

Соискатель: **ВИРЮС ЭДУАРД ДАНИЭЛЕВИЧ**

Тема диссертационной работы: **«РАЗВИТИЕ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ КАК МЕТОДА СКРИНИНГА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В СЛОЖНЫХ ПО СОСТАВУ СМЕСЯХ»**

Шифр и наименование научной специальности и отрасли науки, по которым выполнена диссертация:

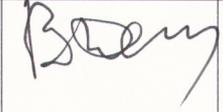
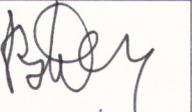
02.00.02 – АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ; ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

На заседании **19 НОЯБРЯ 2020 ГОДА** ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ Д 002.109.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И.Вернадского Российской академии наук **ПРИНЯЛ РЕШЕНИЕ ПРИСУДИТЬ ВИРЮСУ ЭДУАРДУ ДАНИЭЛЕВИЧУ** УЧЕНУЮ СТЕПЕНЬ **ДОКТОРА ХИМИЧЕСКИХ НАУК** ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ **АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**.

На заседании из **29** человек, входящих в состав диссертационного совета, присутствовал **21** человек, из них **16** докторов наук по специальности аналитическая химия, в том числе **6** докторов, обеспечивающих химические науки. Результаты голосования: за - **21**, против - **нет**, недействительных бюллетеней – **нет (Протокол № 5 от 19.11.2020)**.

ЯВОЧНЫЙ ЛИСТ

членов диссертационного совета Д 002.109.01 к заседанию совета 19 ноября 2020 г
по защите диссертации **Вирюса Эдуарда Даниэлевича**
по специальности **02.00.02** – аналитическая химия; протокол № 5

	Фамилия И. О.	Ученая степень, шифр специальности и отрасль науки в совете	Явка на заседание (подпись)	Получение бюллетеня (подпись)
1	Мясоедов Борис Федорович (председатель совета)	Доктор химических наук, академик РАН, профессор 02.00.14 (химические науки)		
2	Колотов Владимир Пантелеймонович (зам. председателя)	Доктор химических наук, член-корреспондент РАН, 02.00.14 (химические науки)		
3	Спиваков Борис Яковлевич (зам. председателя)	Доктор химических наук, член-корреспондент РАН, 02.00.14 (химические науки)		
4	Захарченко Елена Александровна (ученый секретарь)	Кандидат химических наук, 02.00.14 (химические науки)		
5	Баранов Виктор Иванович	Доктор физ.-мат. наук, профессор, 02.00.02 (физ.-мат. науки)		
6	Большов Михаил Александрович	Доктор физ.-мат. наук, профессор, 02.00.02 (физ.-мат. науки)		
7	Гречников Александр Анатольевич	Доктор химических наук, , 02.00.02 (технические науки)		
8	Грибов Лев Александрович	Доктор физ.-мат. наук, член- корреспондент РАН, 02.00.02 (физ.-мат.науки)		
9	Дементьев Василий Александрович	Доктор физ.-мат. наук, профессор, 02.00.02 (физ.- мат.науки)		
10	Долгоносов Анатолий Михайлович	Доктор химических наук, профессор, 02.00.02 (физ.-мат. науки)		
11	Ермаков Вадим Викторович	Доктор биологических наук, профессор, 02.00.02 (химические науки)		
12	Зуев Борис Константинович	Доктор технических наук, профессор, 02.00.02 (технические науки)		
13	Ищенко Анатолий Александрович	Доктор химических наук, профессор, 02.00.02 (технические науки)		

14	Калмыков Степан Николаевич	Доктор химических наук, член-корреспондент РАН, 02.00.14 (химические науки)		
15	Карпов Юрий Александрович	Доктор химических наук, академик РАН, 02.00.02 (технические науки)	<i>Карпов</i>	<i>Карпов</i>
16	Коробова Елена Михайловна	Доктор геолого- минералогических наук, 02.00.14 (химические науки)	<i>Коробова</i>	<i>Коробова</i>
17	Кубракова Ирина Витальевна	Доктор химических наук, 02.00.02 (химические науки)	<i>Кубракова</i>	<i>Кубракова</i>
18	Куляко Юрий Михайлович	Доктор химических наук, 02.00.14 (химические науки)	<i>Куляко</i>	<i>Куляко</i>
19	Марютина Татьяна Анатольевна	Доктор химических наук, 02.00.02 (технические науки)	<i>Марютина</i>	<i>Марютина</i>
20	Моисеенко Татьяна Ивановна	Доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, 02.00.02 (химические науки)	<i>Моисеенко</i>	<i>Моисеенко</i>
21	Новиков Александр Павлович	Доктор химических наук, 02.00.14 (химические науки)		
22	Ревельский Александр Игоревич	Доктор химических наук, 02.00.02 (химические науки)	<i>Ревельский</i>	<i>Ревельский</i>
23	Севастьянов Вячеслав Сергеевич	Доктор технических наук, 02.00.02 (технические науки)	<i>Севастьянов</i>	<i>Севастьянов</i>
24	Тимербаев Андрей Роландович	Доктор химических наук, 02.00.02 (химические науки)		
25	Федотов Петр Сергеевич	Доктор химических наук, 02.00.02 (химические науки)	<i>Федотов</i>	<i>Федотов</i>
26	Филиппов Михаил Николаевич	Доктор физ.-мат. наук, профессор, 02.00.02 (физ.-мат. науки)	<i>Филиппов</i>	<i>Филиппов</i>
27	Хамизов Руслан Хажсетович	Доктор химических наук, 02.00.02 (физ.-мат. науки)	<i>Хамизов</i>	<i>Хамизов</i>
28	Шеховцова Татьяна Николаевна	Доктор химических наук, профессор, 02.00.02 (химические науки)	<i>Шеховцова</i>	<i>Шеховцова</i>
29	Шкинев Валерий Михайлович	Доктор химических наук, 02.00.02 (технические науки)		

Ученый секретарь
диссертационного совета

Захарченко

Захарченко Елена Александровна

Подпись
удостоверено
Зав. кафедрой ГЕОХИ РАН

Елена Александровна Захарченко

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.109.01,
созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения
науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и
аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук по
диссертации на соискание ученой степени доктора наук

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 19.11.2020 № 5

О присуждении Вириусу Эдуарду Даниэлевичу, гражданину России, ученой степени доктора химических наук.

Диссертация «Развитие жидкостной хромато-масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения как метода скрининга физиологически активных веществ в сложных по составу смесях» по специальности 02.00.02 – аналитическая химия принята к защите 18 августа 2020 года (протокол заседания № 2) диссертационным советом Д 002.109.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук, 119991, ГСП-1, Москва В-334, ул. Косыгина, 19. Приказ о создании совета № 75/нк от 15.02.2013.

Соискатель **Вириус Эдуард Даниэлевич**, 1968 года рождения, в 1994 г. окончил Московский Государственный институт стали и сплавов. Диссертацию «Идентификация следовых количеств компонентов сложных смесей методами хромато-масс-спектрометрии и тандемной хромато-масс-спектрометрии» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия защитил в 2002 году в диссертационном совете Д 501.001.88, созданном на базе Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова (диплом КТ 081811, выдан 12 июля 2002 года). Работает ведущим научным сотрудником в лаборатории функциональной ангиопротеомики и метаболомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии.

Диссертационная работа выполнена в лаборатории анаболических стероидов в Федеральном Государственном Бюджетном Учреждении «Антидопинговый Центр» Министерства спорта Российской Федерации (ФГБУ АДЦ Министерства спорта Российской Федерации).

Официальные оппоненты:

Бродский Ефим Соломонович, доктор химических наук, старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт

проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН), лаборатория аналитической экотоксикологии, заведующий лабораторией;

Заикин Владимир Георгиевич, доктор химических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН (ИНХС РАН), лаборатория спектральных исследований, главный научный сотрудник;

Родин Игорь Александрович, доктор химических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (МГУ), химического факультет, ведущий научный сотрудник, заместитель декана по научно-инновационной работе дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН), в своем положительном отзыве, подписанном академиком РАН, доктором физико-математических наук, профессором, главным научным сотрудником лаборатории поверхностных сил Бойнович Людмилой Борисовной и утвержденном директором ИФХЭ РАН, заведующим лаборатории физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии, член-корреспондентом РАН, профессором, доктором химических наук Буряком Алексеем Константиновичем, указала, что актуальность темы исследований обусловлена необходимостью решения фундаментальной задачи разработки универсальной методологии обнаружения широкого спектра физиологически активных веществ в биологических объектах. Разработанная в диссертационной работе методология многокомпонентного анализа медико-биологических объектов на основе жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с использованием орбитальной ионной ловушки представляется одной из наиболее перспективных для решения этой задачи, учитывая универсальность и селективность применяемого метода. В отзыве ведущей организации особо подчеркивается новизна работы. В основе предлагаемой методологии лежат разработанные решения снижения матричного эффекта при использовании метода высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой, применяемой в режиме полного сканирования в сочетании как с химической ионизацией, индуцированной электрораспылением, так и химической и фотохимической ионизацией при атмосферном давлении. Методы апробированы для анализа биологических жидкостей. Высокую оценку в отзыве получило нетривиальное решение снижения матричного эффекта путем подавления ионизации мешающих компонентов матрицы с применением химической ионизации, индуцированной электрораспылением, расширяющей возможности быстрого скрининга широкого спектра физиологически активных веществ в сложных по составу смесях методом

высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии высокого разрешения в режиме полного сканирования с использованием точно измеренного отношения массы к заряду. Оценивая практическую значимость, ведущая организация приходит к заключению, что предложенные и обоснованные в диссертации принципиально новые решения снижения матричного эффекта на основе фотохимической ионизации при атмосферном давлении и химической ионизации, индуцированной электрораспылением, значительно расширяют возможности аналитической высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения при проведении метаболомных и медико-биологических исследований, а также повышают эффективность судебно-медицинской, криминалистической, токсикологической и клинической экспертиз. Разработанная диссертантом универсальная методология способствует достижению точного измерения отношения массы к заряду в сложных по составу смесях методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения в режиме полного сканирования с использованием химической ионизации при атмосферном давлении, фотохимической ионизации при атмосферном давлении и химической ионизации, индуцированной электрораспылением. Таким образом, обеспечивается ретроспективность поиска широкого спектра метаболитов ФАВ в метаболомных исследованиях и решается проблема консервации биологического материала в метаболомных исследованиях. В данном случае расширение спектра определяемых метаболитов ФАВ не приводит к существенному увеличению временных и материальных затрат.

Соискатель имеет **68** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – **21 статья в изданиях, рекомендуемых ВАК:** в их числе 12 статей в журналах, индексируемых в Международных базах данных и 9 статей в журналах из списка ВАК; а также 3 патента.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. **Virus E.D.**, Sobolevsky T.G, Rodchenkov G.M. Introduction of HPLC/orbitrap mass spectrometry as screening method for doping control // J Mass Spectrom. – 2008. - 43(7). – P. 949-57.

2. **Virus E.D.**, Sobolevsky T.G., Rodchenkov G.M. 'Wrong-way-round ionization' and screening for doping substances in human urine by high-performance liquid chromatography/orbitrap mass spectrometry // J Mass Spectrom. – 2012. - 47(3). – P. 381-391.

3. **Virus E.D.**, Luzyanin B.P., Ivanov A.V., Kubatiev. High-performance liquid chromatography on a porous graphitized carbon column coupled to an orbitrap mass spectrometer with atmospheric pressure photoionization for screening exogenous steroids in human urine // Rapid communications in Mass Spectrometry. – 2015. - 29(19). – P. 1779-1788.

4. **Вирюс Э.Д.**, Родченков Г.М. Определение ультрамалых количеств 6 β -гидрокси-4-хлордегидрометилтестостерона в моче методом ВЭЖХ/Масс-спектрометрии с орбитальной ионной ловушкой в условиях электрораспылительной ионизации // Заводская лаборатория. Диагностика

материалов. – 2008. - 74 (7). - С. 17-21.

5. **Вирюс Э.Д.**, Родченков Г.М. Применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии высокого разрешения с фотоионизацией при атмосферном давлении для детектирования ультрамалых количеств анаболических стероидов // Масс-спектрометрия. – 2007. - 4 (4). - С. 275-282

6. **Вирюс Э.Д.**, Соболевский Т.Г., Родченков Г.М. Обнаружение оксандролонa и его метаболита в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ловушкой с химической ионизацией при атмосферном давлении после прекращения его приема // Журнал Аналитической Химии. – 2009. - 64(1). – С. 31-35 / Viryus E.D, Sobolevskii T.G., Rodchenkov G.M. Detection of oxandrolone and its metabolite in urine by high-performance liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization and orbitrap detection after ceasing drug administration. Journal of Analytical Chemistry, 2009; 64(1): 31–35. <https://doi.org/10.1134/S1061934809010079>.

7. Семенистая Е.Н., **Вирюс Э.Д.**, Родченков Г.М. Сочетание высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии высокого разрешения для определения сульфатов и глюкуронидов эндогенных стероидов в биожидкостях // Журнал Физической Химии. – 2009. – 83 (4). – С. 625-632 / Semenistaya E.N., Virus E.D., Rodchenkov G. M. Determination of sulfates and glucuronides of endogenic steroids in biofluids by high-performance liquid chromatography/orbitrap mass spectrometry. Russian Journal of Physical Chemistry, 2009; 83(4): 530–536. <https://doi.org/10.1134/S0036024409040037>.

8. Семенистая Е.Н., **Вирюс Э.Д.**, Родченков Г.М. Изучение фрагментации глюкуронида тестостерона и сульфата тестостерона при индуцированной соударениями диссоциации в источнике ионов и в ионной ловушке методами масс-спектрометрии высокого разрешения и тандемной масс-спектрометрии // Масс-спектрометрия. – 2008. - 5 (2). - С. 103-110.

9. Семенистая Е. Н., Дикунец М. А., **Вирюс Э.Д.**, Родченков Г.М. Определение экземестана и 17-гидроэземестана методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией и масс-спектрометрией высокого разрешения // Журнал Аналитической Химии. – 2010. - 65(5). – С. 498-506. / Semenistaya E.N., Dikunets M.A., Viryus E.D., Rodchenkov G.M. Determination of exemestane and 17-hydroxyexemestane by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry and high-resolution mass spectrometry. Journal of Analytical Chemistry, 2010; 65(5): 498–506. <https://doi.org/10.1134/S1061934810050114>.

10. Дикунец М. А., **Вирюс Э.Д.**, Семенистая Е.Н., Соболевский Т.Г., Родченков Г.М. Масс-спектрометрия допинговых препаратов нового поколения: агонисты дельта-рецепторов активации пролиферации пероксисом // Журнал Аналитической Химии. – 2010. - 65(13). – С. 1411-1419. / Dikunets M.A., Virus E.D., Semenistaya E.N., Sobolevsky T.G., Rodchenkov G.M. Mass spectrometry of doping

preparations of a new generation: Peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Journal of Analytical Chemistry*, 2010; 65(13). 1411–1419. <https://doi.org/10.1134/S1061934810130162>.

11. Sobolevsky T, Dikunets M, Sukhanova I, **Вирюс Е.**, Rodchenkov G. Detection of PPAR δ agonists GW1516 and GW0742 and their metabolites in human urine. // *Drug Test Anal.* – 2012. - 4(10). – P.754-760.

12. **Вирюс Э.Д.**, Родченков Г.М. Высокочувствительное и специфичное определение 17 α -метил-5 β -андростан-3 α ,17 β -диол методом газовой хроматографии/тройной масс-спектрометрии // *Журнал Физической Химии.* – 2007. - 81(3). - С. 493–498. / Viryus E.D., Rodchenkov G. M. Highly sensitive, specific determination of 17 α -methyl-5 β -androstane-3 α ,17 β -diol by gas chromatography coupled to triple mass spectrometry. *Russian Journal of Physical Chemistry*, 2007; 81(3): 415–420. <https://doi.org/10.1134/S0036024407030211>

13. Суханова И.И., Дикунец М.А., **Вирюс Э.Д.**, Родченков Г.М. Магнитная сепарация как новый метод для экстракции низкомолекулярных соединений из биологических жидкостей // *Журнал Аналитической Химии.* - 2011. – 66(9). - С. 807-814. / Sukhanova I.I., Dikunets M.A., Viryus E.D., Rodchenkov G.M. *Journal of Analytical Chemistry*, 2011; 66(9), 807-814. <https://doi.org/10.1134/S1061934811090164>

14. **Вирюс Э.Д.**, В.Ф. Сизой, М.А. Дикунец, Г.М. Родченков Определение ультрамалых количеств 3'-гидроксистеранола методом газовой хроматографии/тандемной масс-спектрометрии // *Судебно-медицинская экспертиза.* – 2007. - 50(1). – С.27-31

15. **Вирюс Э.Д.**, Иванов А.В., Лузянин Б.П., Кубатиев А.А. Хроматомасс-спектрометрия запрещенных в спорте физиологически активных веществ: скрининг широкого круга соединений и их метаболитов // *Масс-спектрометрия.* - 2017. – 14(3). - С. 149-175

В работах представлены новые экспериментальные решения снижения матричных эффектов в хромато-масс-спектрометрии высокого и сверхвысокого разрешения на основе сочетания орбитальной ионной ловушки с химической ионизацией при атмосферном давлении, фотохимической ионизацией при атмосферном давлении и химической ионизацией, индуцированной электрораспылением, расширяющих возможности жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого и сверхвысокого разрешения для обнаружения следовых количеств физиологически активных веществ в сложных по составу смесях. На основе этих решений разработана новая методология хромато-масс-спектрометрического скрининга широкого спектра физиологически активных веществ, обеспечивающая их быстрое определение на основе точного измерения отношения массы к заряду протонированных молекул и фрагментных ионов на уровне 2 ppm. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах в диссертации отсутствуют. Требования к публикациям (пп. 13 и 14 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного

Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 в ред. Постановления № 335 от 21 апреля 2016 года) выполнены полностью. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации входят в российские и международные базы данных и хорошо цитируются.

На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов. Все отзывы положительные. Положительных отзывов без замечаний — 3. Отзывы поступили от:

Проскурниной Елены Васильевны, к.х.н., д.м.н., доцента, главного научного сотрудника лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический центр имени академика Н.П. Бочкова»;

Калиничева Анатолия Ивановича, д.х.н., главного научного сотрудника лаборатории физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина».

Ветохина Михаила Львовича, к.х.н., руководителя департамента инжиниринга ООО «ИНТЕРЛАБ»

Положительных отзывов с замечаниями – 4. Отзывы поступили от:

Сысоева Алексея Александровича, д.ф.-м.н., профессора Отделения нанотехнологий в электронике, спинтронике и фотонике офиса образовательных программ федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»:

- В изложении содержания главы 2 автореферате отсутствует упоминание конкретных моделей орбитальной ионной ловушки, использовавшихся в исследованиях.

Савельевой Елены Игоревны, д.х.н., заведующей лабораторией аналитической токсикологии Научно-исследовательского института гигиены, профпатологии и экологии человека (ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России).

- Автору имело смысл подчеркнуть, что исключение процедур дериватизации предлагается исключительно на этапе быстрого скрининга.

- Схему анализа медико-биологических объектов на основе новой хромато-масс-спектрометрической методологии скрининга (рисунок 19 Автореферата) было бы правильнее представить вначале.

Бермешева Максима Владимировича, д.х.н., заведующего лабораторией кремнийорганических и углеводородных циклических соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Трудового Красного Знамени Института нефтехимического синтеза имени А.В. Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН):

- Поскольку работа защищается на русском языке, подписи осей ординат на рисунках (напр. Рис. 3,6 и т.д.) желательно приводить именно в русскоязычном

варианте;

- Список работ автора оформлен не единообразно: для некоторых журналов даны сокращенные названия, а для некоторых – полные.

Борисова Романа Сергеевича, к.х.н., ИО заведующего лабораторией спектральных и хроматографических исследований, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Трудового Красного Знамени Института нефтехимического синтеза имени А.В. Топчиева:

- Целесообразно было бы детальнее описать используемое оборудование и режимы его эксплуатации;

- Диссертант достиг селективной ионизации аналитов за счет отдельных методов ионизации, хотя представляется оправданным рассмотреть возможность совместного применения различных методов ионизации в рамках одного эксперимента с использованием комбинированных источников ионов для повышения эффективности селективной ионизации аналитов.

В целом отмечается, что перечисленные замечания не носят принципиального характера и не снижают общего высокого научного уровня диссертационного исследования. Диссертационная работа является фундаментальным исследованием в области биомедицинской хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения, в которой найдены методы преодоления ограничений орбитальной ионной ловушки, расширяющие ее возможности при анализе сложных по составу медико-биологических объектов: разработаны методы снижения матричного эффекта обеспечивающие быстрое обнаружение следовых количеств широкого спектра физиологически активных веществ методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой на основе селективного протонирования физиологически активных веществ и подавления ионизации мешающих компонентов матрицы с использованием химической ионизации при атмосферном давлении, фотохимической ионизации при атмосферном давлении и химической ионизации, индуцированной электрораспылением. Методы преодоления ограничений орбитальной ионной ловушки позволили создать способы скрининга широкого спектра физиологически активных веществ (около 200) в биологических жидкостях с использованием точного измерения отношения массы к заряду (на уровне 2 ppm) в режиме полного сканирования и предложить методологию скрининга, обеспечивающую ретроспективность анализа медико-биологических объектов. Преложены подходы достижения комплементарности новой методологии скрининга с референсными методами анализа на основе оценки выхода реакции дериватизации и способа снижения подавления ионизации компонентами матрицы для высокоэффективной жидкостной tandemной хромато-масс-спектрометрии на основе твердофазной экстракции с магнитными частицами. Предложенные подходы и результаты автора, а также разработанная методология скрининга составляют несомненную научную новизну и практическую значимость работы.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов не вызывает сомнения. Вирюс Э.Д. заслуживает присуждения ему ученой степени доктор химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными и практическими достижениями в области аналитической химии, органической химии, физической химии и масс-спектрометрии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Разработана новая методология хромато-масс-спектрометрического скрининга широкого спектра физиологически активных веществ, обеспечивающая их быстрое определение на основе точного измерения отношения массы к заряду протонированных молекул и фрагментных ионов на уровне 2 млн^{-1} и менее в сложных по составу смесях. В основе методологии лежат предложенные решения снижения матричного эффекта при использовании метода высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой, применяемой в режиме полного сканирования в сочетании как с химической ионизацией, индуцированной электрораспылением, так и химической и фотохимической ионизацией при атмосферном давлении.

Обоснован выбор пути достижения комплементарности новой методологии скрининга с референсными методами анализа на основе оценки выхода реакции дериватизации и способа снижения подавления ионизации компонентами матрицы для высокоэффективной жидкостной тандемной хромато-масс-спектрометрии с использованием твердофазной экстракции с магнитными частицами.

Установлена причина и роль матричного эффекта, обусловленного преимущественным накоплением ионов мешающих компонентов матрицы в орбитальной ионной ловушке, препятствующего обнаружению физиологически активных веществ в сложных по составу смесях методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой, применяемой в режиме полного сканирования.

Созданы подходы значительного снижения матричных эффектов (до 5-12%), основанные как на селективной ионизации физиологически активных веществ с использованием химической и фотохимической ионизации при атмосферном давлении, так и на подавлении ионизации мешающих компонентов матрицы с использованием химической ионизации, индуцированной электрораспылением, при определении физиологически активных веществ с высоким сродством к протону.

С использованием предложенных подходов снижения матричных эффектов разработаны и апробированы три быстрых способа скрининга (длительность анализа не более 30 минут) физиологически активных веществ в моче на основе

измерения отношения массы к заряду на уровне 2 ppm в режиме полного сканирования:

- термостабильных стероидов и N-алкил-β-гидрокси-арилоксипропиламинов с пределом обнаружения 0.05 – 0.1 нг/мл при использовании химической ионизации при атмосферном давлении

- стероидов с пределом обнаружения 0.5 – 2 нг/мл при использовании фотохимической ионизации при атмосферном давлении.

- стероидов, бензотиодиазинов, N-алкил-β-гидрокси-арилоксипропиламинов, катехоламинов, фенилалкиламинов, (β-гидроксифенилэтил) аминов, производных бензамида с пределом обнаружения 0.2 – 250 нг/мл при использовании химической ионизации, индуцированной электрораспылением.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что выявлены роль и причины матричных эффектов, препятствующих быстрому и чувствительному обнаружению биоорганических соединений в сложных по составу смесях, методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой. Доказано, что высокое значение матричного эффекта, характерного для орбитальной ловушки, обусловлено преимущественным накоплением мешающих компонентов матрицы в C-ловушке. Применительно к проблематике диссертации показано, что результативное использование селективного протонирования молекул физиологически активных соединений и подавление ионизации мешающих компонентов матрицы с низким и умеренным сродством к протону приводят к существенному снижению матричных эффектов и способствуют быстрому и чувствительному обнаружению физиологически активных веществ методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой с минимальной пробоподготовкой. Показано, что методы снижения матричных эффектов на основе химической ионизации, индуцированной электрораспылением, химической и фотохимической ионизации при атмосферном давлении вносят существенный вклад в расширении границ применимости высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения при решении проблемы анализа сложных по составу биологических объектов с минимальной подготовкой проб к анализу.

Новизна работы. Разработана новая методология хромато-масс-спектрометрического скрининга физиологически активных веществ на основе сочетания высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с фотохимической ионизацией при атмосферном давлении, с химической ионизацией при атмосферном давлении и с химической ионизацией, индуцированной электрораспылением, обеспечивающего быстрое обнаружение широкого спектра физиологически активных веществ в сложных по составу смесях с использованием точно измеренного отношения массы к заряду путем снижения матричных эффектов за счет селективного протонирования и подавления ионизации мешающих компонентов матрицы. Обоснованы пути достижения

комплементарности разработанной методологии скрининга с референсными методами анализа на основе оценки выхода реакции дериватизации и использования твердофазной экстракции на магнитных частицах.

Определена причина и роль матричного эффекта, обусловленного преимущественным накоплением ионов мешающих компонентов матрицы в орбитальной ионной ловушке, препятствующего обнаружению физиологически активных веществ в сложных по составу смесях методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой, применяемой в режиме полного сканирования.

Установлено, что быстрое обнаружение физиологически активных веществ в сложных по составу смесях методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой в режиме полного сканирования достигается снижением матричного эффекта путем селективного протонирования молекул физиологически активных веществ с использованием фотохимической ионизации при атмосферном давлении и химической ионизации при атмосферном давлении.

Установлено, что быстрое обнаружение широкого спектра физиологически активных веществ в сложных по составу смесях методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой в режиме полного сканирования достигается снижением матричного эффекта путем подавления ионизации мешающих компонентов матрицы с использованием химической ионизации, индуцированной электрораспылением.

Создан способ обнаружения стероидов и N-алкил-β-гидрокси-арилоксипропиламинов в биологических жидкостях с пределом обнаружения 0.05 – 0.1 нг/мл методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой в режиме полного сканирования с использованием химической ионизации при атмосферном давлении, основанный на селективной ионизации определяемых соединений.

Разработан способ обнаружения стероидов в биологических жидкостях с пределом обнаружения 0.1 – 2 нг/мл методом высокотемпературной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой в режиме полного сканирования с использованием фотохимической ионизации при атмосферном давлении, основанный на селективном протонировании молекул определяемых соединений.

Разработан способ быстрого обнаружения стероидов, бензотиодиазинов, N-алкил-β-гидрокси-арилоксипропиламинов, катехоламинов, фенилалкиламинов, (β-гидроксифенилэтил)аминов и производных бензамида в биологических жидкостях с пределом обнаружения 0.2 – 250 нг/мл методом ультраэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной

ловушкой в сочетании с химической ионизацией, индуцированной электрораспылением, применяемый в режиме полного сканирования.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанная в диссертационной работе методология, нацеленная на обнаружение физиологически активных веществ в сложных по составу биологических объектах методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой в сочетании с химической ионизацией при атмосферном давлении, фотохимической ионизации при атмосферном давлении и химической ионизации, индуцированной электрораспылением, применима для экспрессного определения широкого спектра биоорганических соединений без стадии дериватизации при проведении метаболомных и медико-биологических исследований, эколого-аналитического скрининга, санитарного контроля продуктов питания, судебно-медицинской, криминалистической, токсикологической и клинической экспертиз. Универсальность предлагаемой методологии обеспечивает ретроспективность поиска широкого спектра метаболитов физиологически активных веществ в метаболомных исследованиях и решает проблему консервации биологического материала в метаболомных исследованиях. Значительно снижаются временные затраты на расширение спектра определяемых метаболитов физиологически активных веществ. Разработанный способ обнаружения стероидов, бензотиодиазинов, N-алкил- β -гидроксиарилоксипропиламинов, катехоламинов, фенилалкиламинов, (β -гидроксифенилэтил)аминов и производных бензамида на уровне 0.05 – 250 нг/мл методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой в сочетании с химической ионизацией, индуцированной электрораспылением получил высокую оценку медицинской комиссии Международного Олимпийского Комитета..

Оценка достоверности результатов исследования:

Достоверность представленных в диссертационной работе результатов и обоснованность научных положений, результатов и выводов обусловлена применением современных физико-химических методов исследования и высокотехнологического оборудования, большим количеством экспериментальных данных, а также апробацией работы на ведущих российских и международных конференциях.

Личный вклад автора Вклад автора в работы состоит в постановке задач, обсуждении, обобщении и оформлении полученных результатов исследований и их интерпретации, непосредственном выполнении всего объема экспериментальной работы.

Диссертационная работа Э.Д. Вирюса «Развитие жидкостной хромато-масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения как метода скрининга физиологически активных веществ в сложных по составу смесях» на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия соответствует критериям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 в ред. от 01.10.2018, с изм. от 26.05.2020. В рамках работы развивается новое направление ретроспективного скрининга следовых количеств физиологически активных веществ в сложных по составу матрицах, основанное на снижении влияния матричных эффектов за счет селективной ионизации искомым аналитов для реализации аналитических возможностей орбитальной ионной ловушки. Полученные экспериментальные результаты и разработанные теоретические положения можно квалифицировать как научное достижение в области аналитической химии, в том числе в области новой научной дисциплины – метаболомики, имеющее важное социально-экономическое значение. Содержание работы соответствует специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

На заседании 19 ноября 2020 года диссертационный совет принял решение **присудить** Вирюсу Эдуарду Даниэлевичу ученую степень доктора химических наук за развитие жидкостной хромато-масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения как метода скрининга физиологически активных веществ в сложных по составу смесях.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 16 докторов наук по специальности аналитическая химия, в том числе 6 докторов, обеспечивающих химические науки, участвовавших в заседании, из 29 человек, входящих в состав совета, проголосовали за 21, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель
диссертационного совета,
академик РАН,
доктор химических наук



Мясоедов Борис Федорович

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат химических наук

Захарченко Елена Александровна

19 ноября 2020 года