется: в лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России; в лаборатории раннего эмбриогенеза отдела репродуктологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»; в рамках выполнения темы НИР «Разработка, изучение эффективности и безопасности субстанций природного происхождения на

основе комплексов биологически активных веществ» выполняемой ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России по государственному заданию. Методика специфичной экстракции аддуктов белков крови на поверхности МАЛДИ мишени, функционализированной монослоями Ленгмюра внедрена и используется в лаборатории химико-аналитического контроля и биотестирования ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

По результатам работы опубликованы 41 статей (среди которых 17 статей в журналах, входящих в базы данных Web of Science или Scopus; и 24 в журналах, рекомендованных ВАК для защиты диссертаций), получены 2 патента на изобретение.

Наиболее значимые статьи в научных журналах из перечня ВАК:

1. Gladilovich V., Greifenhagen U., Sukhodolov N., Selyutin A., Singer D., Thieme D., Majovsky P., Shirkin A., Hoehenwarter W., Bonitenko E., **Podolskaya E.**, Frolov A. Immobilized metal affinity chromatography on collapsed langmuir-blodgett iron(iii) stearate films and iron(III) oxide nanoparticles for bottom-up phosphoproteomics // *Journal of Chromatography A*. 2016. V. 1443. P. 181–190.
2. Shreyner E.V., Alexandrova M.L., Sukhodolov N.G., **Podolskaya E.P.**, Selyutin A.A. Extraction of the insecticide dieldrin from water and biological samples by metal affinity chromatography // *Mendeleev Communications*. 2017. V. 27. № 3. P. 304-306.
3. Kurdyukov D.A., Eurov D.A., Sokolov V.V., Golubev V.G., Chernova E.N., Russkikh Y.V., Bykova A.A., Shilovskikh V.V., Ubyivovk E.V., Anufrikov Y.A., Fedorova A.V., Selyutin A.A., Sukhodolov N.G., Keltisieva O.A., **Podolskaya E.P.**, Golubev V.G. Ni-Functionalized submicron mesoporous silica particles as a sorbent for metal affinity chromatography // *Journal of Chromatography A*. 2017. V. 1513. P. 140-148.
4. **Podolskaya E.P.**, Sukhodolov N.G., Serebryakova M.V., Krasnov K.A., Grachev S.A., Gzgzyan A.M. Application of Langmuir–Blodgett technology for the analysis of saturated fatty acids using the MALDI-TOF mass spectrometry // *Mendeleev Communications*. 2018. V. 28. № 3. P. 337-339.
5. **Podolskaya E.P.**, Gladchuk A.S., Keltisieva O.A., Dubakova P.S., Silyavka E.S., Lukasheva E., Zhukov V., Lapina N., Makhmadalieva M.R., Gzgzyan A.M.,

- Sukhodolov N.G., Krasnov K.A., Selyutin A.A., Frolov A. Thin film chemical deposition techniques as a tool for fingerprinting of free fatty acids by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // *Analytical Chemistry*. 2019. V. 91. № 2. P. 1636-1643.
6. Babakov V.N., Shreiner E.V., Keltsieva O.A., Dubrovskii Y.A., Shilovskikh V.V., Zorin I.M., Sukhodolov N.G., Zenkevich I.G., **Podolskaya E.P.**, Selyutin A.A. Application of lanthanum stearate monolayers as a metal-affinity sorbent for the selective sorption of soman adducts to human serum albumin // *Talanta*. 2019. V. 195. P. 728-731.
 7. Gorbunov A.Y., Krasnov K.A., Bardin A.A., Keltsieva O.A., Babakov V.N., **Podolskaya E.P.** TiO₂-modified MALDI target for in vitro modeling of the oxidative biotransformation of diclofenac // *Mendeleev Communications*. 2020. V. 30. P. 220-222.
 8. Gladchuk A.S., Krasnov K.A., Keltsieva O.A., Kalninia Y.K., Alexandrova M.L., Ivanov N.S., Muradymov M.Z., Krasnov N.V., Reynyuk V.L., Sukhodolov N.G., **Podolskaya E.P.** A new approach for analysis of polyprenols by a combination of thin film chemical deposition and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2021. V. 35. № 21. P. e9185.
 9. Gladchuk A.S., Silyavka E.S., Shilovskikh V.V., Bocharov V.N., Zorin I.M., Tomilin N.V., Stepashkin N.A., Alexandrova M.L., Krasnov N.V., Gorbunov A.Yu., Babakov V.N., Sukhodolov N.G., Selyutin A.A., **Podolskaya E.P.** Self-organization of stearic acid salts on the hemispherical surface of the aqueous subphase allows functionalization of matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry target plates for on-plate immobilized metal affinity chromatography enrichment // *Thin Solid Films*. 2022. V. 756. P. 139374.
 10. Gorbunov A., Bardin A., Ilyushonok S., Kovach J., Petrenko A., Sukhodolov N., Krasnov K., Krasnov N., Zorin I., Osborne A., Babakov V., Radilov A., **Podolskaya E.** Multiwell photocatalytic microreactor device integrating drug biotransformation modeling and sample preparation on a MALDI target // *Microchemical Journal*. 2022. V. 178. P. 107.

Соответствие научной специальности

Диссертационная работа Е.П. Подольской «Разработка аналитической системы и методологии химического анализа в формате «лаборатория на мишени» на основе наноструктур, содержащих атомы металлов» полностью соответствует формулам специальностей 1.3.2. Приборы и методы экспериментальной физики (п.7 Разработка и создание лечебно-диагностических методик и аппаратурных комплексов для биомедицинских исследований), 1.4.2. Аналитическая химия (п.2. Методы химического анализа (химические, физико-химические, атомная и молекулярная спектроскопия, хроматография, рентгеновская спектроскопия, масс-спектрометрия, ядерно-физические методы и др.), п.14. Анализ природных веществ) и рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора технических наук по указанным специальностям.

Заключение принято на расширенном заседании Научно-методического совета ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России 17.11.2022 г.

Присутствовало на заседании 13 человек, из них 11 членов Научно-методического совета и 2 приглашенных специалиста, в том числе 1 доктор технических наук.

Результаты голосования: «за» – 12 чел., «против» – 1, «воздержался» – 0. Принято большинством голосов. Протокол № 14-2022 от 17.11.2022 г.

Учсный секретарь

ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова

ФМБА России,

доктор биологических наук



Зорина Вероника Николаевна