

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Топольяна Артема Павловича «Стабильные карбокатионы как масс-спектрометрические метки для детекции биомолекул», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «Биоорганическая химия»

Актуальность избранной темы диссертации

В последние десятилетия масс-спектрометрия зарекомендовала себя универсальным аналитическим методом, широко используемым в самых различных сферах практической деятельности человека – от допинг-контроля, детектирования пико- и фемтограммовых количеств веществ – до рутинного контроля за ходом реакции в лабораториях органического синтеза вместо тонкослойной хроматографии. Масс-спектрометрия по-прежнему остается одним из наиболее актуальных и быстро развивающихся областей химии. Одним из приоритетных направлений развития масс-спектрометрии является решение задач создания новых аналитических методов, и в частности – разработка способов повышения чувствительности/предела обнаружения веществ масс-спектрометрическими методами. Одним из наиболее известных и логичных приемов, способствующих решению вопроса, является дериватизация аналита. Дериватизация позволяет улучшить «летучесть» вещества в масс-спектрометре, и тем самым понизить предел детектирования. С другой стороны, химическая модификация аналита, направленная на введение катионных или легко ионизируемых в условиях регистрации масс-спектра групп («меток»), также повышает чувствительность и приводит в результате к появлению легко обнаруживаемых сигналов, поскольку экспериментально ранее было установлено, что интенсивность сигнала катиона в масс-спектре коррелирует с увеличением стабильности карбокатиона. Диссертационное исследование соискателя ставит задачу разработки методов синтеза новых масс-спектрометрических меток на стабильных карбокатионов, а также изучение

возможности их использования для обнаружения в анализе соединений с функциональными амино- и меркаптогруппами. Введение масс-спектрометрических меток ныне широко используется на практике для решения обширного круга задач. Учитывая высокий потенциал метода дериватизации, основанного на введении катионоидных групп в анализируемый субстрат, и широкие перспективы использования предлагаемых подходов для анализа соединений с амино- и меркаптогруппами, тему диссертационного исследования следует признать несомненно *актуальной*.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверность

В диссертации Топольяна А. П. разработан ряд научных положений и рекомендаций, имеющих важное научное и практическое значение.

В частности, решена практическая задача синтеза и введения стабильных карбокатионных меток, предложен и опробован на широком круге субстратов (на аминогликозидных антибиотиках, биоактивных тиолах и др.) способ дериватизации, основанный на введении триарилциклопропенилиевого и триарилметильного катионных фрагментов в молекулы, получены библиотеки масс-спектрометрических меток. Автором предложен и обоснован остроумный способ использования масс-спектрометрических меток для кодирования информации.

Разработанные выводы, положения и рекомендации обоснованы с помощью современных экспериментальных методов, а также путем тщательного анализа литературных данных. Следует отметить, что автор, помимо собственно масс-спектрометрии, использовал широкую палитру экспериментальных методов – здесь и тонкий органический синтез, ЯМР-спектроскопия (включая двумерные методы), ИК и УФ-спектрометрия, методы квантовой химии. Основные научные результаты диссертации опубликованы в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень

изданий, утвержденный Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций (4 статьи), представлены в одном патенте РФ, а также прошли апробацию в форме докладов на научных конференциях различного уровня. Публикации достаточно полно представляют материал диссертационного исследования.

Научная новизна

По мнению оппонента, наиболее важные **научные результаты (научная новизна) диссертации** состоят в следующем:

- Предложен и синтезирован универсальный реагент для введения тритильных и пиксильных меток в анализируемые соединения, включая полимеры и дендримеры;
- Предложен оригинальный способ кодирования информации с помощью масс-спектрометрических меток;
- Предложен способ детектирования низкомолекулярных и летучих аминов, основанный на введении трифенилциклопропенильных меток, определен предел детектирования для продуктов дериватизации, установлена зависимость интенсивности масс-спектрометрических пиков триарилциклопропенилиевых карбокатионов от структуры арильного заместителя;
- Предложен способ дериватизации первичных аминов трис(2,6-диметоксифенил)метиловым катионом, успешно продемонстрирована применимость метода для анализа аминокликозидных антибиотиков, фосфатидилэтаноламинов, пептидов и различных соединений с меркаптогруппой;

Практическая значимость результатов исследования

В диссертации разработаны новые эффективные способы дериватизации и масс-спектрометрического определения соединений, содержащих первичную аминогруппу или меркаптогруппу. В качестве объектов для дериватизации были опробованы амины, аминокислоты, гормоны,

лекарственные препараты. Получены и охарактеризованы библиотеки масс-спектрометрических меток. Изучена возможность использования карбокатионных меток для анализа смеси первичных и вторичных аминов, а также дифференциации изомерных первичных и вторичных аминов. В целом, практическая значимость работы состоит в эффективном решении проблемы масс-спектрометрического анализа практически важных соединений, что имеет исключительное значение для прикладных аналитических исследований. Практически важными представляются также чисто синтетические находки автора диссертации, заключающиеся в разработке и оптимизации методов получения карбокатионных меток или их прекурсоров.

Структура, объем и содержание диссертации и автореферата

Работа построена традиционно для химических диссертаций, и включает список сокращений, введение, три главы (обзор литературы, результаты и обсуждение авторских исследований, экспериментальную часть), выводы, список литературы и приложение (масс- и ЯМР спектры). Диссертация имеет довольно большой (для кандидатских диссертаций) объем – 218 страниц (без приложений 201 страницу), содержит 82 рисунка и 6 таблиц. Список литературы весьма обширен и представлен 483 литературными источниками.

Литературный обзор (суммарно 220 ссылок) вполне соответствует фокусу интересов и теме исследований автора, и имеет предметом рассмотрения методы дериватизации молекул заряженными/ионогенными масс-спектрометрическими метками.

Диссертация, равно как и автореферат, написаны очень хорошим слогом, богато иллюстрированы; вообще оформление оставляет самые благоприятные впечатления.

Однако объем диссертации в целом представляется несколько завышенным. Во многом это связано с обширным перечнем обработанных и цитируемых литературных источников; автор, по мнению оппонента, иной раз излишне скрупулезно подходит к анализу литературных источников, и

уделяет слишком большое внимание второстепенным вопросам, не имеющим принципиального значения (например, «..Появляются всё новые монографии и учебники, в которых обобщаются достижения в данной области [2–76].», с. 6 диссертации). Здесь можно было вполне обойтись наиболее важными источниками, что позволило бы уменьшить объем работы. Для иллюстрации широты использования методов дериватизации автором приведено больше 20 источников, которые упорядочены хронологически, и имеют в составе не только обзоры и монографии, но и рядовые исследовательские статьи («Дериватизация широко применяется в МС [91–117].» Стр. 7 диссертации). Метод лазерной десорбции/ионизации MALDI представлен во введении 8 ссылками ([78–85], стр. 6 диссертации). С одной стороны, это демонстрирует глубочайший уровень проработки и владения материалом, тщательное внимание к деталям, с другой – сильно перегружает работу. Диссертация написана прекрасным языком, но иногда излишне пространно.

Хотя эти недостатки не являются принципиальными, их устранение позволило бы существенно сократить объем рукописи и в большей степени высветить основные достоинства работы.

Глава 2 состоит из двух подразделов – 2.1 Отщепляемые масс-спектрометрические метки, и 2.2. Неотщепляемые масс-спектрометрические метки. В разделе 2.1 обсуждаются способы создания и введения тритильных и трифенилциклопропенильных меток, комбинаторный синтез библиотеки производных, показана возможность дериватизации метками полимеров и дендримеров (с использованием популярного *click*-подхода – азид-алкинового [3+2]-циклоприсоединения). Наиболее интересным и многообещающим в этом разделе представляется предложенный способ двоичного кодирования информации с помощью масс-спектрометрических меток. Перспективы практического использования такого подхода пока неясны, но они несомненны.

В этом же разделе автор отдает должное классической органической химии, и обсуждает оптимальные пути конструирования

трифенилциклопропенильной системы, масс-спектрометрические свойства метки, а также результаты, полученные при проведении реакции тетрафторбората трифенилциклопропенилия с первичными аминами и малонитрилом. Здесь надо отметить, что полученные данные весьма интересны с позиций синтетической химии, хотя фигурирующая в выводах (см. Автореферат, стр. 22) формулировка («Обнаружена неизвестная ранее перегруппировка трифенилциклопропенилиевого катиона под действием первичных аминов») несколько неточна: взаимодействие солей циклопропенилия с первичными аминами изучалось и ранее, а аналогичные описанным 1-азабутадиенам **29** (по нумерации автореферата) или **2.49** (по нумерации диссертации) структуры фигурируют в литературе, причем получают почти тем же способом (см., например Yoshida, Z.; Hirai, H.; Miki, S.; Yoneda, S. Trithiocyclopropenium ion as a building block for nitrogen heterocycle synthesis // *Tetrahedron*. – 1989. – Vol. 45. – № 10. – P. 3217-3231, [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)80147-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)80147-2), или обзорную работу К. Komatsu, Т. Kitagawa. Cyclopropenylium Cations, Cyclopropenones, and Heteroanalogues Recent Advances // *Chem. Rev.* 2003, 103, 1371-1427). Похожая реакция с малонитрилом также описана в литературе (см. обзор А. J. Fatiadi. New applications of malononitrile in organic chemistry, part II // *Synthesis*. – 1978. – No. 4. – P. 241).

В разделе 2.2 описано преимущественно использование трис(2,6-диметоксифенил)метильного катиона для дериватизации первичной аминогруппы и меркаптогруппы широчайшего круга низкомолекулярных биоактивных субстратов.

В Экспериментальной части (глава 3) приводятся достаточно подробные методики экспериментов и описание характеристик полученных веществ, методики снабжены схемами и формулами, что существенно облегчает восприятие. Содержание автореферата достаточно полно отражает основные результаты диссертационной работы.

Замечания по диссертации и автореферату

1. Основное замечание – это указанная выше перегруженность работы по объему за счет избыточного цитирования. Автор приводит в перечне цитируемой литературы списки ссылок на масс-спектрометрические журналы, обильно цитирует не самые существенные/информативные источники.
2. Как в диссертации, так и автореферате присутствуют неизбежные опечатки, например: «присутствуют» (С. 21 автореферата), «дитиогликолиевой» (там же), «Рис. 12. Взаимодействие трифенилциклопропенилиевого катиона с малонодинитриром» (С. 12 автореферата), в диссертации на стр. 63 в заголовке подраздела пропущено слово «метки» – «2.1.1 Отщепляемые масс-спектрометрические на основе тритильного катиона», и ряд других.
3. Нумерация соединений по автореферату и диссертации довольно сильно различается, что несколько затрудняет параллельное чтение.
4. В работе используется несколько нетрадиционных аббревиатур: ИЭР – вместо привычного и используемого ESI, химическая ионизация при атмосферном давлении (ХИАД) – вместо APCI (при этом сокращение MALDI автор не переводит).

Заключение

Перечисленные выше замечания не носят критического характера. Диссертация Топольяна Артема Павловича является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение – разработана общая методология дериватизации и масс-спектрометрического определения биомолекул, содержащих первичную аминогруппу или меркаптогруппу, с помощью стабильных карбокатионных меток – а также содержит решение прикладных аналитических и синтетических задач, имеющих практически важный результат.

Таким образом, по актуальности задачи, теоретической и экспериментальной проработанности, достоверности результатов, новизне и полученным практически важным результатам диссертационная работа Топольяна Артема Павловича "Стабильные карбокатионы как масс-спектрометрические метки для детекции биомолекул" полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с пп. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями Постановления Правительства РФ от 24.04.16 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748), а автор работы, Топольян Артем Павлович – безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «биоорганическая химия».

Официальный оппонент, доктор химических наук
по специальности 02.00.03 – «Органическая химия»,
заведующий кафедрой органической химии и технологий
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Кубанский государственный университет»
Доценко Виктор Викторович



12.06.2017 г.
ул. Ставропольская 149, 350040
г. Краснодар, Российская Федерация
Телефон: +7-989-237-27-76
E-mail: victor_dotsenko_@mail.ru

Подпись В.В.Доценко заверяю
ученый секретарь
ученого совета КубГУ



Касьянова Екатерина Михайловна