

ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А, Санкт-Петербург, 198095, почтовый адрес: Санкт-Петербург, 190103, а/я 207  
тел.: (812) 363-0719, факс: (812) 363-0720, e-mail: iap@ianin.spb.su, www.iainas.ru  
ОКПО 04699534, ОГРН 1027810289980, ИНН 7809003600, КПП 780501001

02.12.2022 № 10341-454/101

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН)

доктор технических наук

А.А. Евстапов



« 02.12.2022 » г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Института аналитического приборостроения РАН

по диссертационной работе Подольской Екатерины Петровны

«Разработка аналитической системы и методологии химического анализа в формате «Лаборатория на мишени» на основе наноструктур содержащих атомы металлов», представленной на соискание ученой степени доктора технических наук по специальностям 1.3.2. «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2 «Аналитическая химия»

### Информация о соискателе и диссертационной работе:

Подольская Екатерина Петровна, 16.08.1974 года рождения 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. 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.

**Научный консультант:** без научного консультанта.

### 1. Актуальность темы исследования

Прогресс большинства естественных наук, во многом определяется развитием и совершенствованием новых методов измерения и идентификации молекул, основанных на новых физических принципах и методологии исследований. Обоснованно к числу востребованных аналитических технологий относится и технология лазерной десорбции/ионизации с использованием матрицы (МАЛДИ), предназначенная для высокочувствительного и производительного анализа различных биологических образцов. К числу недостатков этой аналитической технологии могут быть отнесены сложности и трудозатраты специфической пробоподготовки, а также заселенность области низких  $m/z$  масс-спектра сигналами матричных соединений, которые могут нивелировать основные достоинства метода – экспрессность и чувствительность. В связи с этим реализуемый в диссертационной работе подход, основанный на функционализации поверхности МАЛДИ-мишени и проведения непосредственной пробоподготовки в формате «лаборатория на мишени», который может во многом устранить известные недостатки этого аналитического метода, несомненно является **актуальным**.

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».

териалов» 2010–2012 гг, «Развитие масс-спектрометрических методов и разработка новых ионно-оптических схем приборов для физико-химических, медико-биологических и нанотехнологических применений» 2013-2015 гг, «Новые масс-спектрометрические подходы к медицинской диагностике и исследованию изотопных эффектов в биологии и разработка принципиальных элементов масс-спектрометров для их решения» 2016-2018 гг, «Теоретические основы и принципы практической реализации масс-спектрометрических комплексов для технологических, энергетических и медицинских применений» 2019-2021 гг, «Развитие масс-спектрометрических методов для медико-биологических применений: новые решения для молекулярной, изотопной и элементной масс-спектрометрии» 2022-2024 гг, 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 ИТ ФМБА России, а затем ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.

## **2. Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы**

### *Научная новизна*

Метод бескапельного электрораспыления с динамическим делением потока впервые был использован для функционализации поверхности МАЛДИ мишени нанодисперсными оксидами металлов. Установлено, что метод позволяет создавать покрытия прочно сцепленные с подложкой из нержавеющей стали без дополнительной подготовки поверхности.

Показано, что технология Ленгмюра может быть перенесена плоской поверхности на полусферическую поверхность капли. Доказано, что при переносе технологии Ленгмюра, с плоской поверхности на поверхность капли, на МАЛДИ мишени формируются мультимолекулярные структуры на основе коллапсированных монослоев Ленгмюра, сохраняющих свойства металл-аффинных сорбентов.

Разработан новый метод формирования регулярных структур на основе стеаратов металлов, обладающих свойствами металл-аффинных сорбентов, на поверхности МАЛДИ мишени.

Разработан ряд новых металл-аффинных сорбентов на основе нанодисперсных оксидов переходных металлов, синтезированных золь-гель методом, и монослоев стеаратов металлов и методики с их использованием в режиме пакетной хроматографии и формате «лаборатория на мишени».

Разработана новая методика МАЛДИ-МС анализа свободных жирных кислот, в виде монокарбоксилатов бария. Идентифицированы аддукты глобина человека с галогенсодержащими соединениями. Показано, что добавление перфтороктановой сульфокислоты к элюентам при проведении металл-аффинной хроматографии увеличивает степень экстракции аналитов на 10-30%.

#### *Теоретическая значимость*

Получены данные по составу, структурам и способам нанесения на твердую подложку функционализирующих покрытий, обладающих свойствами металл-аффинных сорбентов, что позволило разработать новые методики специфичной экстракции аддутов белков крови с ксенобиотиками в формате «лаборатория на мишени» для дальнейшего МАЛДИ-масс-спектрометрического анализа. Исследован и доказан механизм формирования коллапсированных монослоев Ленгмюра на полусферической поверхности капли водной субфазы, что может являться основой для создания принципиально новой микропленочной технологии.

#### *Практическая значимость*

В результате выполнения работы были разработаны специализированные высокопроизводительные инструментальные решения и аналитических подходы, интегрированные в формат «лаборатория на мишени», позволяющие значительно сократить время пробоподготовки и повысить чувствительность масс-спектрометрического анализа как при поиске и идентификации аддуктов белков крови с фосфор- и хлорсодержащими ксенобиотками, так и при анализе свободных жирных кислот в виде монокарбоксилатов бария. Разработанные методы функционализации поверхности МАЛДИ мишени, придающие ей свойства металл-аффинных сорбентов, позволяют создавать покрытия, сохраняющие свои свойства не менее года. Идентифицирован-

ные аддукты глобина человека с фосфор- и галогенсодержащими соединениями ряда могут использоваться как потенциальные биомаркеры интоксикации.

Методика анализа свободных жирных кислот в виде многокарбоксилатов бария с помощью метода МАЛДИ масс-спектрометрии внедрена и используется: в лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России (АКТ о внедрении № 3/22 от 14.11.22) при разработке модели лекарственного стеатоза на клеточной линии-НераRG; в лаборатории раннего эмбриогенеза отдела репродуктологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (АКТ о внедрении № 2-22 от 24.11.22) для определения влияния концентрации свободных жирных кислот на компетентность ооцитов; в рамках выполнения темы НИР «Разработка, изучение эффективности и безопасности субстанций природного происхождения на основе комплексов биологически активных веществ» для оценки состава комплексов биологически-активных веществ выполняемой ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России по государственному заданию.

Методика специфичной экстракция аддуктов белков крови на поверхности МАЛДИ мишени, функционализированной монослоями Ленгмюра внедрена и используется используются в лаборатории химико-аналитического контроля и биотестирования ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России (АКТ о внедрении № 2/22 от 14.11.22) для разработки методик скринингового анализа аддуктов фосфорорганических высокотоксичных веществ с сывороточным альбумином и ферментом бутирилхолинэстеразой, выделенных из плазмы крови человека. Метод был применен при выполнении 7 квалификационного теста Организации по запрещению химического оружия (ОЗХО) по анализу биомедицинских проб в 2022 г лабораторией химико-аналитического контроля и биотестирования ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России.

Полученные результаты могут быть использованы в фармацевтических компаниях и научно-исследовательских учреждениях при моделировании окислительной биотрансформации и доклинической оценке потенциальной токсичности биологически активных веществ, для разработки аналитических методик идентификации метаболитов и их аддуктов с долгоживущими белками при ретроспективной диагностике интоксикаций, а также при контроле качества лекарственных средств, биологически активных добавок и продуктов питания.

### **3. Оценка достоверности и обоснованности результатов диссертационного исследования**

*Достоверность* полученных в ходе исследования результатов не вызывает сомнений в связи с корректностью методов, применяемых для решения поставленных задач и большим объемом экспериментальных данных, подтверждающих основные выводы и научные положения, полученных с применением современных инструментальных средств. В тех случаях, когда сравнение возможно, имеется хорошее количественное и качественное совпадение экспериментальные результатов с данными других исследователей.

### **4. Личный вклад автора**

Подольская Е.П. провела систематизацию и анализ литературных данных по проблеме исследования, предложила и обосновала направление исследований, сформулировала план работы. Непосредственно участвовала в проведении экспериментальных измерений, обработке и систематизации экспериментальных данных, обсуждении полученных результатов, а также формулировала основные выводы.

Подольская Е.П. лично разработала метод функционализации поверхности структурами на основе монослоев Ленгмюра, методические подходы металл-аффинной экстракции аддуктов белков крови с ксенобиотками в формате «лаборатория на мишени», методику анализа свободных жирных кислот в виде монокарбоксилатов бария.

Разработка методов получения структур, обладающих металл-аффинными свойствами их характеристика и исследования свойств в режиме пакетной хроматографии проводилась в соавторстве с Селютиным А.А. и Суходоловым Н.Г. с привлечением возможностей ресурсных центров Научного парка СПбГУ.

Разработка метода метода бескапельного электрораспыления с динамическим делением потока нанодисперсных оксидов была проведена в соавторстве с Мурадымовым М.З. и Красновым Н.В.

Исследование механизма формирования коллапсированных монослоев Ленгмюра на твердой подложке проводилось в соавторстве с Гладчуком А.С., Селютиным А.А. и Суходоловым Н.Г. с привлечением возможностей ресурсных центров Научного парка СПбГУ

## **5. Апробация результатов диссертационного исследования**

Основные положения и результаты работы докладывались неоднократно докладывались на всероссийских и международных конференциях:

- 3th European Meeting on Environmental Chemistry, Moscow, 2012;
- 11th International meeting on cholinesterases, Kazan, 2012;
- Proceedings of 38th FEBS Congress, St. Petersburg, 2013;
- Proceedings 11th international symposium on protection against chemical and biological warfare agents, Stockholm, 2013;
- Вторая российская конференция с международным участием «Физика – наукам о жизни», г. Санкт-Петербург, 2017 г.;
- Третий съезд аналитиков России, г. Москва, 2017 г.; Proceedings of 43rd FEBS Congress, Prague, 2018;
- IX Съезд общества физиологов растений России «Физиология растений - основа создания растений будущего», г. Казань, 2019 г.;
- Третья международная конференция «Физика – наукам о жизни», г. Санкт-Петербург, 2019 г.;
- Международная научно-практическая конференция «Системы контроля окружающей среды», г. Севастополь, 2016-2022 гг.;
- Республиканская конференция с международным участием «Физико-химическая биология как основа современной медицины», г. Минск, 2019-2022 гг.

## **6. Полнота диссертационного исследования**

Основные результаты по теме диссертации изложены в 41 статье (среди которых 17 статей в журналах, входящих в базы данных Web of Science или Scopus и 24 в журналах, рекомендованных ВАК для защиты диссертаций)

Наиболее значимые статьи в научных журналах из перечня ВАК РФ:

1. Кельцьева О.А., Гладилович В.Д., Прусаков А.Н., Колоницкий П.Д., Суходолов Н.Г., Селютин А.А., Краснов Н.В., Бонитенко Е.Ю., Подольская Е.П. Регулярные мультимолекулярные сорбенты (РММС). Получение, изучение поверхностных и сорбционных свойств // Научное приборостроение. 2012. Т. 22. № 4. С. 50-55.
2. Суходолов Н.Г., Гладилович В.Д., Колоницкий П.Д., Шрейнер Е.В., Янкович А.И., Селютин А.А., Краснов Н.В., Подольская Е.П. Исследование электрокинетиче-

ских свойств регулярных мультимолекулярных сорбентов на основе стеаратов трехвалентных металлов // Научное приборостроение. 2013. Т. 23. № 1. С. 123-129.

3. 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.

4. 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.

5. 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., Keltsieva 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.

6. **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.

7. **Podolskaya E.P.**, Gladchuk A.S., Keltsieva O.A., Dubakova P.S., Silyavka E.S., Lukasheva E., Zhukov V., Lapina N., Makhmadaliev 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.

8. 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.

9. Gorbunov A.Y., Krasnov K.A., Bardin A.A., Keltsieva O.A., Babakov V.N., **Podolskaya E.P.** TiO<sub>2</sub>-modified MALDI target for in vitro modeling of the oxidative biotransformation of diclofenac // Mendeleev Communications. 2020. V. 30. P. 220-222.



10. 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.

11. 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.

12. 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.

Получены 2 патента:

1. Патент 2608529. Российская Федерация, МПК В01J 20/28. Регулярные мультимолекулярные сорбенты для металл-аффинной хроматографии, содержащие лабильную ковалентную связь: № 2012117536; заявл. 18.04.2012; опубл. 27.10.2013 / В.Д. Гладилович, **Е.П. Подольская**, А.А. Селютин, Н.Г. Суходолов – 10 с.

2. Патент 2733530. Российская Федерация, МПК H01J 27/00. Устройство для нанесения наночастиц оксидов металлов на металлическую поверхность при нормальных условиях: № 2019120320; заявл. 27.06.2019; опубл. 05.10.2020 / **Е.П. Подольская**, О.А. Кельциева, Н.В. Краснов, М.З. Мурадымов, М.Н. Краснов – 11 с.

#### **7. Специальность, которой соответствует диссертация**

Работа представляется к защите по двум специальностям: 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2 «Аналитическая химия», что представляется обоснованным. В работе разрабатываются подходы к функционализации рабочей поверхности МАЛДИ-мишени физическими методами, позволяющие существенно уве-

личить точность, чувствительность и быстродействие измерений (что соответствует п. 2 паспорта специальности 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики»). Реализация разработанных подходов применима для создания лечебно-диагностических методик и аппаратурных комплексов для биомедицинских исследований (п. 7 паспорта специальности 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики»). Соответствие материалов диссертации паспорту специальности 1.4.2 «Аналитическая химия» также является очевидным, в ней разрабатываются и оптимизируются методы химического анализа (п. 2), методические аспекты химического анализа (п. 4), вносится существенный вклад в теорию и практику пробоотбора и пробоподготовки в аналитической химии (п. 7) путем совершенствования методов концентрирования аналита металлосорбентами непосредственно на мишени (п. 8).

#### **РЕШЕНИЕ ПО ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЕ ПОДОЛЬСКОЙ Е.П.**

Рекомендовать диссертационную работу Подольской Екатерины Петровны, представленную на соискание ученой степени доктора технических наук на тему «Разработка аналитической системы и методологии химического анализа в формате «лаборатория на мишени» на основе наноструктур содержащих атомы металлов» к защите по специальностям 1.3.2. «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2. «Аналитическая химия» по специальности в диссертационном совете 24.1.029.01 (Д002.034.01) Института аналитического приборостроения РАН.

Доклад соискателя по диссертации и его обсуждение проведены на Научном семинаре Института аналитического приборостроения РАН (протокол №10 от 03.10.2022). Присутствовало 22 чел. из них 8 членов диссертационного совета.

Председатель  
главный научный сотрудник  
доктор физико-математических наук

Секретарь



Явор М.И.

Хорошавина Л.П.