

## ОТЗЫВ

на диссертацию в виде научного доклада Черноносова Александра Анатольевича на тему: «Развитие масс-спектрометрических подходов для решения задач целевой и нецелевой метаболомики», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4 - биохимия

Диссертационная работа Черноносова А.А. посвящена достижению актуальных задач современной метаболомики – повышению селективности, чувствительности, универсальности масс-спектрометрических и хромато-масс-спектрометрических способов метаболомного анализа как в целевом, так и в нецелевом вариантах за счёт усовершенствования существующих и разработки новых методик анализа. Работа такого рода, позволяющая, с одной стороны, расширить спектр детектируемых компонентов образца и повысить надёжность их идентификации, а с другой – количественно оценивать компоненты пробы с высокой чувствительностью, специфичностью, сократив требуемый для анализа объём образца, с учётом всё более широкого распространения масс-спектрометрии не только в исследованиях академических научных коллективов, но и в пищевой, фармацевтической, медицинской и других отраслях, является крайне актуальной задачей.

Объектами диссертационной работы для разработок в области целевой метаболомики выступил ряд соединений различной химической природы, обладающих фармацевтической активностью: варфарин, нифедипин, тековиримат, атенолол, апиксабан. Был проведён поиск потенциальных маркёров психических заболеваний среди ряда аминокислот и ацилкарнитинов; этот же спектр аналитов был оценен в широком спектре жидких и твёрдых образцов разнообразных продуктов питания и готовых блюд. Методами нецелевой метаболомики был осуществлён метаболомный скрининг экстрактов ряда растений, причём с использованием масс-спектрометрии как низкого, так и высокого разрешения. Аналогичный подход использовался для поиска метаболомных биомаркеров депрессии в

образцах плазмы крови пациентов с подтверждённым диагнозом и здоровых доноров.

В работе представлены результаты разработки и валидации методик определения варфарина, нифедипина, тековиримата в плазме крови человека с применением тандемной масс-спектрометрии низкого и высокого разрешения; показана их применимость для доклинических и клинических исследований для тековиримата и его структурного аналога – соединения НИОХ-14. Методы определения варфарина и нифедипина были успешно апробированы для оценки фармакокинетики при введении соответствующих препаратов новыми способами. Также при помощи тандемной масс-спектрометрии низкого разрешения был разработан и валидирован метод определения варфарина в сухих пятнах плазмы крови, продемонстрировавший увеличенную чувствительность по сравнению с описанными ранее протоколами.

Оригинальной разработкой стали методы определения атенолола и аписабана в сухих пятнах плазмы крови при помощи масс-спектрометрии высокого разрешения. Автором были разработаны методы масс-спектрометрического количественного определения ряда свободных аминокислот и ацилкарнитинов в таких сложных матрицах, как сухие пятна плазмы крови, пищевые полуфабрикаты и продукты, экстракты агрохимикатов. Разработанный метод лёг в основу метаболомного профилирования различий между больными разными типами шизофрении и здоровыми донорами плазмы крови.

Кроме всего вышеперечисленного, тандемная масс-спектрометрия низкого разрешения была использована автором для профилирования флавоноидов в экстрактах листьев растения *Myricaria bracteata*, что позволило идентифицировать 18 соединений; в то же время, метаболомное профилирование листьев растения *E. Longistipitata* позволило обнаружить и идентифицировать с разной степенью точности более 160 соединений, а в листьях *Rhododendron species* – 132 компонента, относящихся к

изопреноиды, фенольным и азотсодержащим соединения, производным жирных кислот и другим классам органических соединений.

Полученные результаты обладают высокой значимостью и с точки зрения развития методов масс-спектрометрического анализа, и с точки зрения расширения сфер применения метода, и с точки зрения и использования в соответствующих отраслях науки и промышленности. Например, замена плазмы крови на сухие пятна плазмы крови позволила повысить чувствительность и устойчивость ряда методов и дала возможность использовать их в фармакокинетических исследованиях не только на людях, но и на небольших лабораторных животных. Модификация протоколов экстракции аминокислот и ацилкарнитинов позволила существенно расширить сферу применения их масс-спектрометрического определения и расширить её разнообразными вариантами контроля в клинической психиатрии и пищевой промышленности. А сравнительная оценка режима мониторинга множественных реакций в масс-спектрометрах типа «тройной квадруполь» и параллельных реакций в масс-спектрометрах типа «орбитрэп» при количественном определении показала, что они обладают сравнимой чувствительностью при более широком линейном диапазоне и селективности последнего. Использование этого же режима при определении атенолола и апиксабана продемонстрировало увеличение чувствительности по сравнению с ранее разработанными методами масс-спектрометрии высокого разрешения более, чем на порядок.

Доклад хорошо структурирован; представленные данные, обладают высокой научной и практической ценностью. Доклад написан ясным языком, содержит достаточное количество графического материала и таблиц для адекватного и целостного восприятия текста.

Однако, при ознакомлении с материалом возникло несколько замечаний и пожеланий:

1. Автор совершенно справедливо замечает, что для расширения спектра детектируемых соединений в нецелевой метаболомике масс-

спектрометрический анализ проводят в режимах положительной и отрицательной ионизации. Однако, кроме этого, ряду соединений для эффективного детектирования требуется использование комплементарных электрораспылению механизмов ионизации, таких как фото- и химическая ионизация при атмосферном давлении, о чём в работе не упоминается.

2. Ряд представленных в работе скрининговых исследований был проведён с использованием орбитальной ионной ловушки. Известно, что при ряде несомненных преимуществ, орбитальная ловушка может проигрывать приборам квадруполь-времяпролётного типа по скорости сканирования и динамическому диапазону в одном скане. В перспективе было бы весьма интересно провести аналогичную работу на обоих типах масс-спектрометров и сопоставить полученные результаты.

3. В тексте присутствует небольшое число опечаток. Например, на рис. 9 ось абсцисс подписана как «Концентрация нифедипина, нг/мл», а в описании рисунка речь идёт о тековиримате.

Представленные выше замечания и пожелания являются техническими. Критических замечаний нет. Доклад в полной мере отражает суть подготовленной диссертационной работы.

Основные положения диссертации отражены в 28 публикациях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ. Также результаты исследования были использованы для получения одного патента РФ.

Результаты работы восемнадцать раз представлялись и обсуждались на всероссийском и международном уровнях, в том числе на конференции Международного масс-спектрометрического общества.

Анализ доклада показал, что диссертационная работа Черноусова Александра Анатольевича на тему «Развитие масс-спектрометрических подходов для решения задач целевой и нецелевой метаболомики» представляет собой самостоятельное законченное научное исследование, выполненное по актуальной теме разработки и совершенствования методов

метаболического анализа, полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 11.09.2021 N 1539 и прочих актуальных редакциях), предъявляемым к докторским диссертациям, и требованиям пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а ее автор – Чернонос Александр Анатольевич – заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Кандидат фармацевтических наук,  
руководитель Группы масс-спектрометрии  
Акционерное общество «ГЕНЕРИУМ»

Дегтерев Максим Борисович

601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул.  
Владимирская, д. 14. Тел.: +7 (49243) 7-31-04  
[degtere@ibcgenerium.ru](mailto:degtere@ibcgenerium.ru)

01.09.2023

Подпись Дегтерева М. Б. заверяю:

*Руководитель отдела  
трудовых отношений  
АО «ГЕНЕРИУМ»*



*Алексей Тесцов А.В.  
01.09.2023*